



УДК 576.315.42

САМООРГАНИЗАЦИЯ ХРОМАТИНОВОЙ ФИБРИЛЛЫ В ТОПОЛОГИЧЕСКИ-АССОЦИИРОВАННЫЕ ДОМЕНЫ¹

© 2017 г. С. В. Разин*,[#], А. А. Гаврилов*, П. Кос**, С. В. Ульянов**

*Институт биологии гена РАН,
Россия, 119334 Москва, ул. Вавилова 34/5

**Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 06.06.2016 г.

Принята к печати 03.08.2016 г.

В последние годы с помощью ряда экспериментальных подходов показано, что трехмерная организация эукариотического генома играет важную роль в регуляции его активности. Одним из наиболее важных результатов явилась демонстрация того, что геном разделяется на относительно независимые топологические домены (ТАДы), которые ограничивают сферу действия регуляторных элементов, т.е. являются одновременно и регуляторными доменами генома. В этой связи чрезвычайно важным представляется понять механизм формирования ТАДов. В этой обзорной статье мы обсуждаем наши последние данные, демонстрирующие, что формирование ТАДов направляется простыми физическими законами и обусловлено формированием межнуклеосомных контактов в неактивном хроматине.

Ключевые слова: хроматин, топологически-ассоциированный домен, компьютерное моделирование, активные гены, инсуляторы.

DOI: 10.7868/S0132342317010092

ВВЕДЕНИЕ

Вопрос о механизмах, контролирующих репликацию и транскрипцию на уровне пространственной организации эукариотического генома, обсуждается в течение многих лет. Еще в 70-е годы прошлого века К. Шеррер сформулировал модель, постулирующую важную регуляторную роль контактов между удаленными элементами генома [1, 2]. Систематическое изучение пространственной организации хроматина и ее роли в регуляции активности генома стало возможно лишь после появления соответствующих методов исследования, которые известны сейчас под общим названием С-методов [3]. В основе всех этих технологий лежит процедура лигирования фрагментов ДНК, расположенных близко друг от друга в пространстве ядра (англ. *proximity ligation*), которая впервые была использована еще в 90-е годы прошлого века [4, 5], но получила широкую известность только после разработки протокола

фиксации конформации хромосомы (3C) [6]. Метод Hi-C [7] является полногеномным вариантом метода фиксации конформации хромосомы, который позволяет охарактеризовать полный спектр контактов между различными участками всего генома. С использованием этого метода было продемонстрировано, что в ядрах клеток млекопитающих присутствуют пространственно сегрегированные активный и неактивный хроматиновые компартменты [7]. При проведении анализа с более высоким разрешением было показано, что геном разделяется на так называемые топологически-ассоциированные домены (ТАДы), которые характеризуются относительно высоким уровнем контактов удаленных геномных элементов внутри ТАДа и пониженной частотой таких контактов между геномными элементами, находящимися в разных ТАДах [8–10]. Средние размеры ТАДов у дрозофилы (сотни тысяч нуклеотидных пар) оказались в 10 раз меньше, чем у млекопитающих (миллионы нуклеотидных пар) [8–11]. В первоначальных работах подчеркивалась консервативность организации хромосом в ТАДы между клетками, дифференцированными по разным путям, и в границах синтенных областей в геномах разных организмов [8]. Однако, степень упомянутой консервативности является ограниченной. У млекопитающих около 60–80% границ ТАДов совпадает в

¹ Статья публикуется по материалам сообщения, представленного на конференции “Химическая биология-2016”; г. Новосибирск, 24–29 июля 2016 г.

Сокращения: ТАД — топологически ассоциированный домен хроматина.

[#] Автор для связи (тел.: +7 (903) 123-35-49; факс: +7 (499) 1359787; эл. почта: sergey.v.razin@usa.net).

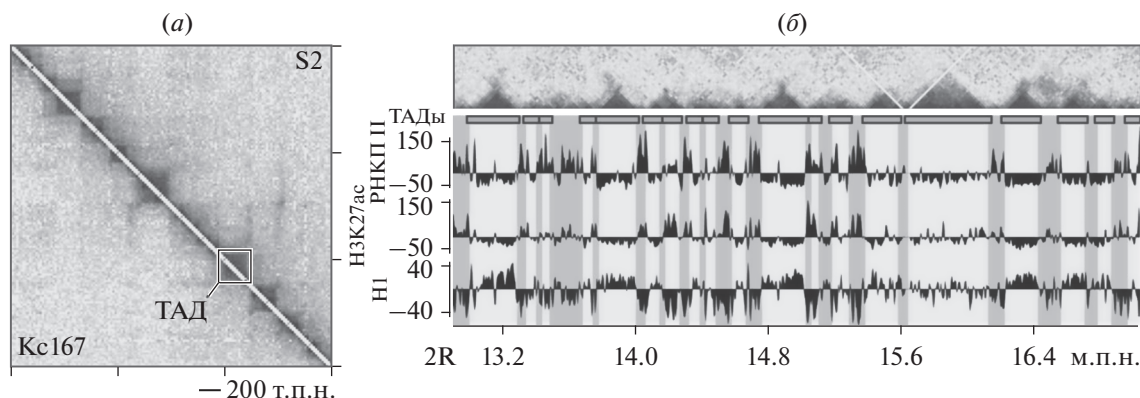


Рис. 1. (а) Фрагмент тепловой карты пространственной структуры хроматина клеток Kc167 и S2. Топологически ассоциированный домен (ТАД) выделен рамкой. (б) Эпигенетические марки активного хроматина (РНК-полимераза II, гистон H3, ацетилованный по лизину-27) обогащены в интер-ТАДах и граничных участках (серые вертикальные прямоугольники); марки неактивного хроматина (линкерный гистон H1) обогащены внутри ТАДов (горизонтальные серые прямоугольники под тепловой картой). Показаны профили ChIP-seq (по данным modENCODE).

клетках, дифференцированных по разным путям [8, 12]. У дрозофилы количество границ ТАДов, совпадающих в клетках эмбрионов и различных клеточных линиях, составляет 40–50% [11, 13].

Организация хромосом в ТАДы накладывает определенные ограничения на возможность установления контактов между удаленными регуляторными элементами, в том числе энхансерами и промоторами. Большинство таких регуляторных контактов реализуется внутри ТАДа. Объединение ТАДов в результате утраты разделяющего их участка ДНК приводит к существенным изменениям в профилях экспрессии генов и может быть причиной возникновения различных наследственных заболеваний [14–19]. Рядом авторов было продемонстрировано, что ТАДы представляют собой относительно независимые регуляторные домены, внутри которых можно проследить координированную активацию, либо репрессию генов [9, 20–26]. В силу всего вышесказанного чрезвычайно важным представляется понять, как формируются ТАДы и что может обуславливать разграничение соседних ТАДов. Это и было задачей нашего исследования.

КАРТИРОВАНИЕ ТАДОВ В ЧЕТЫРЕХ ЛИНИЯХ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ДРОЗОФИЛЫ И АНАЛИЗ КОРРЕЛЯЦИЙ МЕЖДУ ПРОФИЛЯМИ РАЗДЕЛЕНИЯ ХРОСОМ НА ТАДЫ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

В недавно опубликованной работе [28] мы построили карты пространственной организации геномов двух эмбриональных (S2 и Kc167), личиночной (Dm-BG3c2) и взрослой (OSC) культивируемых клеточных линий дрозофилы. Разреше-

ние карт (размер геномного бина) составило 20 т.п.н. Для аннотации ТАДов был использован программный инструмент Armatus [27]. С использованием этой программы в изученных клеточных линиях было аннотировано примерно одинаковое (около 580) количество ТАДов с медианным размером 140 т.п.н., разделенных интер-ТАДами, медианная протяженность которых составляла 40 т.п.н. Хотя при визуальном анализе тепловых карт, отражающих частоты пространственных контактов различных участков генома (рис. 1а), можно было видеть сходство между клеточными линиями, сила границ ТАДов различалась, в силу чего в каждой из клеточных линий программный инструмент Armatus аннотировал определенное число не совпадающих по позициям доменов (примерно треть при попарном сравнении клеточных линий).

Уже при визуальном сравнении профилей разделения хромосом на ТАДы с профилями распределения различных эпигенетических модификаций (рис. 1б) можно было видеть, что активные области генома, характеризующиеся присутствием РНК-полимеразы II (РНКП II) и высоким уровнем ацетилирования гистонов, совпадают с интер-ТАДами. Это наблюдение полностью подтвердилось и при последующем биоинформатическом анализе [28]. Для анализа все 20 т.п.н. граничные бины были объединены в единую группу (бин 0). Бины, расположенные в интер-ТАДах и ТАДах, были объединены в группы соответственно расстоянию, на котором они располагались от граничных бинов, и расположены слева (интер-ТАДы), либо справа (ТАДы) от граничного бина (рис. 2а). Для каждой группы бинов была рассчитана представленность различных эпигенетических маркеров (Z-значение). Результаты анализа (рис. 2б) показали, что маркеры активного хро-

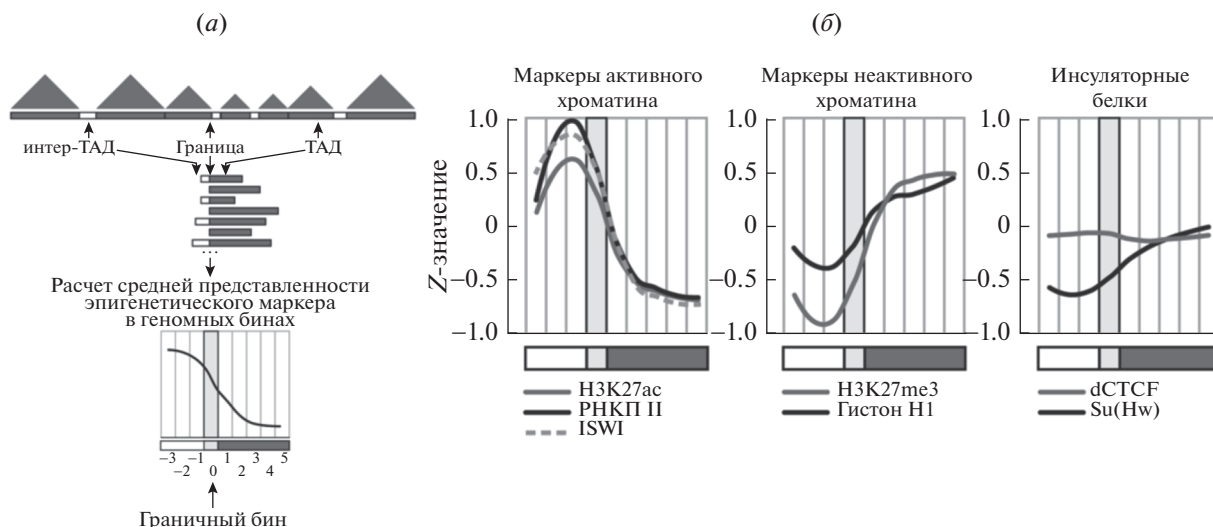


Рис. 2. (а) Схема биоинформатического анализа эпигенетических свойств хроматина ТАДов и интер-ТАДов. (б) Примеры усредненных профилей представленности маркеров активного и неактивного хроматина, а также инсуляторных белков вокруг границ ТАДов.

тина обогащены в граничных бинах и интер-ТАДах, тогда как маркеры неактивного хроматина обогащены в ТАДах. Любопытно, что инсуляторный белок dCTCF, которому приписывают важную роль в разграничении ТАДов [11, 29, 30], оказался примерно одинаково представлен в интер-ТАДах, граничных бинах и ТАДах, тогда как другой известный дрозофилиный инсуляторный белок — Su(Hw) — был преимущественно представлен в ТАДах (рис. 2б) [28].

ПРИСУТСТВИЕ АКТИВНОГО ХРОМАТИНА И ТРАНСКРИПЦИЯ ПРЕПЯТСТВУЮТ УПАКОВКЕ ГЕНОМНОГО СЕГМЕНТА В ТАД

Обогащение интер-ТАДов и граничных участков маркерами активного хроматина и транскрибируемыми генами позволяет предположить, что транскрипционно-активная фракция генома просто не может быть упакована в компактные хроматиновые домены (ТАДы). С тем чтобы проанализировать данный вопрос более детально, мы секвенировали транскриптомы изучаемых нами клеточных линий (GSE69013). Хотя большая часть активно транскрибирующихся геномных участков находилась в интер-ТАДах и граничных бинах, активно-транскрибирующиеся участки присутствовали также и внутри ТАДов (рис. 3а). То же верно и для модификаций гистонов, характерных для активного хроматина. Хотя присутствие активного хроматина типично, прежде всего, для интер-ТАДов и граничных участков, мы обнаружили группу ТАДов, содержащих значительные количества активного хроматина. Если наше предположение о том, что транскрипция и присутствие меток активного хроматина затрудняют

упаковку хроматиновой фибриллы в ТАДы, справедливо, то ТАДы, содержащие транскрибирующиеся гены и значительные количества активного хроматина, должны быть менее компактными. Для ТАДов одинаковых размеров степень компактности может быть оценена посредством сравнения количества пространственных контактов, картированных в каждом из ТАДов. Мы продемонстрировали, что существует отрицательная корреляция между степенью компактности ТАДов и относительным содержанием активного хроматина/уровнем транскрипции (рис. 3б) [28]. Для дальнейшего прояснения вопроса о том, как транскрипция и присутствие маркеров активного хроматина влияет на способность хроматиновой фибриллы укладываться в ТАДы, был использован и еще один подход. Программный инструмент Armatus позволяет анализировать иерархическую организацию ТАДов. Варьируя значения регулируемого параметра гамма, отвечающего за размер картируемых ТАДов, можно идентифицировать большие ТАДы и малые более компактные суб-ТАДы, разделенные границами различной силы [27]. При использовании минимального значения этого параметра (0) практически вся хромосома аннотируется как единый ТАД. Использование максимального значения этого параметра (10.0) приводит к тому, что практически вся хромосома аннотируется как неструктурированный участок (интер-ТАД). С учетом этого обстоятельства ясно, что для каждого геномного бина можно подобрать такое значение параметра гамма (переходная гамма, γ), при котором данный бин перестает аннотироваться как часть ТАДа и начинает аннотироваться как часть интер-ТАДа. Мы провели такого рода анализ для геномов изучаемых нами

клеточных линий. В результате было продемонстрировано, что существует обратная корреляция между величиной χ и уровнем транскрипции, а также содержанием активного хроматина в геномном бине (рис. 3в).

В политенных хромосомах дрозофилы активный хроматин сосредоточен в междисковых районах. В работе Жимулева и соавторов была идентифицирована совокупность хроматиновых маркеров, позволяющих предсказать позиции междисков с контактными картами генома эмбрионов дрозофилы, построенными на основании полученных группой Кавалли Hi-C данных [10], продемонстрировало, что около 70% междисков совпадают с границами ТАДов [31]. Результаты аналогичного анализа полученных нами контактных карт геномов четырех клеточных линий Дрозофилы также показывают, что границы ТАДов существенно обогащены характерными для междисков хроматиновыми маркерами [28].

Взятые в совокупности, результаты нашего анализа подтверждают предположение о том, что присутствие активного хроматина и транскрибирующихся генов препятствуют упаковке хроматиновой фибриллы в ТАДы.

САМООРГАНИЗАЦИЯ ХРОМАТИНОВОЙ ФИБРИЛЛЫ В ТАДЫ

При рассмотрении вопроса о том, чем определяется разделение хромосомы на ТАДы, большинство исследователей обращают внимание на разделяющие ТАДы сегменты хроматиновой фибриллы. Наиболее популярным является представление о том, что в этих участках присутствуют особые геномные элементы, инсультаторы, которые препятствуют установлению пространственных контактов между соседними ТАДами [16, 30, 32]. Однако результаты нашей работы не дают основания утверждать, что инсультаторы играют важную роль в разграничении ТАДов у дрозофилы [28]. Наши результаты показывают, что ТАДы являются преимущественно неактивными, тогда как в разделяющих их участках сосредоточены транскрибирующиеся гены, прежде всего гены домашнего хозяйства. Еще со времен первых работ по изучению предпочтительной чувствительности активных генов к нуклеазам [33] принято считать, что активный хроматин упакован менее компактно. Раньше это объясняли тем, что неактивный хроматин организован в 30-нм фибриллу, тогда как в активном хроматине нуклеосомная фибрилла развернута. Работы последних лет ставят под сомнение существование 30-нм хроматиновой фибриллы в ядрах живых клеток [34–36]. По-видимому, компактные хроматиновые структуры формируются за счет ассоциации нуклеосомных цепей [36]. Ассоциация нуклеосом поддержива-

ется электростатическими взаимодействиями между положительно заряженными N-концевыми доменами гистонов (в первую очередь, гистона H4) одной нуклеосомы и отрицательно заряженной площадкой на поверхности другой нуклеосомы [37]. При низких концентрациях хроматина эти взаимодействия способствуют установлению междисков нуклеосомных контактов внутри одной фибриллы (формированию “30-нм фибриллы”). При высоких концентрациях хроматина те же взаимодействия способствуют установлению межфибриллярных контактов [37–40]. Важно, что ацетилирование гистонов, типичное для активного хроматина [41], снижает положительный заряд N-концевых доменов гистонов, в силу чего препятствует установлению междисков нуклеосомных контактов [42]. Учитывая наши, равно как и ранее опубликованные [10, 11] данные, свидетельствующие о том, что у дрозофилы в интер-ТАДах сосредоточен активный хроматин, тогда как ТАДы состоят преимущественно из неактивного хроматина, мы предположили, что именно различия в способности нуклеосом активного и неактивного хроматина устанавливать междисков нуклеосомных контакты лежат в основе формирования ТАДов и интер-ТАДов. Для проверки этого предположения мы провели компьютерное моделирование укладки нуклеосомной цепи. Виртуальный полимер состоял из 19 блоков, каждый из которых включал сегмент из 50 частиц (нуклеосом), не способных устанавливать контакты, и 500 частиц (нуклеосом), способных устанавливать контакты (рис. 4а). Моделирование, проведенное с использованием метода диссипативной динамики частиц (DPD) [43, 44], продемонстрировало, что полимер свернулся в серию больших глобул, разделенных относительно развернутыми участками [28]. Глобулы состояли преимущественно из частиц, способных устанавливать контакты (нуклеосомы неактивного хроматина), тогда как разделяющие их спейсеры состояли преимущественно из частиц, не способных устанавливать контакты (нуклеосомы активного хроматина) (рис. 4а). Эта тенденция прослеживалась уже при анализе результатов индивидуальных симуляций, но стала еще более очевидной, когда были усреднены результаты 12 таких симуляций (рис. 4б) [28]. В этой связи уместно напомнить, что обычные Hi-C карты представляют собой усредненные результаты анализа пространственной организации генома в сотнях тысяч клеток. Основной вывод из работы по компьютерному моделированию состоит в том, что ТАДы собираются посредством самоорганизации хроматиновой фибриллы, направляемой простыми физическими законами. В основе разделения хромосомы на ТАДы и интер-ТАДы лежит различная способность нуклеосом активного и неактивного хроматина к установлению междисков нуклеосомных контактов. По крайней мере у дрозофи-

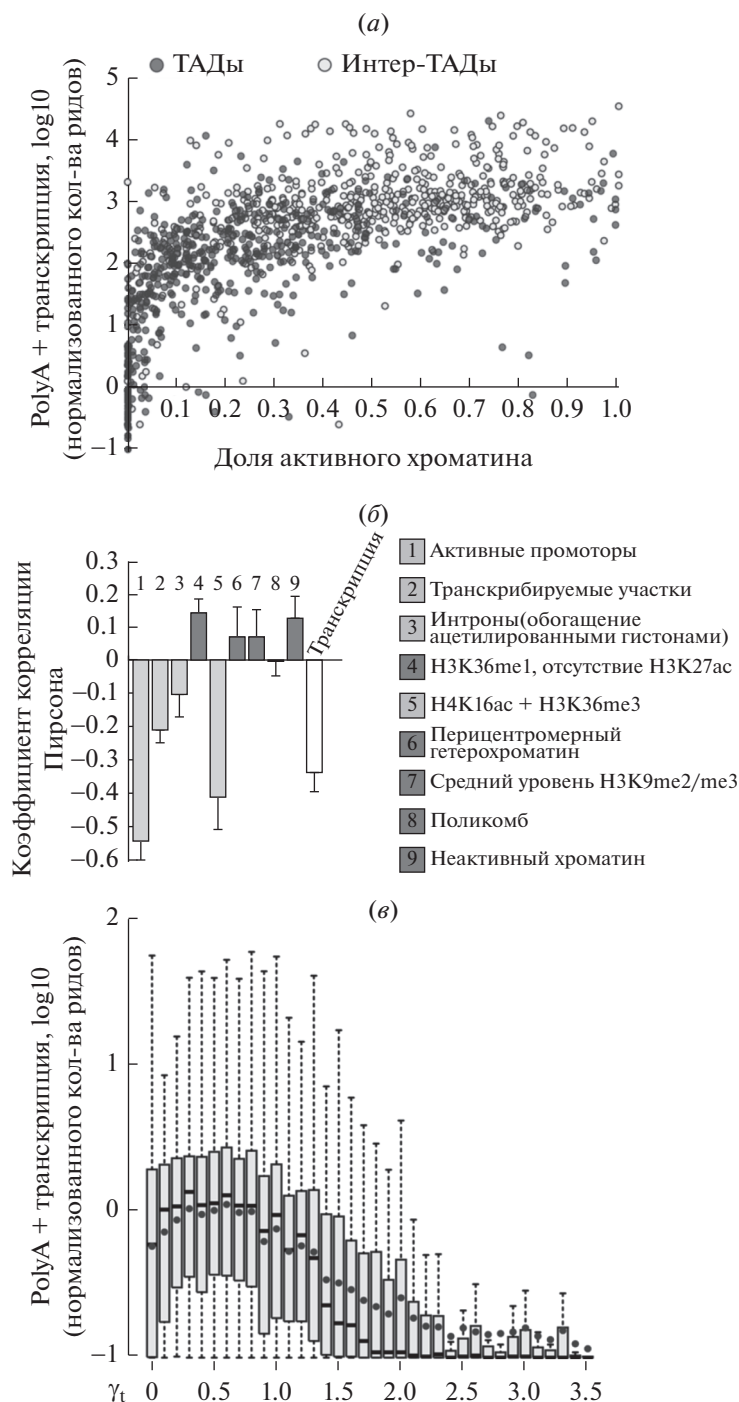


Рис. 3. (a) Диаграмма рассеяния “уровень транскрипции — доля активного хроматина” для ТАДов (темно-серые кружки) и интер-ТАДов (белые кружки). (б) Столбчатая диаграмма коэффициентов корреляции Пирсона для количества контактов, детектированных внутри ТАДов, и содержанием внутри ТАДа различных типов хроматина. Активные типы хроматина выделены светло-серым, неактивные — темно-серым. (в) Диаграмма, показывающая обратную зависимость между уровнем транскрипции в геномном бине и величиной γ_t , при которой данный бин может быть аннотирован как принадлежащий интер-ТАДУ или являющийся граничным бином ТАДа. Черные горизонтальные линии показывают медианные значения уровня транскрипции; темно-серые точки показывают средние значения уровня транскрипции.

лы, инсуляторные белки не играют ключевой роли в определении профиля разделения хромосомы на ТАДы и интер-ТАДы. Определяющую роль в дан-

ном случае играет характер распределения активных и неактивных участков генома. ТАДы в значительной мере являются “хранилищами” невостре-

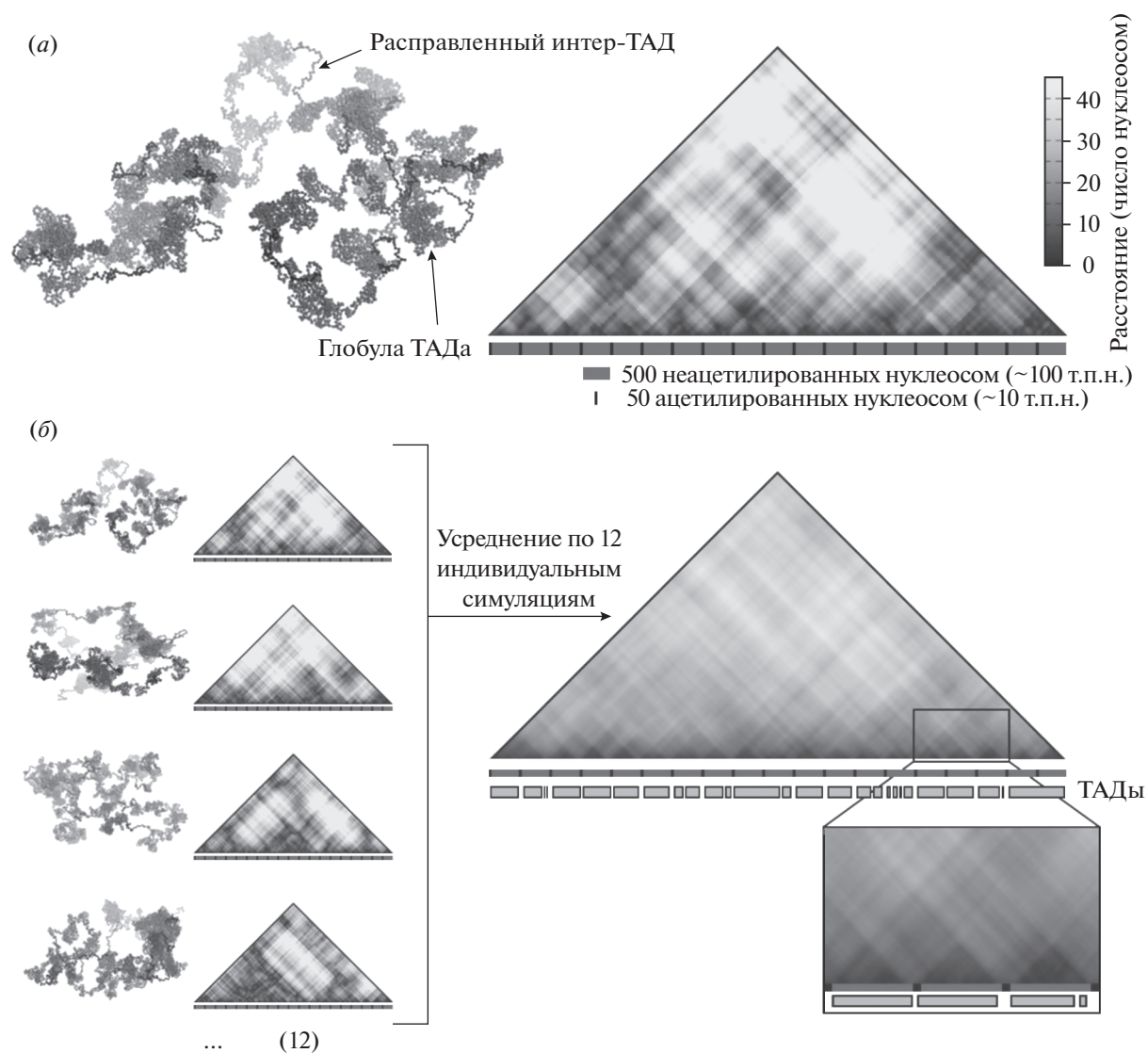


Рис. 4. (а) Пространственная структура (слева) и карта расстояний (справа) для одной из индивидуальных симуляций фолдинга модельного полимера. Расстояния измерены в единицах диаметра мономера (нуклеосомы). (б) Схема, иллюстрирующая получение регулярного профиля ТАДов, образованных участками неацетилированных нуклеосом, при усреднении карт расстояний 12 индивидуальных симуляций фолдинга модельного полимера.

бованных генов. Постоянно экспрессирующиеся гены (гены “домашнего хозяйства”) сосредоточены в интер-ТАДах. Активации транскрипции внутри ТАДа приводит к его декомпактизации, завершающейся в ряде случаев формированием нового интер-ТАДа [28].

Следует отметить, что ранее была предложена модель, постулирующая, что формирование ТАДов обеспечивается взаимодействиями между связанными с ДНК коммунаторными белками [45–47]. При этом авторы допускали, что существуют специфичные для индивидуальных ТАДов коммунаторные белки, которые могут взаимодействовать между собой, но не с коммунаторными белками, присутствующими в составе соседних

ТАДов. Хотя основываясь на этих предположениях авторам удалось продемонстрировать сворачивание виртуального полимера в ТАДы, слабым местом модели является предположение о том, что существуют специфичные для индивидуальных ТАДов коммунаторные белки. Учитывая то обстоятельство, что общее число ТАДов в геноме дрозофилы составляет несколько сотен, такое допущение представляется далеким от реальности. Анализ распределения известных коммунаторных белков (CTCF, ZW5, ZIPIC, Pita) не демонстрирует их сегрегации в индивидуальных ТАДах. Напротив, отмечалась кластеризация сайтов связывания этих белков [48].

ОТ “ГЕННЫХ ХРАНИЛИЩ” К РЕГУЛЯТОРНЫМ ДОМЕНАМ

Как уже говорилось, в хромосомах дрозофилы большинство ТАДов состоят из неактивного хроматина. Тем не менее, около 15% ТАДов содержат транскрибирующиеся гены и различные количества активного хроматина [28]. Хотя эти ТАДы являются менее компактными, они все же не превращаются в развернутые интер-ТАДы. Закономерным представляется вопрос о том, почему этого не происходит, несмотря на то, что в активном хроматине межнуклеосомные контакты в значительной мере утрачиваются. Мы полагаем, что компактность активных ТАДов поддерживается за счет контактов между промоторами и удаленными энхансерами [49, 50] и контактов между различными коммуникаторными элементами [51]. Это наполняет ТАДы новым содержанием. Из генных хранилищ они превращаются в регуляторные домены, в рамках которых энхансер может активировать различные промоторы [20]. Преимущества такой организации понятны. Коль скоро сфера действия энхансера ограничена ТАДом, процесс сканирования энхансером пространства в поисках промотора-мишени существенно сокращается. С учетом того, что перемещения различных геномных элементов внутри клеточного ядра происходят в результате броуновского движения и, в подавляющем большинстве случаев, не имеют направленного характера, ограничение сканируемого пространства может существенно сократить время, необходимое для установления коммуникации между энхансером и промотором. В то же время ТАДы, особенно у млекопитающих, являются достаточно большими, что открывает возможность существования альтернативных регуляторных цепей (и соответствующих альтернативных пространственных конфигураций), включающих различные группы регуляторных элементов. Альтернативные пространственные конфигурации одной и той же геномной области были описаны рядом авторов [49, 52, 53]. Взаимное позиционирование различных геномных элементов внутри ТАДа, скорее всего, обеспечивается способом макроукладки хроматиновой фибриллы, на который могут влиять различные факторы, в том числе присутствие неканонических структур в ДНК, связывание НМГ белков, наличие свободных от нуклеосом участков, инсерции коротких участков активного хроматина в неактивную область и т.д. [54].

Если у дрозофилы ТАДы, прежде всего, являются хранилищами невостребованного генетического материала, то у млекопитающих их регуляторная функция становится более важной. Это коррелирует с 10-кратным увеличением размеров ТАДов и усложнением их организации [55–57]. В частности, у млекопитающих внутри ТАДов ча-

сто присутствуют петлевые домены [58], поддерживаемые при посредстве CTCF и когезина [57, 59, 60]. Существуют достаточно убедительные свидетельства того, что процесс выпетливания фрагментов хроматиновой фибриллы играет важную роль в формировании ТАДов и суб-ТАДов [59, 61]. Все это не отменяет значения межнуклеосомных взаимодействий, которые являются главным “двигателем компактизации” неактивных участков хроматиновой фибриллы.

Разделение генома на ТАДы открыло возможность их последующей эволюции в независимые в определенных пределах структурно-функциональные домены, в рамках которых работают относительно автономные системы регуляции работы генов [62]. Эти структурно-функциональные домены довольно консервативны в эволюции, и их реорганизация (например, в результате хромосомных перестроек) может приводить к серьезным нарушениям в регуляции работы генов [16, 19].

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-14-01088).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Scherrer K. // Adv. Exp. Med. Biol. 1974. V. 44. P. 161–219.
2. Scherrer K. // (Kolodny Ed.) CRC press Inc. Boca Raton, Florida. 1980. V. 1. P. 57–129.
3. de Wit E., de Laat W. // Genes Dev. 2012. V. 26. P. 11–24.
4. Cullen K.E., Klädde M.P., Seyfred M.A. // Science. 1993. V. 261. P. 203–206.
5. Gothard L.Q., Hibbard J.C., Seyfred M.A. // Mol. Endocrinol. 1996. V. 10. P. 185–195.
6. Dekker J., Rippe K., Dekker M., Kleckner N. // Science. 2002. V. 295. P. 1306–1311.
7. Lieberman-Aiden E. et al. // Science. 2009. V. 326. P. 289–293.
8. Dixon J.R., Selvaraj S., Yue F., Kim A., Li Y., Shen Y., Hu M., Liu J.S., Ren B. // Nature. 2012. V. 485. P. 376–380.
9. Nora E.P., Lajoie B.R., Schulz E.G., Giorgetti L., Okamoto I., Servant N., Piolot T., van Berkum N.L., Meisig J., Sedat J., Gribnau J., Barillot E., Bluthgen N., Dekker J., Heard E. // Nature. 2012. V. 485. P. 381–385.
10. Sexton T., Yaffe E., Kenigsberg E., Bantignies F., Leblanc B., Hoichman M., Parrinello H., Tanay A., Cavalli G. // Cell. 2012. V. 148. P. 458–472.
11. Hou C., Li L., Qin Z.S., Corces V.G. // Mol. Cell. 2012. V. 48. P. 471–484.
12. Fraser J. et al. // Mol. Syst. Biol. 2015. V. 11. P. 852.
13. Ulianov S.V., Gavrilov A.A., Razin S.V. // Int. Rev. Cell Mol. Biol. 2015. V. 315. P. 183–244.
14. Petrov A., Allin J., Pirozhkova I., Laoudj D., Lipinski M., Vassetzky Y.S. // Genome Res. 2008. V. 18. P. 39–45.

15. Petrov A., Pirozhkova I., Carnac G., Laoudj D., Lipinski M., Vassetzky Y.S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 6982–6987.
16. Lupianez D.G. et al. // *Cell*. 2015. V. 161. P. 1012–1025.
17. Ji X., Dadon D.B., Powell B.E., Fan Z.P., Borges-Rivera D., Shachar S., Weintraub A.S., Hnisz D., Pegoraro G., Lee T.I., Misteli T., Jaenisch R., Young R.A. // *Cell Stem. Cell*. 2016. V. 18. P. 262–275.
18. Lupianez D.G., Spielmann M., Mundlos S. // *Trends Genet.* 2016. V. 32. P. 225–237.
19. Ibn-Salem J. et al. // *Genome Biol.* 2014. V. 15. P. 423.
20. Symmons O., Uslu V.V., Tsujimura T., Ruf S., Nassari S., Schwarzer W., Etwiller L., Spitz F. // *Genome Res.* 2014. V. 24. P. 390–400.
21. Pope B.D. et al. // *Nature*. 2014. V. 515. P. 402–405.
22. Remeseiro S., Hornblad A., Spitz F. // *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 2015. V.
23. Lonfat N., Duboule D. // *FEBS Lett.* 2015. V. 589. P. 2869–2876.
24. Dileep V., Rivera-Mulia J.C., Sima J., Gilbert D.M. // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 2015. V. 80. P. 53–63.
25. Le Dily F., Bau D., Pohl A., Vicent G.P., Serra F., Soronellas D., Castellano G., Wright R.H., Ballare C., Filion G., Marti-Renom M.A., Beato M. // *Genes Dev.* 2014. V. 28. P. 2151–2162.
26. Le Dily F., Beato M. // *FEBS Lett.* 2015. V. 589. P. 2885–2892.
27. Filippova D., Patro R., Duggal G., Kingsford C. // *Algorithms Mol. Biol.* 2014. V. 9. P. 14.
28. Ulianov S.V., Khrameeva E.E., Gavrillov A.A., Flyamer I.M., Kos P., Mikhaleva E.A., Penin A.A., Logacheva M.D., Imakaev M.V., Chertovich A., Gelfand M.S., Shevelov Y.Y., Razin S.V. // *Genome Res.* 2016. V. 26. P. 70–84.
29. Van Bortle K., Corces V.G. // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2013. V. 23. P. 212–218.
30. Van Bortle K., Nichols M.H., Li L., Ong C.T., Takenaka N., Qin Z.S., Corces V.G. // *Genome Biol.* 2014. V. 15. P. R82.
31. Zhimulev I.F., Zykova T.Y., Goncharov F.P., Khoroshko V.A., Demakova O.V., Semeshin V.F., Pokholkova G.V., Boldyreva L.V., Demidova D.S., Babenko V.N., Demakov S.A., Belyaeva E.S. // *PLoS One*. 2014. V. 9. P. e101631.
32. Phillips-Cremmins J.E. et al. // *Cell*. 2013. V. 153. P. 1281–1295.
33. Weintraub H., Groudine M. // *Science*. 1976. V. 73. P. 848–856.
34. Maeshima K., Imai R., Hikima T., Joti Y. // *Methods*. 2014. V. 70. P. 154–161.
35. Maeshima K., Imai R., Tamura S., Nozaki T. // *Chromosoma*. 2014. V. 123. P. 225–237.
36. Maeshima K., Rogge R., Tamura S., Joti Y., Hikima T., Szerlong H., Krause C., Herman J., Seidel E., DeLuca J., Ishikawa T., Hansen J.C. // *EMBO J.* 2016. 17;35(10). P. 1115–11132.
37. Schalch T., Duda S., Sargent D.F., Richmond T.J. // *Nature*. 2005. V. 436. P. 138–141.
38. Kalashnikova A.A., Porter-Goff M.E., Muthurajan U.M., Luger K., Hansen J.C. // *J. R. Soc. Interface*. 2013. V. 10. P. 20121022.
39. Sinha D., Shogren-Knaak M.A. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. P. 16572–16581.
40. Pepenella S., Murphy K.J., Hayes J.J. // *Chromosoma*. 2014. V. 123. P. 3–13.
41. Shahbazian M.D., Grunstein M. // *Annu. Rev. Biochem.* 2007. V. 76. P. 75–100.
42. Allahverdi A., Yang R., Korolev N., Fan Y., Davey C.A., Liu C.F., Nordenskiöld L. // *Nucleic Acids Res.* 2011. V. 39. P. 1680–1691.
43. Gavrillov A.A., Kudryavtsev Y.V., Chertovich A.V. // *J. Chem. Phys.* 2013. V. 139. P. 224901.
44. Chertovich A., Kos P. // *J. Chem. Phys.* 2014. V. 141. P. 134903.
45. Barbieri M., Chotalia M., Fraser J., Lavitas L.M., Dostie J., Pombo A., Nicodemi M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012. V. 109. P. 16173–16178.
46. Barbieri M., Fraser J., Lavitas L.M., Chotalia M., Dostie J., Pombo A., Nicodemi M. // *Nucleus*. 2013. V. 4. P. 267–273.
47. Fraser J. et al. // *Mol. Syst. Biol.* 2015. V. 11. P. 852.
48. Maksimenko O., Bartkuhn M., Stakhov V., Herold M., Zolotarev N., Jox T., Buxa M.K., Kirsch R., Bonchuk A., Fedotova A., Kyrchanova O., Renkawitz R., Georgiev P. // *Genome Res.* 2015. V. 25. P. 89–99.
49. Tolhuis B., Palstra R.J., Splinter E., Grosveld F., de Laat W. // *Mol. Cell*. 2002. V. 10. P. 1453–1465.
50. Zhang Y. et al. // *Nature*. 2013. V. 504. P. 306–310.
51. Maksimenko O., Georgiev P. // *Front Genet.* 2014. V. 5. P. 28.
52. Philonenko E.S., Klockhov D.B., Borunova V.V., Gavrillov A.A., Razin S.V., Iarovaia O.V. // *Nucleic Acids Res.* 2009. V. 37. P. 7394–7406.
53. Ulianov S.V., Gavrillov A.A., Razin S.V. // *Epigenetics Chromatin*. 2012. V. 5. P. 16.
54. Razin S.V., Gavrillov A.A., Ioudinkova E.S., Iarovaia O.V. // *FEBS Lett.* 2013. V. 587. P. 1840–1847.
55. Weinreb C., Raphael B.J. // *Bioinformatics*. 2015. pii: btv485.
56. Wang X.T., Dong P.F., Zhang H.Y., Peng C. // *Nucleic Acids Res.* 2015. V. 43. P. 7237–7246.
57. Dekker J., Heard E. // *FEBS Lett.* 2015. V. 589. P. 2877–2884.
58. Rao S.S., Huntley M.H., Durand N.C., Stamenova E.K., Bochkov I.D., Robinson J.T., Sanborn A.L., Machol I., Omer A.D., Lander E.S., Aiden E.L. // *Cell*. 2014. V. 159. P. 1665–1680.
59. Sanborn A.L. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015. V. 112. P. E6456–6465.
60. Zuin J., Dixon J.R., van der Reijden M.I., Ye Z., Kolovos P., Brouwer R.W., van de Corput M.P., van de Werken H.J., Knoch T.A., van I.W.F., Grosveld F.G., Ren B., Wendt K.S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2014. V. 111. P. 996–1001.
61. Goloborodko A., Imakaev M.V., Marko J.F., Mirny L. // *Elife*. 2016. V. 5. eLife 2016. doi 10.7554/eLife.14864
62. Maeso I., Tena J.J. // *Semin Cell Dev. Biol.* 2015. doi 10.1016/j.semcdb.2015.12.003

Self-Organization of Chromatin Fiber into Topologically-Associating Domains

S. V. Razin^{*, #}, A. A. Gavrilov^{*}, P. Kos^{}, and S. V. Ulianov^{**}**

[#]Phone: +7 (903) 123-3549; fax: +7 (499) 135-97-87; e-mail: sergey.v.razin@usa.net

^{*}Institute of Gene Biology RAS, ul. Vavilov 34/5, Moscow, 119334 Russia

^{**}Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

The recent evidence demonstrates that spatial organization of eukaryotic genome contributes to regulation of genome activity. It has been observed that the genome is partitioned in self-interacting topologically-associating domains (TADs) which restrict the area of regulatory elements action. Thus they constitute also regulatory domains of the genome. To this end it is very important to unravel the molecular mechanisms underlying TAD formation. In this review article we are discussing our recent observations demonstrating that formation of TADs is directed by simple physical laws and is due to establishing of multiple internucleosomal contacts.

Keywords: chromatin, topologically-associating domain, computer simulation, active genes, insulators