

# О ДВУХМЕТРОВОЙ ДНК, достоинствах фрактальной упаковки и генетической «робастности» КАК МЕРИЛЕ ДОЛГОЛЕТИЯ

*У всех высших организмов, включая человека, совокупная длина ДНК в каждой клетке составляет около двух метров! И этот чрезмерно длинный полимер должен каким-то образом разместиться в клеточном ядре, диаметр которого в обычной соматической клетке составляет всего 10 мкм, а в сперматозоиде – в 5–10 раз меньше. Каким же образом клетке удается «убить сразу двух зайцев» – компактно упаковать ДНК с сохранением возможности считывания генетической информации, и как работают такие «упакованные» гены?*

**П**роблема упаковки ДНК в хромосомах клеточного ядра эукариотических организмов была поставлена еще в середине 1970-х гг.: этими исследованиями занялись несколько групп ученых, включая Нобелевского лауреата по химии Роджера Корнберга. Рассматривая молекулу ДНК в электронный микроскоп, исследователи обнаружили, что она очень напоминает бусины, нанизанные на нитку.

## Как упакуем?

Выяснилось, что «бусины» (нуклеосомы) состоят из специальных белков (гистонов), на которые, как на валик, намотана в два оборота нить ДНК (порядка 150 пар нуклеотидов). Затем идет «нитка» – свободный участок (линкер, длиной 10–30 пар нуклеотидов), затем – следующая «бусина» и т. п. Всего же в каждой нашей клетке находится около 25 млн таких валиков, на которых размещено 70–90% всей клеточной ДНК. Так как диаметр каждой «бусины» с намотанной на ней ДНК составляет порядка 10 нм, то часто ДНК, упакованную в нуклеосомы, называют десятинанометровой хроматиновой фибриллой.

Но этот уровень упаковки ДНК недостаточен – она все еще остается слишком длинной. Поэтому «бусины» укладываются в упорядоченные «стопки», которые перекручиваются одна вокруг другой, – так образуется солениод диаметром 30 нм, что в итоге дает 30 нм хроматиновую фибриллу. Такая структура формируется спонтанно как за счет



© Ю. М. Мошкин, 2016



образования межмолекулярных водородных связей между гистонами, так и за счет связывания гистона H1 с линкерными участками ДНК. Однако вопрос, действительно ли ДНК упаковывается в клетке в столь организованную структуру, как солениод, до сих пор остается открытым.

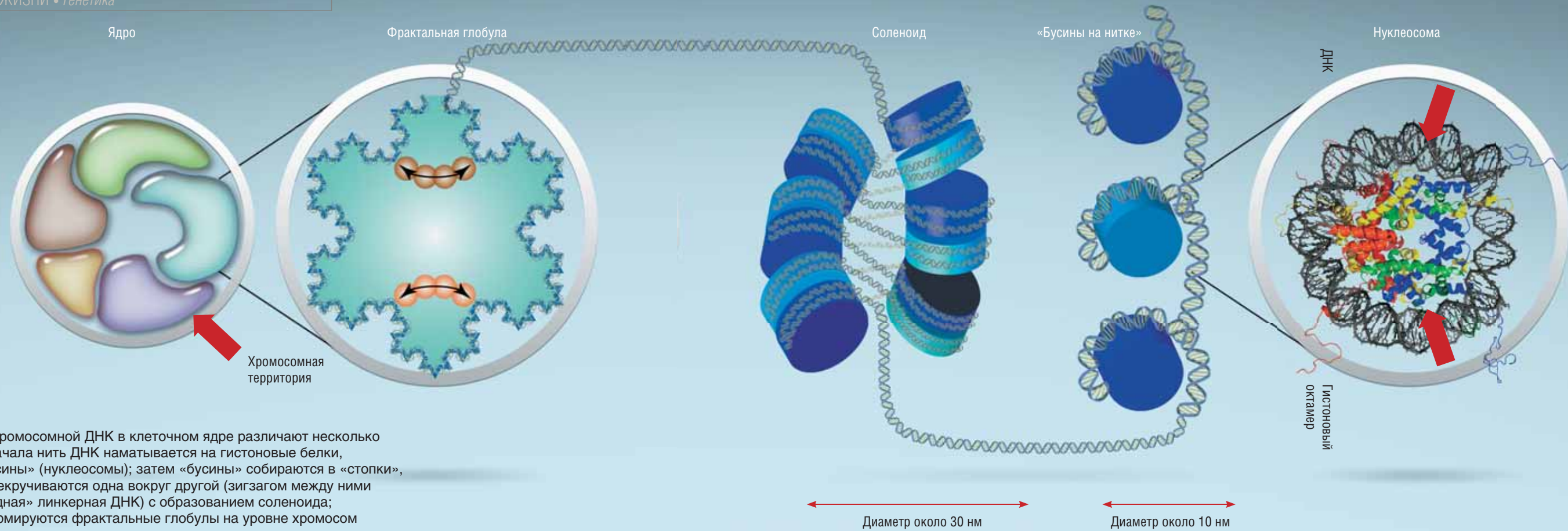
Но упаковка ДНК как в десятинанометровые, так и в тридцатинанометровые хроматиновые фибриллы все еще не обеспечивает ее достаточной компактизации: с помощью первого способа можно «укоротить» ДНК в 5–10 раз, второго – в 50 раз. Конечно, здесь мы немного лукавим, ведь наша ДНК не одина, а разделена на хромосомы, которых в соматической клетке 46 штук. Но даже учитывая обстоятельство, что при таком уровне упаковки длина одной хромосомы уменьшится примерно до 800 мкм, все равно трудно представить, чтобы она уместилась в клеточном ядре размером почти в сто раз меньше. Поэтому хроматиновые фибриллы сворачиваются во фракталы.

Фрактальная глобула образуется за счет взаимодействия участков ДНК на коротких и длинных расстояниях, и хромосома занимает наконец свою так называемую «хромосомную территорию». Фрактальная структура позволяет упаковать в конечный объем объект практически бесконечной

Мошкин Юрий Михайлович – выпускник ФЕН НГУ 1998 г., кандидат биологических наук (PhD), заведующий лабораторией системной генетики Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор более 30 научных работ

**Ключевые слова:** структура ДНК, упаковка ДНК, нуклеосома, хроматиновая фибрилла, хроматин-ремоделлирующие белки, регуляция генов, робастность генома, старение, долголетие.

**Key words:** DNA structure, DNA packaging, nucleosome, chromatin fiber, chromatin remodelling proteins, gene control, genome robustness, aging, longevity



В упаковке хромосомной ДНК в клеточном ядре различают несколько уровней. Сначала нить ДНК наматывается на гистоновые белки, образуя «бусины» (нуклеосомы); затем «бусины» собираются в «стопки», которые перекручиваются одна вокруг другой (зигзагом между ними идет «свободная» линкерная ДНК) с образованием солениода; наконец, формируются фрактальные глобулы на уровне хромосом

длины, причем так, что межхромосомные контакты будут маловероятны. Конечно, поддержание такой структуры требует определенных затрат энергии, но они окупаются, так как в результате автоматически достигается изолированность друг от друга нитей ДНК разных хромосом, которые теперь не могут спутаться. В противном случае было бы гораздо дороже «распутывать» нити ДНК, разрезая и сшивая их во время митотического деления клетки, когда надо быстро и точно поделить между дочерними клетками наследственный материал.

### Расставим барьеры

Итак, задача упаковки ДНК в ядро решена, но теперь возникает другой вопрос – как до нее добраться белкам, копирующим и считывающим информацию с матрицы ДНК? Для большинства этих белков она будет просто недоступна, во-первых, из-за взаимодействия ДНК с гистонами. Во-вторых, благодаря сильной деформации (изогнутости) нити ДНК, из-за чего многие белки не смогут распознать на ней места своего связывания – сайты посадки. Как же природа решает эту проблему?

Есть такие ферменты – АТФ-зависимые хроматин-ремоделирующие белки. Эти крупные молекулы способны

своими «руками» хвататься за два разных участка ДНК и, используя энергию АТФ, «схлопываться», отрывая таким образом участок ДНК от нуклеосомы. В результате образуется петля, и когда белок снова «развернется», то нуклеосома, как будто после удара плетки, изменит свое положение в пространстве. Получается что-то вроде знаменитого йо-йо на веревочке. В результате в тех или иных участках ДНК открываются (или закрываются) сайты посадки для ДНК-связывающих белков, таких как белки транскрипции, синтезирующие РНК по матрице ДНК.

Хроматин-ремоделирующие белки, которые постоянно «толкают» нуклеосомы, в ядре много. Но делают ли они это «целенаправленно» или спонтанно? Исходя из наших данных, хроматин-ремоделирующие белки не имеют каких-либо предпочтений к тем или иным генам, и расталкивание нуклеосом происходит по всей длине хроматиновой фибриллы. Как результат, при увеличении или уменьшении концентраций хроматин-ремоделирующих белков в клетке меняется динамика нуклеосом, которые повсеместно переползают с одних участков ДНК на другие.

Итак, несмотря на то что гистоновые «бусины» имеют некоторые предпочтения к определенным последовательностям ДНК, под действием

хроматин-ремоделирующих белков они, как йо-йо, находятся в постоянном движении, зачастую занимая энергетически невыгодные позиции, как, например, в «жестких» участках ДНК.

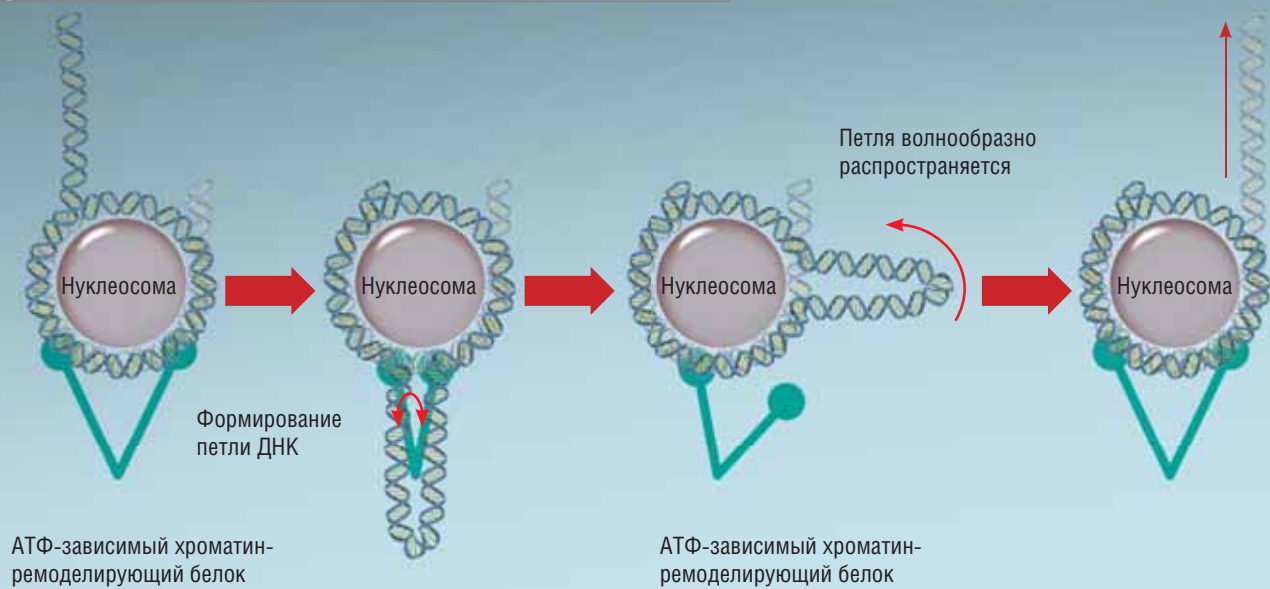
Еще один механизм организации нуклеосом связан с потенциальными барьерами и ямами. Представим, что в результате энергичной «болтанки» нуклеосом под действием хроматин-ремоделирующих белков произошла успешная посадка ДНК-связывающего белка на свой сайт. В этом случае такой белок будет представлять собой барьер, ограничивающий движение нуклеосом. Аналогичным образом, если мы зафиксируем тем или иным способом одну из бусин на нитке ДНК, то это также создаст барьер, который, правда, в физике будет называться энергетической «ямой». Теперь нуклеосомы, отталкиваясь от барьеров и ям, будут самоорганизовываться примерно так же, как наши планеты выстраиваются относительно гравитационного поля Солнца.

Известно, что ген может находиться в двух состояниях – активном и неактивном. Когда гены «выключены», то расположение нуклеосом относительно друг друга определяется во многом ДНК-последовательностью и активностью хроматин-ремоделирующих белков. Теперь, если мы сопоставим расположение нуклеосом для разных «молчащих» генов относительно их начала

**«Бусины» на нити ДНК располагаются не случайным образом. Дело в том, что при намотке ДНК на гистоны, ДНК сильно искривляется. В свою очередь, способность молекулы гнуться во многом определяется последовательностью «букв»-нуклеотидов на том или ином ее участке. Конечная геометрия молекулы будет зависеть от соотношения пар нуклеотидов АТ и ГС – одни комбинации будут гнуться лучше, другие хуже, и на этой основе можно предсказать степень связывания ДНК с гистонами. Но если бы все определялось лишь последовательностью «букв», то картина получилась бы статической – нуклеосомы выстраивались бы как солдаты на плацу. В реальности это, к счастью, не так, и «бусины» могут перемещаться по нитке ДНК под действием АТФ-зависимых хроматин-ремоделирующих белков**

(старта транскрипции), то результат будет выглядеть так, как будто «бусины» нанизали на нити ДНК в произвольном порядке.

Иное дело, когда мы сталкиваемся с «включенными» генами. В этом случае РНК-полимераза со своей «свитой» (различными белковыми факторами, регулируемыми РНК-полимеразой) садится на ДНК в самом начале гена. Этот массивный белковый комплекс уже



сам по себе представляет из себя существенный барьер, но для «надежности», как показали наши расчеты, РНК-полимераза «привязывает» первую (+1) нуклеосому в начале гена. Это, в свою очередь, приводит к возникновению потенциальной ямы, относительно которой и выстраиваются остальные «бусины». В результате, сопоставив расположение нуклеосом в активных генах относительно старта их транскрипции, мы увидим стройные ряды фазированных «бусин».

В подобном «фазировании» нуклеосом, возможно, есть немалое преимущество. Если представить транскрипцию в виде бега с барьерами, где РНК-полимераза – бегун, а нуклеосома – барьер, когда препятствия стоят упорядоченно, бегун уверенно проходит дистанцию с четким ритмом. Если же переставить барьеры случайным образом, то наш бегун – РНК-полимераза, будет спотыкаться, теряя ритм и темп. Конечно, эта гипотеза требует дальнейшей проверки, но, как мы увидим дальше, дистанция между барьерами существенно влияет на экспрессию генов.

Резюмируя, отметим, что глобальное динамическое равновесие в расположении «бусин» поддерживается все же ДНК-последовательностью и ее способностью к сгибанию, на что уже накладываются другие факторы, такие как активность хроматин-ремоделирующих белков, расстановка потенциальных барьеров и ям и т.п. Правда, пока мы не знаем, как местоположение «бусин» влияет на формирование фрактальных петель при упаковке ДНК в ядро, и как связать одномерную структуру с трехмерной. Однако решение этой задачи необходимо для полноты понимания процессов, благодаря которым ДНК сворачивается внутри ядра. Это, в свою очередь,

Отрывая от нуклеосомы петлю ДНК, хроматин-ремоделирующий белок обеспечивает изменение пространственного расположения нуклеосомы

даст возможность ответить на ряд ключевых вопросов, касающихся пространственной организации генома и его функционирования в упакованном состоянии внутри ядра. Решение этой проблемы требует комплексного подхода с тесным взаимодействием между биологами и физиками.

### Бег с барьерами

Разобравшись с проблемами упаковки ДНК и расставив барьеры, рассмотрим, каким образом они связаны с регуляцией генов, и зададим провокационный вопрос: не исчерпала ли себя модель генетической регуляции Нобелевских лауреатов Ф. Жакоба и Ж. Моно?

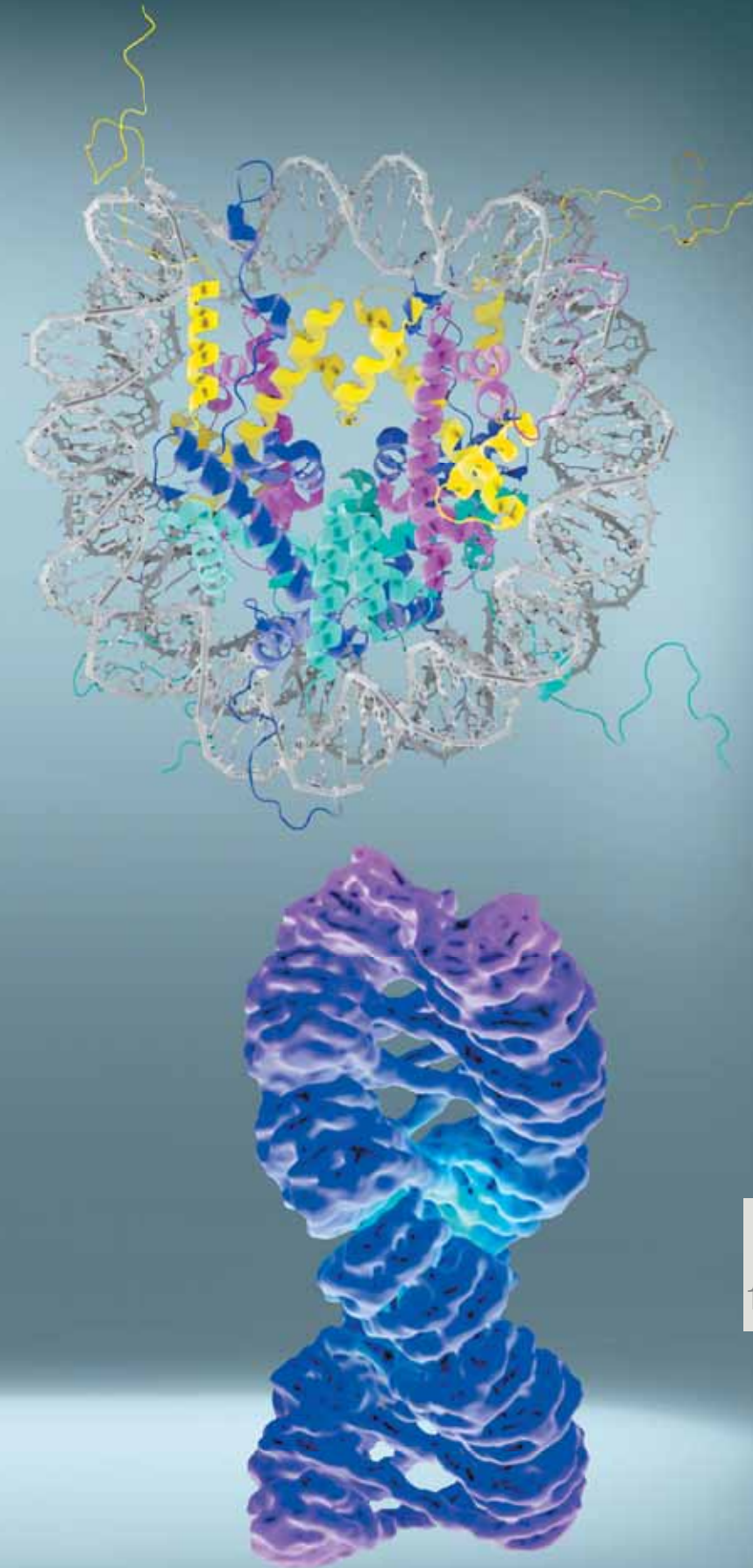
В классической модели Жакоба и Моно регуляция рассматривается с точки зрения включения или выключения генов в ответ на вне- и внутриклеточные сигналы. Например, если мы заменим глюкозу на лактозу в среде, в которой растут бактерии, то включатся гены, отвечающие за метаболизм лактозы. И, как выразился Жак Моно: «что верно для бактерии, то верно и для слона» – гены человека и любых других организмов работают по схожим принципам. Но как в эту схему вписать регуляцию экспрессии генов на уровне упаковки ДНК в нуклеосомы?

Дело в том, что модель Жакоба и Моно по своей сути генно-центрическая. Иными словами, регуляция

Много ли энергии уходит на непрерывную «тряску» нуклеосом? Оказывается, что на эту работу весь пул имеющихся в клетке хроматин-ремоделирующих белков тратит не более 1% от всех молекул АТФ, которые клетка синтезирует для удовлетворения своих энергетических потребностей

рассматривается как процесс, независимый для каждого конкретного гена. Однако представим, что мы добавили некоторое число бусин на нитку ДНК. Естественно, это приведет к подталкиванию соседних бусин, что в итоге приведет к изменению как плотности, так и позиций бусин вдоль всей нитки. Иными словами, локальные изменения в размещении нуклеосом на ДНК могут распространяться по всей ее длине, что автоматически повлияет на работу всех генов. Действительно, наши результаты показывают, что удаление АТФ-зависимых хроматин-ремоделирующих белков или изменение концентрации гистонов приводят к тотальным изменениям в расположении нуклеосом. Таким образом, трудно представить, что регуляцию на уровне размещения нуклеосомы можно адекватно описать генно-центрической моделью Жакоба и Моно, а значит, нужны другие идеи и подходы.

Выше мы уже рассмотрели идею, что процесс синтеза РНК, при котором РНК-полимераза бежит по упакованной в нуклеосомы матрице ДНК, можно представить как бег с барьерами. Расстановка барьеров, т.е. расстояние между нуклеосомами, определяется АТФ-зависимыми хроматин-ремоделирующими белками. Если, к примеру, удалить один из ремоделлирующих белков, MI-2, то расстояние между нуклеосомами увеличится, если же удалить белок ISWI – уменьшится. Однако несмотря на разнонаправленные эффекты в расстановке барьеров, вызванные





Одна из очевидных точек приложения нашей работы – проблема старения. Например, известно, что высококалорийная диета – это фактор, ведущий к метаболическому синдрому и ускоряющий старение, а низкокалорийная, напротив, увеличивает продолжительность жизни. В эксперименте на дрозофилах мы показали, что между энергообменом и плотностью сборки ДНК в нуклеосомах имеется безусловная отрицательная взаимосвязь, опосредованная одним из генов старения – SIRT1, продукт которого ремоделирует хроматин. Когда мы искусственно блокировали в клетках гликолиз, то чем ниже падал энергообмен, тем больше бусин формировалось на ДНК. Однако если мы при этом ингибировали ген SIRT1, то в ответ на понижение энергообмена степень упаковки ДНК в нуклеосомы снижалась. Механизм этого явления еще предстоит изучить, однако эти результаты подтверждают, что избыточное поступление калорий в организм «раскачивает» работу генетической системы со всеми вытекающими отсюда негативными последствиями

удалением этих белков, мы наблюдаем схожие изменения в работе (экспрессии) генов. Как оказалось, наиболее чувствительны к подобной перестановке короткие гены – при удалении ремоделирующих белков уровень их экспрессии падает. Действительно, при беге на короткие дистанции любые изменения в расстановке барьеров критичны, ведь спортсмен (наша РНК-полимераза) подстраивается под определенный ритм и шаг.

В случае с длинными генами ситуация несколько иная. Ведь при беге на длинные дистанции наш бегун, даже если споткнулся, всегда может нагнать. Однако в случае длинных генов РНК-полимераза часто застревает на самом старте, что связано с трудностями преодоления первого барьера, т.е. той самой первой нуклеосомы, формирующей потенциальную яму. Интересно, что при удалении ремоделирующих белков

сила связывания первой нуклеосомы ослабевает и, условно говоря, высота барьера уменьшается. Теперь РНК-полимеразе легче уйти со старта, что приводит к росту экспрессии длинных генов.

*Voilà* – оказывается, нам и не надо придумывать какие-то сложные модели, чтобы описать, как расстановка нуклеосом влияет на работу генов. Достаточно просто знать их длину!

### Смерть уклонистам

К счастью для нас, это еще не все. Модель Жакоба и Моно рассматривает регуляцию экспрессии генов только в рамках «включено/выключено» или «больше/меньше». То есть в большинстве случаев мы исследуем, как меняется средний уровень экспрессии тех или иных генов в ответ на те или иные воздействия. Но помимо среднего есть еще и дисперсия! И этот параметр мы часто игнорируем, списывая на ошибки эксперимента. Но так ли это в действительности?

Считается, что система устойчива, если следует закону Пуассона, при котором дисперсия равна математическому ожиданию (оно же арифметическое среднее). Грубо говоря, мы можем взять сотню клеток и померить экспрессию какого-то гена, т.е. количество синтезируемых молекул РНК. Если система находится в полном равновесии и константы синтеза и дегградации не меняются со временем, она будет подчиняться закону Пуассона: число молекул, которое будет синтезироваться и разрушаться за определенное время, не будет меняться, а величина дисперсии не будет превышать среднюю величину.

Но в живых системах, как выясняется, постоянно происходят серьезные отклонения от пуассоновского процесса, когда дисперсия начинает превышать среднее. И мы постоянно видим это, когда анализируем данные по РНК-секвенированию. Биологическая система никогда не находится в равновесии – для природы это

Переход нуклеосом из неупорядоченного, «нефазированного» состояния в упорядоченное инициируется началом работы РНК-полимеразы – фермента, который осуществляет синтез молекул РНК по матрице ДНК. Вокруг первой (+1) нуклеосомы, зафиксированной РНК-полимеразой, образуется потенциальная энергетическая яма, и соседние нуклеосомы образуют упорядоченный «строй» вокруг нее

закон. И статистически мы можем оценить величину этого отклонения для каждого активного гена.

В английском языке существует термин робастность, который на русский приблизительно переводится как «помехоустойчивость». Робастность как раз и отражает степень устойчивости системы и может быть выражена через дисперсию, а точнее, через коэффициент вариации – дисперсию, нормированную на среднюю величину. Сейчас, подходя к пониманию принципов регулирования равновесия генов, мы начинаем делить гены на робастные (устойчивые, стабильные) и шумные. При этом мы можем предсказать, каким будет тот или иной ген, исходя из определенных характеристик последовательности его ДНК.

Но на робастность влияет также ряд других факторов, в том числе и расстановка барьеров. Например, мы выяснили, что фазирование нуклеосом относительно начала генов более четкое именно для робастных генов, экспрессия которых наименее отклоняется от пуассоновского процесса. Иными словами, чем лучше расставлены барьеры, тем надежнее бежит РНК-полимераза, и тем стабильнее экспрессия гена. Теперь, если удалить хроматин-ремоделирующие белки из клетки и переставить барьеры, устойчивость системы упадет, что выразится в повсеместном увеличении дисперсии. Значит, ремоделирующие белки отнюдь не селективны, но при этом влияют на стабильность всей биологической системы, сдвигая динамическое равновесие «бусин».

Стоит отметить, что мутации хроматин-ремоделирующих белков очень часто всплывают в скрининговых исследованиях генетической компоненты развития раковых опухолей. Что вполне логично в рамках нашей идеи. Вся эта машинерия, обеспечивающая упаковку ДНК, в большой степени необходима именно для удержания системы в равновесии. Ведь когда увеличивается разброс уровней экспрессии генов в клетках, возрастает вероятность возникновения и отбора жизнеспособных «опухолевых» комбинаций: достаточно появиться лишь одной такой клетке, и она «выстрелит».

Так, на примере дрозофил было обнаружено, что при одинаковых условиях эксперимента удаление одного и того же ремоделирующего белка может привести как к увеличению пролиферации клеток, так и к клеточной гибели. Эта картина хорошо вписывается в гипотезу о спонтанном развитии рака, когда в ходе онкогенеза большая часть образовавшихся «аномальных» клеток отмирает, но те немногие, что выживают, начинают неконтролируемо делиться.

Так все ли можно описать моделью Жакоба и Моно? Или идеи о поддержании системы в равновесии на уровне нуклеосом помогут выработать нам новый взгляд на здоровье и долголетие человека?

#### Литература

Cherji R. V., Kan T-W., Grudniewska M. K., et al. *Genome-wide profiling of nucleosome sensitivity and chromatin accessibility in Drosophila melanogaster* // *Nucleic Acids Research*. 2016. V. 44(3). P. 1036–1051.

Moshkin Y. M. *Chromatin – a global buffer for eukaryotic gene control* // *AIMS Biophysics*. 2015 V. 2(4). P. 531–554.

Moshkin Y. M., Chalkley G. E., Kan T-W., et al. *Remodelers organize cellular chromatin by counteracting intrinsic histone-DNA sequence preferences in a class-specific manner* // *Molecular and Cellular Biology*. 2012. V. 32(3). P. 675–688.