ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛАМИН-АССОЦИИРОВАННЫХ ДОМЕНОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ

С.А. Бусыгин, *студент*
Московский государственный университет
(Россия, г. Москва)

DOI:10.24411/2500-1000-2019-11512

Аннотация. *В статье проведен обзор современных методов анализа ламин-ассоциированных доменов генома и связанных с ними белков, регулирующих экспрессию эукариотических генов в краткосрочной и долгосрочной перспективе, важных для поиска молекулярных механизмов контроля состояния этих регионов генома. Закономерным выводом исследования является обоснование необходимости дальнейших исследований ламинов и ассоциированных с ними доменов для систематического подхода к диагностике, профилактике и лечению ламинопатий.*

Ключевые слова: *ламины, клеточное ядро, экспрессия генов, геном, ламинопатии, дифференцировка клеток, гистоны, хромосомы.*

Изучение строения и организации клеток и их геномов – ключевая для понимания механизмов генетики область исследований. Одним из важных компонентов ядра, участвующих в регуляции генома, является лежащий под ядерной мембраной слой белков – ламинов (промежуточных филаментов 5 типа). С ними связаны специфические локусы генома – ассоциированные с ядерной ламиной домены (Lamina-associated domains, LAD), поддерживающие форму интерфазных хромосом и контролирующие репрессию содержащихся в них генов. Поэтому исследование их регулятивных свойств важно для понимания причины и клинической картины связанных с ламиной заболеваний.

Структура ядерной ламины

LAD – геномные регионы, вступающие в молекулярный контакт с белками ламины. Основным методом их определения является технология DamID. В ходе этой процедуры бактериальная аденин-6-метилтрансфераза включается в химерный белок вместе с белком ламина, что приводит к установке меток на связанных с белками ламины участках генома [1]. Эти модифицированные основания затем сопоставляются сотсеквеннированным геномом. Возможный способ исследования иммунопрецепитацией хроматина является технически более сложным.

Проведенный по методике DamID анализ с разрешением в 100000 пар оснований показал, что в контакты с ламиной, как правило, вовлечены продолжительные участки хроматина вплоть до нескольких миллионов пар оснований в длину [2], что позволило предположить наличие поливалентных контактов. Согласованные взаимодействия хромосом с ядерной ламиной стабилизируют их привязку к ней.

Несколько белков ядерной ламины связаны с позиционированием LAD: ламины, эмерин (трансмембранный белок ядерной мембраны) и LBR (Lamin B receptor – трансмембранный белок, связывающий ламин B и гетерохроматин). У них высокий уровень экспрессии, так как они составляют белковый каркас, поддерживающий ядерную оболочку. Характерные для конкретного типа клеток белки осуществляют более тонкую регуляцию.

LAD как подвид гетерохроматина

LAD обладают некоторыми молекулярными чертами гетерохроматина. К примеру, они накладываются на гены, реплицирующиеся в конце S-фазы. Для них характерна низкая плотность генов и большое количество «генных пустынь» – свободных от генов участков длиной более миллиона пар оснований. Гистоны в LAD в основном помечены типичным для гетерохроматина образом – двух- или трехкратным метилированием лизина 9 гистона 3:

H3K9met2 и H3K9met3. Человеческий околоцентромерный хроматин тоже попадает в LAD, как и часть теломерных регионов. Наконец, внутри LAD низок уровень метилирования цитозинов [3; 4]. Систематизация свойств геномных регионов, разработанная автором, представлена в таблице.

Таблица 1. Сравнительная характеристика геномных регионов по молекулярно-генетическим критериям

Критерий	LAD	меж-LAD
Плотность генов	низкая	высокая
Уровень экспрессии	низкий	высокий
Время репликации	поздно	рано
Ретроэлементы	LINE	SINE
Содержание в последовательности A/T	высокое	низкое
Модификации гистонов	H3K9me2, H3K9me3, (H3K27me3)	aH3K4me1, H3K4me3, H3K27ac, другие активирующие метки
Ассоциации с ядрышком и центромерами	часто	редко

Проведенная диагностика различных типов клеток выявила, что часть LAD не зависят от стадии клеточной дифференцировки (конститутивные, cLAD), а другие взаимодействуют с ламиной только в определенных типах клеток (факультативные, fLAD) [4; 5]. cLAD обычно насыщены AT-богатыми изохорами, полны LINE (длинных диспергированных повторов), бедны по SINE (коротким диспергированным повторам) и представляют собой наиболее бедные генами подвиды LAD [5]. Согласно исследованиям cLAD формируют «кронштейн» для прикрепления хромосом к ядерной ламине в специфических сайтах и, как следствие, направляют конденсацию хромосом в интерфазе.

fLAD более насыщенны генами: во время клеточной дифференцировки сотни генов меняют свое положение относительно ламины, демонстрируя гибкость и динамику пространственной внутригеномной организации. Присоединение к ламине часто сопровождается инактивацией гена, а отсоединение – наоборот [4; 6].

У каждого LAD есть собственная характерная частота контактов с ламиной [2]. Больше всего контактируют cLAD. Часть LAD, преимущественно cLAD, составляют 15% генома и работают специфическим регионом, связывающим хромосомы с ядерной ламиной.

LAD и регуляция экспрессии генов

Большинство генов, заключенных в LAD данной клетки, экспрессируется на очень низком уровне, а примерно 5–10 процентов сохраняют высокий уровень экспрессии [3].

Увеличение числа контактов с ламиной во время дифференцировки обычно сопровождается уменьшением активности генов. С другой стороны, отходящие от ламины в ходе специализации клетки гены часто становятся активными, то есть отдаление от ламины может быть первой ступенью «разблокировки» генов для активации [4]. LAD формируют репрессирующую среду, которая частично контролируется H3K9me2.

Разница в расположении LAD в разных клетках настолько существенна, что контактов с ядерной ламиной недостаточно для серьезной инактивации генов, следовательно, существуют отсроченные последствия рассматриваемого контакта. Многочисленные эксперименты с привязкой к ламине позволяют сделать вывод о будущем снижении экспрессии генов при контакте с ламиной.

Предполагая важность взаимодействия LAD с ламиной для репрессии транскрипции в нормальных условиях, одним из ожидаемых эффектов ее разрушения является отмена репрессии транскрипции. В *Drosophila* генные кластеры, специфичные для семенников, обычно репрессированы и

связаны с ядерной ламиной. При нарушениях белков ламинов они активнее экспрессируются и отделяются от нее [7]. В жировых телах дрозофилы гены, отвечающие за иммунный ответ, преимущественно находятся в LAD. Молодые животные с нарушенным ламином страдают от симптомов старческих заболеваний, а усиленная извне экспрессия ламина нарушает тенденции к хроническим воспалениям у старых животных, что вызвано потерей гетерохроматина в клетках жировых тел и отменой репрессирования генов имунного ответа.

Характер влияния контактов с ламиной на репрессию генов до конца не изучен. Наибольшее распространение получили две гипотезы: расположенные в ламине белки модифицируют хроматин для перевода его в репрессирующее состояние; локус изымается из транскрипционно активных отделов ядра, таких как транскрипционные фабрики, направляясь в периферический слой гетерохроматина.

Заключение. LAD используются клеткой как скелет интерфазных хромосом, так и как депо для ненужных генов, участков мусорной ДНК и не занятых в данный момент локусов. Они обладают сложной, многофакторной системой регуляции, полностью не изученной. Требуется более подробное исследование конкретных молекулярных механизмов взаимодействия белков, осуществляющих тонкую и специализированную регуляцию LAD, с целевыми участками генома.

В настоящее время существующих знаний о LAD не имеют клинического применения, хотя исследования подтверждают их влияние на формирование определенных патологий, механизм которых был установлен только в двадцать первом веке.

Подводя итоги, следует подчеркнуть, что задачей современной терапевтики является комплексный подход к искоренению причин болезней, вызываемых дефектами ламинов, а не преобладающая сегодня симптоматическая терапия.

Библиографический список

1. *Pickersgill,* H., Kalverda, B., de Wit, E., Talhout, W., Fornerod, M., and van Steensel, B. (2006). Characterization of the Drosophila melanogaster genome at the nuclear lamina. Nat. Genet. *38*, 1005–1014.

2. *Kind, J.,* Pagie, L., de Vries, S.S., Nahidiazar, L., Dey, S.S., Bienko, M., Zhan, Y., Lajoie, B., de Graaf, C.A., Amendola, M., et al. (2015). Genome-wide maps of nuclear lamina interactions in single human cells. Cell 163, 134–147.

3. *Guelen, L.,* Pagie, L., Brasset, E., Meuleman, W., Faza, M.B., Talhout, W., Eussen, B.H., de Klein, A., Wessels, L., de Laat, W., and van Steensel, B. (2008). Domain organization of human chromosomes revealed by mapping of nuclear lamina interactions. Nature *453*, 948–951.

4. *Peric-Hupkes,* D., Meuleman, W., Pagie, L., Bruggeman, S.W., Solovei, I., Brugman, W., Graf, S., Flicek, P., Kerkhoven, R.M., van Lohuizen, M., et al. (2010). Molecular maps of the reorganization of genome-nuclear lamina interactions during differentiation. Mol. Cell *38*, 603–613.

5. *Meuleman, W.,* Peric-Hupkes, D., Kind, J., Beaudry, J.B., Pagie, L., Kellis, M., Reinders, M., Wessels, L., and van Steensel, B. (2013). Constitutive nuclear lamina-genome interactions are highly conserved and associated with A/T-rich sequence. Genome Res. 23, 270–280.

6. *Robson, M.I.,* de Las Heras, J.I., Czapiewski, R., LeˆTha`nh, P., Booth, D.G., Kelly, D.A., Webb, S., Kerr, A.R., and Schirmer, E.C. (2016). Tissue-specific gene repositioning by muscle nuclear membrane proteins enhances repression of critical developmental genes during myogenesis. Mol. Cell *62*, 834–847.

7. *Shevelyov, Y.Y.,* Lavrov, S.A., Mikhaylova, L.M., Nurminsky, I.D., Kulathinal, R.J., Egorova, K.S., Rozovsky, Y.M., and Nurminsky, D.I. (2009). The B-type lamin is required for somatic repression of testis-specific gene clusters. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *106*, 3282–3287.

AN INQUIRY INTO LAMIN-ASSOCIATED DOMAINS AND THEIR IMPACT ON GENE EXPRESSION

S.A. Busygin, *Student*
Lomonosov Moscow State University
(Russia, Moscow)

Abstract. *This paper presents a review of modern research methods concerning lamin-associated genomic domains and proteins that interact with them, which regulate eukaryotic gene expression both in short and long term, in order to search for molecular mechanisms controlling the state of these genomic regions. A logical conclusion – a justification of necessity of further investigation into lamins and associated domains for a systematical approach to diagnosing, preventing and treating laminopaties – is reached.*

Keywords: *lamins, cellular nucleus, gene expression, genome, laminopathies, cellular differentiation, histones, chromosomes.*