

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Пространственная организация генома как эпигенетический фактор в норме и патологии: роль ядерной оболочки в организации хроматина

Братцева Анна Леонидовна

Студент

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: anabellabr@mail.ru

Влияние ядерной оболочки на экспрессию генов, свойства и пространственную организацию хроматина является важным фактором эпигенетической регуляции [2-5]. Так, прикрепление хроматина к ядерной оболочке вызывает его гетерохроматизацию и отставание в репликации по сравнению с эухроматином, локализованным в центре ядра [1, 3].

В связи с прикреплением гетерохроматина к ядерной оболочке, механизм репликации этой фракции хроматина представляет особый интерес. Пространственные затруднения, возникающие во время репликации прочно прикрепленного к ядерной оболочке гетерохроматина, могут быть преодолены либо за счет изменения связи хроматина с ламинной, либо за счет изменения структуры ядерной оболочки, вплоть до разборки ядерной ламины в местах репликации.

В настоящей работе для определения репликативного статуса гетерохроматина был использован метод импульсного мечения сайтов репликации. Структура ядерной ламины была изучена методами иммуноцитохимического окрашивания клеток СНО антителами к белкам ядерной оболочки ламинам А и В1 с использованием световой микроскопии с суперразрешением. С целью проверки предположения о деполимеризации ядерной ламины и переходе ее белков в растворимую форму, фиксация клеток для иммуноцитохимического окрашивания проводилась двумя способами: непосредственно после введения репликативной метки и с предварительной пермеабиллизацией. Настоящее исследование не выявило структурных изменений ядерной ламины при репликации гетерохроматина. Эксперименты с применением антител к ламинам А и В1 дали схожие результаты: неоднородность ядерной ламины, наблюдаемая при пермеабиллизации, сохранялась и в ее отсутствие, что указывает на сходства в поведении ламин этих двух типов и противоречит гипотезе о переходе белков ядерной ламины в растворимую форму.

Динамические свойства белков ядерной оболочки изучали методом FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching, восстановление флуоресценции после фотообесцвечивания) в сочетании с конфокальной лазерной микроскопией, mRFP-маркированием сайтов репликации и GFP-маркированием ламина В1. Методом FRAP было показано почти полное отсутствие восстановления флуоресценции ламина В1 после фотообесцвечивания, что указывает на его низкую динамическую подвижность.

Полученные результаты позволили заключить, что репликация гетерохроматина не требует разборки ядерной ламины, которая сохраняет свою структуру независимо от репликативного статуса ассоциированного с ней хроматина, при этом ламины А и В1 демонстрируют сходное поведение. Вероятно, пространственные затруднения, возника-

ющие при репликации гетерохроматина решаются за счет тонкой регуляции молекулярных связей, заякоривающих хроматин на ламину.

Литература

1. Craig, J.M., Bickmore, W. A. Chromosome Bands – Flavours to Savour // *Bioessays*. 1993, №5(15). p. 349-354.
2. Kind, J. Single-Cell Dynamics of Genome-Nuclear Lamina Interactions // *Cell*. 2013, №1(153). p. 178–192.
3. Shevelyov, Y. Y., Nurminsky, D.I. The Nuclear Lamina as a Gene-silencing Hub // *Current Issues in Molecular Biology*. 2012, №14(1). p. 27–38.
4. Shimi, T. The A- and B-type nuclear lamin networks: microdomains involved in chromatin organization and transcription // *Genes & Development*. 2008, №22. p. 3409–3421.
5. Van Steensel, B. Genomics tools for unraveling chromosome architecture // *Nature biotechnology*. 2010, №28(10). p. 1089–1095.