

УДК 577.21

Функции и механизмы действия инсуляторов в геномах высших эукариот

Л. С. Мельникова*, П. Г. Георгиев, А. К. Головин
Институт биологии гена РАН, Москва, 119334 Россия
*E-mail: lsm73@mail.ru

Поступила в редакцию 07.08.2020

Принята к печати 12.10.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11144

РЕФЕРАТ Механизмы дистанционных взаимодействий между участками хроматина и принципы формирования хромосомной архитектуры в настоящее время активно исследуются. В регуляции специфичных дистанционных взаимодействий между энхансерами и промоторами участвует особый класс регуляторных элементов, названных инсуляторами. В обзоре описаны инсуляторы дрозофилы и млекопитающих, кратко охарактеризованы белки, обеспечивающие их функциональную активность. Изначально считалось, что основными свойствами инсуляторов являются блокирование энхансеров и образование независимых доменов транскрипции. Мы приводим экспериментальные факты, доказывающие, что хроматиновые петли, формируемые инсуляторами, играют лишь вспомогательную роль в блокировании энхансеров. Обсуждаются механизмы формирования топологически ассоциированных доменов, их роль в создании хромосомной архитектуры и в регуляции транскрипции генов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА инсуляторные белки, энхансер-промоторные взаимодействия, хроматиновые петли, регуляция транскрипции, Su(Hw), ТАД.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ PRE – polycomb response element; LCR – locus control region; ANT-C – *Antennapedia* complex; ТФ – транскрипционный фактор; ZF (zinc finger) – домен цинковый палец; BX-C – *Bithorax* complex; ЦНС – центральная нервная система; BTB – bric-a-brac, tramtrack and broad complex; POZ – poxvirus and zinc finger; ZAD – zinc finger-associated domain (домен, ассоциированный с цинковыми пальцами); ICR – imprinting control region; PRC2 – polycomb repressive complex 2; ТАД – топологически ассоциированный домен.

ВВЕДЕНИЕ

В клетках высших эукариот один из основных этапов генной экспрессии – транскрипция, осуществляется в результате взаимодействия между промоторами, определяющими начало транскрипции и ее базовый уровень, и различными *цис*-регуляторными элементами, которые либо усиливают (энхансеры), либо ослабляют (сайленсеры) транскрипцию [1–3]. Энхансеры и сайленсеры могут находиться на значительном расстоянии от генов, транскрипцию которых регулируют, и отделяться от них многочисленными «чужими» генами с собственными регуляторными системами [4, 5]. Для объяснения механизма специфичных энхансер/сайленсер-промоторных взаимодействий предлагалась модель, постулирующая разделение хромосом на транскрипционные (хроматиновые) домены, жестко ограничивающие контакты между регуляторными последовательностями генома [6].

В исследованиях на плодовой мушке *Drosophila melanogaster* впервые был найден новый класс регуляторных элементов, названных инсуляторами [7–9]. Изначально были описаны два свойства инсуляторов. Во-первых, инсуляторы препятствуют взаимодействию энхансера с промотором, если находятся между ними (энхансерблокирующая активность). Во-вторых, окружающие трансген инсуляторы нейтрализуют негативное или позитивное влияние соседствующего хроматина на его экспрессию (барьерная активность). В настоящее время инсуляторы обнаружены в геномах всех хорошо исследованных высших эукариот [10, 11]. Исходно предполагалось, что именно взаимодействующие между собой инсуляторы отвечают за формирование изолированных транскрипционных доменов. Однако дальнейшие исследования показали, что инсуляторы – это многофункциональные элементы, включенные в регуляторные системы многих генов [12–18].

ИНСУЛЯТОРЫ В ГЕНОМАХ ВЫСШИХ ЭУКАРИОТ

В первых работах по изучению инсуляторов в качестве модельного организма часто использовали дрозофилу. В то время на основе *P*-транспозона уже была разработана система, позволяющая эффективно модифицировать геном дрозофилы с помощью трансгенов [19]. Методы *in vivo* модификации генома позвоночных животных были созданы значительно позже [20, 21]. *P*-зависимая интеграция носит случайный характер, что позволяет изучать влияние различного хромосомного окружения на экспрессию трансгена. В качестве репортерного гена часто использовали ген *white*, отвечающий у дрозофилы за пигментацию глаз [22]. В разных трансгенных линиях, несущих ген *white* без энхансеров (*mini-white*), цвет глаз у мух варьировал от бледно-жёлтого до красного, что обуславливалось сайтами встраивания трансгенов. Это явление получило название эффекта хромосомного положения [22, 23]. Предполагалось, что зависимость экспрессии гена *mini-white* от хромосомного положения обусловлена активностью геномных энхансеров, расположенных рядом с местом интеграции трансгена. Однако позже доказали, что в более чем 70% случаев за активирующий эффект хромосомного окружения ответственна проходящая через *mini-white* транскрипция, инициированная в окружающих геномных районах [24].

Первыми инсуляторами, описанными в геноме дрозофилы, были последовательности *scs* и *scs'* (*specialized chromatin structure*), картированные в цитогенетическом локусе 87A7 как гиперчувствительные к нуклеазам участки ДНК, окружающие кластер из пяти генов, в том числе двух генов белков теплового шока 70 (*hsp70*) [8, 9, 25]. При активации генов *hsp70* хромомер 87A7 деконденсируется, образуя пуф на политенных хромосомах слюнных желез. Цитологические исследования показали, что элементы *scs* и *scs'* локализованы в местах, где деконденсированный локус 87A7 фланкируется конденсированным хроматином. Однако позже установили, что *scs* и *scs'* находятся внутри, а не на границах пуфа и не ограничивают деконденсацию 87A7 [26]. Было высказано предположение, что *scs* и *scs'* являются границами транскрипционного домена, включающего гены *hsp70*. В составе трансгенов элементы *scs* и *scs'* проявляли энхансерблокирующие и барьерные свойства инсуляторов [8, 9]. Затем было показано, что инсуляторы *scs* (993 п.н.) и *scs'* (500 п.н.) имеют сложную структуру, которая включает промоторы генов и сигналы терминации транскрипции [27–30].

Наиболее изученный инсулятор дрозофилы обнаружен в регуляторной области ретротранспозона *gypsy* (МДГ4) [31]. Ретротранспозон *gypsy* влияет на экспрессию соседних генов, вызывая мутантные

фенотипы. При этом влияние *gypsy* на транскрипцию обусловлено последовательностью из 460 п.н., расположенной в его 5'-транскрибируемой нетранслируемой области [7, 32]. В трансгенных линиях инсулятор *gypsy* блокирует активность разнообразных энхансеров на всех стадиях развития дрозофилы [33–36]. Установлено, что инсулятор состоит из 12 вырожденных октамерных сайтов связывания белка Su(Hw) [32, 37, 38]. Изначально свойства инсулятора *gypsy* тестировали на регуляторной системе локуса *yellow*, отвечающего за пигментацию кутикулярных структур у эмбрионов, личинок и имаго [39]. Энхансеры, контролирующие транскрипцию *yellow* в пластинах крыла и кутикуле тела, расположены в 5'-области гена, тогда как энхансеры, контролирующие экспрессию в щетинках, находятся в интроне [7]. В аллеле *y²* ретротранспозон *gypsy* встроен в 5'-область гена *yellow* между промотором и энхансерами, активирующими транскрипцию в крыльях и теле. В результате инсулятор блокирует энхансеры тела и крыльев, но не влияет на активность энхансера щетинок, локализованного в интроне гена (*рис. 1*). На фоне мутации, инактивирующей ген *su(Hw)*, инсуляция в аллеле *y²*

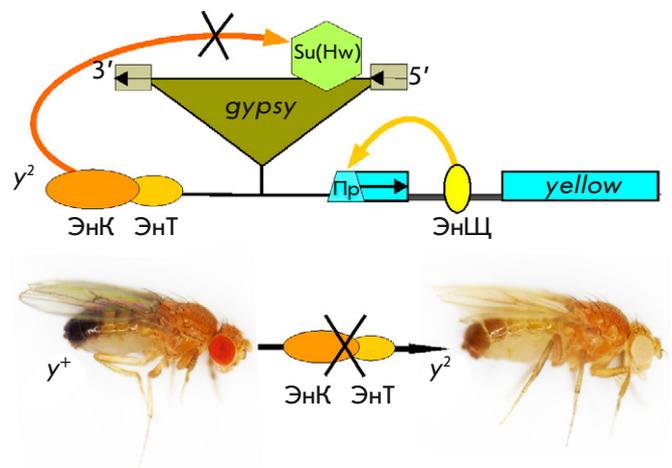


Рис. 1. Схематичное изображение аллеля *y²*. Экзоны гена *yellow* обозначены прямоугольниками со стрелкой, указывающей направление транскрипции; ЭНК – энхансер крыльев; ЭНТ – энхансер тела; ЭНЦ – энхансер щетинок; Пр – промотор гена. Ретротранспозон *gypsy* изображен в виде треугольника, прямоугольники на его концах – длинные концевые повторы, их направление указано стрелками. Инсулятор Su(Hw) изображен как шестиугольник внутри *gypsy*. На фотографиях представлены фенотипы мух: *y⁺* – дикий тип, ген *yellow* экспрессируется во всех кутикулярных структурах; *y²* – энхансеры тела и крыльев блокированы инсулятором Su(Hw) (изображено как зачеркивание), ген *yellow* не экспрессируется в кутикуле тела и крыльях, но продолжает экспрессироваться в щетинках

исчезает, и экспрессия гена *yellow* полностью восстанавливается [40]. В нескольких исследованиях показано, что при интеграции трансгена в гетерохроматиновые области генома или в присутствии PRE (Polycomb Response Element)-зависимого сайленсера *gypsy* инсулятор эффективно защищает от репрессии репортерный ген *white* [41, 42].

Еще один инсулятор найден в длинном концевом повторе ретротранспозона *Idefix* [43]. С помощью трансгенных линий выявлена барьерная активность инсулятора *Idefix* и его способность блокировать различные энхансеры [44].

Первый функциональный геномный инсулятор 1A2, содержащий два сайта связывания белка Su(Hw), был найден в 3'-области гена *yellow* [45, 46]. Оказалось, что многие геномные последовательности ДНК, включающие 1–3 сайта связывания Su(Hw), в составе трансгенов проявляют свойства инсуляторов [47–49]. Однако при использовании синтезированных повторяющихся Su(Hw)-связывающих сайтов установлено, что эффективную инсуляцию обеспечивают минимум четыре сайта [50]. Это противоречие можно объяснить существованием пока не идентифицированных белков, которые совместно с Su(Hw) участвуют в формировании функциональных эндогенных инсуляторов [51].

В геноме дрозофилы обнаружено множество инсуляторных последовательностей, не содержащих сайты связывания белка Su(Hw). Среди них инсуляторы SF1 и SF2 из комплекса *Antennapedia* (ANT-C) [52, 53]; последовательности *facet-strawberry*, защищающие ген *Notch* от влияния окружающего хроматина [54]; инсулятор *Wari* [55], расположенный на 3'-конце гена *white*; граничный элемент ME, блокирующий действие энхансера из гена *eyeless* на промотор соседнего гена *myoglianin* [56]. В регуляторной области комплекса *Bithorax* (BX-C) локализованы границы независимых транскрипционных доменов, *Mcp*, *Fab-6*, *Fab-7* и *Fab-8*, демонстрирующие в трансгенных линиях свойства инсуляторов [57–71].

Первые инсуляторы позвоночных были найдены на границах кластеров транскрипционно активных генов и гетерохроматиновых районов. На 5'-конце β-глобинового локуса курицы был обнаружен инсулятор HS4 [72]. Коровая последовательность HS4 содержит сайт связывания белка CTCF [73]. В дальнейшем поиск новых инсуляторов позвоночных часто основывался на тестировании фрагментов ДНК, содержащих CTCF-связывающие сайты [74, 75]. Так у мыши и человека был найден инсулятор, содержащий четыре сайта связывания CTCF, который играет ключевую роль в импринтированной экспрессии локуса *Igf2/H19* [76–78]. В настоящее время описано множество CTCF-зависимых инсуляторов

позвоночных, что согласуется с представлениями о ключевой роли белка CTCF в организации архитектуры хроматина [74, 75].

МОДЕЛИ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ИНСУЛЯТОРОВ

На основании данных о свойствах инсуляторов были предложены две группы альтернативных моделей, объясняющих механизм их функционирования.

Транскрипционные модели предполагали, что инсулятор активно прерывает специфичные дистанционные взаимодействия между энхансером и промотором [73, 79, 80]. В зависимости от возможного механизма энхансер-промоторных взаимодействий рассматривали различные варианты действия инсуляторов. Согласно одной из моделей, энхансер «ищет» промотор, двигаясь вдоль хроматиновой фибриллы. В этом случае инсулятор является физическим барьером, препятствующим продвижению энхансера. Также предполагалось, что инсуляторы представляют собой псевдопромоторы. Они не иницируют транскрипцию, но способны взаимодействовать с энхансерами и тем самым блокировать их активность (рис. 2А). Согласно другой популярной модели, дистанционные энхансер-промоторные контакты обеспечиваются специальными вспомогательными белками. Например, гомодимеризующийся белок LDB1 млекопитающих формирует специфичные контакты между энхансерами и промоторами многих генов [81]. Белок Chip дрозофилы облегчает энхансер-промоторное взаимодействие в локусе *cut* [82]. Показано, что белок Chip взаимодействует с компонентами инсулятора *gypsy* [83, 84]. Когда энхансер-промоторное взаимодействие ослаблено мутацией в белке Chip, Su(Hw)-зависимая инсуляция становится более эффективной. Таким образом, инсулятор может блокировать действие вспомогательных белков, обеспечивающих энхансер-промоторную коммуникацию (рис. 2Б).

Широкую популярность приобрели структурные модели действия инсуляторов [85]. Исходно они базировались на представлениях, что хромосомы формируют большие независимые хроматиновые петли [6]. Предполагалось, что хроматиновые петли являются независимыми доменами транскрипции и блокируют взаимодействия между регуляторными элементами из соседних доменов.

В дальнейшем большое значение приобрели работы по локализации белка Su(Hw) на хромосомах и в ядре. Считалось, что диски политенных хромосом соответствуют транскрипционным доменам, а междиски – их границам. Было показано, что сайты связывания Su(Hw) находятся в некоторых междисках, т.е. ограничивают транскрипционные домены [86]. В культурах клеток дрозофилы, эм-

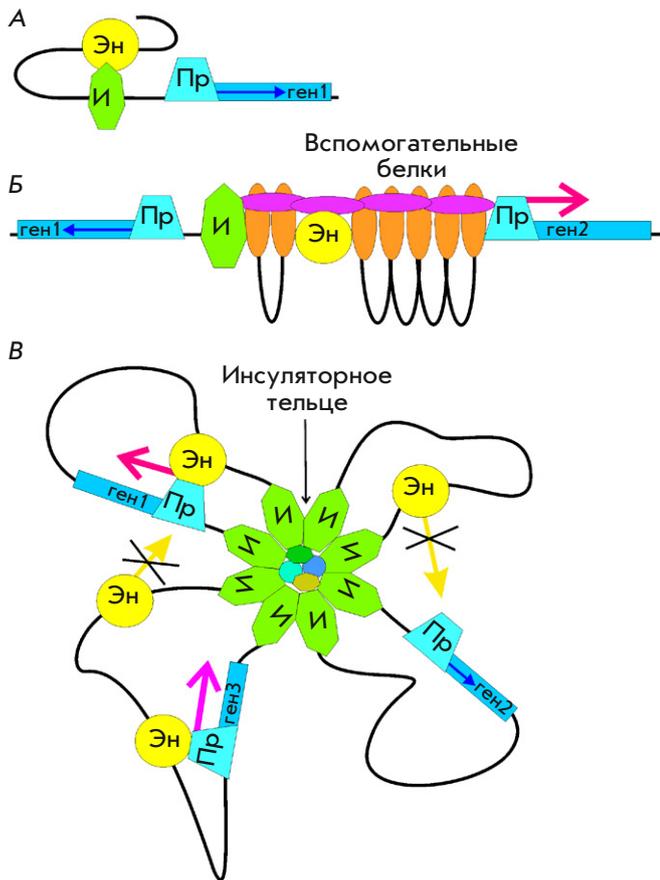


Рис. 2. Модели механизма действия инсульторов. А – модель «ловушки энхансера». Б – блокирование вспомогательных белков. В – структурная модель. Формирование независимых транскрипционных доменов. Обозначения: Эн – энхансер; И – инсультор; Пр – промотор. Красными стрелками обозначена активация транскрипции специфичным энхансером, синими – базовая активность промотора. Зачеркнутые стрелки обозначают блокирование взаимодействий между энхансерами и промоторами из соседних доменов

брионах и имагинальных дисках белок Su(Hw) был локализован в составе компактных ядерных образований, названных инсульторными тельцами [86]. Предполагалось, что каждое инсульторное тельце состоит из множества отдельных взаимодействующих между собой инсульторов, которые делят хроматиновую фибриллу на доменные петли и образуют структуры, подобные розетке (рис. 2В). При этом находящиеся в основании розетки инсульторы могут взаимодействовать с ядерной ламиной (оболочкой) или с компонентами ядерной поры, что создает основу для пространственной организации хроматина. Структурные модели постулируют, что основная роль инсульторов заключается в формировании хроматиновых петель, а инсульторная активность рассматривается как следствие этой организации.

Образование хроматиновых петель может топологически или физически препятствовать взаимодействию между находящимися в соседних доменах энхансерами и промоторами [87].

В настоящее время структурные модели опираются на данные об организации хромосом высших эукариот в топологически ассоциированные домены (ТАД) [88–91]. Выдвинута гипотеза, что инсульторы являются границами ТАДов. Взаимодействие между инсульторами приводит к формированию хроматиновых петель, ограничивающих активность энхансеров.

Su(Hw)-ЗАВИСИМЫЙ КОМПЛЕКС КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИНСУЛЯТОРОВ

Активность инсультора обеспечивается комплексом взаимодействующих белков, которые связываются с инсульторной последовательностью ДНК. Во многих работах механизмы функционирования и формирования инсульторов дрозофилы изучали на Su(Hw)-зависимом комплексе.

Ключевой белок комплекса, Su(Hw), экспрессируется в течение всего развития и присутствует в большинстве тканей дрозофилы. Инактивация гена *su(Hw)* приводит к стерильности самок [35, 92]. Белок Su(Hw) состоит из N-концевого участка, обогащенного кислыми аминокислотами, ДНК-связывающего домена, содержащего 12 цинковых пальцев (ZF) типа C2H2, и C-концевого района, также богатого кислыми аминокислотными остатками [92]. Su(Hw) связывается с консенсусной последовательностью (около 26 п.н.), состоящей из трех модулей [93]. Кластер ZF6–9 связывается с основным, центральным модулем; кластер ZF2–4 – с «нижним» CG-богатым модулем; кластер ZF10–12 – с «верхним» AT-богатым модулем (рис. 3). Десятый ZF влияет на эффективность связывания белка с частью сайтов [93, 94]. Например, мутация в ZF10 не позволяет белку Su(Hw) эффективно связываться с последовательностью инсультора *gypsy* [51]. В C-концевой части Su(Hw) находится домен (716–892 а.о.), который отвечает за инсультацию [32, 92, 95] и за способность белка Su(Hw) репрессировать транскрипцию генов центральной нервной системы (ЦНС) в яичниках [96–98]. Через прямое взаимодействие с Su(Hw) в состав комплекса привлекаются еще два белка Mod(mdg4)-67.2 и CP190 (рис. 3).

Белок Mod(mdg4)-67.2 продуцируется сложным локусом *mod(mdg4)* [99, 100]. На N-конце белка Mod(mdg4)-67.2 находится домен BTV/POZ (bric-a-brac, tramtrack and broad complex/poxvirus and zinc finger), который широко распространен у высших эукариот и обычно гомодимеризуется. Однако BTV-домен Mod(mdg4)-67.2 относится к осо-

бой специфичной для насекомых группе [101]. ВТВ-домены этой группы могут образовывать и гомо-, и гетеромультимерные комплексы [102]. На С-конец белка Mod(mdg4)-67.2 находится специфичный домен, взаимодействующий с С-концевым (716–892 а.о.) доменом Su(Hw) [83, 103]. Кроме того, N-концевая часть белка Su(Hw) взаимодействует с глутамин-богатым районом белка Mod(mdg4)-67.2 [104] (рис. 3). Mod(mdg4)-67.2 участвует в энхансерблокирующей активности инсультатора Su(Hw).

Белок CP190 одновременно взаимодействует с Su(Hw) и Mod(mdg4)-67.2, что стабилизирует формирование инсультаторного комплекса. На N-конец CP190 находится ВТВ-домен, формирующий стабильные гомодимеры [102, 105–107]. На С-конец CP190 располагаются глутамин- и аспарагин-богатые районы, а между ними – ответственный за взаимодействие с микротрубочками М-домен и четыре ZF [108]. ВТВ-домен CP190 взаимодействует с двумя неструктурированными N-концевыми районами белка Su(Hw), локализованными между 88 и 202 а.о. [109]. Одновременно домен М белка CP190 взаимодействует с ВТВ-доменом белка Mod(mdg4)-67.2 [104, 110] (рис. 3).

Делеции отдельных доменов в белках Su(Hw), Mod(mdg4)-67.2 и CP190 не влияют на сборку функционального комплекса *in vivo*. Таким образом, формирование Su(Hw) инсультатора обеспечивается многочисленными взаимодействиями между его белковыми компонентами, которые частично компенсируют и стабилизируют друг друга. В полногеномных исследованиях показано, что комплекс, включающий все три белка CP190/Mod(mdg4)-67.2/Su(Hw), собирается только на части Su(Hw)-связывающих сайтов [48, 94, 111]. Посадка инсультаторного комплекса на такие сайты в значительной мере опосредуется белками CP190 и Mod(mdg4)-67.2 [104, 109].

Недавно был идентифицирован новый партнер Su(Hw) – белок HIPP1 (HP1 and insulator partner protein 1) [112]. На концах белка HIPP1 локализованы высокоструктурированные области (1–212 и 675–778 а.о. соответственно), причем С-концевая область соответствует домену кротоназы [113, 114]. Кротоназный домен HIPP1 связывается с С-концевым районом Su(Hw) (637–892 а.о.), который одновременно отвечает за энхансерблокирующую и репрессорную активность инсультатора. N-Концевой домен HIPP1 взаимодействует с доменом М и ZF белка CP190 [115] (рис. 3). Показано, что инактивация гена *Hipp1* не влияет на фертильность мух и зависимость от Su(Hw) инсультацию [115, 116]. Однако одновременная инактивация генов *Hipp1* и *mod(mdg4)-67.2* значительно меняет активность инсультатора *gypsy* и сильно ослабляет связывание CP190 с Su(Hw)-

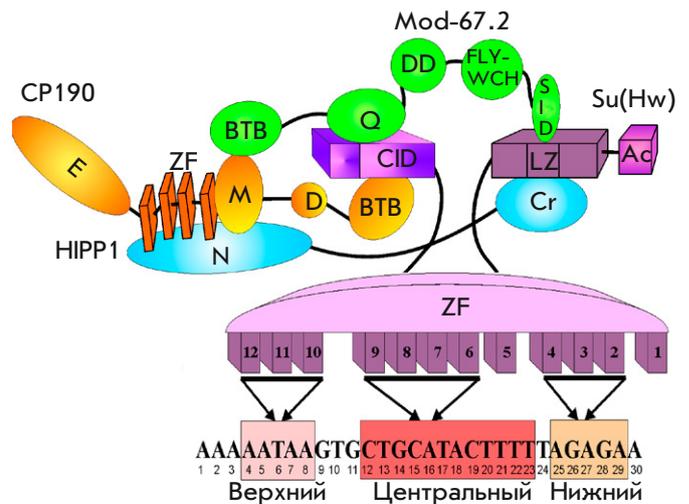


Рис. 3. Модель формирования Su(Hw)-зависимого инсультаторного комплекса. Домены белка Su(Hw) обозначены сиреневым цветом; домены белка Mod(mdg4)-67.2 – зеленым; домены белка CP190 – оранжевым; домены белка HIPP1 – голубым. Обозначения доменов: CID – взаимодействующий с CP190 домен; Ac – С-концевой кислый домен; ZF – домен цинковых пальцев; LZ – лейциновая молния; ВТВ – ВТВ/POZ-домен; Q – обогащенный глутамином район; DD – димеризующий домен; FLYWCH – цинковый палец типа FLYWCH; SID – взаимодействующий с Su(Hw) домен; D – обогащенный аспарагином район; М – взаимодействующий с центросомой домен; E – С-концевой домен, обогащенный глутамином. Внизу приведена консенсусная последовательность связывания белка Su(Hw) из инсультатора *gypsy*. ZF, связывающие каждый из мотивов, указаны стрелками

зависимыми сайтами [115]. Таким образом, рекрутирование HIPP1 и CP190 в состав инсультатора Su(Hw) является взаимозависимым.

Также установлено, что с ZF10–12 белка Su(Hw) напрямую взаимодействует белок ENY2 [117]. На трансгенных линиях продемонстрировано, что белок ENY2 участвует в барьерной активности инсультатора Su(Hw) и защищает экспрессию репортерного гена от PRE-зависимой репрессии. Интересно, что ENY2 связывается также с ZF белка dCTCF (ортолог CTCF у дрозофилы) и участвует в барьерной функции dCTCF-зависимых инсультаторов [118]. Вероятно, рекрутирование неизвестного ENY2-зависимого комплекса на ZF различных транскрипционных факторов (ТФ) можно рассматривать как общий механизм защиты генов от PRE-зависимой репрессии.

В работе Su(Hw)-зависимого комплекса могут принимать участие РНК-связывающие белки Sher и Rump, которые функционируют как негативные

регуляторы энхансерблокирующей активности [119, 120]. Кроме того, активность инсультатора Su(Hw) может регулироваться компонентами системы РНК-интерференции – Ago, aub, piwi и Rm62 [121]. Однако механизм работы этих белков не был раскрыт.

В ядре белки Su(Hw), CP190 и Mod(mdg4)-67.2 локализируются в инсультаторных тельцах [122, 123]. Для включения белков Su(Hw)-зависимого комплекса в инсультаторные тельца необходима посттрансляционная модификация белков CP190 и Mod(mdg4)-67.2 убиквитин-подобным модификатором (SUMO) [122–124]. В составе инсультаторных тельц также обнаружен белок dCTCF [125]. В модельных системах *in vivo* было показано, что образование инсультаторных тельц никак не связано с инсультацией [122], а сумолирование не является необходимым условием проявления энхансерблокирующей активности [123]. Можно предположить, что инсультаторные тельца служат своеобразными «депо» хроматиновых белков. В них происходит предварительная сборка белковых комплексов, которые эффективно связываются с синтезируемой в процессе репликации ДНК (рис. 4).

Формирование инсультаторных тельц регулируется количеством матриксного белка EAST [124]. В физиологических условиях белок EAST не связывается с хроматином [126], но взаимодействует с белками CP190 и Mod(mdg4)-67.2 [124]. Уровень экспрессии EAST влияет на связывание Su(Hw)-зависимого комплекса с хроматином и на активность Su(Hw)-зависимых инсультаторов [124, 127]. Такие эффекты EAST можно объяснить, основываясь на вышеописанной модели, согласно которой предварительная сборка инсультаторных комплексов происходит в инсультаторных тельцах.

КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНСУЛЬТОРНЫХ БЕЛКОВ

Большинство инсультаторных комплексов формируется вокруг одного или нескольких ключевых ДНК-связывающих белков. Необходимо отметить, что не существует четких параметров, в соответствии с которыми белок можно отнести к классу инсультаторных. Поэтому любой белок, обнаруженный в составе одного или нескольких инсультаторов, автоматически зачисляется в группу инсультаторных белков. У *D. melanogaster* описано 11 белков с энхансерблокирующими свойствами, содержащих ДНК-связывающие домены. Многие из них, dCTCF, Su(Hw), Pita, ZIPIC, GAF, содержат ZF типа C2H2 [128–130]. У позвоночных пока описан единственный консервативный инсультаторный белок CTCF [131].

Белок CTCF экспрессируется в большинстве тканей млекопитающих [132]. Он необходим на ранних

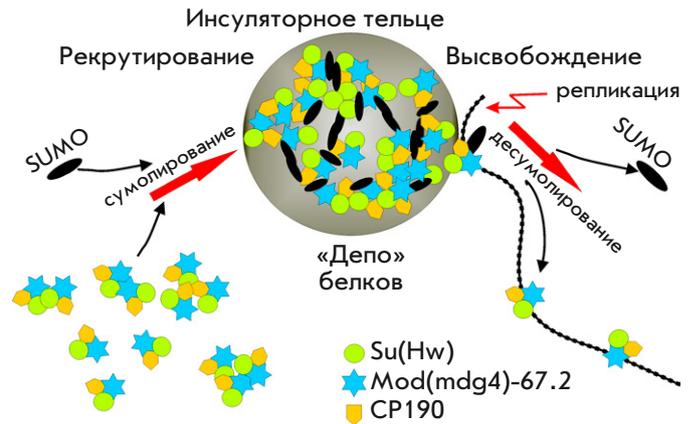


Рис. 4. Модель формирования и функционирования инсультаторных тельц. Белки CP190/Su(Hw)/Mod(mdg4)-67.2 рекрутируются в инсультаторные тельца за счет сумолирования. В инсультаторных тельцах осуществляется предварительная сборка Su(Hw)-зависимых комплексов и их ассоциация с другими ТФ. «Созревший» инсультаторный комплекс транзитивно взаимодействует с хроматиновой фибриллой, покидает инсультаторные тельца за счет десумолирования и связывается с сайтами на хроматине

стадиях развития мышей, участвует в клеточном цикле, апоптозе и дифференцировке клеток [133–135]. У дрозофилы обнаружен ортолог CTCF с аналогичной доменной структурой (dCTCF) [136]. Белок dCTCF связывается с большинством границ в ВХ-С и определяет их инсультаторную активность. В центральной части CTCF у позвоночных и дрозофилы находится кластер, содержащий 11 ZF. Изучение комплекса CTCF–ДНК человека показало, что ZF3–7 связываются с консенсусным мотивом из 15 п.н. [137]. С помощью мутаций отдельных ZF было продемонстрировано, что в первичных лимфоцитах мышей ZF9–11 и ZF1–2 связываются с фланкирующими консенсусный мотив последовательностями и стабилизируют специфичное связывание CTCF [138]. На N-конце CTCF разных организмов локализован неструктурированный домен, формирующий гомодимеры [139]. В N-концевой части CTCF человека также найден мотив, взаимодействующий с когезиновым комплексом [140]. Взаимодействуя с когезиновым комплексом, CTCF формирует хроматиновые петли и большую часть границ ТАДов, а также опосредует локальные взаимодействия между регуляторными элементами [90, 132, 141].

Белки ZIPIC, Pita и Zw5 содержат на N-конце домен ZAD (zinc finger-associated domain), а на C-конце кластеры ZF [27, 68, 142, 143]. Эти белки интенсивно экспрессируются на всех стадиях развития дрозофилы, особенно на эмбриональной. Мутации, инак-

тивирующие гены *pita* и *zw5*, вызывают раннюю эмбриональную летальность, что свидетельствует о важной роли белков Pita и Zw5 в регуляции генной экспрессии [27, 144]. Впервые белок Zw5 обнаружили на промоторе гена *CG31211*, входящего в состав инсулятора *scs* [27]. Анализ полногеномного распределения белков ZIPIC, Pita и Zw5 показал, что они связываются преимущественно с промоторами генов вблизи сайтов инициации транскрипции и, подобно белку CTCF, часто колокализуются с компонентами когезинового и конденсинового комплексов [48, 145]. Благодаря ZAD-доменам белки ZIPIC, Pita и Zw5 способны формировать гомодимеры [145]. В трансгенных линиях мультиплицированные сайты связывания этих белков формируют инсуляторы, блокирующие активность энхансеров и PRE-зависимую репрессию [146].

Белок GAF участвует в функционировании инсуляторов Fab-7 из BX-C [70], SF1 из ANT-C [52], а также инсулятора, расположенного между генами *myoglianin* и *eyeless* [56]. В центральной части белка находится один ZF, связывающийся с мотивом GAGAG [147, 148]. Как и у белка Mod(mdg4)-67.2, на N-конце GAF расположен специфичный для насекомых ВТВ-домен, формирующий гомо- и гетеромультимеры [101, 102]. ВТВ-домены GAF и Mod(mdg4)-67.2 могут взаимодействовать с белками из разных транскрипционных комплексов [102, 149–151].

Изначально белок BEAF-32 идентифицирован как фактор, взаимодействующий с инсулятором *scs*' [30, 152]. Для связывания с ДНК BEAF-32 использует расположенный на N-конце С2Н2-подобный домен, называемый BED. На С-конце белка находится домен BESS, необходимый для тримеризации BEAF [152, 153]. Каждая субъединица комплекса BEAF связывает один мотив CGATA, в то время как тримеры BEAF с высокой аффинностью связываются с кластерами мотивов CGATA [152]. Результаты полногеномного анализа показывают, что BEAF преимущественно ассоциирован с промоторными областями активных генов и участвует в стимуляции транскрипции [154, 155].

Белки Ibf1 и Ibf2 (Insulator binding factors 1 и 2), как и BEAF-32, связываются с ДНК через домен BED и образуют гетероолигомеры [156]. Полногеномный анализ показал, что Ibf1/Ibf2 часто колокализуются с другими инсуляторными белками, прежде всего с CP190 и dCTCF.

Компоненты нового, недавно описанного инсуляторного комплекса Elba (Early boundary activity) – Elba1 и Elba2, используют для связывания с ДНК С-концевые консервативные домены VEN [57]. Третий белок, Elba3, отвечает за образование димера Elba1/Elba2, который взаимодействует со специфич-

ными инсуляторными сайтами. Белок Elba2 экспрессируется на большинстве стадий развития, но два других компонента комплекса присутствуют только на ранней эмбриональной стадии. Elba распознает асимметричную последовательность ССААТААГ (8 п.н.), входящую в состав инсулятора Fab-7 из BX-C. С инсулятором Fab-7 связывается еще один белок, Insv (Insensitive) [157, 158]. Этот белок, как и белки Elba, содержит С-концевой домен VEN и экспрессируется преимущественно в ранних эмбрионах [158]. Комплекс Elba и белок Insv необходимы для функционирования инсулятора Fab-7 *in vivo* [57, 157].

Все перечисленные инсуляторные белки дрозофилы (за исключением Zw5 и комплекса Elba) взаимодействуют с белком CP190 [68, 105, 108, 125, 156, 158–162]. ДНК-связывающие инсуляторные белки рекрутируют CP190 на хроматин [68, 105, 108, 161]. В то же время белок CP190 связывается со значительной частью промоторов генов домашнего хозяйства [108, 159, 161] и участвует в создании открытого хроматина [163]. Присутствие белка CP190 на инсуляторах и промоторах говорит о возможности функциональной связи между ними.

ПРЯМОЕ УЧАСТИЕ ИНСУЛЯТОРОВ В ЭНХАНСЕР-ПРОМОТОРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

Большая часть сайтов связывания инсуляторных белков обнаружена в промоторных областях разных генов [47, 48]. Известно, что одной из основных функций белка CTCF млекопитающих является создание активных промоторов [164]. Участие одних и тех же белков в формировании промоторных и инсуляторных комплексов согласуется с транскрипционными моделями действия инсуляторов.

В трансгенных линиях дрозофилы инсулятор *gypsy* полностью блокирует энхансеры гена *yellow*, которые изолированы им от промотора, но никак не влияет на базовую активность промотора [7]. Однако если промотор гена *yellow* ослаблен мутацией, то инсуляторы *gypsy* и 1A2 восстанавливают его активность независимо от своего положения в трансгене [165]. Как и активные промоторы, Su(Hw)-зависимые инсуляторы рекрутируют комплексы SAGA и Brahma, формирующие на регуляторных элементах области открытого хроматина [166]. Вероятно, инсуляторы Su(Hw) компенсируют частичную инактивацию промотора *yellow*, рекрутируя на него ремодулирующие комплексы. Следовательно, связанные с инсулятором комплексы должны находиться в непосредственной близости от промотора. Действительно, показано, что в трансгенных линиях инсуляторы способствуют дистанционным взаимодействиям между промоторами и расположенными на 3'-конце репортерных генов активаторами GAL4 [165, 167]. С помощью ChIP

и 3С-анализов продемонстрировано взаимодействие между энхансером, находящимся перед промотором гена *white*, и инсулятором *gypsy*, расположенным на 3'-конце гена [168]. Вероятно, локальные взаимодействия между регуляторными элементами обеспечиваются белками, которые одновременно связываются с инсуляторами и промоторами [47, 48, 160, 169]. Показано, что белки CP190, Chromator и BEAF-32 могут обеспечивать дистанционные взаимодействия между участками хроматина [107]. Можно предположить, что основная функция эндогенных инсуляторов, найденных с 3'-стороны генов *yellow* и *white* [45, 46, 55], – повышение активности промоторов этих генов.

Все остальные инсуляторы гораздо слабее блокируют энхансеры гена *yellow*, чем инсулятор *gypsy* [55, 64, 68, 170]. С другой стороны, инсулятор *gypsy*, встроенный в трансгенах между энхансером и промотором гена *white*, только незначительно ослабляет экспрессию *white* в глазах мух [168]. Интересно, что С-концевой домен белка Su(Hw) отвечает одновременно за блокирование энхансеров гена *yellow* и за репрессию промоторов генов ЦНС в гонадах самок [171]. При этом сайты связывания Su(Hw) находятся непосредственно в промоторах генов ЦНС [98]. Скорее всего, репрессия обусловлена рекрутированием специфичного для герминальной ткани репрессорного комплекса, так как в глазах репрессия не наблюдается [28].

В отсутствие белка Mod(mdg4)-67.2 инсулятор *gypsy* превращается в репрессор промотора гена *yellow* [83, 95, 110]. Стоит отметить, что белок Mod(mdg4)-67.2 рекрутируется в инсуляторный комплекс через С-концевой домен Su(Hw), отвечающий за инсуляцию/репрессию. Репрессию в локусе *yellow* можно объяснить увеличением эффективности связывания репрессорного комплекса с С-концевым доменом Su(Hw) в отсутствие белка Mod(mdg4)-67.2. Показано, что *gypsy*-зависимая репрессия осуществляется через ту же предпромоторную последовательность гена *yellow*, которая необходима для дистанционных энхансер-промоторных взаимодействий [172]. Возможно, репрессорный Su(Hw)-зависимый комплекс взаимодействует с ТФ промотора, обеспечивающими коммуникацию с энхансерами.

Приведенные нами экспериментальные данные подтверждают модель, согласно которой инсуляторы динамично взаимодействуют с энхансерами и промоторами. Когда инсулятор встраивается между энхансером и промотором, взаимодействие инсуляторного комплекса с ТФ промотора или энхансера препятствует эффективному взаимодействию между ними. Например, показано, что белок Mod(mdg4)-67.2 взаимодействует с белком Zeste. Белок Zeste связывается с энхансером и промотором гена *white* и обе-

спечивает коммуникацию между ними [173, 174]. Взаимодействие между Mod(mdg4)-67 и Zeste может мешать формированию правильных энхансер-промоторных контактов и приводить к снижению транскрипции. Если же инсулятор привлекает в область промотора репрессорные комплексы, то активность энхансеров блокируется полностью.

Белок CTCF позвоночных часто формирует хроматиновые петли, взаимодействуя с активными промоторами [175, 176]. CTCF непосредственно взаимодействует с TAF3 и TFII-I, компонентами промоторного комплекса TFIID [177, 178]. Следовательно, CTCF-промоторные взаимодействия могут препятствовать формированию энхансер-промоторных контактов. В локусе *Igf2/H19* млекопитающих гены расположены так, что ген *H19* в материнском аллеле и ген *Igf2* в отцовском аллеле активируются общими дистальными энхансерами [75]. В материнском аллеле активируется ген *H19*, а в отцовском – ген *Igf2*. Взаимодействие между общими энхансерами и промоторами генов регулируется локализованным в ICR (imprinting control region) CTCF-зависимым инсулятором. С помощью метода 3С показано, что в материнском аллеле белок CTCF обеспечивает прямое взаимодействие между инсулятором и промотором *Igf2*, которое блокирует активацию *Igf2* дистальными энхансерами [179–181]. Интересно, что белок CTCF привлекает на промотор *Igf2* репрессирующий транскрипцию комплекс PRC2 (Polycomb repressive complex 2) [181].

РОЛЬ ХРОМАТИНОВЫХ ПЕТЕЛЬ В БЛОКИРОВАНИИ ЭНХАНСЕРОВ

Структурные модели действия инсуляторов постулируют, что хроматиновые петли и ТАДы блокируют взаимодействия между регуляторными элементами из соседних доменов [85, 182, 183]. Однако способность хроматиновых петель полностью блокировать энхансер-промоторные взаимодействия не подтверждена экспериментально.

Функциональную роль сформированных инсуляторами хроматиновых петель подробно изучали на трансгенных линиях дрозофил. Было обнаружено, что два идентичных инсулятора, встроенные между энхансером и промотором, нейтрализуют активность друг друга [55, 170, 184–186]. Для объяснения этого феномена было выдвинуто предположение, что одинаковые инсуляторы более эффективно взаимодействуют между собой, чем с энхансером или промотором. Поэтому они не препятствуют энхансер-промоторному взаимодействию и даже способствуют коммуникации между регуляторными элементами на больших дистанциях. Эта модель подтверждалась экспериментами, в которых между

энхансером и промотором репортерного гена располагался другой ген, окруженный инсуляторами [59, 186–188]. Эффективная энхансер-зависимая активация репортерного гена наблюдалась только в присутствии инсуляторов. Следовательно, образованная парой идентичных инсуляторов хроматиновая петля сближала энхансер и промотор (рис. 5А). Аналогичные результаты были получены на линиях, в которых энхансер замещали репрессирующим транскрипции PRE [189]. Ген, расположенный между двумя инсуляторами *gypsy*, был защищен от PRE-зависимой репрессии. В то же время взаимодействие между инсуляторами приближало PRE ко второму гену, что приводило к его репрессии. Физическое взаимодействие между инсуляторами и сближение PRE со вторым репортерным геном были подтверждены методом 3С [190].

Взаимная нейтрализация двух идентичных инсуляторов позволяет изучить непосредственную роль формируемой ими хроматиновой петли в блокировании энхансер-промоторных контактов. Как упоминалось выше, встраивание одной копии инсулятора *gypsy* между энхансером и промотором гена *white* лишь незначительно ослабляет активность энхансера [168]. Однако окружение энхансера парой инсуляторов *gypsy* полностью инактивирует его. Этот результат предполагает, что формирование небольшой хроматиновой петли, содержащей энхансер, топологически или стерически препятствует продуктивному взаимодействию между энхансером и промотором гена *white* (рис. 5В). В то же время в трансгенных линиях одна копия инсулятора *gypsy* полностью блокирует энхансеры, активирующие экспрессию гена *yellow* в теле и крыльях [170, 191]. Оказалось, что интеграция второй копии инсулятора *gypsy* перед энхансерами на расстоянии около 8 т.п.н. от первого приводит к восстановлению экспрессии *yellow*. Таким образом, формирование хроматиновой петли размером 8 т.п.н. нейтрализует инсуляцию (рис. 5В). Когда расстояние между окружающими энхансеры *yellow* инсуляторами уменьшалось до 2 т.п.н., инсуляция полностью восстанавливалась. Следовательно, только небольшие петли хроматина, включающие энхансер, способны полностью блокировать его активность. В ситуациях *in vivo* размеры хроматиновых петель намного больше 2–3 т.п.н., что предполагает возможность взаимодействия между регуляторными элементами, расположенными в соседних или удаленных друг от друга петлях.

Тестирование линий с тремя копиями инсуляторов Su(Hw), встроенных в различных комбинациях между энхансерами и двумя репортерными генами, показало, что все три копии взаимодействовали между собой [170, 191]. При этом формирование хромати-

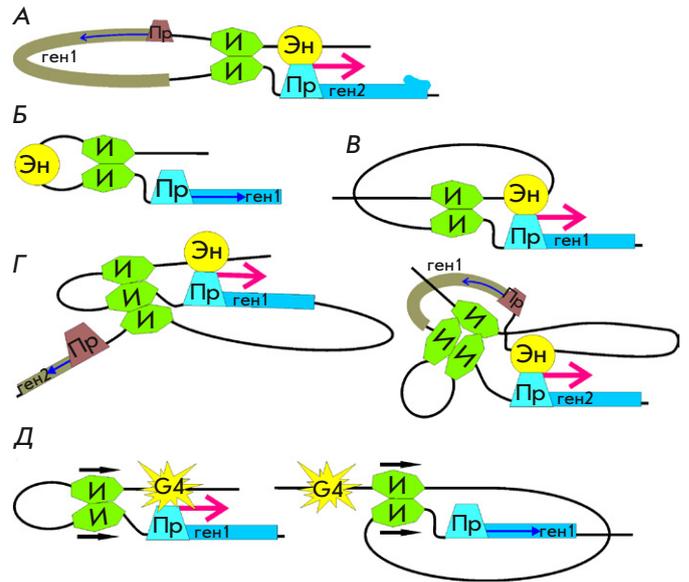


Рис. 5. Моделирование хроматиновых петель в трансгенных линиях дрозофил. А – образованная идентичными инсуляторами петля приближает энхансер к промотору. Б – тесная петля между двумя инсуляторами блокирует заключенный в ней энхансер. В – увеличение дистанции между инсуляторами, окружающими энхансер, нейтрализует инсуляцию. Г – формируемые тремя инсуляторами петли не препятствуют активации транскрипции репортерного гена. Д – взаимная ориентация инсуляторов (указана стрелками) определяет конфигурацию хроматиновой петли и, как следствие, возможность активации транскрипции. Обозначения: G4 – дрожжевой активатор GAL4; остальные обозначения, как на рис. 2

новой петли вокруг энхансера или репортерного гена не приводило к инсуляции. Этот результат еще раз подтверждает, что хроматиновые петли не играют ключевой роли в блокировании энхансер-промоторных взаимодействий (рис. 5Г).

В трансгенных линиях пары некоторых инсуляторов, например *gypsy*, *Mcr* и *Fab-7*, способны взаимодействовать на сверхдальних расстояниях, достигающих сотен тысяч пар нуклеотидов [192, 193]. На границах локуса *eve*, экспрессирующего ТФ *pair-rule*, вовлеченный в эмбриональное развитие, обнаружены инсуляторы *Homie* и *Nhomie* [194]. Эти инсуляторы эффективно взаимодействуют между собой в трансгенных линиях и могут поддерживать сверхдальние взаимодействия между энхансерами и промотором локуса *eve* в геноме [194, 195].

Для объяснения механизма взаимодействия между инсуляторами на сверхдальних расстояниях предложена модель, согласно которой инсуляторы состоят из сайтов связывания нескольких белков, каждый из которых способен эффективно гомодимеризоваться [16]. Действительно, граница *Mcr* из ВХ-С со-

держит сайты связывания белков Pita, dCTCF и еще двух неизвестных инсуляторных белков [143, 196]. Граница *Fab-7* включает сайты связывания GAF, Pita, Insv, Elba, комплекса LBC и нескольких неизвестных белков [57, 143, 157, 197, 198]. В трансгенных линиях парные сайты связывания белков Pita, ZIPIC, Zw5, dCTCF и Su(Hw) обеспечивают дистанционные взаимодействия между репортерным геном и дрожжевым активатором GAL4 [145, 146, 193]. Однако любые комбинации сайтов связывания разных белков приводят к потере взаимодействий между инсуляторами, что подтверждает роль гомодимеризации белков в организации дистанционных взаимодействий.

Кроме того, топология хроматиновых петель определяется взаимной ориентацией двух идентичных инсуляторов. Это было продемонстрировано на трансгенных линиях, где GAL4 не мог активировать транскрипцию находящегося на большом расстоянии гена *white* [146]. Идентичные инсуляторы, помещенные в непосредственной близости от GAL4 и промотора *white*, формировали петли двух различных конфигураций (рис. 5Д). Если инсуляторы находились в противоположной ориентации, то GAL4 активировал промотор гена *white*. Если же инсуляторы были сонаправленными, то формирующаяся петля полностью изолировала GAL4 от промотора. Аналогичные результаты были получены при замене активатора GAL4 на энхансер [28, 187]. Также взаимная ориентация двух инсуляторов *gypsy* влияла на Flp-зависимую рекомбинацию между сайтами FRT [199]. Противоположно ориентированные инсуляторы, расположенные между сайтами FRT, способствовали рекомбинации, а сонаправленные, наоборот, подавляли ее. Скорее всего, гомодимеризация нескольких белков, связанных с идентичными инсуляторами, определяет направление взаимодействия между ними. Топология получившейся в результате петли хроматина регулирует взаимодействия между элементами, расположенными в непосредственной близости от инсуляторов.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ В ТОПОЛОГИЧЕСКИ АССОЦИИРОВАННЫЕ ДОМЕНЫ

Хромосомы всех высших эукариот организованы в ТАДы. Размеры и способы формирования этих доменов значительно отличаются у разных животных [91, 200, 201]. Формирование ТАДов определяется частотой взаимодействия различных участков хроматина: внутри доменов частота взаимодействий выше, чем между ними. Находящиеся внутри ТАДов инсуляторы могут формировать локальные хроматиновые петли, регулируя энхансер-промоторные взаимодействия (рис. 6).

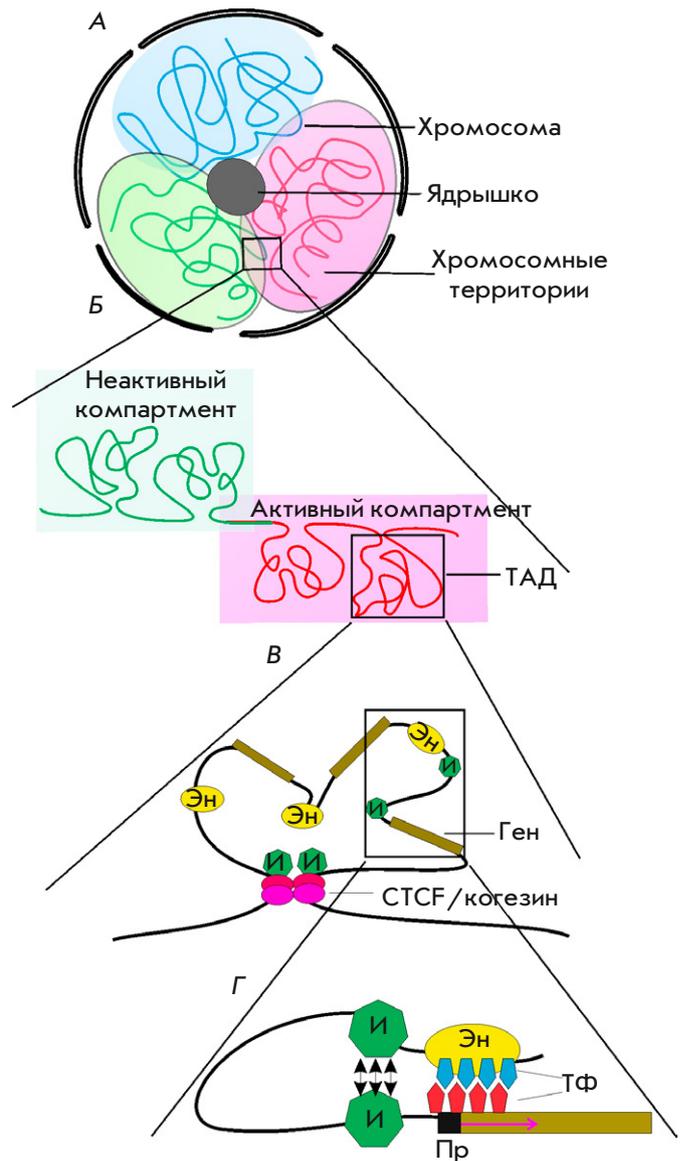


Рис. 6. Уровни организации хроматина в ядре. А – хромосомы внутри ядра занимают определенные территории (красный, зеленый и синий фон). Б – каждая хромосома формирует ТАДы, которые, в зависимости от активного/неактивного состояния хроматина, входят в определенный компартмент ядра. В – ТАДы способствуют сближению регуляторных элементов, находящихся внутри них, и обеспечивают синхронную экспрессию генов. Архитектурные белки способны динамично ограничивать формирующиеся ТАДы. Г – инсуляторы внутри ТАДа могут формировать локальные хроматиновые петли, способствующие специфичным энхансер-промоторным взаимодействиям. Обозначения: ТФ – транскрипционные факторы, остальные обозначения, как на рис. 2

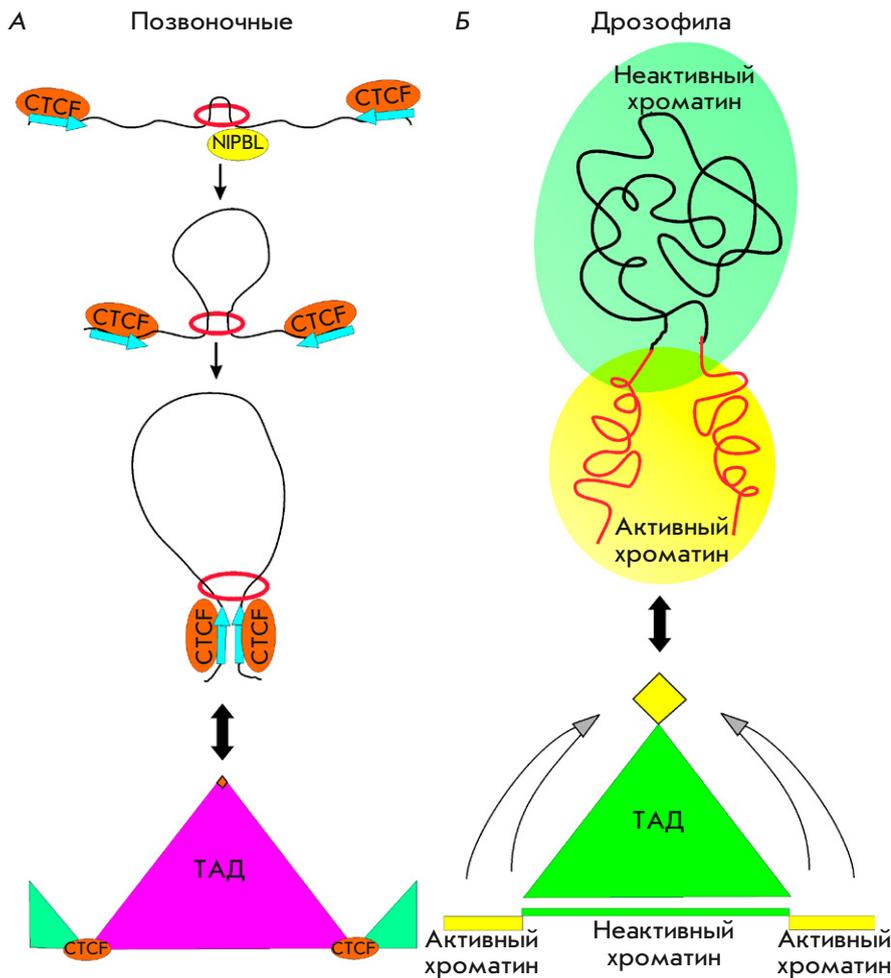


Рис. 7. Механизм формирования ТАДов у позвоночных и дрозофилы. А – формирование петли когезиновым комплексом. Когезиновый комплекс (красное кольцо) привлекается на хроматин белком NIPBL и, скользя по хроматину, выпетливает его. Выпетливание хроматина тормозится инвертированными сайтами связывания белка CTCF (обозначены стрелками). Треугольники обозначают соседние ТАДы, разделенные сайтами CTCF. Оранжевый ромб на вершине ТАДа обозначает высокую частоту взаимодействия CTCF-связывающих районов. Б – у дрозофилы активный и неактивный хроматин локализованы в разных компартментах ядра. Неактивный хроматин (зеленый прямоугольник) ограничен районами с активной транскрипцией (желтые прямоугольники). Взаимодействие активно транскрибирующихся районов (показано стрелками) формирует ТАД. Желтый ромб на вершине ТАДа обозначает наибольшую частоту взаимодействия участков активного хроматина

Центральную роль в организации ТАДов у млекопитающих играют белок CTCF и взаимодействующий с ним когезиновый комплекс. Белок CTCF совместно с когезиновым комплексом локализуется примерно на 90% границ ТАДов [89, 90]. Когезиновый комплекс, состоящий из четырех субъединиц (SMC1, SMC3 и RAD21, SCC1), формирует кольцеобразную структуру вокруг двух молекул ДНК [202]. Считается, что когезиновый комплекс способен выпетливать хроматин, пропуская его через свою кольцеобразную структуру (рис. 7А). Скользя по хроматину, когезиновый комплекс образует петли, ограничителями которых являются инвертированные относительно друг друга сайты связывания белка CTCF [203–205]. Инактивация CTCF или компонентов когезинового комплекса разрушает большую часть ТАДов, что согласуется с описанной моделью [164, 206, 207]. Слабым местом этой модели является отсутствие экспериментальных данных, подтверждающих способность когезинового комплекса выпетливать хроматин *in vivo* [208].

У млекопитающих роль CTCF-связывающих сайтов в формировании границы ТАДов изучали

на *Hox*-генах мыши [209]. Гены *HoxA* и *HoxC* располагаются в соседних ТАДах и транскрибируются независимо. Делеция района связывания CTCF между этими ТАДами разрушала их границы, что приводило к изменению паттернов экспрессии генов и в результате к гомеозисной трансформации скелета [210]. В отличие от *HoxA* и *HoxC* ген *HoxD* локализован между двух ТАДов, каждый из которых содержит энхансеры, отвечающие за работу *HoxD* в определенном типе ткани. Однако в этом случае делеция CTCF-связывающих сайтов в гене *HoxD* не разрушала границу ТАДов и минимально влияла на паттерн экспрессии гена. Граница ТАДов разрушалась и паттерн экспрессии *HoxD* менялся только при очень значительной делеции, затрагивающей структуру регуляторных районов гена. Эти данные свидетельствуют о возможном участии дополнительных ТФ, кроме CTCF и когезинового комплекса, в формировании границ ТАДов.

У дрозофилы, в отличие от позвоночных, dCTCF и когезиновый комплекс не являются ключевыми факторами формирования ТАДов. Формирующиеся ТАДы хорошо соответствуют эпигенетическим маркерам и подразделяются на классы, соот-

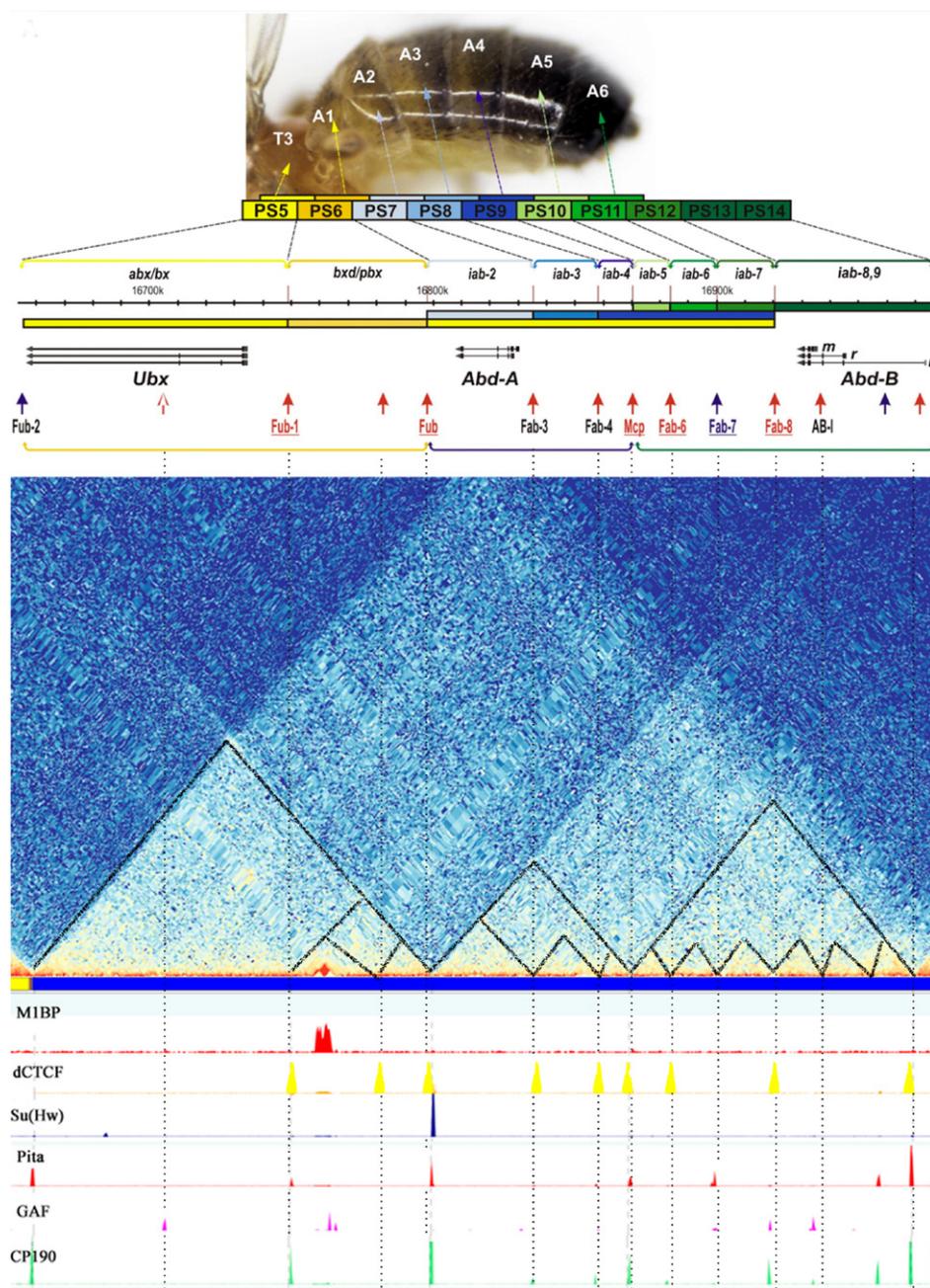


Рис. 8. Схематичное изображение ВХ-С. Карта и координаты ВХ-С взяты из ресурса FlyBase (R6.04). Разноцветные прямоугольники обозначают эмбриональные парасегменты (PS), соответствующие сегментам имаго. Регуляторные районы, контролирующие экспрессию генов *Ubx*, *Abd-A* и *Abd-B* (горизонтальные стрелки) в каждом PS обозначены верхними скобками. Регуляторные районы организованы в три транскрипционно ассоциированных района, обозначенные нижними скобками. Паттерн экспрессии каждого гена и уровень его экспрессии представлены в виде цветной шкалы, причем, чем темнее цвет, тем выше уровень экспрессии. Инсуляторы ВХ-С обозначены стрелками: красными – СТCF-зависимые, синими – не зависящие от СТCF [223]. Карта распределения ТАДов и некоторых инсуляторных/архитектурных белков в ВХ-С построена с помощью ресурса ChoroGtnome Navigator dm3 [212]

ветствующие специфике хроматина: 1) активные – активно транскрибируются, обогащены модификациями гистонов H3K4me3 и H3K36me3; 2) Polysomb-зависимые обогащены гистоновой модификацией H3K27me3 и белками группы Polysomb; 3) «безмаркерные», или «нулевые», – не имеющие известных специфических гистоновых маркеров; 4) гетерохроматиновые – обогащены маркером H3K9me2 и белками HP1 и Su(var)3-9 [91]. Районы хроматина, разделяющие ТАДы, насыщены генами с высоким уровнем транскрипции [211–213]. Они активно взаимодействуют между собой, формируя петли хроматина. При этом отсутствуют четко выраженные точ-

ки образования ТАДов, такие, как инвертированные сайты СТCF у млекопитающих [211].

Таким образом, у дрозофилы границы ТАДов определяются скорее активным состоянием и свойствами хроматина, чем сайтами связывания конкретного белка [213] (рис. 7Б). Инсуляторные белки dCTCF, CP190, Chromator, Z4 и BEAF-32, связывающиеся с промоторами генов домашнего хозяйства, часто присутствуют на границах ТАДов [201, 211, 212, 214]. Однако роль этих белков в формировании границ ТАДов пока не ясна.

Недавние исследования архитектуры хроматина в индивидуальных клетках млекопитающих вы-

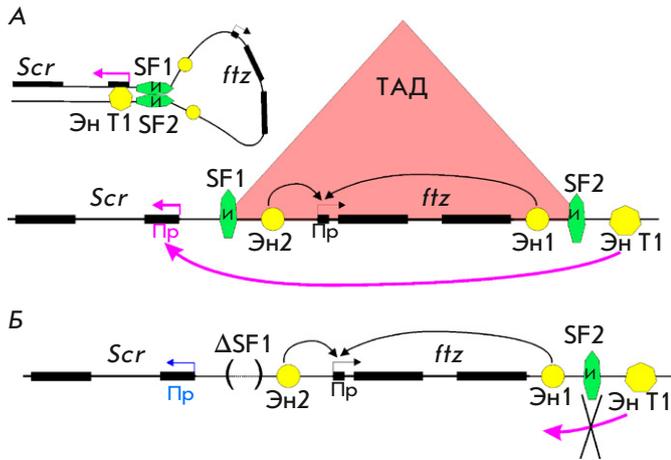


Рис. 9. Влияние инсуляторов SF1 и SF2 на формирование ТАДа и транскрипцию в ANT-C. А – границы ТАДа, включающего ген *ftz*, определяются инсуляторами SF1 и SF2. Взаимодействующие инсуляторы формируют петлю, сближающую энхансер T1 с промотором гена *Scr*. Энхансер T1 активирует транскрипцию *Scr*. Б – делеция инсулятора SF1 (показана скобкой) разрушает ТАД, что не влияет на экспрессию гена *ftz*. Однако энхансер T1 не активирует транскрипцию *Scr*, так как петля между инсуляторами не формируется. Все обозначения, как на рис. 2

явили высокую гетерогенность локализации границ ТАДов [215–218]. При этом участки ДНК внутри ТАДов взаимодействуют в среднем только в 2–3 раза чаще, чем участки ДНК из соседних ТАДов [89]. Трансграничные взаимодействия были подтверждены с помощью FISH-анализа [219, 220]. Эти результаты согласуются с интенсивной динамикой связывания/диссоциации белка CTCF, который находится на хроматине примерно 2 мин [221]. Таким образом, формирование ТАДов представляет собой динамичный процесс, а границы ТАДов не являются жестким барьером, ограничивающим энхансер-промоторные взаимодействия.

РОЛЬ ИНСУЛЯТОРОВ И ТАДОВ В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ

Инсуляторы дрозофилы играют значительную роль в обеспечении специфичных дистанционных *цис*-регуляторных взаимодействий, что хорошо продемонстрировано на примере ВХ-С [222]. Гомеозисные гены *Ubx*, *Abd-A* и *Abd-B*, входящие в ВХ-С, отвечают за формирование третьего грудного и всех абдоминальных сегментов мухи, определяя ось ее развития от головы к брюшку. ВХ-С разделен на девять регуляторных доменов (*iab* 1–9), каждый из которых активирует специфичную транскрипцию одного из трех гомеозисных генов в определенном сегменте

(рис. 8). В составе ВХ-С выделяют два ТАДа, общая граница которых совпадает с инсулятором *Fub*, расположенным между регуляторными областями генов *Ubx* и *Abd-A* [217] (рис. 8). Наиболее исследованы инсуляторы *Mcp*, *Fab-6*, *Fab-7* и *Fab-8*. Они определяют границы доменов *iab-5*, *iab-6* и *iab-7*, контролирующего уровень экспрессии *Abd-B* в брюшных сегментах А5, А6 и А7 [222, 223]. Вся регуляторная область гена *Abd-B* локализована внутри одного ТАДа. В сегменте А5 энхансеры *iab-5* активны, в то время как энхансеры *iab-6* и *iab-7* находятся в неактивном состоянии. В следующем сегменте А6 функционируют энхансеры *iab-6*, сильнее активирующие экспрессию *Abd-B*. В сегменте А7 работают еще более сильные энхансеры *iab-7*. Таким образом, в каждом последующем сегменте экспрессия *Abd-B* усиливается, что определяет правильное развитие каждого брюшного сегмента. Взаимодействия между соседними регуляторными доменами блокируются инсуляторами. Например, при делеции инсулятора *Fab-6* наблюдается преждевременная активность энхансеров *iab-6* в сегменте А5.

Генное редактирование *in vivo* позволило детально изучить структуру и функции инсуляторов на границах ВХ-С. Оказалось, что инсуляторы состоят из двух модулей, один из которых блокирует коммуникацию между соседними регуляторными доменами (инсуляторный модуль), а второй обеспечивает специфичное взаимодействие между инсулятором и промотором гена *Abd-B* (коммуникаторный модуль) [224, 225]. В локальной инсуляции регуляторных элементов, находящихся в соседних доменах, участвуют белки Su(Hw), Pita и dCTCF, а также взаимодействующий с ними белок CP190 [143, 196, 226] (рис. 8). Инсуляторный модуль может состоять из любой комбинации сайтов связывания этих белков, но количество сайтов не должно быть меньше четырех. Коммуникаторный модуль всех инсуляторов содержит сайты связывания малоизученного комплекса LBC, включающего белки GAF и CLAMP [198, 224]. Коммуникаторные модули взаимодействуют с предпромоторной областью гена *Abd-B* и формируют хроматиновые петли, обеспечивающие специфичные контакты между энхансерами *iab* и промотором *Abd-B*. В эмбриональных клеточных популяциях найдены субТАДы, которые соответствуют отдельным *iab*-доменам [217]. Формирование субТАДов коррелирует с активацией *iab*-доменов, что, вероятно, отражает взаимодействия активных доменов с промотором *Abd-B*. Этот факт подтверждает, что у дрозофилы формирование ТАДов происходит за счет взаимодействия участков активного хроматина, в то время как инсуляторные белки стабилизируют границы сформированных доменов.

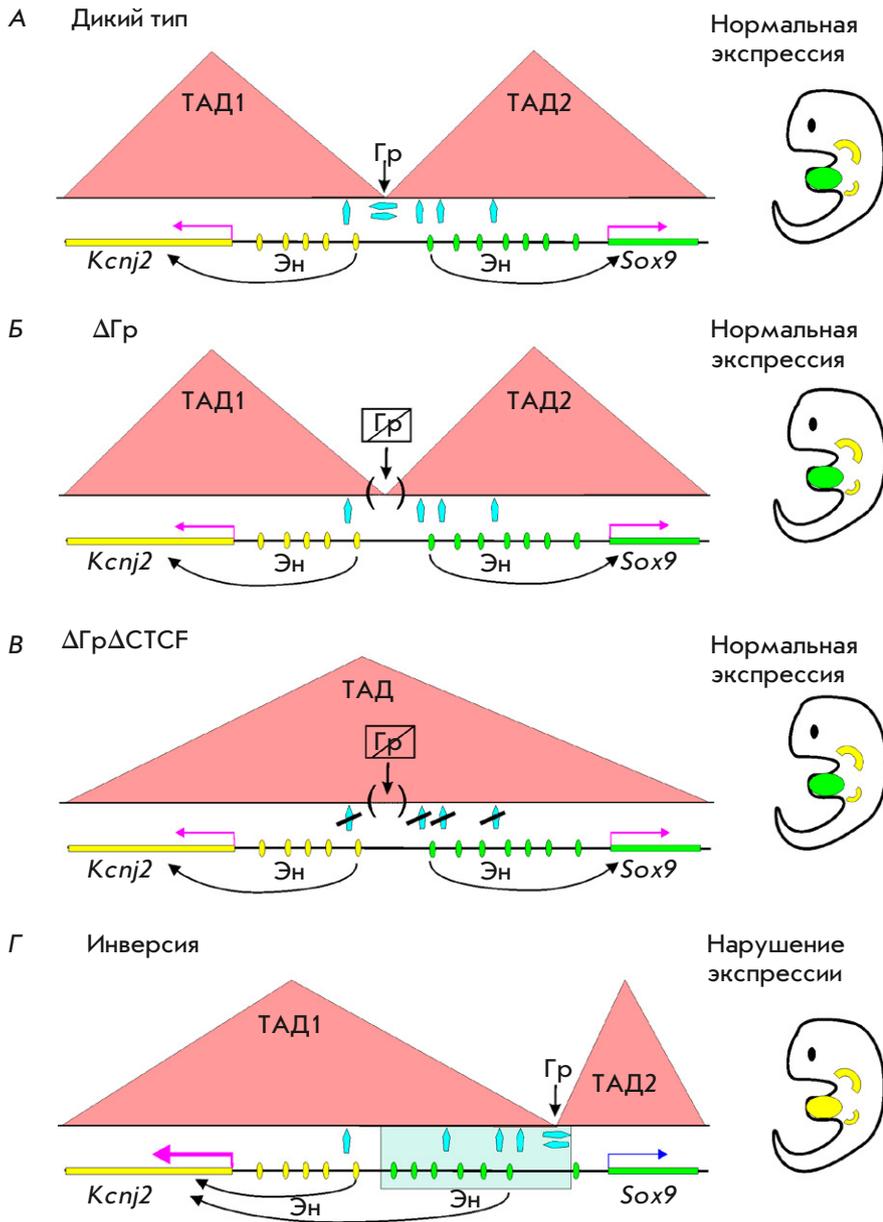


Рис. 10. Влияние ТАДов на экспрессию локусов *Kcnj2* и *Sox9*. **А** – нормальная экспрессия генов *Kcnj2* и *Sox9*. Образуются два отдельных ТАДа, граница (Гр) между которыми колокализуется с инвертированными сайтами связывания белка СТCF. **Б** – делеция СТCF-связывающих сайтов на границе ТАДов не разрушает их и не влияет на паттерны экспрессии генов. **В** – одновременная делеция граничных и внутренних сайтов СТCF приводит к слиянию ТАДов, но не влияет на экспрессию генов. **Г** – перемещение границы ТАДов приводит к неправильной экспрессии генов. Обозначения: синие стрелки – сайты связывания СТCF; паттерны экспрессии генов *Kcnj2* и *Sox9* в эмбрионе обозначены желтым и зеленым соответственно; направление действия энхансеров указано стрелками; остальные обозначения, как на рис. 2 и 9

Формирование/разрушение ТАДов может лишь минимально влиять на экспрессию генов [164, 206, 227]. Например, в комплексе гомеозисных генов ANТ-С границы ТАДа определяют два инсулятора, SF1 и SF2 [53, 228] (рис. 9А). Делеция инсулятора SF1 разрушает ТАД, что никак не влияет на экспрессию расположенного внутри ТАДа гена *fushi-tarazu* (*ftz*). Интересно, что при этом снижается транскрипция соседнего с ТАДом гена *Scr* [229] (рис. 9Б). В ранних эмбрионах находящийся с одной стороны от ТАДа ген *Scr* активируется, непосредственно взаимодействуя с энхансером T1, находящимся с другой стороны ТАДа [230] (рис. 9А). Таким образом, взаимодействующие инсуляторы SF1 и SF2 на границах ТАДа сближают энхансер T1 и ген *Scr*. Эта ситуация

полностью реализует разработанную на трансгенных линиях модель, согласно которой выпетливание хроматина между дистанцированными инсуляторами способствует энхансер-промоторному взаимодействию и активации транскрипции.

Также, влияние границ ТАДов на транскрипцию изучали точно делетируя различные сайты связывания СТCF в локусе *Sox9-Kcnj2* мыши [231]. В этом локусе локализованы два ТАДа, разделенные границей, содержащей инвертированные СТCF-связывающие сайты (рис. 10А). Также внутри каждого ТАДа присутствуют несколько дополнительных сайтов СТCF. Гены *Sox9* и *Kcnj2* активируются специфичными энхансерами и имеют разные паттерны экспрессии. Делеция сайтов СТCF на гра-

нице между *Sox9* и *Kcnj2* не приводила к слиянию ТАДов (рис. 10Б). Образование единого ТАДа наблюдалось только при дополнительном вырезании внутренних сайтов CTCF (рис. 10В). Примечательно, что при слиянии ТАДов энхансеры не активировали неспецифичный ген, и экспрессия генов *Sox9* и *Kcnj2* практически не изменялась. Вероятно, высокая специфичность энхансер-промоторных взаимодействий не позволяла когезиновому комплексу формировать новые контакты между регуляторными элементами в общем локусе *Sox9-Kcnj2*. Таким образом, граница между ТАДами не участвовала в организации специфичных энхансер-промоторных взаимодействий. При инверсии, перемещающей границу ТАДов в позицию между энхансерами *Sox9* и его промотором, формировались два новых домена (рис. 10Г). В этом случае граница ТАДов оказывала критичное влияние на транскрипцию. Изолированные от промотора энхансеры *Sox9* не могли активировать специфичный ген, но активировали *Kcnj2*, что приводило к летальному эффекту.

Перечисленные примеры позволяют сделать вывод, что организация хромосом в топологические структуры и специфичные энхансер-промоторные взаимодействия – два различных и часто независимых уровня регуляции транскрипции. Только в некоторых случаях границы ТАДов функционируют как инсуляторы, регулирующие взаимодействия между энхансерами и промоторами.

Корреляцию между экспрессией генов и нарушениями в архитектуре хроматина изучали также на линиях дрозофил, несущих хромосомы с множественными инверсиями и делециями [232]. Оказалось, что значительные изменения в организации ТАДов лишь слабо влияют на транскрипцию генов. Эти дан-

ные еще раз говорят о второстепенной роли ТАДов в регуляции экспрессии генов высших эукариот.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время становится очевидным, что ТАДы формируют архитектуру хромосом, но не являются транскрипционными доменами, регулирующими генную экспрессию. У дрозофилы большинство границ ТАДов сформировано промоторами активно транскрибирующихся генов. В некоторых случаях границы ТАДов совпадают с инсуляторами. Интересно, что многие белки, связывающиеся с инсуляторами, также входят в состав комплексов, собирающихся на промоторах. Инсуляторы являются многофункциональными регуляторными элементами. Они обеспечивают специфичность энхансер-промоторных взаимодействий, формируют границы между активным и неактивным хроматином, создают области открытого доступного для ТФ хроматина. Экспериментальные данные демонстрируют, что инсуляторы блокируют активность энхансеров, непосредственно взаимодействуя с энхансерами или промоторами. Сформированные инсуляторами хроматиновые петли играют в инсуляции лишь вспомогательную роль. Вопрос о том, как устанавливаются и регулируются дистанционные взаимодействия между энхансерами, сайленсерами, промоторами и инсуляторами, пока еще остается открытым. Несомненно, что значительную роль в этом процессе играют инсуляторные белки. Однако механизм их действия нуждается в дальнейшем изучении. ●

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 18-14-00295).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Field A., Adelman K. // *Annu. Rev. Biochem.* 2020. V. 89. P. 213–234.
- Klemm S.L., Shipony Z., Greenleaf W.J. // *Nat. Rev. Genet.* 2019. V. 20. № 4. P. 207–220.
- Schoenfelder S., Fraser P. // *Nat. Rev. Genet.* 2019. V. 20. № 8. P. 437–455.
- Frankel N., Davis G.K., Vargas D., Wang S., Payre F., Stern D.L. // *Nature.* 2010. V. 466. № 7305. P. 490–493.
- Lettice L.A., Williamson I., Devenney P.S., Kilanowski F., Dorin J., Hill R.E. // *Development.* 2014. V. 141. № 8. P. 1715–1725.
- Benyajati C., Worcel A. // *Cell.* 1976. V. 9. № 3. P. 393–407.
- Geyer P.K., Corces V.G. // *Genes Dev.* 1992. V. 6. № 10. P. 1865–1873.
- Kellum R., Schedl P. // *Cell.* 1991. V. 64. № 5. P. 941–950.
- Kellum R., Schedl P. // *Mol. Cell. Biol.* 1992. V. 12. № 5. P. 2424–2431.
- Phillips J.E., Corces V.G. // *Cell.* 2009. V. 137. № 7. P. 1194–1211.
- Wallace J.A., Felsenfeld G. // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2007. V. 17(5). P. 400–407.
- Ali T., Renkawitz R., Bartkuhn M. // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2016. V. 37. P. 17–26.
- Chetverina D., Fujioka M., Erokhin M., Georgiev P., Jaynes J.B., Schedl P. // *Bioessays.* 2017. V. 39. № 3. doi: 10.1002/bies.201600233.
- Ghirlando R., Felsenfeld G. // *Genes Dev.* 2016. V. 30. № 8. P. 881–891.
- Hnisz D., Day D.S., Young R.A. // *Cell.* 2016. V. 167. № 5. P. 1188–1200.
- Kyrchanova O., Georgiev P. // *FEBS Lett.* 2014. V. 588. № 1. P. 8–14.
- Matzat L.H., Lei E.P. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. V. 1839. № 3. P. 203–214.
- Chen D., Lei E.P. // *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2019. V. 58. P. 61–68.
- Spradling A.C., Stern D.M., Kiss I., Roote J., Laverty T., Rubin G.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V. 92. № 24. P. 10824–10830.
- Carlson C.M., Largaespada D.A. // *Nat. Rev. Genet.* 2005. V. 6.

- № 7. P. 568–580.
21. Jiang F., Doudna J.A. // *Annu. Rev. Biophys.* 2017. V. 46. P. 505–529.
22. Pirrotta V., Steller H., Bozzetti M.P. // *EMBO J.* 1985. V. 4. № 13A. P. 3501–3508.
23. Levis R., Hazelrigg T., Rubin G.M. // *Science.* 1985. V. 229. № 4713. P. 558–561.
24. Silicheva M., Golovnin A., Pomerantseva E., Parshikov A., Georgiev P., Maksimenko O. // *Nucl. Acids Res.* 2010. V. 38. № 1. P. 39–47.
25. Udvardy A., Maine E., Schedl P. // *J. Mol. Biol.* 1985. V. 185. № 2. P. 341–358.
26. Kuhn E.J., Hart C.M., Geyer P.K. // *Mol. Cell. Biol.* 2004. V. 24. № 4. P. 1470–1480.
27. Gaszner M., Vazquez J., Schedl P. // *Genes Dev.* 1999. V. 13. № 16. P. 2098–2107.
28. Kyrchanova O., Leman D., Parshikov A., Fedotova A., Studitsky V., Maksimenko O., Georgiev P. // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 4. e62690.
29. Vazquez J., Schedl P. // *EMBO J.* 1994. V. 13. № 24. P. 5984–5993.
30. Zhao K., Hart C.M., Laemmli U.K. // *Cell.* 1995. V. 81. № 6. P. 879–889.
31. Modolell J., Bender W., Meselson M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1983. V. 80. № 6. P. 1678–1682.
32. Kim J., Shen B., Rosen C., Dorsett D. // *Mol. Cell. Biol.* 1996. V. 16. № 7. P. 3381–3392.
33. Bender W., Akam M., Karch F., Beachy P.A., Peifer M., Spierer P., Lewis E.B., Hogness D.S. // *Science.* 1983. V. 221. № 4605. P. 23–29.
34. Hoover K.K., Gerasimova T.I., Chien A.J., Corces V.G. // *Genetics.* 1992. V. 132. № 3. P. 691–697.
35. Parkhurst S.M., Harrison D.A., Remington M.P., Spana C., Kelley R.L., Coyne R.S., Corces V.G. // *Genes Dev.* 1988. V. 2. № 10. P. 1205–1215.
36. Peifer M., Bender W. // *EMBO J.* 1986. V. 5. № 9. P. 2293–3203.
37. Geyer P.K., Green M.M., Corces V.G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1988. V. 85. № 22. P. 8593–8597.
38. Smith P.A., Corces V.G. // *Genetics.* 1995. V. 139. № 1. P. 215–228.
39. Geyer P.K., Spana C., Corces V.G. // *EMBO J.* 1986. V. 5. № 10. P. 2657–2662.
40. Parkhurst S.M., Corces V.G. // *Mol. Cell. Biol.* 1986. V. 6. № 1. P. 47–53.
41. Mallin D.R., Myung J.S., Patton J.S., Geyer P.K. // *Genetics.* 1998. V. 148. № 1. P. 331–339.
42. Sigrist C.J., Pirrotta V. // *Genetics.* 1997. V. 147. № 1. P. 209–221.
43. Conte C., Dastugue B., Vaury C. // *Mol. Cell. Biol.* 2002. V. 22. № 6. P. 1767–1777.
44. Brassat E., Hermant C., Jensen S., Vaury C. // *Gene.* 2010. V. 450. № 1. P. 25–31.
45. Golovnin A., Biryukova I., Romanova O., Silicheva M., Parshikov A., Savitskaya E., Pirrotta V., Georgiev P. // *Development.* 2003. V. 130. № 14. P. 3249–3258.
46. Parnell T.J., Viering M.M., Skjesol A., Helou C., Kuhn E.J., Geyer P.K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100. № 23. P. 13436–13441.
47. Negre N., Brown C.D., Shah P.K., Kheradpour P., Morrison C.A., Henikoff J.G., Feng X., Ahmad K., Russell S., White R.A., et al. // *PLoS Genet.* 2010. V. 6. № 1. e1000814.
48. Schwartz Y.B., Linder-Basso D., Kharchenko P.V., Tolstorukov M.Y., Kim M., Li H.B., Gorchakov A.A., Minoda A., Shanower G., Alekseyenko A.A., et al. // *Genome Res.* 2012. V. 22. № 11. P. 2188–2198.
49. Soshnev A.A., Ishimoto H., McAllister B.F., Li X., Wehling M.D., Kitamoto T., Geyer P.K. // *Genetics.* 2011. V. 189. № 2. P. 455–468.
50. Scott K.C., Taubman A.D., Geyer P.K. // *Genetics.* 1999. V. 153. № 2. P. 787–798.
51. Melnikova L., Kostyuchenko M., Parshikov A., Georgiev P., Golovnin A. // *PLoS One.* 2018. V. 13. № 2. e0193497.
52. Belozherov V.E., Majumder P., Shen P., Cai H.N. // *EMBO J.* 2003. V. 22. № 12. P. 3113–3121.
53. Li M., Ma Z., Liu J.K., Roy S., Patel S.K., Lane D.C., Cai H.N. // *Mol. Cell. Biol.* 2015. V. 35. № 23. P. 4018–4029.
54. Vazquez J., Schedl P. // *Genetics.* 2000. V. 155. № 3. P. 1297–1311.
55. Chetverina D., Savitskaya E., Maksimenko O., Melnikova L., Zaytseva O., Parshikov A., Galkin A.V., Georgiev P. // *Nucl. Acids Res.* 2008. V. 36. № 3. P. 929–937.
56. Sultana H., Verma S., Mishra R.K. // *Nucl. Acids Res.* 2011. V. 39. № 9. P. 3543–3557.
57. Aoki T., Sarkeshik A., Yates J., Schedl P. // *Elife.* 2012. V. 1. e00171.
58. Barges S., Mihaly J., Galloni M., Hagstrom K., Muller M., Shanower G., Schedl P., Gyurkovics H., Karch F. // *Development.* 2000. V. 127. № 4. P. 779–790.
59. Gruzdeva N., Kyrchanova O., Parshikov A., Kullyev A., Georgiev P. // *Mol. Cell. Biol.* 2005. V. 25. № 9. P. 3682–3689.
60. Gyurkovics H., Gausz J., Kummer J., Karch F. // *EMBO J.* 1990. V. 9. № 8. P. 2579–2585.
61. Hogga I., Mihaly J., Barges S., Karch F. // *Mol. Cell.* 2001. V. 8. № 5. P. 1145–1151.
62. Iampietro C., Cleard F., Gyurkovics H., Maeda R.K., Karch F. // *Development.* 2008. V. 135. № 24. P. 3983–3987.
63. Iampietro C., Gummalla M., Mutero A., Karch F., Maeda R.K. // *PLoS Genet.* 2010. V. 6. № 12. e1001260.
64. Rodin S., Kyrchanova O., Pomerantseva E., Parshikov A., Georgiev P. // *Genetics.* 2007. V. 177. № 1. P. 113–121.
65. Schweinsberg S.E., Schedl P. // *Development.* 2004. V. 131. № 19. P. 4743–4749.
66. Ciavatta D., Rogers S., Magnuson T. // *J. Mol. Biol.* 2007. V. 373. № 2. P. 233–239.
67. Hagstrom K., Muller M., Schedl P. // *Genes Dev.* 1996. V. 10. № 2. P. 3202–3215.
68. Maksimenko O., Bartkuhn M., Stakhov V., Herold M., Zolotarev N., Jox T., Buxa M.K., Kirsch R., Bonchuk A., Fedotova A., et al. // *Genome Res.* 2015. V. 25. № 1. P. 89–99.
69. Perez-Lluch S., Cuartero S., Azorin F., Espinas M.L. // *Nucl. Acids Res.* 2008. V. 36. № 21. P. 6926–6933.
70. Schweinsberg S., Hagstrom K., Gohl D., Schedl P., Kumar R.P., Mishra R., Karch F. // *Genetics.* 2004. V. 168. № 3. P. 1371–1384.
71. Zhou J., Barolo S., Szymanski P., Levine M. // *Genes Dev.* 1996. V. 10. № 24. P. 3195–3201.
72. Chung J.H., Whiteley M., Felsenfeld G. // *Cell.* 1993. V. 74. № 3. P. 505–514.
73. Bell A.C., West A.G., Felsenfeld G. // *Cell.* 1999. V. 98. № 3. P. 387–396.
74. Arzate-Mejia R.G., Recillas-Targa F., Corces V.G. // *Development.* 2018. V. 145. № 6.
75. Herold M., Bartkuhn M., Renkawitz R. // *Development.* 2012. V. 139. № 6. P. 1045–1057.
76. Bell A.C., Felsenfeld G. // *Nature.* 2000. V. 405. № 6785. P. 482–485.
77. Hark A.T., Schoenherr C.J., Katz D.J., Ingram R.S., Levorse J.M., Tilghman S.M. // *Nature.* 2000. V. 405. № 6785. P. 486–489.

78. Kanduri C., Pant V., Loukinov D., Pugacheva E., Qi C.F., Wolffe A., Ohlsson R., Lobanenkov V.V. // *Curr. Biol.* 2000. V. 10. № 14. P. 853–856.
79. Dorsett D. // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1999. V. 9. № 5. P. 505–514.
80. Geyer P.K. // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1997. V. 7. № 2. P. 242–248.
81. Liu G., Dean A. // *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.* 2019. V. 1862. № 6. P. 625–633.
82. Morcillo P., Rosen C., Baylies M.K., Dorsett D. // *Genes Dev.* 1997. V. 11. № 20. P. 2729–2740.
83. Gause M., Morcillo P., Dorsett D. // *Mol. Cell. Biol.* 2001. V. 21. № 14. P. 4807–4817.
84. Torigoi E., Bennani-Baiti I.M., Rosen C., Gonzalez K., Morcillo P., Ptashne M., Dorsett D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. № 6. P. 2686–2691.
85. Gerasimova T.I., Corces V.G. // *Annu. Rev. Genet.* 2001. V. 35. P. 193–208.
86. Gerasimova T.I., Byrd K., Corces V.G. // *Mol. Cell.* 2000. V. 6. № 5. P. 1025–1035.
87. Valenzuela L., Kamakaka R.T. // *Annu. Rev. Genet.* 2006. V. 40. P. 107–138.
88. Boettiger A., Murphy S. // *Trends Genet.* 2020. V. 36. № 4. P. 273–287.
89. Chang L.H., Ghosh S., Noordermeer D. // *J. Mol. Biol.* 2020. V. 432. № 3. P. 643–652.
90. Sikorska N., Sexton T. // *J. Mol. Biol.* 2020. V. 432. № 3. P. 653–664.
91. Szabo Q., Bantignies F., Cavalli G. // *Sci. Adv.* 2019. V. 5. № 4. eaaw1668.
92. Harrison D.A., Gdula D.A., Coyne R.S., Corces V.G. // *Genes Dev.* 1993. V. 7. № 10. P. 1966–1978.
93. Baxley R.M., Bullard J.D., Klein M.W., Fell A.G., Morales-Rosado J.A., Duan T., Geyer P.K. // *Nucl. Acids Res.* 2017. V. 45. № 8. P. 4463–4478.
94. Soshnev A.A., He B., Baxley R.M., Jiang N., Hart C.M., Tan K., Geyer P.K. // *Nucl. Acids Res.* 2012. V. 40. № 12. P. 5415–5431.
95. Georgiev P., Kozycina M. // *Genetics.* 1996. V. 142. № 2. P. 425–436.
96. Duan T., Geyer P.K. // *Genetics.* 2018. V. 209. № 3. P. 757–772.
97. Melnikova L., Elizar'ev P., Erokhin M., Molodina V., Chetverina D., Kostyuchenko M., Georgiev P., Golovnin A. // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 5314.
98. Soshnev A.A., Baxley R.M., Manak J.R., Tan K., Geyer P.K. // *Development.* 2013. V. 140. № 17. P. 3613–3623.
99. Buchner K., Roth P., Schotta G., Krauss V., Saumweber H., Reuter G., Dorn R. // *Genetics.* 2000. V. 155. № 1. P. 141–157.
100. Gerasimova T.I., Gdula D.A., Gerasimov D.V., Simonova O., Corces V.G. // *Cell.* 1995. V. 82. № 4. P. 587–597.
101. Zollman S., Godt D., Prive G.G., Couderc J.L., Laski F.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. № 22. P. 10717–10721.
102. Bonchuk A., Denisov S., Georgiev P., Maksimenko O. // *J. Mol. Biol.* 2011. V. 412. № 3. P. 423–436.
103. Ghosh D., Gerasimova T.I., Corces V.G. // *EMBO J.* 2001. V. 20. № 10. P. 2518–2527.
104. Melnikova L., Kostyuchenko M., Molodina V., Parshikov A., Georgiev P., Golovnin A. // *Open Biol.* 2017. V. 7. № 10. P. 170150.
105. Oliver D., Sheehan B., South H., Akbari O., Pai C.Y. // *BMC Cell Biol.* 2010. V. 11. P. 101.
106. Plevocek K.M., Galletta B.J., Slep K.C., Rusan N.M. // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 12. e0144174.
107. Vogelmann J., Le Gall A., Dejardin S., Allemand F., Gamot A., Labesse G., Cuvier O., Negre N., Cohen-Gonsaud M., Margeat E., et al. // *PLoS Genet.* 2014. V. 10. № 8. P. e1004544.
108. Pai C.Y., Lei E.P., Ghosh D., Corces V.G. // *Mol. Cell.* 2004. V. 16. № 5. P. 737–748.
109. Melnikova L., Kostyuchenko M., Molodina V., Parshikov A., Georgiev P., Golovnin A. // *Chromosoma.* 2018. V. 127. № 1. P. 59–71.
110. Golovnin A., Mazur A., Kopantseva M., Kurshakova M., Gulak P.V., Gilmore B., Whitfield W.G., Geyer P., Pirrotta V., Georgiev P. // *Mol. Cell. Biol.* 2007. V. 27. № 3. P. 963–974.
111. Nègre N., Brown C.D., Ma L., Bristow C.A., Miller S.W., Wagner U., Kheradpour P., Eaton M.L., Loriaux P., Sealfon R., et al. // *Nature.* 2011. V. 471. № 7339. P. 527–531.
112. Alekseyenko A.A., Gorchakov A.A., Zee B.M., Fuchs S.M., Kharchenko P.V., Kuroda M.I. // *Genes Dev.* 2014. V. 28. № 13. P. 1445–1460.
113. Caron C., Pivot-Pajot C., van Grunsven L.A., Col E., Le Strat C., Rousseaux S., Khochbin S. // *EMBO Rep.* 2003. V. 4. № 9. P. 877–882.
114. Lahn B.T., Tang Z.L., Zhou J., Barndt R.J., Parvinen M., Allis C.D., Page D.C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. № 13. P. 8707–8712.
115. Melnikova L., Molodina V., Erokhin M., Georgiev P., Golovnin A. // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 19102.
116. Glenn S.E., Geyer P.K. // *G3 (Bethesda).* 2019. V. 9. № 2. P. 345–357.
117. Kurshakova M., Maksimenko O., Golovnin A., Pulina M., Georgieva S., Georgiev P., Krasnov A. // *Mol. Cell.* 2007. V. 27. № 2. P. 332–338.
118. Maksimenko O., Kyrchanova O., Bonchuk A., Stakhov V., Parshikov A., Georgiev P. // *Epigenetics.* 2014. V. 9. № 9. P. 1261–1270.
119. King M.R., Matzat L.H., Dale R.K., Lim S.J., Lei E.P. // *J. Cell Sci.* 2014. V. 127. № 13. P. 2956–2966.
120. Matzat L.H., Dale R.K., Moshkovich N., Lei E.P. // *PLoS Genet.* 2012. V. 8. № 11. P. e1003069.
121. Lei E.P., Corces V.G. // *Nat. Genet.* 2006. V. 38. № 8. P. 936–941.
122. Golovnin A., Melnikova L., Shapovalov I., Kostyuchenko M., Georgiev P. // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 10. e0140991.
123. Golovnin A., Melnikova L., Volkov I., Kostyuchenko M., Galkin A.V., Georgiev P. // *EMBO Rep.* 2008. V. 9. № 5. P. 440–445.
124. Golovnin A., Volkov I., Georgiev P. // *J. Cell Sci.* 2012. V. 125. № 8. P. 2064–2074.
125. Gerasimova T.I., Lei E.P., Bushey A.M., Corces V.G. // *Mol. Cell.* 2007. V. 28. № 5. P. 61–72.
126. Wasser M., Chia W. // *PLoS One.* 2007. V. 2. № 5. e412.
127. Melnikova L., Shapovalov I., Kostyuchenko M., Georgiev P., Golovnin A. // *Chromosoma.* 2017. V. 126. № 2. P. 299–311.
128. Iuchi S. // *Cell. Mol. Life Sci.* 2001. V. 58. № 4. P. 625–635.
129. Najafabadi H.S., Mnaimneh S., Schmitges F.W., Garton M., Lam K.N., Yang A., Albu M., Weirauch M.T., Radovani E., Kim P.M., et al. // *Nat. Biotechnol.* 2015. V. 33. № 5. P. 555–562.
130. Razin S.V., Borunova V.V., Maksimenko O.G., Kantidze O.L. // *Biochemistry (Moscow)* 2012. V. 77. № 3. P. 217–226.
131. Heger P., Marin B., Bartkuhn M., Schierenberg E., Wiehe T. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. № 43. P. 17507–17512.
132. Wendt K.S., Yoshida K., Itoh T., Bando M., Koch B., Schirghuber E., Tsutsumi, S., Nagae G., Ishihara K., Mishiro T., et al. // *Nature.* 2008. V. 451. № 7180. P. 796–801.
133. Heath H., Ribeiro de Almeida C., Sleutels F., Dingjan G., van de Nobelen S., Jonkers I., Ling K.W., Gribnau J., Renkawitz R., Grosveld F., et al. // *EMBO J.* 2008. V. 27. № 21. P. 2839–2850.
134. Soshnikova N., Montavon T., Leleu M., Galjart N., Duboule D. // *Dev. Cell.* 2010. V. 19. № 6. P. 819–830.

135. Splinter E., Heath H., Kooren J., Palstra R.J., Klous P., Grosveld F., Galjart N., de Laat W., et al. // *Genes Dev.* 2006. V. 20. № 17. P. 2349–2354.
136. Moon H., Filippova G., Loukinov D., Pugacheva E., Chen Q., Smith S.T., Munhall A., Grewe B., Bartkuhn M., Arnold R., et al. // *EMBO Rep.* 2005. V. 6. № 2. P. 165–170.
137. Hashimoto H., Wang D., Horton J.R., Zhang X., Corces V.G., Cheng X. // *Mol. Cell.* 2017. V. 66. № 5. P. 711–720 e3.
138. Nakahashi H., Kieffer Kwon K.R., Resch W., Vian L., Dose M., Stavreva D., Hakim O., Pruett N., Nelson S., Yamane A., et al. // *Cell Rep.* 2013. V. 3. № 5. P. 1678–1689.
139. Bonchuk A., Kamalyan S., Mariasina S., Boyko K., Popov V., Maksimenko O., Georgiev P. // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 2677.
140. Li Y., Haarhuis J.H.I., Sedeni Cacciatore A., Oldenkamp R., van Ruiten M.S., Willems L., Teunissen H., Muir K.W., de Wit E., Rowland B.D., et al. // *Nature.* 2020. V. 578. № 7795. P. 472–476.
141. Parelho V., Hadjir S., Spivakov M., Leleu M., Sauer S., Gregson H.C., Jarmuz A., Canzonetta C., Webster Z., Nesterova T., et al. // *Cell.* 2008. V. 132. № 3. P. 422–433.
142. Fedotova A.A., Bonchuk A.N., Mogila V.A., Georgiev P.G. // *Acta Naturae.* 2017. V. 9. № 2. P. 47–58.
143. Kyrchanova O., Zolotarev N., Mogila V., Maksimenko O., Schedl P., Georgiev P. // *Development.* 2017. V. 144. № 14. P. 2663–2672.
144. Page A.R., Kovacs A., Deak P., Torok T., Kiss I., Dario P., Bastos C., Batista P., Gomes R., Ohkura H., et al. // *EMBO J.* 2005. V. 24. № 24. P. 4304–4315.
145. Zolotarev N., Fedotova A., Kyrchanova O., Bonchuk A., Penin A.A., Lando A.S., Eliseeva I.A., Kulakovskiy I.V., Maksimenko O., Georgiev P. // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № 15. P. 7228–7241.
146. Kyrchanova O., Chetverina D., Maksimenko O., Kullyev A., Georgiev P. // *Nucl. Acids Res.* 2008. V. 36. № 22. P. 7019–7028.
147. Espinas M.L., Jimenez-Garcia E., Vaquero A., Canudas S., Bernues J., Azorin F. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 23. P. 16461–16469.
148. Lu Q., Wallrath L.L., Granok H., Elgin S.C. // *Mol. Cell. Biol.* 1993. V. 13. № 5. P. 2802–2814.
149. Bartoletti M., Rubin T., Chalvet F., Netter S., Dos Santos N., Poisot E., Paces-Fessy M., Cumenal D., Peronnet F., Pret A.M., et al. // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 11. e49958.
150. Melnikova L., Juge F., Gruzdeva N., Mazur A., Cavalli G., Georgiev P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 41. P. 14806–14811.
151. Pagans S., Ortiz-Lombardia M., Espinas M.L., Bernues J., Azorin F. // *Nucl. Acids Res.* 2002. V. 30. № 20. P. 4406–4413.
152. Hart C.M., Zhao K., Laemmli U.K. // *Mol. Cell. Biol.* 1997. V. 17. № 2. P. 999–1009.
153. Gilbert M.K., Tan Y.Y., Hart C.M. // *Genetics.* 2006. V. 173. № 3. P. 1365–1375.
154. Emberly E., Blattes R., Schuettengruber B., Hennion M., Jiang N., Hart C.M., Kas E., Cuvier O. // *PLoS Biol.* 2008. V. 6. № 12. P. 2896–2910.
155. Jiang N., Emberly E., Cuvier O., Hart C.M. // *Mol. Cell. Biol.* 2009. V. 29. № 13. P. 3556–3568.
156. Cuartero S., Fresan U., Reina O., Planet E., Espinas M.L. // *EMBO J.* 2014. V. 33. № 6. P. 637–647.
157. Fedotova A., Aoki T., Rossier M., Mishra R.K., Clendinen C., Kyrchanova O., Wolle D., Bonchuk A., Maeda R.K., Mutero A., et al. // *Genetics.* 2018. V. 210. № 2. P. 573–585.
158. Dai Q., Ren A., Westholm J.O., Duan H., Patel D.J., Lai E.C. // *Genes Dev.* 2015. V. 29. № 1. P. 48–62.
159. Bartkuhn M., Straub T., Herold M., Herrmann M., Rathke C., Saumweber H., Gilfillan G.D., Becker P.B., Renkawitz R. // *EMBO J.* 2009. V. 28. № 7. P. 877–888.
160. Bushey A.M., Ramos E., Corces V.G. // *Genes Dev.* 2009. V. 23. № 11. P. 1338–1350.
161. Mohan M., Bartkuhn M., Herold M., Philippen A., Heintz N., Bardenhagen I., Leers J., White R.A., Renkawitz-Pohl R., Saumweber H., et al. // *EMBO J.* 2007. V. 26. № 19. P. 4203–4214.
162. Liang J., Lacroix L., Gamot A., Cuddapah S., Queille S., Lhoumaud P., Lepetit P., Martin P.G., Vogelmann J., Court F., et al. // *Mol. Cell.* 2014. V. 53. № 4. P. 672–681.
163. Ahanger S.H., Gunther K., Weth O., Bartkuhn M., Biondi R.R., Shouche Y.S., Renkawitz R. // *Sci. Rep.* 2014. V. 4. P. 3917.
164. Nora E.P., Goloborodko A., Valtouros A.L., Gibcus J.H., Uebbersohn A., Abdennur N., Dekker J., Mirny L.A., Bruneau B.G. // *Cell.* 2017. V. 169. № 5. P. 930–944 e22.
165. Golovnin A., Melnick E., Mazur A., Georgiev P. // *Genetics.* 2005. V. 170. № 3. P. 1133–1142.
166. Vorobyeva N.E., Mazina M.U., Golovnin A.K., Kopytova D.V., Gurskiy D.Y., Nabirochkina E.N., Georgieva S.G., Georgiev P.G., Krasnov A.N. // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. № 11. P. 5717–5730.
167. Erokhin M., Davydova A., Kyrchanova O., Parshikov A., Georgiev P., Chetverina D. // *Development.* 2011. V. 138. № 18. P. 4097–4106.
168. Kyrchanova O., Maksimenko O., Stakhov V., Ivlieva T., Parshikov A., Studitsky V.M., Georgiev P. // *PLoS Genet.* 2013. V. 9. № 7. P. e1003606.
169. Holohan E.E., Kwong C., Adryan B., Bartkuhn M., Herold M., Renkawitz R., Russell S., White R. // *PLoS Genet.* 2007. V. 3. № 7. P. e112.
170. Maksimenko O., Golovnin A., Georgiev P. // *Mol. Cell. Biol.* 2008. V. 28. № 17. P. 5469–5477.
171. Melnikova L., Elizar'ev P., Erokhin M., Molodina V., Chetverina D., Kostyuchenko M., Georgiev P., Golovnin A. // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 5314.
172. Melnikova L., Kostyuchenko M., Silicheva M., Georgiev P. // *Chromosoma.* 2008. V. 117. № 2. P. 137–145.
173. Kostyuchenko M., Savitskaya E., Koryagina E., Melnikova L., Karakozova M., Georgiev P. // *Chromosoma.* 2009. V. 118. № 5. P. 665–674.
174. Qian S., Varjavand B., Pirrotta V. // *Genetics.* 1992. V. 131. № 1. P. 79–90.
175. Handoko L., Xu H., Li G., Ngan C.Y., Chew E., Schnapp M., Lee C.W., Ye C., Ping J.L., Mulawadi F., et al. // *Nat. Genet.* 2011. V. 43. № 7. P. 630–638.
176. Sanyal A., Lajoie B.R., Jain G., Dekker J. // *Nature.* 2012. V. 489. № 7414. P. 109–113.
177. Liu Z., Scannell D.R., Eisen M.B., Tjian R. // *Cell.* 2011. V. 146. № 5. P. 720–731.
178. Pena-Hernandez R., Marques M., Hilmi K., Zhao T., Saad A., Alaoui-Jamali M.A., del Rincon S.V., Ashworth T., Roy A.L., Emerson B.M., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015. V. 112. № 7. P. E677–686.
179. Han L., Lee D.H., Szabo P.E. // *Mol. Cell. Biol.* 2008. V. 28. № 3. P. 1124–1135.
180. Kurukuti S., Tiwari V.K., Tavosoidana G., Pugacheva E., Murrell A., Zhao Z., Lobanenko V., Reik W., Ohlsson R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103. № 28. P. 10684–10689.
181. Li T., Hu J.F., Qiu X., Ling J., Chen H., Wang S., Hou A., Vu T.H., Hoffman A.R. // *Mol. Cell. Biol.* 2008. V. 28. № 20. P. 6473–6482.
182. Dekker J., Mirny L. // *Cell.* 2016. V. 164. № 6. P. 1110–1121.
183. Gomez-Diaz E., Corces V.G. // *Trends Cell Biol.* 2014. V. 24. № 11. P. 703–711.

184. Cai H.N., Shen P. // *Science*. 2001. V. 291. № 5503. P. 493–495.
185. Kuhn E.J., Viering M.M., Rhodes K.M., Geyer P.K. // *EMBO J*. 2003. V. 22. № 10. P. 2463–2471.
186. Muravyova E., Golovnin A., Gracheva E., Parshikov A., Belenkaya T., Pirrotta V., Georgiev P. // *Science*. 2001. V. 291. № 5503. P. 495–498.
187. Kyrchanova O., Toshchakov S., Parshikov A., Georgiev P. // *Mol. Cell. Biol.* 2007. V. 27. № 8. P. 3035–3043.
188. Kyrchanova O., Toshchakov S., Podstreshnaya Y., Parshikov A., Georgiev P. // *Mol. Cell. Biol.* 2008. V. 28. № 12. P. 4188–4195.
189. Comet I., Savitskaya E., Schuettengruber B., Negre N., Lavrov S., Parshikov A., Juge F., Gracheva E., Georgiev P., Cavalli G. // *Dev. Cell*. 2006. V. 11. № 1. P. 117–124.
190. Comet I., Schuettengruber B., Sexton T., Cavalli G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011. V. 108. № 6. P. 2294–2299.
191. Savitskaya E., Melnikova L., Kostuchenko M., Kravchenko E., Pomerantseva E., Boikova T., Chetverina D., Parshikov A., Zobacheva P., Gracheva E., et al. // *Mol. Cell. Biol.* 2006. V. 26. № 3. P. 754–761.
192. Kravchenko E., Savitskaya E., Kravchuk O., Parshikov A., Georgiev P., Savitsky M. // *Mol. Cell. Biol.* 2005. V. 25. № 21. P. 9283–9291.
193. Kyrchanova O., Ivlieva T., Toshchakov S., Parshikov A., Maksimenko O., Georgiev P. // *Nucl. Acids Res.* 2011. V. 39. № 8. P. 3042–3052.
194. Fujioka M., Mistry H., Schedl P., Jaynes J.B. // *PLoS Genet.* 2016. V. 12(2). P. e1005889.
195. Chen H., Levo M., Barinov L., Fujioka M., Jaynes J.B., Gregor T. // *Nat. Genet.* 2018. V. 50. № 9. P. 1296–1303.
196. Kyrchanova O., Maksimenko O., Ibragimov A., Sokolov V., Postika N., Lukyanova M., Schedl P., Georgiev P. // *Sci. Adv.* 2020. V. 6. № 13. P. eaaz3152.
197. Kaye E.G., Kurbidaeva A., Wolle D., Aoki T., Schedl P., Larschan E. // *Mol. Cell. Biol.* 2017. V. 37. № 21. P. e00253-17.
198. Kyrchanova O., Sabirov M., Mogila V., Kurbidaeva A., Postika N., Maksimenko O., Schedl P., Georgiev P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019. V. 116. № 27. P. 13462–13467.
199. Krivega M., Savitskaya E., Krivega I., Karakozova M., Parshikov A., Golovnin A., Georgiev P. // *Chromosoma*. 2010. V. 119. № 4. P. 425–434.
200. Sexton T., Cavalli G. // *Cell*. 2015. V. 160. № 6. P. 1049–1059.
201. Sexton T., Yaffe E., Kenigsberg E., Bantignies F., Leblanc B., Hoichman M., Parrinello H., Tanay A., Cavalli G. // *Cell*. 2012. V. 148. № 3. P. 458–472.
202. Hons M.T., Huis In 't Veld P.J., Kaesler J., Rombaut P., Schleiffer A., Herzog F., Stark H., Peters J.M. // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. P. 12523.
203. Fudenberg G., Imakaev M., Lu C., Goloborodko A., Abdennur N., Mirny L.A. // *Cell Rep.* 2016. V. 15. № 9. P. 2038–2049.
204. Haarhuis J.H.I., van der Weide R.H., Blomen V.A., Yanez-Cuna J.O., Amendola M., van Ruiten M.S., Krijger P.H.L., Teunissen H., Medema R.H., van Steensel B., et al. // *Cell*. 2017. V. 169. № 4. P. 693–707 e14.
205. Sanborn A.L., Rao S.S., Huang S.C., Durand N.C., Huntley M.H., Jewett A.I., Bochkov I.D., Chinnappan D., Cutkosky A., Li J., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015. V. 112. № 47. P. E6456–6465.
206. Schwarzer W., Abdennur N., Goloborodko A., Pekowska A., Fudenberg G., Loe-Mie Y., Fonseca N.A., Huber W., Haering C.H., Mirny L., et al. // *Nature*. 2017. V. 551. № 7678. P. 51–56.
207. Wutz G., Varnai C., Nagasaka K., Cisneros D.A., Stocsits R.R., Tang W., Schoenfelder S., Jessberger G., Muhar M., Hossain M.J., et al. // *EMBO J*. 2017. V. 36. № 24. P. 3573–3599.
208. Nishiyama T. // *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2019. V. 58. P. 8–14.
209. Rodriguez-Carballo E., Lopez-Delisle L., Zhan Y., Fabre P.J., Beccari L., El-Idrissi I., Huynh T.H.N., Ozadam H., Dekker J., Duboule D. // *Genes Dev.* 2017. V. 31. № 22. P. 2264–2281.
210. Narendra V., Bulajic M., Dekker J., Mazzoni E.O., Reinberg D. // *Genes Dev.* 2016. V. 30. № 24. P. 2657–2662.
211. Hug C.B., Grimaldi A.G., Kruse K., Vaquerizas J.M. // *Cell*. 2017. V. 169. № 2. P. 216–228 e19.
212. Ramirez F., Bhardwaj V., Arrigoni L., Lam K.C., Gruning B.A., Villaveces J., Habermann B., Akhtar A., Manke T. // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. № 1. P. 189.
213. 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., et al. // *Genome Res.* 2016. V. 26. № 1. P. 70–84.
214. Phillips-Cremins J.E., Corces V.G. // *Mol. Cell*. 2013. V. 50. № 4. P. 461–474.
215. Cattoni D.I., Cardozo Gizzi A.M., Georgieva M., Di Stefano M., Valeri A., Chamoussat D., Houbbron C., Dejardin S., Fiche J.B., Gonzalez I., et al. // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. № 1. P. 1753.
216. Flyamer I.M., Gassler J., Imakaev M., Brandao H.B., Ulianov S.V., Abdennur N., Razin S.V., Mirny L.A., Tachibana-Konwalski K. // *Nature*. 2017. V. 544. № 7648. P. 110–114.
217. Mateo L.J., Murphy S.E., Hafner A., Cinquini I.S., Walker C.A., Boettiger A.N. // *Nature*. 2019. V. 568. № 7750. P. 49–54.
218. Tan L., Xing D., Chang C.H., Li H., Xie X.S. // *Science*. 2018. V. 361. № 6405. P. 924–928.
219. Finn E.H., Pegoraro G., Brandao H.B., Valton A.L., Oomen M.E., Dekker J., Mirny L., Misteli T. // *Cell*. 2019. V. 176. № 6. P. 1502–1515 e10.
220. Luppino J.M., Park D.S., Nguyen S.C., Lan Y., Xu Z., Yunker R., Joyce E.F. // *Nat. Genet.* 2020. V. 52. № 8. P. 840–848.
221. Hansen A.S., Pustova I., Cattoglio C., Tjian R., Darzacq X. // *Elife*. 2017. V. 6. P. e25776.
222. Maeda R.K., Karch F. // *Chromosoma*. 2015. V. 124. № 3. P. 293–307.
223. Kyrchanova O., Mogila V., Wolle D., Magbanua J.P., White R., Georgiev P., Schedl P. // *Mech. Dev.* 2015. V. 138. № 2. P. 122–132.
224. Kyrchanova O., Wolle D., Sabirov M., Kurbidaeva A., Aoki T., Maksimenko O., Kyrchanova M., Georgiev P., Schedl P. // *Genetics*. 2019. V. 213. № 3. P. 865–876.
225. Postika N., Metzler M., Affolter M., Muller M., Schedl P., Georgiev P., Kyrchanova O. // *PLoS Genet.* 2018. V. 14. № 12. P. e1007702.
226. Kyrchanova O., Mogila V., Wolle D., Deshpande G., Parshikov A., Cleard F., Karch F., Schedl P., Georgiev P. // *PLoS Genet.* 2016. V. 12. № 7. P. e1006188.
227. Rao S.S.P., Huang S.C., Glenn St Hilaire B., Engreitz J.M., Perez E.M., Kieffer-Kwon K.R., Sanborn A.L., Johnstone S.E., Bascom G.D., Bochkov I.D., et al. // *Cell*. 2017. V. 171. № 2. P. 305–320 e24.
228. Li M., Ma Z., Roy S., Patel S.K., Lane D.C., Duffy C.R., Cai H.N. // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. P. 15158.
229. Yokoshi M., Segawa K., Fukaya T. // *Mol. Cell*. 2020. V. 78. № 2. P. 224–235 e5.
230. Stadler M.R., Haines J.E., Eisen M.B. // *Elife*. 2017. V. 6. P. e29550.
231. Despang A., Schopflin R., Franke M., Ali S., Jerkovic I., Paliou C., Chan W.L., Timmermann B., Wittler L., Vingron M., et al. // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. № 8. P. 1263–1271.
232. Ghavi-Helm Y., Jankowski A., Meiers S., Viales R.R., Korb J.O., Furlong E.E.M. // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. № 8. P. 1272–1282.