

## A pioneer for genome access

Svetlana Dodonova, Christian Dienemann, and Patrick Cramer

Department of *Molecular Biology*

Stem cells are fundamental to life. They are pluripotent and can be converted into other cell types. Pluripotency and cell type conversion both rely on 'pioneer' transcription factors. Such factors invade chromatin and activate regions of the genome that define the cell type. Our new study now shows how a pioneer factor accesses the genome.

The activity of the human genome is controlled by more than 1,600 transcription factors. These factors recognize DNA elements and recruit proteins to regulate gene activity. Most of them only bind free DNA that it is not wrapped up into chromatin. Only so-called pioneer factors can bind chromatin directly, they do so via contacts to its nucleosome units. Pioneer factors are required for stem cell pluripotency, embryo development, and cell differentiation. But it is poorly understood how they engage with chromatin and trigger cell type conversion.

A prominent pioneer factor is SOX2. This factor is essential for the self-renewal of embryonic stem cells. SOX2 is also part of the *Yamanaka cocktail*, which is used to reprogram cells into induced pluripotent stem cells for regenerative medicine. SOX2 interacts with nucleosomes and can trigger chromatin opening. There are over a dozen factors in the SOX family that are essential for development and can lead to severe congenital disorders and cancer when mutated.

We now report structures of the DNA-binding domains of SOX2 and SOX11 bound to nucleosomes – the first structures of pioneer factor complexes with nucleosomes to date (Dodonova et al., 2020; see figure). We find that SOX factors can bind and locally distort DNA on both sides of the nucleosomal disc. SOX factor binding also facilitates detachment of terminal nucleosomal DNA and thereby increases DNA accessibility. SOX factors furthermore trigger a repositioning of the N-terminal region of histone H4. This is predicted to interfere with the stacking of nucleosomes and higher-order chromatin structure. Traditionally, pioneer factors were thought to mark chromatin regions and recruit other factors that can slide, evict, and modify nucleosomes. Our results, however, indicate that pioneer factors can to some extent also initiate chromatin opening themselves.

Provided the importance of pioneer factors, why did it take so long to get first structures of such factors bound to nucleosomes? In retrospect, we see how difficult it is to prepare stable pioneer factor-nucleosome complexes that are required for structural analysis. Indeed, we only succeeded because we previously selected DNA sequences for stable complex formation (Zhu et al., 2018). Also, the SOX domains are small and difficult to spot by cryo-electron microscopy, and their nucleosome complexes are pseudo-symmetric and difficult to orient.

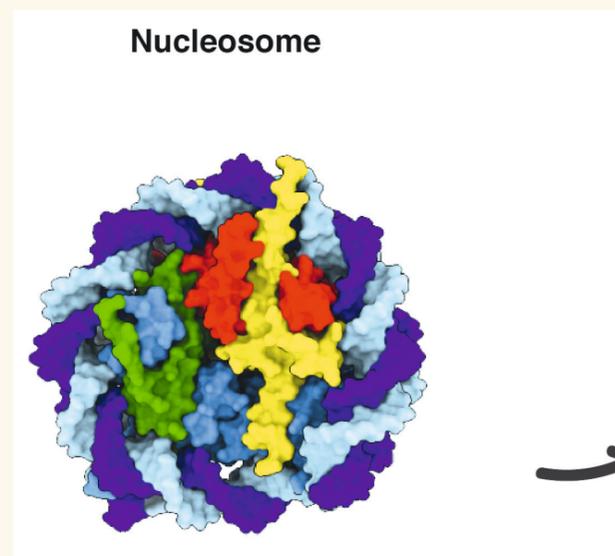
In the future, we will study how various pioneer factors cooperate to open chromatin and activate genes. These studies can contribute to an understanding of the molecular grammar that underlies stem cell pluripotency and cell type-specific genome activity.

### Previous study that paved the way

**Zhu F, Farnung L, Kaasinen E, Sahu B, Yin Y, Wei B, Dodonova SO, Nitta KR, Morgunova E, Taipale M, Cramer P, Taipale J:** The interaction landscape between transcription factors and the nucleosome. *Nature* **562**, 76-81 (2018).

### New study described here

**Dodonova SO, Zhu F, Dienemann C, Taipale J, Cramer P:** Nucleosome-bound SOX2 and SOX11 structures elucidate pioneer factor function. *Nature*, doi: 10.1038/s41586-020-2195-y (2020).



Structures of the canonical nucleosome (left) and the nucleosome-SOX complex (right). Surface representations of histone proteins (yellow, red, green, blue) and DNA (blue/cyan). The SOX factors are shown in pink. SOX factor binding goes along with a detachment of terminal DNA, increasing DNA accessibility to other factors.

## Ein Wegbereiter zum Genomzugang

Svetlana Dodonova, Christian Dienemann, und Patrick Cramer

Abteilung für *Molekularbiologie*

Stammzellen sind lebenswichtig. Sie sind pluripotent und können in andere Zelltypen umgewandelt werden. Pluripotenz und Zelltyp-Umwandlung werden durch sogenannte Pionier-Transkriptionsfaktoren erreicht. Solche Faktoren dringen in das Chromatin ein und aktivieren Regionen des Genoms, die den Zelltyp definieren. Unsere neueste Studie zeigt, wie ein Pionierfaktor Bindungsenergie nutzt, um auf das Genom zuzugreifen.

Die Aktivität des menschlichen Genoms wird durch mehr als 1600 Transkriptionsfaktoren gesteuert. Diese Faktoren erkennen DNA-Elemente und rekrutieren Proteine für die Genaktivierung. Die meisten Transkriptionsfaktoren binden allerdings nur an freie DNA. Wenn die DNA als Chromatin verpackt ist, binden sie nicht. Dies können nur sogenannte Pionierfaktoren, indem sie an Nucleosomen – Komplexe aus DNA und Histonen, die die DNA im Chromatin als dicke Faser zusammenhalten – andocken. Pionierfaktoren werden für die Pluripotenz von Stammzellen, die Embryonalentwicklung und die Zelldifferenzierung benötigt. Man weiß jedoch wenig darüber, wie sie mit dem Chromatin wechselwirken und die Umwandlung des Zelltyps auslösen.

Ein wichtiger Pionierfaktor ist SOX2. Dieser Faktor ist essenziell für die Selbsterneuerung embryonaler Stammzellen. SOX2 ist auch Teil des sogenannten *Yamanaka-Cocktails*, mit dem Zellen für die regenerative Medizin zu induzierten pluripotenten Stammzellen neu programmiert werden. SOX2 interagiert mit Nucleosomen und kann die

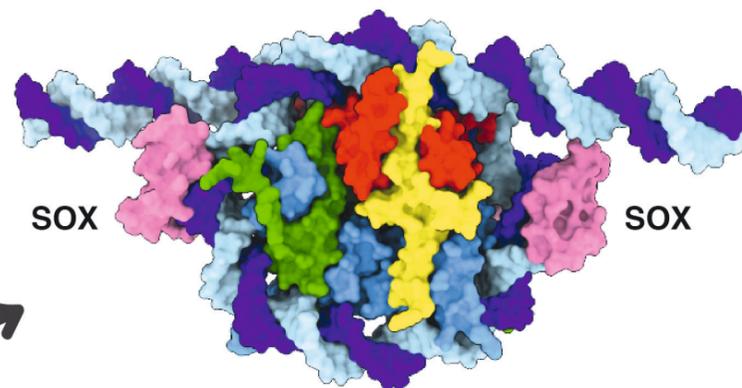
Öffnung des Chromatins auslösen. Es gibt über ein Dutzend Faktoren in der SOX-Familie, die für die Entwicklung wesentlich sind und bei Mutation zu Krebs führen können.

Wir berichten in unserer aktuellen Publikation über Strukturen der DNA-Bindungsdomänen von SOX2 und SOX11 im Komplex mit Nucleosomen (Dodonova et al., 2020; siehe Abbildung). Wie wir herausgefunden haben, binden die SOX-Faktoren DNA auf beiden Seiten der Nucleosomen-Scheibe und können diese lokal verzerren. Die Bindung des SOX-Faktors erleichtert auch die Ablösung der endständigen DNA von Nucleosomen und erhöht so die Zugänglichkeit der DNA für andere Proteine. SOX-Faktoren lösen ferner eine Neupositionierung der N-terminalen Region des Histons H4 aus. Dies beeinträchtigt die Stapelung von Nucleosomen und wahrscheinlich auch von Chromatinstrukturen höherer Ordnung. Bisher wurde angenommen, dass Pionierfaktoren Chromatin öffnen, indem sie andere Faktoren rekrutieren, die Nucleosomen verschieben, entfernen oder verändern. Unsere Ergebnisse zeigen jedoch, dass Pionierfaktoren die Chromatinöffnung selbst in Gang setzen und zugänglicher für andere Faktoren machen können.

Warum hat es angesichts der Bedeutung von Pionierfaktoren so lange gedauert, bis erste Strukturen solcher Faktoren im Komplex mit Nucleosomen aufgeklärt werden konnten? Rückblickend wissen wir jetzt, wie schwierig es ist, stabile Pionierfaktor-Nucleosom-Komplexe herzustellen, die für die Strukturanalyse benötigt werden. Dies gelang uns nur, weil wir zuvor DNA-Sequenzen für die stabile Komplexbildung selektiert hatten (Zhu et al., 2018). Außerdem sind SOX-Domänen klein und in der Kryo-Elektronenmikroskopie schwer zu sehen; ihre Nucleosomen-Komplexe sind pseudo-symmetrisch und schwer zu orientieren.

In Zukunft möchten wir untersuchen, wie mehrere Pionierfaktoren zusammenwirken, um Chromatin zu öffnen und Gene zu aktivieren. Diese Studien können zum Verständnis der molekularen Grammatik beitragen, die der Stammzell-Pluripotenz und der Zelltyp-spezifischen Genomaktivität zugrunde liegt.

### Nucleosome-SOX complex



Strukturen des Nucleosoms (links) und des Nucleosom-SOX-Komplexes (rechts). Gezeigt sind die Oberflächendarstellungen von Histonproteinen (gelb, rot, grün, blau) und DNA (blau/cyan). Die SOX-Faktoren sind rosa gefärbt. Die Bindung der SOX-Faktoren geht mit einer Ablösung der terminalen DNA einher und macht die DNA zugänglicher für andere Faktoren.