

Action Mechanism of Enhancers for Activating Gene Transcription

Yea Woon Kim^{1,*} and AeRi Kim^{2,†,*}

¹Department of Biomedical Laboratory Science, College of Healthcare Medical Science and Engineering, Inje University, Gimhae Gyeongnam 50834, Korea

²Department of Molecular Biology, College of Natural Sciences, Pusan National University, Busan 46241, Korea

Enhancers are cis-elements to regulate transcription of cell/tissue-specific genes in multicellular organisms. These elements locate in upstream or downstream regions of target genes and are found in a long distance up to 100 Kb in some cases. Transcription factors and coactivators bind to enhancers in a chromatin environment. Enhancers appear to facilitate the transcription of target genes by communicating with promoters and activating them. As transcription activation mechanism of enhancers, chromatin looping between enhancers and promoters, tracking of enhancer activity to promoters along the intervening regions, and movement of enhancers and promoters into transcription condensates have been suggested based on various molecular and cellular biology studies. These mechanisms are likely to act together rather than exclusive each other for gene transcription. Understanding of enhancer action mechanism may provide a way to regulate the transcription of cell/tissue-specific genes relating with aging or various diseases.

Key Words: Enhancer, Promoter, Looping, Tracking, Transcription condensate

서 론

생물은 유전체(genome)에 존재하는 수많은 유전자들이 발현되어 살아간다. 다세포 생물의 경우, 세포의 기본적인 기능 유지를 위해 하우스키핑 유전자(housekeeping genes)로 불리는 유전자들이 모든 세포에서 발현되며, 발생, 성장, 조직 분화 등을 위해서 일부 유전자들은 특정 세포/조직에서 발현된다. 이런 유전자들을 세포/조직 특이적 유전자들(cell/tissue-specific genes)이라고 하며, 적절한 시기에 특정 세포에서만 발현되어야 한다. 이를 위해 유전자 발현 조절이 필요하며, 가장 일반적인 조절은 전사 활성화 단계에서 일어난다. 유전체에는 유전자 전사 조절 부위(transcriptional regulatory elements)라는 cis-elements가 존

재하며, 프로모터(promoter), 인핸서(enhancer), 인슐레이터(insulator) 등이 여기에 포함된다. 이들 중 인핸서는 세포/조직 특이적 유전자의 전사를 위해 필요하며, 프로모터와 달리 표적 유전자와 멀리 떨어져 존재하는 경우가 많다. 인핸서는 세포 내외의 신호에 의해 활성화되며, 표적 유전자(target gene)의 프로모터와 소통(communication)함으로써 유전자 전사를 유도한다.

인핸서는 유전체에 산재되어 있는 약 200~400 bp 길이의 DNA 부위로, 사람 유전체를 대상으로 진행된 ENCODE 프로젝트에서 약 668,000여 개의 부위가 인핸서로 추정되었다(Moore et al., 2020). 지금까지 밝혀진 인핸서들은 표적 유전자의 상류지역(upstream)이나 하류지역(downstream), 그리고 인트론(intron) 등 다양한 위치에 존재하고 있으며, 인핸서의 방향(orientation)이나 거리는

Received: August 16, 2023 / Revised: September 21, 2023 / Accepted: September 22, 2023

*Professor.

†Corresponding author: AeRi Kim. Department of Molecular Biology, College of Natural Sciences, Pusan National University, Busan 46241, Korea. Tel: +82-51-510-3683, Fax: +82-51-513-9258, e-mail: kimaeri@pusan.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

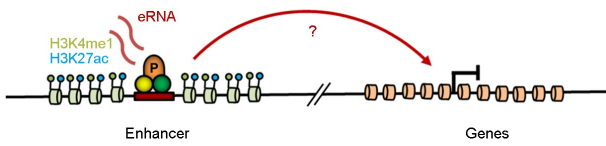


Fig. 1. Transcription activation by enhancers. Enhancers are cis-regulatory elements to regulate gene transcription in a long distance. Active enhancers are occupied by transcription factors and coactivators and marked by specific histone modifications such as H3K4me1 and H3K27ac. Enhancer RNA is transcribed from them. Cell/tissue-specific genes are transcriptionally activated by the enhancers.

표적 유전자의 전사 활성화에 영향을 미치지 않는 것으로 보인다(Chien et al., 2011). 인핸서 부위는 특별한 크로마틴(chromatin) 구조를 갖고 있는데, 대표적으로 뉴클레오솜(nucleosome) 구조가 형성되지 않아서 DNase I과 같은 핵산가수분해효소(nuclease)에 의해 쉽게 DNA가 절단된다(Fig. 1) (Boyle et al., 2008; Thurman et al., 2012). 이런 구조는 인핸서 DNA에 존재하는 조직 특이적 전사인자 결합서열(transcription factor binding motifs)을 노출시켜 전사인자의 접근 및 결합을 용이하게 하고, 이 전사인자들은 히스톤 변형 효소(histone modifying enzyme)나 크로마틴 고리형성 인자(looping factor)와 같은 보조인자들(cofactors)을 모집한다. 인핸서 주변의 뉴클레오솜에서는 특징적인 히스톤 변형(modifications)이 일어나는데, 히스톤 H3K4 메틸화(H3K4me1)와 H3K27 아세틸화(H3K27ac)가 대표적이다(Creyghton et al., 2010). 또한 RNA 중합효소 II (RNA polymerase II, RNA Pol II)가 인핸서에 결합하며, 이들은 비교적 짧은 길이의 인핸서 RNA (enhancer RNA, eRNA)를 전사한다(Hah et al., 2013). 최근에는 인핸서를 일반 인핸서(typical enhancer)와 슈퍼 인핸서(super enhancer)로 분류하기도 하는데, 일반 인핸서는 하나의 인핸서가 단독으로 존재하는 경우이며, 슈퍼 인핸서는 여러 개가 모여 집단(cluster)을 형성하는 경우이다. 슈퍼 인핸서는 일반 인핸서보다 전사인자와 보조인자들의 결합 정도가 높으며, 표적 유전자의 전사를 강력하게 활성화시키는 것으로 알려져 있다(Whyte et al., 2013).

앞서 언급한 것처럼 지금까지 알려진 인핸서의 위치 및 표적 유전자까지의 거리는 다양하다. 짧은 경우는 수 Kb 정도이지만, 100 Kb에 이르는 경우도 있다. 이러한 거리적 특징은 인핸서의 작용 기작, 즉 어떻게 멀리 떨어져 있는 표적 유전자를 찾고 전사를 활성화시키는지에 대한 의문을 제기해 왔다. 지난 20여 년 동안 ChIP (Chromatin

Immunoprecipitation), 3C (Chromosome Confirmation Capture), 세포 이미징(cell imaging), CRISPR-Cas9 기반의 여러 기법들을 이용해서 인핸서의 작용 기작이 연구되어 왔으며, 본 총설에서 세포/조직 특이적 유전자의 전사를 조절하기 위한 인핸서-프로모터 사이의 소통(communication) 기작들을 유전자 및 유전체 수준에서 설명하고자 한다.

인핸서와 프로모터 사이의 크로마틴 고리 형성(chromatin looping between enhancers and promoters)을 통한 유전자 전사 활성화

1980년 SV40 인핸서의 기능이 보고된 후, 인핸서의 작용 기작에 대한 여러 모델이 제시되어 왔다(Capocchi, 1980). 그 중 대표적인 것은 인핸서가 멀리 떨어져 있는 표적 유전자 프로모터와 물리적으로 가깝게 위치하며 프로모터를 활성화시켜 전사를 촉진하는 것이다(Fig. 2A). 흔히 인핸서와 프로모터 사이의 크로마틴 고리 형성으로 언급되는데, 이 기작은 3C 기법을 사용하여 실험적으로 증명되었다. 3C 기법은 살아있는 세포에 포름알데히드를 처리하여 핵 내의 크로마틴을 고정한 후, 제한효소를 이용하여 DNA를 여러 조각으로 자르고 다시 연결함으로써 핵에서 인핸서나 프로모터 같은 특정 DNA 부위의 입체적 위치를 보여준다(Dekker et al., 2002; de Wit and de Laat, 2012). 3C 실험을 통해 얻은 결과들은 인핸서와 프로모터가 물리적으로 가깝게 위치하는 반면, 그 사이에 끼인 DNA는 밖으로 빠져나가 고리 구조가 형성됨을 제시하였고, 이렇게 형성된 물리적 근접성은 인핸서의 활성화 및 기능을 프로모터에 직접 전달하게 하는 것으로 생각된다(Tolhuis et al., 2002; Spilianakis and Flavell, 2004). 실제로 발생 및 조직에 따라 전사되는 글로빈 유전자 좌위에서 인핸서-프로모터 사이의 크로마틴 고리 구조가 유전자들의 전사에 맞춰 형성되는 것이 관찰되었다(Palstra et al., 2003; de Laat and Duboule, 2013).

크로마틴 고리 구조는 인핸서와 프로모터에 직간접적으로 결합하는 단백질들에 의해 형성되는 것으로 보인다. 글로빈 좌위의 유전자들은 적혈구 세포 특이적으로 전사되는데, 이 좌위에서 수행된 연구들은 인핸서와 프로모터에 결합하는 전사인자, GATA1, TAL1, KLF1 (Drissen et al., 2004; Vakoc et al., 2005; Yun et al., 2014)이 크로마틴 고리 형성에 필요함을 보여주었다. GATA1과 TAL1은 LDB1 복합체에 결합하는데, 이 때 LDB1이 이합체(dimer)를 형성하여 연결 다리 역할을 함으로써 고리 구조를 형성한다(Wadman et al., 1997; Song et al., 2007; Deng et al., 2012; Li et

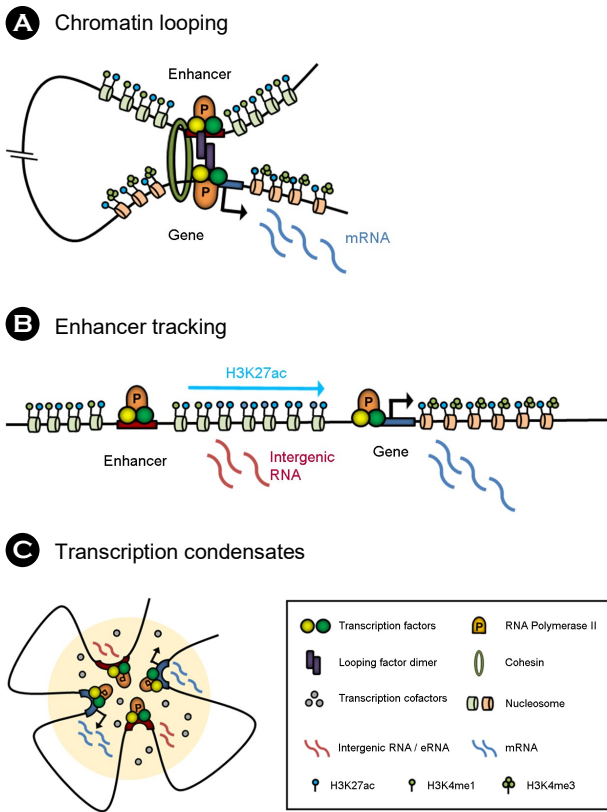


Fig. 2. Mechanisms of enhancer action. (A) A chromatin loop is formed between enhancer and promoter by extruding the intervening region, which allows direct interaction of enhancer with promoter of target gene. (B) RNA is transcribed from enhancers to promoters and histone H3K27ac is enriched between enhancers and promoters, which indicate the tracking of enhancer activity along the intervening regions. (C) Transcription condensates are formed by various weak interaction among transcription factors, cofactors, and RNA Pol II. Enhancers are likely to convey target genes to transcription condensates where biomolecules for gene transcription are enriched.

al., 2013a). 또한 생쥐 줄기세포에서 진행된 연구는 YY1이라는 단백질도 인핸서와 프로모터에 결합하여 이합체를 형성함으로써 고리 구조 형성에 기여하는 것을 보여주었다(López-Perrote et al., 2014; Weintraub et al., 2017). 이외에 Mediator와 cohesin 같은 단백질들도 인핸서-프로모터 사이의 고리 구조 형성에 관여하며, 앞서 언급한 eRNA도 인핸서와 프로모터의 결합에 필요한 요소로 보인다(Hadjur et al., 2009; Kagey et al., 2010; Li et al., 2013b; Hsieh et al., 2014). 이렇듯 고리 구조 형성은 인핸서와 프로모터에 결합하는 단백질들이 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 하지만 어떻게 인핸서가 먼 거리에 떨어져 있는 표적 유전자의 프로모터를 찾아내는지는 여전히 의문이다.

인핸서에서 프로모터로 트래킹(tracking from enhancers to promoters)을 통한 유전자 전사 활성화

트래킹 모델은 이름처럼 인핸서의 활성을 표적 유전자까지 한 걸음 한 걸음씩 전달하는 것이다. 인핸서에 결합한 전사인자들은 RNA Pol II를 포함하는 전사 기구(transcription machinery)를 데려오는데, 이 RNA Pol II가 표적 유전자 방향으로 이동하면서 인핸서의 활성을 프로모터에 전달하는 것으로 보인다(Fig. 2B) (Wang et al., 2005; Zhu et al., 2007). RNA Pol II의 이동은 프로모터 방향으로 noncoding/intergenic RNA를 전사하게 되고, 이렇게 생성된 RNA는 비록 mRNA에 비해 양은 적지만, RT-qPCR이나 RNA-seq 분석에서 명확히 확인된다. 또한 히스톤 아세틸화 효소가 RNA Pol II와 결합하여 함께 이동하는 것으로 생각되며, 그 결과 인핸서와 프로모터 사이 지역에서 높은 수준의 히스톤 아세틸화가 일어난다(Hatzis and Talianidis, 2002; Zhu et al., 2007). 인핸서와 프로모터 사이 지역의 RNA 전사 및 히스톤 아세틸화는 글로빈 좌위를 포함한 여러 유전자 좌위에서 관찰되었으며, 최근 RNA-seq과 ChIP-seq을 이용한 유전체 수준의 연구도 인핸서와 추정 표적 유전자 사이에서 연속적인 히스톤 H3K27ac와 RNA 전사를 보여주었다(Kim et al., 2023). 이렇게 연속적인 히스톤 아세틸화와 RNA 전사는 아세틸화 효소 모집에 관여하는 전사인자를 제거하거나 인핸서와 프로모터 사이에 인슐레이터를 삽입함으로써 억제될 수 있는데, 이러한 변화는 표적 유전자의 전사를 감소시킴으로써 트래킹에 의한 인핸서 활성 전달 기작을 뒷받침한다(Zhu et al., 2007; Kim et al., 2023).

인핸서의 작용 기작으로서 트래킹은 몇 가지 문제점이 있다. 인핸서가 표적 유전자의 첫 번째 인트론에 위치하거나 다른 유전자를 건너뛰어 표적 유전자에 도달해야 하는 경우는 트래킹으로 인핸서의 활성을 전달하기 어렵다. 따라서 트래킹 작용은 표적 프로모터가 비교적 가까운(1~10 Kb) 인핸서에 한정될 것으로 생각된다. 실제로 트래킹 기작이 제시된 사람 ϵ -글로빈 유전자(10 Kb)와 HNF-4 α 유전자(6.6 Kb)는 크로마틴 고리 형성으로 활성화되는 유전자들보다 가까운 거리에 인핸서를 갖고 있었고(Hatzis and Talianidis, 2002; Zhu et al., 2007), 유전체 수준의 연구에서도 인핸서와 표적 유전자가 가까이 있는(평균 5 Kb) 경우 트래킹의 특징들이 뚜렷하게 나타난다(Kim et al., 2023). 또한 대식세포(macrophages)에서 LPS 자극에 의해 유도된 잠재적 인핸서들(latent enhancers)을 분석한 연

구는 잠재적 인핸서들 중 많은 것들이 표적 유전자로부터 1~10 Kb 안에 위치하고 있음을 보여주었다(Ostuni et al., 2013). 지금까지 인핸서의 작용 기작에 대한 연구는 표적 유전자가 멀리 떨어져있는 경우에 집중된 경향이 있었고, 그 결과 크로마틴 고리 형성에 대한 연구가 많이 수행되었다. 하지만 인핸서가 상대적으로 가까이 존재하는 경우는 트래킹이 주요 기작일 수 있으며, 더 많은 연구가 필요한 것으로 생각된다.

전사 공장/전사 응축물(transcription factories/transcription condensates)로 이동에 의한 인핸서의 유전자 전사 활성화

앞서 언급한 인핸서-프로모터 사이의 고리 형성과 트래킹 기작은 주로 하나의 인핸서와 그의 표적 유전자를 대상으로 설명하고 있다. 그러나 실제 세포의 핵에는 많은 수의 인핸서와 유전자들이 존재하며, 이들이 함께 모여 상호작용함으로써 활성화될 수 있다. 이것은 전사 공장(transcription factories/foci)이라는 개념으로 설명되어 왔는데, 같은 전사인자를 필요로 하는 여러 인핸서와 유전자들이 핵의 특정 구역으로 모이게 되고, 여기에 전사인자나 RNA Pol II 등 전사에 필요한 단백질들이 고농도로 존재함으로써 eRNA나 mRNA 전사를 효율적으로 촉진할 수 있게 하는 것이다(Papantonis and Cook, 2013). 실제로 현미경을 이용한 이미징(imaging) 기법으로 세포를 관찰했을 때 세포 당 수백 개의 전사 공장이 관찰되는데, 이는 하나의 세포에서 전사되는 유전자 수(대략 10,000개)와 비교했을 때 훨씬 적은 숫자이다(Jackson et al., 1998; Osborne et al., 2004). 이들 전사 공장에는 전사가 일어나는 유전자들이 모여 있으며, 유전자들의 이동에 의해 이미 형성된 전사 공장이 유지되는 것으로 생각된다(Osborne et al., 2004). 이때 인핸서는 유전자를 전사 공장으로 이동시키는 역할을 담당하는 것으로 보이는데, 서로 다른 염색체에 위치하는 적혈구 특이적 유전자들이 인핸서에 결합하는 조직 특이적 전사인자 KLF1에 의해 함께 전사 공장으로 이동하는 것이 관찰되기도 하였다(Schoenfelder et al., 2010).

최근 전사 공장은 액체-액체 상 분리(liquid-liquid phase separation) 개념이 추가되어 전사 응축물(transcription condensates)로 발전하였다(Fig. 2C) (Hnisz et al., 2017). 액체-액체 상 분리 기작은 이전부터 알려져 왔던 세포 내 생체분자 응축물(biomolecular condensates)이 유전자 전사, 세포주기, 항상성과 같은 생명현상에 역할을 수행한다는 것에서 시작하였고, 최근 많은 관심과 함께 활발한 연구가

진행되고 있다. 전사 응축물이란 생체분자들이 IDR (intrinsic disorder regions)을 통해 약한 결합(수소결합, 반데르발스 힘, 소수성결합, 극성결합 등)을 형성하면서 상 분리가 일어나는 것으로 흡사 전사 공장과 비슷하다. 전사 응축물 형성에는 Oct4, Mediator, CTCF 같은 전사 관련 단백질과 eRNA를 포함한 여러 종류의 RNA가 관여하는 것으로 보이며, 이들은 모두 전사에 필요한 요소들이다(Bojja et al., 2018; Cho et al., 2018; Henninger et al., 2021; Lee et al., 2021; Lee et al., 2022). 특히 전사인자들 중에는 IDR을 갖고 있는 경우가 있는데, 인핸서에 결합한 전사인자들이 응축물 형성에 기여하고, 추가적으로 인핸서들을 끌어들이는 것으로 생각된다. 이렇게 유전자 활성을 위해 인핸서와 프로모터의 직접적인 결합이 꼭 필요한 것은 아니다. 최근 살아있는 세포 이미징 또는 3D-SIM (3D-structured illumination microscopy) 기술을 이용하여 Sox2 유전자와 인핸서를 살펴본 결과, 이들이 아주 가깝게 위치하고 있지는 않았기 때문이다(Alexander et al., 2019; Benabdallah et al., 2019). 이런 구획 형성을 통해 인핸서가 좀 더 쉽게 표적 유전자를 찾고, 모여있는 전사 관련 단백질들을 효율적으로 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

결론

지금까지 3가지 인핸서의 작용 기작에 대해 살펴보았다. 이 기작들은 서로 다른 실험 기법에 의해 제시되었으며, 연구에 사용된 유전자 좌위도 다르다. 따라서 제시된 기작들이 서로 배타적인 것은 아니며, 오히려 함께 작용할 수 있을 것 같다. 인핸서가 트래킹으로 프로모터를 찾은 후, 이들 사이에 크로마틴 고리 구조를 형성할 수도 있고, 인핸서와 유전자가 전사 응축물 안으로 이동한 후, 트래킹이나 고리 구조 형성이 일어날 수도 있을 것이다. 어느 기작을 사용하는 인핸서는 세포/조직 특이적 유전자의 전사에 필수적인 요소이며, 그 기능이 적절한 세포/조직에서 활성화되어 표적 유전자에 전달되어야 한다. 이 과정이 제대로 일어나지 않으면 유전자 발현에 문제가 생기고, 발생 및 분화에 영향을 미칠 것이다. 또한 정도에 따라서 질병을 일으킬 수도 있다. 그 대표적인 예로 지중해성 빈혈(β -thalassemia)과 다지증이 있다. 지중해성 빈혈은 β -글로빈 유전자의 인핸서인 LCR (locus control regions)에 결실과 같은 돌연변이가 발생하여 유전자 전사가 일어나지 못하고, 그로 인해 β -글로빈 폴리펩타이드가 구성 성분인 헤모글로빈 단백질이 정상적으로 합성되지 않아 빈

혈 증상이 나타난다(Thein et al., 2009). 다지증도 Sonic hedgehog (Shh) 유전자의 인핸서인 ZRS (zone of polarizing activity regulatory sequence)의 돌연변이로 발생하는 팔다리 기형의 한 종류이다(Lettice et al., 2003). 따라서 인핸서의 작용 기작을 좀 더 연구하고 이해하는 것이 필요하며, 이는 연구나 치료 목적의 유전자 전사 활성화 또는 억제 를 유도하는데 활용될 수 있을 것이다.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by a 2-Year Research Grant of Pusan National University.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

- Alexander JM, Guan J, Li B, et al. Live-cell imaging reveals enhancer-dependent Sox2 transcription in the absence of enhancer proximity. *Elife*. 2019. 8: e41769.
- Benabdallah NS, Williamson I, Illingworth RS, et al. Decreased enhancer-promoter proximity accompanying enhancer activation. *Mol Cell*. 2019. 76: 473-484.
- Boija A, Klein IA, Sabari BR, et al. Transcription factors activate genes through the phase-separation capacity of their activation domains. *Cell*. 2018. 175: 1842-1855.
- Boyle AP, Davis S, Shulha HP, et al. High-resolution mapping and characterization of open chromatin across the genome. *Cell*. 2008. 132: 311-322.
- Capecchi MR. High efficiency transformation by direct microinjection of DNA into cultured mammalian cells. *Cell*. 1980. 22: 479-488.
- Chien R, Zeng W, Kawauchi S, et al. Cohesin mediates chromatin interactions that regulate mammalian β -globin expression. *J Biol Chem*. 2011. 286: 17870-17878.
- Cho WK, Spille JH, Hecht M, et al. Mediator and RNA polymerase II clusters associate in transcription-dependent condensates. *Science*. 2018. 361: 412-415.
- Creyghton MP, Cheng AW, Welstead GG, et al. Histone H3K27ac separates active from poised enhancers and predicts developmental state. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010. 107: 21931-21936.
- de Laat W, Duboule D. Topology of mammalian developmental enhancers and their regulatory landscapes. *Nature*. 2013. 502: 499-506.
- de Wit E, de Laat W. A decade of 3C technologies: insights into nuclear organization. *Genes Dev*. 2012. 26: 11-24.
- Dekker J, Rippe K, Dekker M, Kleckner N. Capturing chromosome conformation. *Science*. 2002. 295: 1306-1311.
- Deng W, Lee J, Wang H, et al. Controlling long-range genomic interactions at a native locus by targeted tethering of a looping factor. *Cell*. 2012. 149: 1233-1244.
- Drissen R, Palstra RJ, Gillemans N, et al. The active spatial organization of the β -globin locus requires the transcription factor EKLF. *Genes Dev*. 2004. 18: 2485-2490.
- Hadjur S, Williams LM, Ryan NK, et al. Cohesins form chromosomal cis-interactions at the developmentally regulated IFNG locus. *Nature*. 2009. 460: 410-413.
- Hah N, Murakami S, Nagari A, Danko CG, Kraus WL. Enhancer transcripts mark active estrogen receptor binding sites. *Genome Res*. 2013. 23: 1210-1223.
- Hatzis P, Talianidis I. Dynamics of enhancer-promoter communication during differentiation-induced gene activation. *Mol Cell*. 2002. 10: 1467-1477.
- Henninger JE, Oksuz O, Shrinivas K, et al. RNA-mediated feedback control of transcriptional condensates. *Cell*. 2021. 184: 207-225.
- Hnisz D, Shrinivas K, Young RA, Chakraborty AK, Sharp PA. A phase separation model for transcriptional control. *Cell*. 2017. 169: 13-23.
- Hsieh CL, Fei T, Chen Y, et al. Enhancer RNAs participate in androgen receptor-driven looping that selectively enhances gene activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014. 111: 7319-7324.
- Jackson DA, Iborra FJ, Manders EM, Cook PR. Numbers and organization of RNA polymerases, nascent transcripts, and transcription units in HeLa nuclei. *Mol Biol Cell*. 1998. 9: 1523-1536.
- Kagey MH, Newman JJ, Bilodeau S, et al. Mediator and cohesin connect gene expression and chromatin architecture. *Nature*. 2010. 467: 430-435.
- Kim YW, Kang J, Kim A. Hematopoietic/erythroid enhancers activate nearby target genes by extending histone H3K27ac and transcribing intergenic RNA. *FASEB J*. 2023. 37: e22870.
- Lee JH, Wang R, Xiong F, et al. Enhancer RNA m6A methylation facilitates transcriptional condensate formation and gene activation. *Mol Cell*. 2021. 81: 3368-3385.
- Lee R, Kang MK, Kim YJ, et al. CTCF-mediated chromatin

- looping provides a topological framework for the formation of phase-separated transcriptional condensates. *Nucleic Acids Res.* 2022. 50: 207-226.
- Lattice LA, Heaney SJH, Purdie LA, et al. A long-range Shh enhancer regulates expression in the developing limb and fin and is associated with preaxial polydactyly. *Hum Mol Genet.* 2003. 12: 1725-1735.
- Li L, Freudenberg J, Cui K, et al. Ldb1-nucleated transcription complexes function as primary mediators of global erythroid gene activation. *Blood.* 2013a. 121: 4575-4585.
- Li W, Notani D, Ma Q, et al. Functional roles of enhancer RNAs for oestrogen-dependent transcriptional activation. *Nature.* 2013b. 498: 516-520.
- López-Perrote A, Alatwi HE, Torreira E, et al. Structure of Yin Yang 1 oligomers that cooperate with RuvBL1-RuvBL2 ATPases. *J Biol Chem.* 2014. 289: 22614-22629.
- Moore JE, Purcaro MJ, Pratt HE, et al. Expanded encyclopaedias of DNA elements in the human and mouse genomes. *Nature.* 2020. 583: 699-710.
- Osborne CS, Chakalova L, Brown KE, et al. Active genes dynamically colocalize to shared sites of ongoing transcription. *Nat Genet.* 2004. 36: 1065-1071.
- Ostuni R, Piccolo V, Barozzi I, et al. Latent enhancers activated by stimulation in differentiated cells. *Cell.* 2013. 152: 157-171.
- Palstra RJ, Tolhuis B, Splinter E, Nijmeijer R, Grosveld F, de Laat W. The β -globin nuclear compartment in development and erythroid differentiation. *Nat Genet.* 2003. 35: 190-194.
- Papantonis A, Cook PR. Transcription factories: genome organization and gene regulation. *Chem Rev.* 2013. 113: 8683-8705.
- Schoenfelder S, Sexton T, Chakalova L, et al. Preferential associations between co-regulated genes reveal a transcriptional interactome in erythroid cells. *Nat Genet.* 2010. 42: 53-61.
- Song SH, Hou C, Dean A. A positive role for NLI/Ldb1 in long-range β -globin locus control region function. *Mol Cell.* 2007. 28: 810-822.
- Spilianakis CG, Flavell RA. Long-range intrachromosomal interactions in the T helper type 2 cytokine locus. *Nat Immunol.* 2004. 5: 1017-1027.
- Thein SL, Wood WG. The molecular basis of β -thalassemia, $\delta\beta$ -thalassemia, and hereditary persistence of fetal hemoglobin. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Weatherall DJ, eds. *Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management.* Cambridge: Cambridge University Press. 2009: 323-356.
- Thurman RE, Rynes E, Humbert R, et al. The accessible chromatin landscape of the human genome. *Nature.* 2012. 489: 75-82.
- Tolhuis B, Palstra RJ, Splinter E, Grosveld F, de Laat W. Looping and interaction between hypersensitive sites in the active β -globin locus. *Mol Cell.* 2002. 10: 1453-1465.
- Vakoc CR, Letting DL, Gheldof N, et al. Proximity among distant regulatory elements at the β -globin locus requires GATA-1 and FOG-1. *Mol Cell.* 2005. 17: 453-462.
- Wadman IA, Osada H, Grütz GG, et al. The LIM-only protein Lmo2 is a bridging molecule assembling an erythroid, DNA-binding complex which includes the TAL1, E47, GATA-1 and Ldb1/NLI proteins. *EMBO J.* 1997. 16: 3145-3157.
- Wang Q, Carroll JS, Brown M. Spatial and temporal recruitment of androgen receptor and its coactivators involves chromosomal looping and polymerase tracking. *Mol Cell.* 2005. 19: 631-642.
- Weintraub AS, Li CH, Zamudio AV, et al. YY1 is a structural regulator of enhancer-promoter loops. *Cell.* 2017. 171: 1573-1588.
- Whyte WA, Orlando DA, Hnisz D, et al. Master transcription factors and mediator establish super-enhancers at key cell identity genes. *Cell.* 2013. 153: 307-319.
- Yun WJ, Kim YW, Kang Y, Lee J, Dean A, Kim A. The hematopoietic regulator TAL1 is required for chromatin looping between the β -globin LCR and human γ -globin genes to activate transcription. *Nucleic Acids Res.* 2014. 42: 4283-4293.
- Zhu X, Ling J, Zhang L, Pi W, Wu M, Tuan D. A facilitated tracking and transcription mechanism of long-range enhancer function. *Nucleic Acids Res.* 2007. 35: 5532-5544.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2023.29.3.103>

Cite this article as: Kim YW, Kim AR. Action Mechanism of Enhancers for Activating Gene Transcription. *Biomedical Science Letters.* 2023. 29: 103-108.