

RENATA SUCHANEK-RAIF^{1*} , PAWEŁ RAIF² 

* Autor korespondencyjny / Corresponding author: rsuchanek@sum.edu.pl

¹ Katedra i Zakład Genetyki Medycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jedności 8, 41-200 Sosnowiec, Polska

Department of Medical Genetics, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Medical University of Silesia, Jedności 8, 41-200 Sosnowiec, Poland

² Katedra Informatyki Medycznej i Sztucznej Inteligencji, Wydział Inżynierii Biomedycznej, Politechnika Śląska, ul. Roosevelta 40, 41-800 Zabrze, Polska

Department of Medical Informatics and Artificial Intelligence, Faculty of Biomedical Engineering, Silesian University of Technology, Roosevelta Street 40, 41-800 Zabrze, Poland

Nowe znaczenie niekodującego DNA

The new significance of non-coding DNA

DOI: <https://doi.org/10.12775/KOSMOS.2025.032>

Abstrakt

Badania nad genomem zmieniają naszą wiedzę o sekwencjach w DNA nie tylko kodujących, ale i niekodujących (ncDNA). Wykazano, że sekwencje w ncDNA nie są tylko nadmiarowym elementem łączącym poszczególne geny, ale mają liczne funkcje: od regulacyjnych po strukturalne. Stanowią elementy złożonego systemu warunkującego tworzenie wzorców ekspresji genów na różnych etapach rozwoju, różnicowania i wzrostu komórek. Artykuł skupia się na sekwencjach *cis*-regulatorowych takich jak: wzmacniacze, wyciszacze, sekwencje LCR, insulatory i sekwencje UTR. Dotychczasowe rozumienie pojęcia „kodująca i niekodująca sekwencja w DNA” zmieniło definicję i będzie ona ulegała dalszym modyfikacjom w miarę postępu badań na genomem.

Słowa kluczowe: niekodujący DNA, sekwencje *cis*, wyciszacze, wzmacniacze, eRNA, sekwencje UTR

Abstract

Genome research is transforming our understanding of DNA sequences, not only coding but also non-coding (ncDNA). It has been shown that ncDNA sequences are not just redundant elements connecting individual genes, but have numerous functions, from regulatory to structural. They constitute elements of a complex system that determines the patterning of gene expression at various stages of cell development, differentiation, and growth. This article focuses on *cis*-regulatory sequences such as enhancers, silencers, LCR sequences, insulators, and UTR sequences. The current understanding of the concept of “coding and non-coding DNA sequences” has changed and will continue to evolve as genome research progresses.

Keywords: noncoding DNA, *cis* sequences, silencers, enhancers, eRNA, UTR sequences

WPROWADZENIE

Intensywne badania nad genomem zarówno u ludzi jak i u pozostałych organizmów wnoszą nowe informacje o funkcji genomu, szczególnie niekodujących jego sekwencji. Do niedawna definicja „niekodujący DNA” (ncDNA, ang. *non-coding DNA*) oznaczała, że te części genomu nie zawierają informacji o budowie białek. Tylko 2% genomu u ludzi koduje białka (około 23 tysiące genów) pozostała część genomu, czyli 98% składa się na tzw. DNA niekodujący. DNA, który nie koduje białek (ncDNA) nazywany był dawniej „śmieciowym” DNA (ang. *junk DNA*) lub nadmiarowym, gdyż jego biologiczna funkcja nie była znana (Shabalina i Spiridonov, 2004). Interesujące jest, że badania filogenetyczne wykazują, iż wraz ze wzrostem złożoności organizmów wzrasta proporcja sekwencji, które nie kodują białek. Złożoność organizmów szczególnie koreluje ze wzrostem sekwencji, które ulegają transkrypcji, ale nie translacji. Wzrasta długość i liczba intronów. Rośnie liczba i złożoność elementów kontrolnych typu *cis*. Wzrasta złożoność UTR-ów (ang. *untranslated region*) i długość 3'UTR-ów. Obserwuje się zwiększone wykorzystanie złożonych typów promotorów i genów kodujących różne typy RNA (ncRNA, ang. *non-coding RNA*) (Pagni i in., 2022; Shabalina i Spiridonov, 2004).

Badania ostatnich lat wskazują, że ncDNA posiada liczne funkcje od regulacyjnych do strukturalnych. Sekwencje te mogą być rozpatrywane jako elementy sieci regulacyjnej, która służy równoczesnej ekspresji licznych genów, które kodują nie tylko białka, ale i bardzo licz-

ne cząsteczki RNA. Wyrażenie fenotypu tkanek wymaga szczególnej kombinacji wielu genów równocześnie. Elementy tej sieci umożliwiają tworzenie wzorców ekspresji genów na różnych etapach rozwoju, różnicowania i wzrostu komórek. ncDNA najprawdopodobniej umożliwia zarówno tworzenie jak i szybką zmianę takich wzorców ekspresji co daje możliwości lepszej adaptacji do wciąż zmieniających się warunków środowiska. ncDNA warunkują zatem wytworzenie licznych paneli wzorców ekspresji genów charakterystycznych dla stanów zdrowia jak i choroby (Li i in., 2023; Thomas i Buecker, 2023).

PODZIAŁ NA KODUJĄCY I NIEKODUJĄCY DNA

W świetle ostatnich badań podział na kodujące i niekodujące części genomu jest obecnie dość umowny i będzie ulegał zmianie w toku dalszych badań na genomami. Jeden z bardziej obrazowych podziałów na kodujące i niekodujący DNA uwzględnia, jakim procesom związanym z ekspresją informacji genetycznej podlega dana sekwencja (Tabela 1). Sekwencja może ulec tylko transkrypcji, ale już nie translacji (np. introny, funkcjonalny RNA, sekwencje 5'UTR, 3'UTR, niektóre wzmacniacze (ang. *enhancers*)). Drugą grupę stanowią sekwencje, które mogą podlegać zarówno transkrypcji jak i translacji. Zgodnie z tym podziałem kodujący DNA jest rozumiany jako te sekwencje DNA, które ulegają zarówno transkrypcji, jak i translacji. Transkrypcja to procesy przepisania genu kodującego białka na matrycę mRNA lub obecnie również, przepisanie genu kodujących czę-

Tabela 1. Typy niekodującego DNA wg podziału na sekwencje podlegające lub niepodlegające transkrypcji i/lub translacji

Typy DNA	Procesy ekspresji informacji genetycznej	Sekwencje w DNA
Kodujący DNA	Zarówno transkrypcja jak i translacja	– Geny przepisywane do mRNA
Niekodujący DNA	Tylko transkrypcja	– Geny przepisywane do różnych typów RNA (np. miRNA, rRNA, tRNA, snRNA, snoRNA, lncRNA itp.) – introny – sekwencje 5'UTR, 3'UTR – enhancery, które ulegają transkrypcji
	Brak transkrypcji, sekwencje z określonymi funkcjami regulującymi ekspresję genów	– promotory – wyciszacze – enhancery które nie ulegają transkrypcji
	Brak transkrypcji, funkcja utrzymanie struktury chromatyny tzw. strukturalny DNA	– centromery – telomery – insulatory – sekwencje SAR/MAR
	Brak transkrypcji	wciąż nieznane

steczki RNA, a następnie obróbka potranskrypcyjna do ich dojrzałych postaci. Translacja to proces syntezy białka w wyniku przetłumaczenia sekwencji nukleotydów na kolejność aminokwasów. Definicja genu obejmuje zarówno te części genomu, które kodują białka jak i RNA, ale obecnie do kodujących części zaliczamy tylko te geny, które są przepisywane do mRNA (ang. *messenger DNA*) zatem tylko geny, które kodują białka. Geny dla funkcjonalnych cząsteczek RNA są zaliczane do niekodującego DNA (Elkon i Agami, 2017; Poller i in., 2023). Kolejną grupę ncDNA stanowią sekwencje, które nie podlegają transkrypcji, ale mają udowodnione ściśle określone funkcje. Pierwsza grupa sekwencji związana jest z regulacją samej transkrypcji genów. Są to sekwencje regulacyjne genów, takie jak: promotory, wyciszacze (ang. *silencers*), wzmacniacze (ang. *enhancers*). Druga grupa DNA niepodlegającego transkrypcji, ale mającego określone funkcje to tzw. strukturalny DNA. Są to sekwencje DNA regulujące właściwą strukturę chromatyny na różnym stopniu jej upakowania. Do strukturalnego DNA zalicza się: centromery, telomery, insulatory oraz miejsca wiązania macierzy jądrowej tzw. sekwencje

SAR/MAR (ang. *scaffold/matrix attachment region*). Trzecią grupę ncDNA stanowią sekwencje niekodujące, które nie są transkrybowane i wciąż nie mają poznanych funkcji (Poller i in., 2023).

CZYNNIKI REGULATOROWE DZIAŁAJĄCE W UKŁADZIE CIS I TRANS

Czynniki regulatorowe działające w układzie *cis* (CREs, ang. *Cis-regulatory elements*) są regionami niekodującymi DNA, które regulują transkrypcję genów na tej samej cząsteczce DNA, czyli w układzie *cis*. Elementy *cis*-regulatorowe znajdują się w obszarach 5'- i 3'- genów, które regulują. Odnajdywane są również w samych genach szczególnie w intronach, sekwencjach UTR (Niu i in., 2018). Ich funkcją jest regulowanie ekspresji genów poprzez wiązanie czynników transkrypcyjnych w pobliżu lub wewnątrz genu. Do cech charakterystycznych *cis*-elementów zaliczamy to, że są to sekwencje nieruchome, czyli nie mają możliwości przemieszczania się w genomie. Ich działanie zależy od lokalizacji względem genu oraz część z nich jest konserwatywna ewolucyjnie, co świadczy

o ich funkcjonalnym znaczeniu. Do regulatorowych czynników *cis* zaliczamy: promotory, wzmacniacze (*enhancer*), wyciszacze (*silencer*), operatory (u prokariota), regiony kontrolujące locus LCR (ang. *Locus Control Regions*) (Mathelier i in., 2015).

Z kolei elementy regulatorowe w układzie *trans* (TREs, ang. *Trans-regulatory elements*) to białka, które wiążą się z określonymi sekwencjami *cis*-regulatorowymi w genomie, modulując ekspresję genów na poziomie transkrypcji. Są to głównie czynniki transkrypcyjne, które rozpoznają i łączą się z sekwencjami regulacyjnymi w tym z promotorami, aby umożliwić przyłączenie się polimerazy RNA i zapoczątkować transkrypcję.

Zalicza się tu m.in.: 1. Podjednostki polimerazy RNA; 2. Czynniki wiążące się z polimerazą RNA w celu stabilizacji kompleksu inicjacyjnego; 3. Czynniki które wiążą się ze wszystkimi promotorami w ściśle określonej sekwencji np. z kasetą TATA. Należą tutaj ogólne czynniki transkrypcyjne (GTFs – ang. *General transcription factors*); 4. Czynniki wiążące się jedynie z wybranymi promotorami, koniecznymi do etapu inicjacji tych właśnie genów są to tzw. indukowane oraz wiodące czynniki transkrypcyjne (Kim i Wysocka, 2023).

Elementy regulatorowe typu *cis* umożliwiają regulację ekspresji alleli genu tylko na tym samym chromosomie homologicznym. Natomiast elementy *trans*, wpływają na ekspresję alleli danego genu na obu chromosomach homologicznych. Obie te grupy czynników są istotnymi składnikami genetycznych sieci regulacyjnych (GRN, ang. *Genetic regulatory networks*), które kontrolują takie procesy jak m.in. morfogeneza, rozwój embrionalny, specyficzność tkankowa (Kim i Wysocka, 2023). Utworzone zostało pojęcie „moduły regulatorowe *cis*” (CRMs, ang. *Cis-regulatory modules*) rozumiane jako fragmenty niekodującego DNA, które wspólnie regulują transkrypcję genów znajdujących się w ich sąsiedztwie w sposób złożony i specyficzny dla tkanki lub typu komórki (Niu i in., 2018). CRMs są to sekwencje DNA, zwykle o długości od 100 do 1000 par zasad, zawierające wiele miejsc wiązania czynników transkrypcyjnych.

CRMy są istotnymi elementami sieci regulacji genów i pełnią funkcję przetwarzaczy informacji, integrując aktywne czynniki transkrypcyjne i kofaktory, aby kontrolować tempo i czas ekspresji genów. CRMy pełnią funkcję procesorów informacji genetycznej: wiążąc czynniki transkrypcyjne obecne w określonym czasie i miejscu w komórce, a następnie przetwarzają te sygnały w instrukcje dla aparatu transkrypcyjnego (Jeziorska i in., 2009; Hu i in., 2025). Regulacje przez CRMy nie są proste, często bazują na złożonym zestawie interakcji czynników i ich wzorców wiązania, które mogą działać synergistycznie lub antagonistycznie, tworząc skomplikowaną sieć zarządzającą szybką aktywacją lub hamowaniem transkrypcji całych grup genów (Hu i in., 2025).

CRMy można rozpatrywać jako kluczowe węzły w sieciach regulacji genów, umożliwiające precyzyjne przestrzenne i czasowe wzorce ekspresji. Wzorce te są istotne nie tylko podczas rozwoju organizmu, ale również w szybkiej i adekwatnej odpowiedzi na sygnały środowiskowe. Ich architektura i organizacja miejsc wiązania czynników *trans* są krytyczne dla prawidłowego działania aparatu ekspresji genów, a nawet drobne zmiany w sekwencjach CRM mogą znacząco wpłynąć na regulację genów. Modele działania CRM obejmują mechanizmy takie jak tworzenie pętli DNA oraz wiązania białek regulatorowych głównie z licznej grupy czynników transkrypcyjnych. W podstawach uformowanych pętli dochodzi do kontaktu modułu regulatorowego *cis* (CRM) z promotorami tych genów, które są od niego położone w dużych odległościach tzn. setki czy tysiące par zasad (Kim i Wysocka, 2023). Komórki wykorzystują różne kombinacje około 2000 czynników transkrypcyjnych do modulowania aktywności około 1 miliona kandydujących CRE, które regulują ekspresję około 23 000 genów. Aby rozszyfrować tę złożoność regulacyjną, przeprowadzono wiele eksperymentów z zastosowaniem techniki immunoprecypitacji chromatyny połączonej z sekwencjonowaniem (ang. *ChIP-seq*) co umożliwiło w szerokim zakresie charakterystykę białek regulatorowych i różnych stanów komórkowych. Metoda ChIP-seq to narzędzie

dzie służące do badania interakcji białek z DNA oraz identyfikacji sekwencji odpowiedzialnych za te interakcje w skali całego genomu (Hu i in., 2025).

PRZYKŁADY SEKWENCJI CIS REGULATOROWYCH REGIONY REGULACYJNE DLA LOCUS

Locus Control Region (LCR) to specjalny typ *cis*-elementu regulacyjnego, który kontroluje ekspresję genów połączonych w klastry, grupy lub tzw. rodziny genowe. Warunkuje ekspresję poszczególnych genów w klastrze w konkretnej tkance i konkretnym czasie, których produkty są potrzebne na poszczególnych etapach rozwoju organizmu. LCR to złożony zestaw sekwencji DNA, który działa na dużą odległość od genów, które reguluje i jest zdolny do inicjowania wysokiego poziomu, stabilnej i skoordynowanej ekspresji tych genów (Li i in., 2002). Mechanizmy działania LCR obejmują zarówno remodelowanie struktury chromatyny jak i tworzenie fizycznych pętli, co umożliwia fizyczne przybliżenie odległych LCR do kontrolowanych genów. Inicjowanie przebudowy chromatyny zachodzi poprzez zaangażowanie kompleksów białkowych, które modyfikują histony w kierunku otwarcia skondensowanej chromatyny (Li i in., 2002).

LCR został zmapowany w przypadku skurpiska genów globin (Grosveld i in., 1987) oraz opsyny (Deeb, 2006). Wykazano brak ekspresji genów globiny po przeniesieniu tego genu do myszy transgeniczných. Dodatkowo obserwowano brak ekspresji tych genów u pacjentów, u których sekwencja genów była prawidłowa, ale wykryto u nich delecję sekwencji DNA znajdującą się w okolicy 20 kpz (kilopar zasad) przed klastrem tych genów. Wskazuje to, że dla ekspresji genów globiny konieczne są jakieś nadrzędne sekwencje regulatorowe znajdujące się powyżej klastra (Grosveld i in., 1987; Li i in., 2002). LCR odpowiada za regulowanie grup genów, w których ekspresja precyzyjnie zależy od regulacji czasowej czy tkankowej. Łatwiej to zobrazować po przyjrzeniu się funkcjom genów rodziny globiny. Poszczególne geny klastra globiny kodują różne formy hemoglobiny, które

są potrzebne na poszczególnych etapach rozwoju człowieka od zarodka (hemoglobina epsilon, gen HBE1), poprzez płód (hemoglobina gamma-1,-2, geny HBG-1, HBG-2), po urodzeniu (hemoglobina delta i beta, geny HBD, HBB) (Levings i Bungert, 2002).

Wykazano również znaczenie LCR w różnicowaniu genów opsyny (OPN1LW i OPN1MW) kodujących pigmenty fotoreceptorowe L (czerwony) i M (zielony). Geny opsyn są ułożone tandemowo na chromosomie X (Xq28). Opsyna to białko, które pełni kluczową rolę w procesie widzenia, jest częścią fotopigmentu znajdującego się w czopkach i pręcikach siatkówki oka. LCR decyduje o tym, czy komórka fotoreceptorowa stanie się czopkiem L czy M, poprzez aktywację odpowiedniego genu opsyny. Usunięcie LCR prowadzi do braku funkcjonalnych czopków L i M, co skutkuje monochromatyzmem niebieskim (ang. *blue cone monochromacy*) (Deeb, 2006).

WYCISZACZE

Wyciszacze (ang. *silencers*) sekwencje DNA, które zmniejszą lub hamują transkrypcję genów z ich docelowych promotorów. Ich lokalizacja w genomie jest zróżnicowana i obejmuje obszary w pobliżu promotorów genów lub w bardziej odległych regionach. Jednak najczęściej są zlokalizowane w odległości od 20 pz (par zasad) do 2000 pz powyżej genu, który kontrolują. Rzadko są odnajdywane w intronach, w sekwencjach 3'UTR, najmniejsza grupa jest obecna poniżej genów, które kontrolują (Ogbourne i Antalis, 1998; Segert i in., 2021).

Istnieje kilka mechanizmów molekularnych działania silencerów obecnych w genomie człowieka, które obejmują: 1. Rekrutację czynników represorowych: silencery przyłączają białka represorowe, które blokują fizyczny dostęp czynników transkrypcyjnych lub polimerazy RNA do promotora genu, uniemożliwiając rozpoczęcie transkrypcji. 2. Modyfikacje chromatyny: silencery są zdolne do licznych zmian w strukturze chromatyny m.in. poprzez indukcję epigenetycznych modyfikacji histonów (np. deacetylacja histonów), rekrutację białek heterochromatynowych, kondensację chromatyny i fizyczne

blokowanie dostępu do DNA. Ich działania prowadzą do trwałego lub tymczasowego utworzenia zwartej, nieaktywnej chromatyny, która uniemożliwia transkrypcję genów. Silencery uczestniczą w przestrzennej organizacji chromatyny, tworząc domeny zamknięte i izolujące, które blokują kontakt enhancera z promotorem, utrzymując geny w stanie wyciszonym. 3. Oddziaływania na kompleksy regulatorowe: Silencery mogą przeciwdziałać działaniu enhancerów, wpływając na skład i funkcjonowanie kompleksów holoenzymu polimerazy II i mediatorów startu transkrypcji. 4. Silencery mogą działać na odległość, np. zestawienie podstaw pętli, co umożliwia ich kontakt z odległymi promotorami. 5. W niektórych przypadkach silencery są również bifunkcyjne, to znaczy mogą działać jako wyciszacze lub wzmacniacze transkrypcyjne zależnie do stanu komórki (Ogbourne i Antalis, 1998; Segert i in., 2021).

Wyróżnia się dwa typy wyciszaczy: 1. Klasyczne to te, które wyciszają geny poprzez interakcje sekwencji wyciszacza z białkami represorowymi, które albo bezpośrednio blokują wiązanie czynników aktywujących albo rekrutują enzymy modyfikujące histony (np. deacetylazy histonowe – HDAC), co prowadzi do kondensacji chromatyny (struktury heterochromatynowej) i uniemożliwia dostęp maszynierii transkrypcyjnej. 2. Nieklasyczne (NRE, ang. tzw. *negative regulatory elements*) nie są sekwencjami DNA wiążącymi represor w tradycyjny sposób, ale działają w pośredni sposób. Termin „nieklasyczne” odnosi się do bardziej złożonych lub odległych mechanizmów wyciszania na poziomie genomycznym. Zalicza się tu: A) wyciszanie związane z architekturą chromatyny (wyciszanie domenowe). Polega na utrzymywaniu całych domen lub regionów genomu w stanie skondensowanej, nieaktywnej chromatyny, która fizycznie blokuje transkrypcję. B) wyciszanie z wykorzystaniem elementów granicznych tzw. insulatory (ang. *boundary elements*). Sekwencje DNA, które nie wyciszają same z siebie, ale działają jako bariery, blokując rozprzestrzenianie się heterochromatyny (wyciszenia), tworząc tzw. domenę wyciszoną. C) wyciszanie za pośrednictwem długich nie-

kodujących RNA, lncRNA (ang. *Long non-coding RNA*). lncRNA to cząsteczki RNA o długości powyżej >200 nt, które mogą angażować kompleksy modyfikujące chromatynę do specyficznych loci DNA, inicjując trwale wyciszenie transkrypcyjne. Ten mechanizm jest istotny w inaktywacji chromosomu X. D) metylacja DNA to epigenetyczna modyfikacja chemiczna, polegająca na dodaniu grupy metylowej do cytozyny (głównie w parach CpG), co silnie koreluje z wyciszaniem genów i tworzeniem heterochromatyny. Mechanizm ten wykorzystywany jest do wyciszania regionów promotorowych, wyciszania alleli podczas tworzenia wzorca imprintingu genomowego czy wyciszania transpozonów (Goodman i in., 1996; Pang i Snyder, 2020). Działanie wyciszaczy zapewnia precyzyjną, czasową i przestrzenną kontrolę ekspresji genów ważną do adekwatnego reagowania komórek na sygnały ze środowiska. Wskazuje się także, iż wyciszacze warunkują właściwy wydatek energetyczny prowadząc do inaktywacji genów, których, których produkty nie są potrzebne na danym etapie (Huang i Ovcharenko, 2022).

WZMACNIACZE

Wzmacniacze (ang. *enhancer*) sekwencje DNA, które wiążą czynniki wzmacniające transkrypcję tzw. aktywatory. Enhancery są to krótkie sekwencje od 50 do 1500 pz. W genomie ludzkim mogą znajdować się w różnych miejscach względem kontrolowanych genów, w odległości od kilku tysięcy do nawet 1 Mbp. Mogą być zlokalizowane przed genem, czyli w rejonie powyżej promotora genu, który kontrolują. Często w odróżnieniu od wyciszaczy występują także za genem. Dodatkowo ich obecność wykazano także wewnątrz intronów (Farley i in., 2015; Thomas i Buecker, 2023). Szacuje się, że enhancerów jest od 400 tysięcy do 4 mln, czyli przewyższają liczbę genów kodujących białka (około 23 tys genów). Liczba ta sugeruje, że procesy regulacji genów, skutkujące powstaniem wzorców ekspresji genów potrzebnych podczas tworzenia się fenotypu strukturalnego i funkcjonalnego tkanek wymagają całych grup enhancerów (Farley i in., 2015).

Podział enhancerów obejmuje kilka podstawowych typów, które różnią się funkcjami i kontekstem działania: 1. Enhancery klasyczne: krótkie sekwencje DNA o długości kilkuset par zasad, zawierające miejsca wiązania dla czynników transkrypcyjnych. Działają na zasadzie aktywacji transkrypcji genu, niezależnie od pozycji i orientacji względem genu docelowego. 2. Super-enhancery: duże klastry enhancerów zgromadzone w zdefiniowanych obszarach genomu, które silnie stymulują ekspresję genów kluczowych. Są szczególnie istotne dla specyficzności komórkowej i tkankowej oraz na kolejnych etapach rozwojowych organizmu. Mają możliwości intensywnej modyfikacji chromatyny i są mocno związane z czynnikami transkrypcyjnymi i koaktywatorami. 3. Enhancery swoiste dla danego typu komórki (ang. *cell type-specific enhancer*) lub tkanki (ang. *tissue-specific enhancer*), które regulują ekspresję genów w sposób przestrzenny i czasowy, odpowiadając za specjalizację komórek (Kassouf i in., 2023; Panigrahi i O'Malley, 2021). Drugi podział enhancerów uwzględnia możliwość zachodzenia transkrypcji na tych sekwencjach. Większość enhancerów nie podlega procesowi transkrypcji, a działają one głównie poprzez wiązanie białek typu aktywator. Enhancery podlegające transkrypcji są w mniejszości, a powstały produkt to tzw. eRNA (ang. *enhancer RNA*) (Hou i Kraus, 2021).

Mechanizm działania enhancerów jest dynamiczny, zależny od typu komórki i kontekstu rozwojowego, realizowany jest przez kilka dróg: 1. Enhancery w swojej sekwencji zawierają miejsca wiązania dla białek, czyli czynników transkrypcyjnych, które aktywują transkrypcję genów docelowych; 2. Częsty mechanizm obejmuje możliwości zakrzywiania DNA i wytwarzania pętli chromatynowych (ang. *chromatin looping*), co umożliwia fizyczne zestawienie enhancera z promotorem genu, w podstawie powstałej pętli. Enhancer, który znajduje się nawet daleko od genu, dzięki pętlom chromatyny może przestrzennie być przybliżony do kontrolowanego genu. Ten mechanizm umożliwia kontrolę kilku genów znajdujących się zarówno na tym samym chromosomie jak i na różnych

chromosomach (Kolovos i in., 2012; Razin i in., 2023). 3. Kolejny mechanizm jest związany z wykorzystaniem cząsteczek eRNA, które stabilizują kontakt enhancer-promotor i wpływają na remodelowanie chromatyny oraz rekrutację czynników transkrypcyjnych (Li i in., 2023).

eRNA (ang. *enhancer RNA*) to typ RNA transkrybowany z regionów enhancerów, czyli sekwencji wzmacniaczy. Są to krótkie od 50 do 2000 pz niekodujące RNA (ang. *non-coding RNA*). Zostały odkryte w 2010 r. Cząsteczki eRNA charakteryzują się niestabilnością i krótkim czasem życia w porównaniu do mRNA i innych rodzajów RNA. Mogą mieć strukturę jednoniciową lub dwuniciową, nie podlegają splicingowi. Końce 5' i 3' eRNA mają specyficzne cechy strukturalne i funkcjonalne, które wpływają na ich aktywność oraz stabilność: posiadają modyfikację typu 5'-cap, podobną do tej obecnej w mRNA, ale znaczna część nie posiada ogona poli A-na końcu 3'. Ze względu na te różnice w budowie wyróżnia się dwie grupy eRNA: 1. *dłuższe* tj. powyżej 3–4 kbp, posiadają ogony poliA, są rzadziej spotykane; 2. eRNA *krótsze* mające 0,5–2 kbp, posiadają ogony poliA i stanowią większy udział wszystkich typów eRNA. Struktura końca 3' wpływa na to, czy eRNA uczestniczą w stabilizacji interakcji chromatynowych czy w oddziaływaniu z białkami (Han i Li, 2022; Hou i Kraus, 2021; Kolovos i in., 2012).

Wykazano udział eRNA w bardzo licznych funkcjach: 1. Stabilizacja oddziaływania enhancer-promotor. eRNA wspierają fizyczne interakcje pomiędzy enhancerem, a promotorem genu docelowego, stabilizując pętle chromatynowe, co ułatwia dostęp czynników transkrypcyjnych i polimerazy II do promotora. 2. Rekrutacja czynników transkrypcyjnych i koaktywatorów. eRNA mogą bezpośrednio rekrutować lub stabilizować obecność różnych czynników transkrypcyjnych i koaktywatorów wspomagając inicjację jak i elongację transkrypcji. 3. Zmiany konformacji chromatyny. eRNA biorą udział w rekrutacji enzymów odpowiedzialnych za modyfikacje histonów (np. acetylacji H3K27), co zwiększa dostępność chromatyny dla aparatu transkrypcyjnego. 4. Wpływ na elongację transkrypcji. eRNA

mogą oddziaływać z białkami regulatorowymi elongacji, wspierając przejście RNA polimerazy II z fazy inicjacji do elongacji transkrypcji. 5. Funkcje w regulacji transkrypcji w układach *cis* i *trans*. eRNA najczęściej działają lokalnie (w obrębie tego samego chromosomu jest to działanie typu *cis*), wykazano, że mniejsze grupy eRNA mogą też wpływać na geny zlokalizowane w innych miejscach genomu (układy *trans*) (Mao i in., 2019; Hou i Kraus, 2021; Han i Li, 2022; Li i in., 2023).

Reasumując, eRNA pełnią funkcję cząsteczek regulatorowych, które poprzez stabilizację interakcji w obrębie chromatyny; rekrutację czynników transkrypcyjnych remodelowanie chromatyny i wspieranie elongacji transkrypcji precyzyjnie modulują ekspresję genów. Ich działanie ma kluczowe znaczenie nie tylko w prawidłowej regulacji genów, lecz także w patogenezie chorób. Dysregulacja poziomu i funkcji eRNA jest związana z chorobami, w tym nowotworami, gdzie eRNA mogą modulować ekspresję genów onkogennych lub supresorowych (Lam i in., 2014; Li i in., 2023; Mao i in., 2019; Sartorelli i Lauberth, 2020). Dalsze badanie eRNA może lepiej wyjaśnić złożoną mechanikę regulacji genów na poziomie przestrzennej organizacji chromatyny i transkrypcji, co jest kluczowe dla rozwoju biologii molekularnej. W przyszłości eRNA mogą być specyficznymi markerami aktywności enhancerów w różnych typach komórek, co daje szansę na opracowanie leczniczych terapii celowanych w chorobach takich jak nowotwory czy choroby zapalne. Specyficzne profile eRNA mogłyby służyć jako wskaźniki stanu choroby (biomarkery diagnostyczne), progresji czy odpowiedzi na leczenie, umożliwiając bardziej precyzyjną diagnostykę i monitorowanie pacjentów.

INSULATORY

Insulatory to funkcjonalne elementy DNA separujące autonomiczne domeny chromatynowe. Działają jako „przegrody” w organizacji chromatyny, koordynują przestrzenny układ DNA i chronią geny oraz ich sekwencje regulatorowe przed oddziaływaniem sekwencji z sąsied-

nich domen. Pełnią dwie podstawowe funkcje: blokują aktywność enhancerów, które znajdują się pomiędzy insulatorem, a promotorem genu (funkcja *enhancer-blocker*) oraz działają jako bariery (ang. *barriers*) zapobiegające rozprzestrzenianiu się rejonów represyjnych, np. wyciszczonej chromatyny. Zapewniają izolację domen chromatynowych, zabezpieczając geny przed wpływem sekwencji regulatorowych położonych w innych domenach. Insulatory są ważne dla utrzymania prawidłowej regulacji genów, a ich mutacje lub delecje mogą prowadzić do zaburzeń w procesie ekspresji i chorób genetycznych. Mechanizm działania insulatorów polega na wiązaniu specyficznych białek związanych z modelowaniem chromatyny jak m.in: kohezyny, czy białko CTCF (ang. *CCCTC-binding factor*). Białko CTCF to transkrypcyjny czynnik rozpoznający powtarzającą się sekwencję CCCTC. CTCF pełni funkcję regulatora architektury chromatyny i reguluje trójwymiarową strukturę genomu przez tworzenie pętli chromatynowych. Jego główna rola to izolacja elementów regulatorowych. Ścisłe współpracuje z kohezynami, które również regulują organizację przestrzenną chromatyny przez tworzenie pętli DNA oraz utrzymują spójność siostrzanych chromatyd po replikacji DNA (Kolovos i in., 2012).

Insulatory organizują genom w trójwymiarową przestrzeń, tworząc topologiczne domeny asocjacji chromatyny TADs (ang. *Topologically associating domains*). TADs to regiony genomu o długości od kilkudziesięciu tysięcy do kilku milionów par zasad. TADs tworzą autonomiczne domeny funkcjonalne, które segregują geny i ich regulatory (enhancery, promotory) w obrębie tych samych przestrzennych jednostek. Domeny te charakteryzują się wysoką częstotliwością interakcji chromatynowych wewnątrz danej domeny oraz ograniczonym kontaktem z obszarami poza nią. Warunkują bliskie fizyczne kontakty między enhancerami, a promotorami genów z tej samej domeny. Umożliwia to precyzyjną kontrolę procesu ekspresji w wyniku segregacji nad ekspresją genów przez segregację aktywnych i nieaktywnych regionów DNA. Granice TADs wyznaczone są przez specyficzne elementy, takie jak białko CTCF, kompleksy

kohezynowe oraz inne czynniki modyfikujące chromatynę. TADs są elementami trójwymiarowej organizacji genomu, pomagającymi w pakowaniu DNA w jądrze komórkowym oraz w koordynacji ekspresji wielu genów równocześnie (Cubéñas-Potts i Corces, 2015).

REGIONY NIEULEGAJĄCE TRANSLACJI – 5'UTR, 3'UTR

Nazwa regiony 5'UTR i 3'UTR (ang. 5', 3' *untranslated region*) czyli regiony nieulegające translacji w pierwszym odczuciu kojarzą nam się z mRNA, ale są one przecież obecne w DNA, skąd zostają tylko przepisane do mRNA. Według obecnej literatury naukowej sekwencje 5'UTR i 3'UTR stanowią bardzo ważną część sytemu *cis*-regulacyjnego genomu, gdyż zawierają w sobie elementy tego układu (motywy lub elementy *cis*) takie jak: uAUG (ang. *upstream AUG*), uORFs (ang. *upstream open reading frames*), sekwencje IRE (ang. *Iron responsive elements*), AREs (ang. *AU-rich elements*), czy motywy wiążące microRNA (Hu i in., 2025; Kim i Wysocka, 2023; Niu i in., 2018). 5'UTR i 3'UTR to regiony w genie flankujące sekwencję kodującą po stronie 5' i 3'. Po przepisaniu do mRNA nie ulegają tłumaczeniu na białko, zatem polegają na transkrypcji, ale już nie translacji. Ich funkcją jest kontrola ekspresji genów na poziomie potranskrypcyjnym. Regulują proces translacji poprzez wpływ na lokalizację, stabilność oraz szybkość degradacji mRNA. Dokonują tego poprzez obecne w nich, liczne specyficzne sekwencje regulacyjne, które mają zdolność

do wiązania białek lub/i tworzenia struktur II-rzędowych typu szpilki do włosów. Długości UTR-ów dla poszczególnych genów znacząco różnią się pod względem wielkości jak i składu elementów regulacyjnych w ich obrębie (Hong i Jeong, 2023; Ryczek i in., 2023; Siegel i in., 2021). 5'UTR są wiodącymi miejscami składania rybosomów do translacji mRNA. W przeciwieństwie do tego, 3'UTR odgrywają różne role w potranskrypcyjnej kontroli ekspresji genów, w tym stabilności i subkomórkowej lokalizacji mRNA, a przez to wydajności całego procesu translacji (Ryczek i in., 2023).

W sekwencjach UTR wykazuje się obecność intronów. Głównie odnajdywane są w 5'UTR rzadziej w 3'UTR. Różnice w budowie i funkcji pomiędzy sekwencjami 5'UTR i 3'UTR zestawiono w Tabeli 2. Intronowe sekwencje w UTR mogą wpływać na stabilność mRNA, jego lokalizację, a także efektywność translacji, m.in. poprzez modulowanie rekrutacji rybosomów lub interakcji z białkami regulatorowymi. Obecność intronów w 5'UTR może modyfikować strukturę RNA, tworzyć miejsca wiązania regulatorów potranskrypcyjnych oraz wpływać na alternatywną inicjację translacji. W 3'UTR introny mogą wpływać na alternatywne poliadenylowanie, co powoduje powstawanie różnych długości 3'UTR a na tej drodze generować zmienność w regulacji stabilności mRNA. Obecność intronów w regionach UTR jest niezbędna do utrzymania prawidłowego fenotypu komórki. Mutacje czy polimorfizmy w intronach 5'UTR i 3'UTR mogą prowadzić do zaburzeń w mechanizmach kontroli ekspresji genów, co wy-

Tabela 2. Różnice w budowie pomiędzy sekwencjami 5'UTR i 3'UTR

Wyszczególnienie	5'UTR	3'UTR
Średnia długość regionu	100–200 pz	200–800 pz
Zawartość G+C	60% sekwencji	45%
Obecność Intronów	30% genów	1–11% genów (rzadziej)
Sekwencje powtórzone (SINE*, LINE#, minisatelity, mikrosatelity)	12% sekwencji	36% sekwencji

* SINE – (ang. Short interspersed nuclear element) – krótkie rozproszone sekwencje powtórzone.

LINE – (ang. Long interspersed nuclear element) – długie rozproszone sekwencje powtórzone.

kazano w nowotworach i chorobach neurodegeneracyjnych. Metodami *in silico* przebadano 32 typy nowotworów u 8705 pacjentów i wykryto, że 30% guzów wykazuje zmiany alternatywnego splicingu w porównaniu do próbek pobranych od osób zdrowych. Wśród 936 genów wykazano zaburzenia w procesie alternatywnego splicingu, a 56 genów z tej grupy już ma udowodnione obecność mutacji somatycznych. Wykryto ponad 930 zmian w alternatywny splicingu, które nie występują w tkankach prawidłowych, jak m.in. pojawienie się dodatkowych miejsc poliadenylacji, które zmieniają trwałość mRNA. Wykazano takie zmiany m.in. dla genów *SF3B1* (ang. *Splicing Factor 3b Subunit 1*); *U2AF1* (ang. *U2 Small Nuclear RNA Auxiliary Factor 1*), *PPP2R1A* (ang. *Protein Phosphatase 2 Scaffold Subunit alpha*); *TADA1* (ang. *Transcriptional Adaptor 1*) (Bicknell i in., 2012; Kahles i in., 2018; Hong i Jeong, 2023).

5'UTR

5'UTR to region w m-RNA jak i w DNA po stronie 5' sekwencji kodującej. W DNA zaczyna się w miejscu startu transkrypcji, a kończy 1 nukleotyd (nt) przed kodonem START. W mRNA jest bezpośrednio po czapeczce 5' (cap-5'), a przed kodonem start translacji (zazwyczaj kodon AUG). Region 5'UTR nazywa się również sekwencją liderową (ang. *leader sequence*). Regiony 5'UTR cechuje różna długość u różnych gatunków: u Prokariota są to zaledwie 3–10 nt., u Eukariota od 100 nt. do 300 nt. ze średnią długością około 200 pz. W wybranych przypadkach zdarzają się regiony 5'UTR o długości do kilku tysięcy par zasad. np. u drożdży *Schizosaccharomyces pombe* sekwencja 5'UTR genu *ste11* ma długość 2273 nt. Różnice w rozmiarach prawdopodobnie wynikają ze złożoności regulacyjnych procesu transkrypcji oraz wielkości kompleksu pre-inicjacyjnego u Eukariota (Leppek i in., 2018; Ryczek i in., 2023; Schwerk i Savan, 2015). Istnieje możliwość braku sekwencji 5'UTR tzw. leaderless mRNA, co ważne takie mRNA wciąż ma możliwość bycia związanym przez rybosomy (Andreev i in., 2006; Ryczek i in., 2023).

W regionie 5'UTR obecne są liczne specyficzne sekwencje np. u Prokariota jest to sekwencja RBS (ang. *Ribosome binding site*) zwana też sekwencją Shine–Dalgarno. Ułatwia wiązanie rybosomu i inicjację translacji. U Eukariota w regionie 5'UTR mRNA obecne są różnorodne sekwencje *cis*-regulatorowe, które pełnią kluczowe funkcje w kontroli translacji. Są to m.in: 1. sekwencje IRE (ang. *Iron responsive elements*) to sekwencje reagujące na poziom żelaza, które regulują translację i stabilności mRNA w zależności od dostępności żelaza w danym typie komórki; 2. Sekwencje IRES (ang. *Internal ribosome entry sites*), które umożliwiają inicjację translacji w sposób niezależny od czapeczki 5'cap; 3. Sekwencje bogate w pary GC (cytozyna-guanina): mają silną tendencję do zwijania się w stabilne struktury przestrzenne tworząc skomplikowane struktury drugorzędowe w RNA, które stanowią fizyczną przeszkodę dla składania rybosomu. Najczęstsze z nich to struktury spinki do włosów (ang. *hairpins*) są to krótkie, pętlowe struktury, oraz G-kwadrupleksy (G4), bardzo stabilne, czteroniciowe struktury formowane w rejonach bogatych w guaninę. Elementy te mogą wpływać na efektywność wiązania rybosomu oraz inicjację translacji na drodze fizycznej blokady. Odgrywają kluczową, najczęściej hamującą, rolę w regulacji procesu translacji; 4. Szczególnymi elementami typu *cis* w 5'UTR są górne ramki odczytu uORFs (Schwerk i Savan, 2015; Silva i in., 2019; Wittkopp i Kalay, 2011).

uORF

uORF (ang. *upstream open reading frames*) to kodująca sekwencja zawierająca swój własny kodon start uAUG (ang. *upstream AUG*) tzw. górny kodon start. Ten kodon jest rozpoznawany przez rybosom i umożliwia wytworzenie produktu białkowego tzw. uPepetydu (ang. *uPeptides*), który jest krótkim łańcuchem reszt aminokwasowych zwykle od 2 do 100. uPepetyd kontroluje przebieg translacji głównego produktu mRNA lub innego uORF, który jest zlokalizowany na tym samym transkrypcje. uORFs występują tylko u Eukariota i są dość

powszechne. U ludzi są w 35-50% wszystkich genów. Wykazano także obecność uORF bez kodonu start (ang. *Non-AUG uORFs*). Ten typ znajduje się jedynie w wybranych transkryptach np. onkogenów czy genów związanych z odpowiedzią na stres. Może istnieć kilka uORF na jednym mRNA. Translacja głównego białka po translacji uORF jest znana jako re-inicjacja (czyli ponowna inicjacja). Przykładem takiego genu u ludzi jest gen *ATF4* (ang. *Activating transcription factor 4*), który koduje czynnik transkrypcyjny odgrywający rolę w odpowiedzi na stres komórkowy. Gen *ATF4* zawiera dwa uORF-y: uORF1 i uORF2, które kodują odpowiednio uPeptydy złożone z 3 i 59 aminokwasów. Lokalizacja uORF2 pokrywa się z główną ramką ORF dla czynnika ATF4. W warunkach normalnych (bez stresu komórkowego) translacja rozpoczyna się na uORF1, po czym rybosomy przechodzą do translacji uORF2. Ten drugi uORF działa hamująco, ponieważ jego translacja blokuje translację z dalszego – mORF dla ATF4. Podczas stresu komórkowego (np. niedobór aminokwasów) następuje niedobór białka, które aktywuje translację z ORF2. W efekcie rybosomy pomijają uORF2 i inicjują translację mORF w genie *ATF4*, umożliwiając produkcję białka ATF4 (Dever i in., 2023; Morris i Geballe, 2000; Young i Wek, 2016).

3'UTR

3'UTR jest to fragment w m-RNA jak i w DNA, który zaczyna się zaraz za kodonem STOP. Jest jednym z najważniejszych elementów regulacyjnych, kontrolujących losy mRNA i efektywność translacji. Region 3'UTR jest niezwykle dynamicznym i funkcjonalnym centrum kontroli, które decyduje o tym, kiedy, gdzie i w jakiej ilości białko powstanie na matrycy konkretnego transkryptu. Region 3'UTR zawiera sekwencję sygnału poliadenylacji (AAUAAA lub jego warianty), która zlokalizowana jest zwykle ok. 10-30 nukleotydów przed miejscem cięcia. Jest rozpoznawana przez kompleks białek CPSF (ang. *Cleavage and polyadenylation specificity factor*), który inicjuje proces dojrzewania końca 3' mRNA i określa, gdzie pre-

-mRNA zostanie pocięte, a następnie dołączy się do niego ogon poli-A. Miejsce cięcia i poliadenylacji CPS (ang. *Cleavage and Polyadenylation Site*) to fizyczne miejsce, w którym endonukleaza tnie nici RNA. Nowo utworzony koniec 3' służy jako miejsce dla polimerazy poli(A) która dołącza ok. 200-250 reszt adeninowych, tworząc ogon poli-A (Cowie i in., 2015; Makalowski, 2001; Mignone i in., 2002).

Oprócz sekwencji, które kontrolują, proces poliadenylacji, 3'UTR zawiera liczne sekwencje typu *cis*, które wiążą albo białka albo ncRNA, które mogą stabilizować lub degradować mRNA w zależności aktualnych od potrzeb komórki. Na tej drodze następuje kontrola stabilności i lokalizacji mRNA co ostatecznie warunkuje odpowiednią wydajność procesu translacji w komórce. Do sekwencji *cis*-regulatorowych w 3'UTR zaliczamy: 1. Sekwencje wiążące microRNA (MREs, ang. *micro RNA response elements*). Krótkie, częściowo komplementarne sekwencje, które służą jako miejsca wiązania dla jednoniciowych cząsteczek mikroRNA (miRNA). To właśnie w 3'UTR miRNA realizują swoją główną funkcję regulacyjną. W 3'UTR znajduje się wiele miejsc, do których mogą przyłączać się różne miRNA, co pozwala na złożoną, wielopoziomową regulację. Długość i struktura 3'UTR wpływa na dostępność tych miejsc wiązania i może być modulowana także przez inne czynniki, w tym białka (Hong i Jeong, 2023). 2. Sekwencje bogate w nukleotydy A i U, tzw. sekwencje AREs (ang. *AU-rich elements*) są to regiony 3'UTR bogate w sekwencje z częstymi zasadami adeniną (A) i uracylem (U). Warunkują one stabilność i czas życia mRNA. Elementy AREs mają długość 50-150 pz i zawierają wiele kopi pentanukleotydu AUUUA. ARE wiążą się z białkami regulatorowymi RBP (ang. *RNA-binding proteins*), które mogą zarówno destabilizować mRNA (prowadząc do szybkiego rozpadu), jak i stabilizować mRNA, w zależności od typu białka jak i aktualnego stanu komórki. Wyróżnia się 3 klasy tych sekwencji w zależności od ich ułożenia i składu poszczególnych motywów (układ rozproszony lub zwarty). Ich obecność wykryto w genach o szybkiej, przejściowej ekspresji (cytokiny, czynniki wzro-

stu, onkogeny, białka odpowiedzi na stres). Obecność AREs pozwala na bardzo szybką i precyzyjną regulację ekspresji białek poprzez zdolność do szybkiej destabilizacji mRNA niezbędnej dla osiągnięcia efektów przejściowych zależnych od wpływu środowiska na ekspresję licznych genów. Deregulacja systemu AREs i ich białek wiążących jest powiązana z wieloma chorobami, w tym nowotworami (gdy onkogeny są zbyt stabilne) i chorobami autoimmunologicznymi (gdy cytokiny zapalne są nadmiernie produkowane) (Froehlich i Sasso, 2025; Siegel i in., 2021). 3. Kolejnymi sekwencjami typu *cis* w 3'UTR są sekwencje reagujące na poziom żelaza (IRE) regulują stabilność mRNA, umożliwiając kontrolę poziomu białka zależnie od dostępności żelaza w komórce. 4. W 3'UTR wykryto obecność typowych silencerów, które mogą hamować translację mRNA na drodze wiązania białek represorowych do docelowych sekwencji (Hong i Jeong, 2023; Mayr, 2019).

Długość i sekwencja regionu 3'UTR również umożliwia tworzenie struktur drugorzędowych,

które mają wpływ na stabilność, translację i lokalizację mRNA. U saków rozmiar 3'UTR jest zdecydowanie dłuższy niż w 5'UTR i waha się od 60 pz do 4 000 pz. Średnia długość 3'UTR wynosi, aż około 800 pz podczas, gdy region 5'UTR ma średnią długość 200 pz. Dłuższe odcinki 3'UTR pozwalają zatem na tworzenie większej ilości i bardziej zróżnicowanych struktur II-rzędowych jak: spinki do włosów, pętle lub skrety. Wykazano, że im dłuższy region 3'UTR tym możliwe jest osiągnięcie silniejszej inhibicja translacji. Tłumaczy się to tym, że w dłuższych sekwencjach 3'UTR jest zarówno więcej miejsc dla tworzenia struktur II rzędowych jak i stwierdza się kilka miejsc wiążących mikroRNA. Struktury w 3'UTR w odróżnieniu od 5'UTR są bardziej zmienne pod względem długości i kompozycji, co pozwala na bardziej zróżnicowaną kontrolę post-transkrypcyjną. Porównanie znaczenia struktur II rzędowych pomiędzy regionami 5'UTR i 3'UTR zawarto w tabeli 3 (Hong i Jeong, 2023; Ryczek i in., 2023; Shabalina i Spiridonov, 2004).

Tabela 3. Porównanie funkcji i struktur II-rzędowych pomiędzy regionami 5'UTR i 3'UTR

Cecha	5'UTR	3'UTR
Główna funkcja	Regulacja inicjacji translacji	Regulacja stabilności, lokalizacji i translacji
Typowe struktury	Złożone spinki do włosów, pętle	Spinki, pętle, miejsca wiążące białka i miRNA
Interakcje z czynnikami	Czynniki translacyjne, rybosom	Białka regulatorowe, miRNA
Wpływ na translację	Kontrola inicjacji	Kontrola elongacji i degradacji mRNA
Długość i zmienność	Zwykle krótszy, bardziej konserwatywny	Dłuższy, bardziej zmienny i funkcjonalnie zróżnicowany

PODSUMOWANIE

Intensywne badania genomu dają całkiem nowy wgląd w dotychczasowe rozumienie jego budowy i funkcjonowania. Odkrywają zarówno nowe funkcje jak i nadają inny sens wcześniej już znanym sekwencjom. Wyłania się obraz genomu jako zawartej funkcjonalnie całości, w której każda jego sekwencja ma swoje ściśle określone funkcje konieczne do wytworzenia całego wzorca ekspresji genów. Przedstawione

w artykule sekwencje *cis*-regulatorowe to modułowa grupa sekwencji w niekodującym DNA, działająca jako zintegrowany system regulujący ekspresję genów na tej samej nici DNA, pełniąc kluczową rolę w ekspresji licznych genów w ściśle określonym miejscu i czasie. Nowe techniki badawcze oraz narzędzia bioinformatyczne wciąż dostarczają nowych danych do rozpoznania jak tworzą się i działają wzorce ekspresji genów. Informacje te są kluczowe dla naszego zrozumienia działania takich całych paneli genów

zarówno w procesie utrzymania homeostazy jak i patogenezie. Dlatego tak istotne jest ciągła aktualizacja naszej wiedzy na temat funkcjonowania genomów.

OŚWIADCZENIA AUTORÓW

Wszyscy autorzy deklarują wkład w powstanie artykułu, zaakceptowali kolejność autorów i ostateczną wersję artykułu. Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

BIBLIOGRAFIA

- Cubeñas-Potts, C., Corces, V.G., 2015. Topologically Associating Domains: An invariant framework or a dynamic scaffold? *Nucleus* 6, 430–434. <https://doi.org/10.1080/19491034.2015.1096467>
- Deeb, S.S., 2006. Genetics of variation in human color vision and the retinal cone mosaic. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, Genetics of disease 16, 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2006.04.002>
- Dever, T.E., Ivanov, I.P., Hinnebusch, A.G., 2023. Translational regulation by uORFs and start codon selection stringency. *Genes Dev.* 37, 474–489. <https://doi.org/10.1101/gad.350752.123>
- Elkon, R., Agami, R., 2017. Characterization of noncoding regulatory DNA in the human genome. *Nat. Biotechnol.* 35, 732–746. <https://doi.org/10.1038/nbt.3863>
- Farley, E.K., Olson, K.M., Levine, M.S., 2015. Regulatory Principles Governing Tissue Specificity of Developmental Enhancers. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 80, 27–32. <https://doi.org/10.1101/sqb.2015.80.027227>
- Goodman, P.A., Medina-Martinez, O., Fernandez-Mejia, C., 1996. Identification of the human insulin negative regulatory element as a negative glucocorticoid response element. *Mol. Cell. Endocrinol.* 120, 139–146. [https://doi.org/10.1016/0303-7207\(96\)03830-0](https://doi.org/10.1016/0303-7207(96)03830-0)
- Grosveld, F., van Assendelft, G.B., Greaves, D.R., Kollias, G., 1987. Position-independent, high-level expression of the human beta-globin gene in transgenic mice. *Cell* 51, 975–985. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(87\)90584-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(87)90584-8)
- Han, Z., Li, W., 2022. Enhancer RNA: What we know and what we can achieve. *Cell Prolif.* 55, e13202. <https://doi.org/10.1111/cpr.13202>
- Hong, D., Jeong, S., 2023. 3'UTR Diversity: Expanding Repertoire of RNA Alterations in Human mRNAs. *Mol. Cells* 46, 48–56. <https://doi.org/10.14348/molcells.2023.0003>
- Hou, T.Y., Kraus, W.L., 2021. Spirits in the Material World: Enhancer RNAs in Transcriptional Regulation. *Trends Biochem. Sci.* 46, 138–153. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2020.08.007>
- Hu, Y., Horlbeck, M.A., Zhang, R., Ma, S., Shrestha, R., i in., 2025. Multiscale footprints reveal the organization of cis-regulatory elements. *Nature* 638, 779–786. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08443-4>
- Huang, D., Ovcharenko, I., 2022. Enhancer–silencer transitions in the human genome. *Genome Res.* 32, 437–448. <https://doi.org/10.1101/gr.275992.121>
- Jeziorska, D.M., Jordan, K.W., Vance, K.W., 2009. A systems biology approach to understanding cis-regulatory module function. *Semin. Cell Dev. Biol.* 20, 856–862. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2009.07.007>
- Kahles, A., Lehmann, K.-V., Toussaint, N.C., Hüser, M., Stark, S., 2018. Comprehensive Analysis of Alternative Splicing Across Tumors from 8,705 Patients. *Cancer Cell* 34, 211–224.e6. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.07.001>
- Kim, S., Wysocka, J., 2023. Deciphering the multi-scale, quantitative cis-regulatory code. *Mol. Cell* S1097-2765(22)01215–1. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.12.032>
- Kolovos, P., Knoch, T.A., Grosveld, F.G., Cook, P.R., Papantonis, A., 2012. Enhancers and silencers: an integrated and simple model for their function. *Epigenetics Chromatin* 5, 1. <https://doi.org/10.1186/1756-8935-5-1>
- Lam, M.T., Li, W., Rosenfeld, M.G., Glass, C.K., 2014. Enhancer RNAs and regulated transcriptional programs. *Trends Biochem.*

- Sci. 39, 170–182. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2014.02.007>
- Levings, P.P., Bungert, J., 2002. The human beta-globin locus control region. *Eur. J. Biochem.* 269, 1589–1599. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2002.02797.x>
- Li, Q., Liu, X., Wen, J., Chen, X., Xie, B., Zhao, Y., 2023. Enhancer RNAs: mechanisms in transcriptional regulation and functions in diseases. *Cell Commun. Signal.* 21, 191. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01206-0>
- Li, Q., Peterson, K.R., Fang, X., Stamatoyannopoulos, G., 2002. Locus control regions. *Blood* 100, 3077–3086. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-04-1104>
- Mao, R., Wu, Y., Ming, Y., Xu, Y., Wang, S., et al., 2019. Enhancer RNAs: a missing regulatory layer in gene transcription. *Sci. China Life Sci.* 62, 905–912. <https://doi.org/10.1007/s11427-017-9370-9>
- Mathelier, A., Shi, W., Wasserman, W.W., 2015. Identification of altered *cis*-regulatory elements in human disease. *Trends Genet.* 31, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.12.003>
- Morris, D.R., Geballe, A.P., 2000. Upstream Open Reading Frames as Regulators of mRNA Translation. *Mol. Cell. Biol.* 20, 8635–8642.
- Niu, M., Tabari, E., Ni, P., Su, Z., 2018. Towards a map of *cis*-regulatory sequences in the human genome. *Nucleic Acids Res.* 46, 5395–5409. <https://doi.org/10.1093/nar/gky338>
- Ogbourne, S., Antalis, T.M., 1998. Transcriptional control and the role of silencers in transcriptional regulation in eukaryotes. *Biochem. J.* 331, 1–14. <https://doi.org/10.1042/bj3310001>
- Pagni, S., Mills, J.D., Frankish, A., Mudge, J.M., Sisodiya, S.M., 2022. Non-coding regulatory elements: Potential roles in disease and the case of epilepsy. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 48, e12775. <https://doi.org/10.1111/nan.12775>
- Pang, B., Snyder, M.P., 2020. Systematic identification of silencers in human cells. *Nat. Genet.* 52, 254–263. <https://doi.org/10.1038/s41588-020-0578-5>
- Poller, W., Sahoo, S., Hajjar, R., Landmesser, U., Krichevsky, A.M., 2023. Exploration of the Noncoding Genome for Human-Specific Therapeutic Targets-Recent Insights at Molecular and Cellular Level. *Cells* 12, 2660. <https://doi.org/10.3390/cells12222660>
- Razin, S.V., Ulianov, S.V., Iarovaia, O.V., 2023. Enhancer Function in the 3D Genome. *Genes* 14, 1277. <https://doi.org/10.3390/genes14061277>
- Ryczek, N., Łyś, A., Makalowska, I., 2023. The Functional Meaning of 5'UTR in Protein-Coding Genes. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 2976. <https://doi.org/10.3390/ijms24032976>
- Sartorelli, V., Lauberth, S.M., 2020. Enhancer RNAs are an important regulatory layer of the epigenome. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 27, 521–528. <https://doi.org/10.1038/s41594-020-0446-0>
- Segert, J.A., Gisselbrecht, S.S., Bulyk, M.L., 2021. Transcriptional silencers: driving gene expression with the brakes on. *Trends Genet. TIG* 37, 514–527. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2021.02.002>
- Shabalina, S.A., Spiridonov, N.A., 2004. The mammalian transcriptome and the function of non-coding DNA sequences. *Genome Biol.* 5, 105. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-4-105>
- Thomas, H.F., Buecker, C., 2023. What is an enhancer? *Bioessays* 45, 2300044. <https://doi.org/10.1002/bies.202300044>
- Young, S.K., Wek, R.C., 2016. Upstream Open Reading Frames Differentially Regulate Gene-specific Translation in the Integrated Stress Response. *J. Biol. Chem.* 291, 16927–16935. <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.733899>