

УДК 577.21

Модификаторы хроматина в регуляции транскрипции: свежие находки и перспективы

М. Ю. Мазина, Н. Е. Воробьева*

Институт биологии гена РАН, группа динамики транскрипционных комплексов, Москва, 119334 Россия

*E-mail: vorobyeva@genebiology.ru

Поступила в редакцию 28.07.2020

Принята к печати 17.12.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11101

РЕФЕРАТ Комплексы, модифицирующие и ремоделирующие гистоны, считаются основными корегуляторами, которые изменяют структуру хроматина и влияют тем самым на транскрипцию. Согласованная работа этих комплексов необходима для активации транскрипции любого гена эукариот. В данном обзоре мы обсуждаем современные направления в исследовании модификаторов гистонов и факторов, ремоделирующих хроматин: механизмы функционирования белков и транскрипционных комплексов-пионеров; ремоделирование и модификация комплексами негистоновых белков; дополнительные функции некаталитических субъединиц ремоделирующих факторов, а также участие модификаторов гистонов в «паузе» РНК-полимеразы II. Приведены также схемы, иллюстрирующие механизмы рекрутирования основных классов факторов, ремоделирующих и модифицирующих хроматин, в различные сайты генома, а также их функциональные активности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА транскрипция, хроматин, энхансер, корегулятор, ремоделирование, транскрипционный фактор.

ВВЕДЕНИЕ

Активация транскрипции генов эукариот начинается со связывания белка-активатора (например, рецептора гормона) с регуляторным элементом гена. Активаторный белок при участии комплексов-корегуляторов привлекает на ген общие факторы транскрипции. Именно мультибелковые корегуляторные комплексы координируют процесс транскрипции – они интегрируют сигналы от различных ДНК-связывающих активаторов, а также модификаций хроматина и передают их на общие факторы транскрипции (рис. 1А). Модификаторы хроматина, которые входят в число основных корегуляторных комплексов, участвующих в транскрипции любого гена, подразделяются на две большие, функционально различные группы: комплексы, изменяющие положение нуклеосом, и комплексы, ковалентно модифицирующие гистоны в составе хроматина (рис. 1Б).

Известно, что в активации транскрипции участвуют сотни различных белков. Все вместе они не могут оставаться связанными с регуляторными элементами активируемого гена на протяжении всего процесса активации (хотя такая возможность предполагалась ранее в рамках гипотезы «гистонового кода»). В настоящее время транскрипционный процесс представляется чрезвычайно динамичным: он

состоит из множества этапов, за каждый из которых отвечают разные транскрипционные комплексы. Эта модель регуляции транскрипции получила название «трещоточного механизма» (рис. 1В) [1]. В соответствии с этой моделью промежуточными маркерами, регулируемыми направленный обмен транскрипционных комплексов на ДНК, являются ковалентные модификации гистонов [2, 3]. Ковалентные модификации могут способствовать не только привлечению, но и удалению транскрипционных комплексов с регуляторного элемента, стимулируя, тем самым, динамику процесса транскрипции. Показано, что снижение времени ассоциации транскрипционных регуляторов с ДНК усиливает активацию транскрипции [4]. Модель «трещоточного механизма» хорошо иллюстрирует возможность функционирования большого количества белков на регуляторном элементе одного гена. При этом сохранение информации от предыдущих корегуляторов в виде модификации на хроматине позволяет поддерживать общее направление регулируемого процесса (движение в сторону активной работы регуляторного элемента или, наоборот, подавление его активности).

В нашем обзоре информация о функциональных свойствах и механизмах рекрутирования комплексов-модификаторов хроматина суммирована в виде

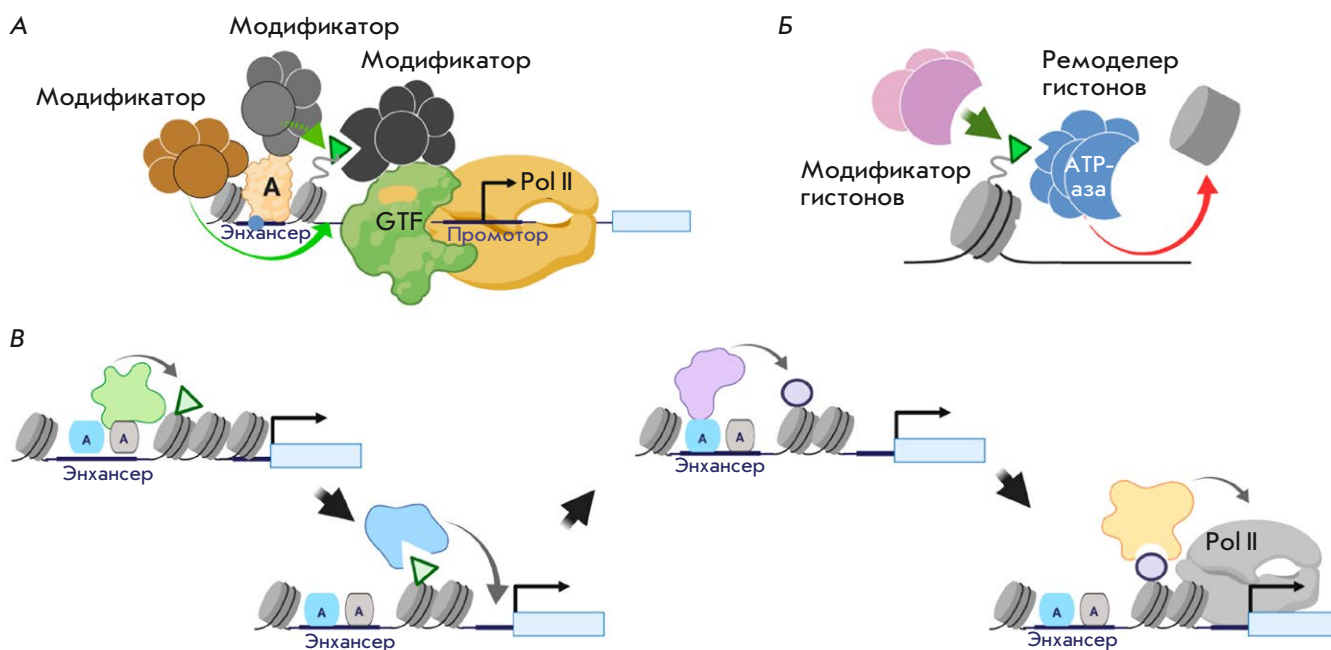


Рис. 1. А – общая модель активации транскрипции генов эукариот. А – белок-активатор транскрипции; GTF – основные факторы транскрипции; Pol II – РНК-полимераза II. Б – основные классы модификаторов хроматина: белковые комплексы, изменяющие положение нуклеосом, и комплексы, ковалентно модифицирующие гистоны в составе хроматина. В – молекулярная модель транскрипционного процесса по механизму «трещотки». В соответствии с данным механизмом ковалентные модификации хроматина являются связующими элементами, способствующими смене транскрипционных комплексов на регуляторном элементе. Более детальное описание рисунков приведено в тексте. Там же приводятся ссылки на работы, послужившие основой для формирования молекулярных моделей процессов, ассоциированных с транскрипцией. Все модели созданы при помощи приложения BioRender.com

схемы (рис. 2), которая включает ссылки на научные исследования, описывающие отдельные свойства рассматриваемых модификаторов хроматина. Более детально мы остановились на тех областях исследования модификаторов хроматина, в которых за последние годы достигнуты значительные успехи. Кроме того, обсуждаются некоторые вопросы изучения модификаторов, на которые до сих пор нет однозначного ответа.

СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ИЗУЧЕНИИ СВОЙСТВ КОАКТИВАТОРОВ, ВОЗДЕЙСТВУЮЩИХ НА ХРОМАТИН

Транскрипционные комплексы, изменяющие положение нуклеосом

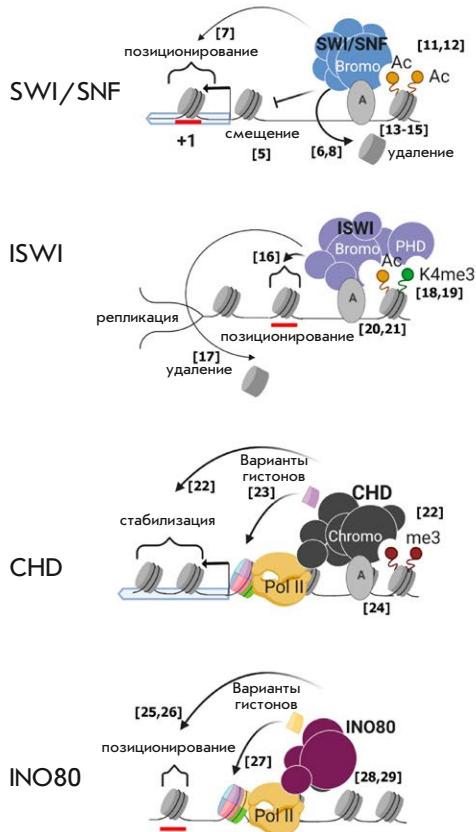
Вместе с возникновением хроматина в ходе эволюции (упаковка ДНК в фибриллы при помощи гистоновых белков) важнейшим этапом регуляции транскрипции генов стала возможность оказывать воздействие на упаковку хроматина, определяя тем самым доступность регуляторных элементов ДНК. К транскрипционным корегуляторам, влияющим на состояние хроматина, относятся белковые ком-

плексы, так называемые «ремоделеры» хроматина [58, 59] – эволюционно-консервативные транскрипционные комплексы, представленные в клетках всех эукариотических организмов – от дрожжей до человека. Причем субъединичный состав данных комплексов меняется в ходе эволюции, однако их свойства (способность определенным образом влиять на положение нуклеосом), а также состав коровых субъединиц остаются практически неизменными.

Молекулярный механизм работы факторов-пионеров

Основную роль в специфичности регуляции транскрипции эукариот играют ДНК-связывающие факторы. Именно набор транскрипционных факторов, ассоциированных с регуляторным элементом, влияет на вид его активности (функционирования в качестве энхансера, сайленсера или инсулятора), которая реализуется путем привлечения различных транскрипционных комплексов. Принято считать, что большинство транскрипционных факторов (например, ядерные рецепторы) не способны связываться с регуляторным участком ДНК, занятым нуклеосомами. Полагают, что за функцию освобождения

Семейства комплексов, ремоделирующих хроматин



Семейства комплексов, ковалентно модифицирующих гистоны

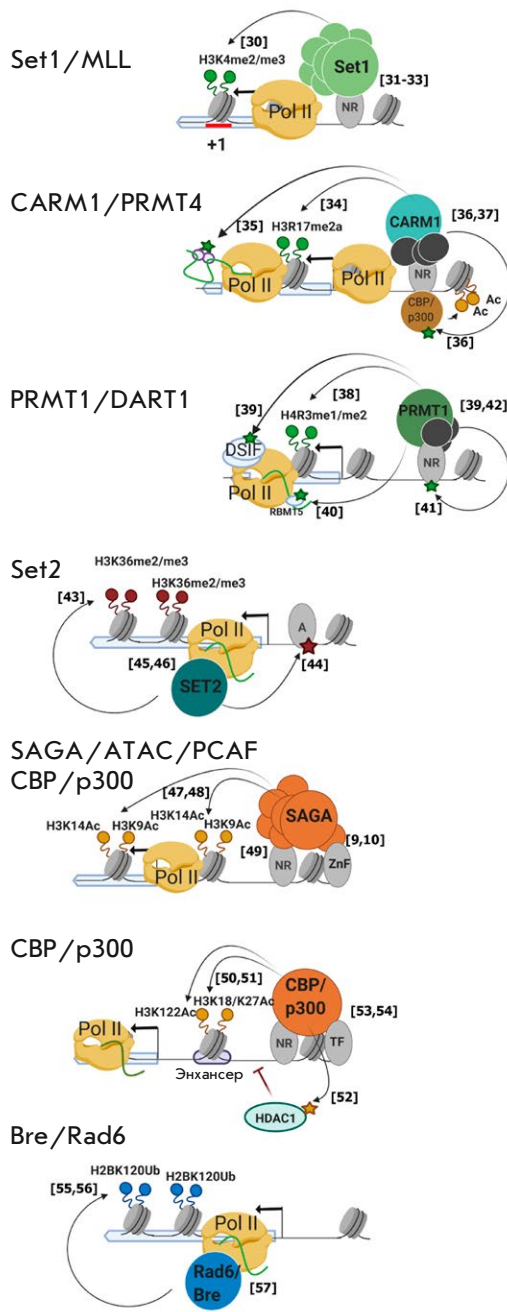


Рис. 2. Функциональные особенности и механизмы рекрутирования на хроматин ремоделеров и модификаторов гистонов. Используемые сокращения: А – активатор, NR – ядерный рецептор, TF – транскрипционный фактор. Все модели созданы при помощи приложения BioRender.com

регуляторных элементов ДНК от компактизированного хроматина отвечает специальный класс ДНК-связывающих белков, названный факторами-пионерами (pioneer factors), яркими примерами которых являются FoxA и GATA [60]. Эти факторы-пионеры обладают особым свойством – способностью связывать регуляторные элементы ДНК, находящиеся в компактизированном хроматине, и приводить их в состояние, компетентное для связывания други-

ми транскрипционными факторами. Таким образом, факторы-пионеры по сути представляют собой первичные регуляторы-ремоделеры, инициирующие изменение структуры хроматина, которое поддерживается в дальнейшем ремоделирующими транскрипционными комплексами. Несмотря на то что концепция факторов-пионеров была представлена почти 10 лет назад, молекулярный механизм функционирования данных белков остается не до конца ясным.

Исходно представлялось, что факторы-пионеры функционируют сами по себе, не нуждаясь в участии ремоделирующих комплексов (это предположение было основано на способности данных белков связывать хроматинизированную ДНК *in vitro*) [61]. При этом уже довольно давно отмечено, что факторы-пионеры *in vivo* способны достаточно сложным образом воздействовать на хроматин (например, проводить замену H2A на H2A.Z), что вряд ли под силу отдельному белку-мономеру [62].

В настоящее время представляется маловероятным, что факторы-пионеры функционируют в живой клетке в виде одного белка. Скорее всего, их уникальная способность воздействовать на компактизированный хроматин является следствием кооперативных мультибелковых взаимодействий. Примером такого совместного функционирования может быть работа фактора-пионера в паре с ядерным рецептором (например, фактора FoxA1 и ядерного рецептора ER α) [63]. Достаточно давно известно, что FoxA1 и ER α кооперативно связываются с ДНК. Однако раньше предполагали, что фактор-пионер все-таки занимает в данном процессе лидирующую позицию (именно подавление экспрессии FoxA1 приводит к удалению

90% геномных сайтов ER α при очень слабом обратном эффекте в реципрокном эксперименте) [64]. Тем не менее, дальнейшие исследования выявили более значимую роль ядерных рецепторов в освобождении регуляторных сайтов ДНК от компактизированного хроматина. Оказалось, что обработка клеток MCF-7 эстрадиолом (сенсором которого является ER α) приводит к увеличению почти на 30% количества сайтов связывания FoxA1, демонстрируя тем самым способность ER α выступать в качестве фактора-пионера как минимум для некоторых сайтов FoxA1 (рис. 3А) [65]. Вероятно, способность ядерного рецептора действовать как фактор-пионер может быть основана на его взаимодействии с транскрипционными комплексами – ремоделерами хроматина. Известно, что многие стероидные рецепторы используют ремоделирующие комплексы SWI/SNF и NURF для декомпактизации хроматина на ранних стадиях активации транскрипции [66, 67]. Предложена гипотеза, согласно которой существует возможность формирования общего комплекса между ядерным рецептором и комплексом-ремоделером не на хроматине, а в нуклеозоле [67]. Такая пара будет эффективным фактором-пионером, способным взаимодействовать

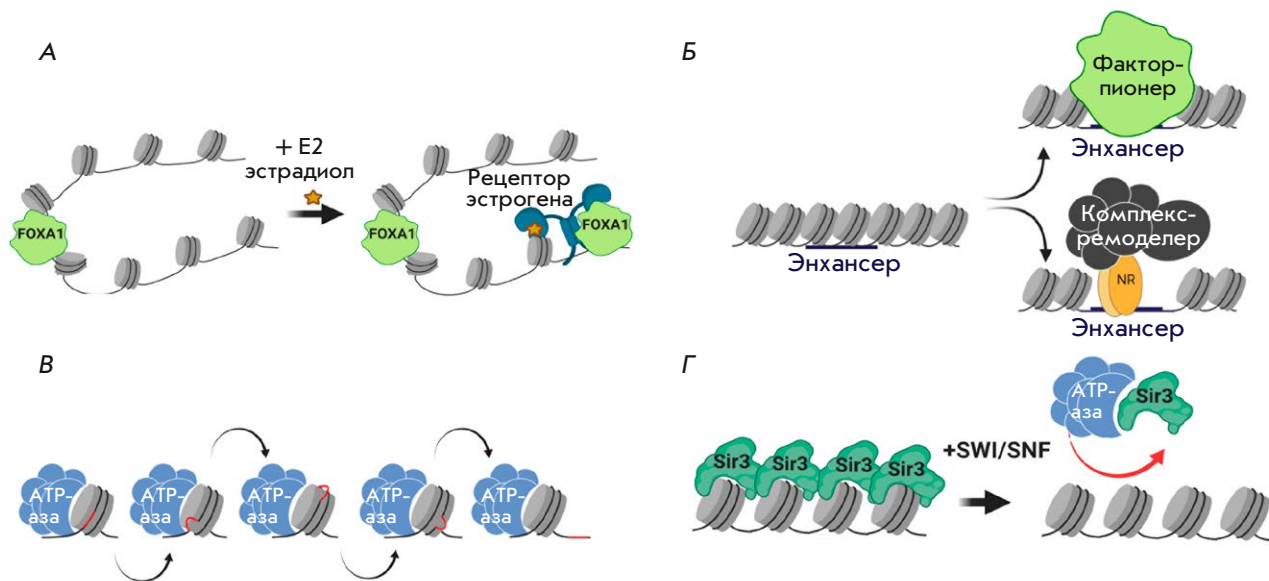


Рис. 3. А – совместное функционирование фактора-пионера FoxA1 и ядерного рецептора ER α в освобождении регуляторных сайтов ДНК от компактизированного хроматина. Б – первичное связывание регуляторов транскрипции с регуляторными элементами ДНК, занятыми компактизированным хроматином, может осуществляться как специализированными ДНК-связывающими факторами-пионерами, так и комплексами-ремоделерами хроматина, ассоциированными с ядерными рецепторами. В – основной молекулярный механизм работы всех комплексов-ремоделеров состоит в образовании петли ДНК на нуклеосоме, которая постепенно сдвигается относительно гистонового октамера. Г – влияние ремоделера хроматина SWI/SNF на связывание белка-репрессора Sir3p с хроматином. Комплекс SWI/SNF у дрожжей способен взаимодействовать с гетерохроматиновым репрессором Sir3p и удалять его с хроматина. Более детальное описание рисунков приведено в тексте. Там же приведены ссылки на работы, послужившие основой для формирования молекулярных моделей процессов, ассоциированных с транскрипцией. Все модели созданы при помощи приложения BioRender.com

с регуляторными участками в составе компактизованного хроматина (рис. 3Б). Для того чтобы понять, насколько распространен данный молекулярный механизм, необходимы дальнейшие исследования.

Функциональная активность комплексов, ремоделирующих хроматин. Возможность ремоделирования негистоновых белков

Если механизм организации первичного доступа к регуляторным элементам компактизованного хроматина остается до сих пор неясным, то поддержание областей, свободных от нуклеосом, несомненно входит в зону ответственности транскрипционных комплексов, ремоделирующих хроматин. В целом, комплексы-ремоделеры способны воздействовать на нуклеосомы самым различным образом: удалять их, сдвигать, позиционировать и заменять гистоны альтернативными вариантами. Однако в основе всех этих механических функций лежит одна и та же способность ремоделеров создавать петлю ДНК в составе нуклеосомы и изменять ее положение относительно поверхности нуклеосомы (рис. 3В) [58]. Субъединичный состав комплексов-ремоделеров, а также особенности строения АТФ-азных субъединиц (наличие дополнительных доменов, обладающих способностью связывать гистоны определенного типа) определяют функциональную способность транскрипционных комплексов. Так, комплексы семейства SWI/SNF, ферментативная субъединица которых содержит домен SnAC, связывающий нуклеосомы, отвечают за удаление целых нуклеосом из хроматина [68]. Комплексы семейства INO80, АТФ-аза которых содержит двухсоставной транслокационный домен, способны заменять гистоны в составе нуклеосом на альтернативные варианты [27]. Семейство АТФ-азы ISWI, С-концевой HSS-домен которой связывает немодифицированные гистоны H3 и участки линкерной ДНК, участвует в корепликативной сборке хроматина, помогая шаперонам формировать полноценные нуклеосомы в составе хроматина [69]. Кроме того, комплексы-ремоделеры семейств ISWI и CHD используют свои HSS- и DBD-домены для правильного пострепликативного позиционирования нуклеосом в хроматине [16].

Стоит отметить, что комплексы, ремоделирующие хроматин, способны влиять не только на положение нуклеосом на ДНК, но также и на ассоциацию других ДНК-связывающих белков с хроматином [70]. Способность транслокационных доменов ремоделеров связывать и вызывать перемещение транскрипционных факторов и репрессоров транскрипции может играть значительную роль в регуляции транскрипции. Так, обнаружено, что АТФ-аза комплекса SWI/SNF дрожжей способна взаимодействовать

с репрессором Sir3p гетерохроматина и удалять его с нуклеосомных матриц *in vitro* [71]. Совсем недавно показали, что именно комплекс SWI/SNF необходим *in vivo* для снятия репрессивного эффекта Sir3p с его генов-мишеней и их экспрессии в M/G1-фазе клеточного цикла (рис. 3Г) [72].

Показана функциональная роль ремоделирующего комплекса SWI/SNF в преодолении Рс-зависимой репрессии у различных организмов [73]. Особенно широко изучено взаимосвязанное нарушение функций этих молекулярных систем в процессе онкотрансформации клеток [74]. До недавнего времени предполагалось, что SWI/SNF-комплексы могут играть косвенную роль в удалении комплексов PRC с хроматина. Однако последние эксперименты по искусственному рекрутированию SWI/SNF к Рс-репрессированному локусу указывают на возможность непосредственного удаления PRC-комплексов при помощи SWI/SNF (искусственное рекрутирование последнего комплекса приводило к снижению уровня PRC в течение нескольких минут и не зависело от рекрутирования РНК-полимеразы II к исследуемому локусу) (рис. 4А) [75]. Роль ремоделирующих комплексов в удалении транскрипционных факторов с хроматина, вполне вероятно, гораздо более значительна, чем известно на сегодняшний день. К сожалению, изучение данного механизма *in vivo* представляет чрезвычайно трудную методическую задачу, так как почти всегда результаты исследований могут быть поставлены под сомнение косвенными экспериментальными эффектами.

Некаталитическая роль ремоделирующих комплексов в регуляции транскрипции

Многие хроматинремоделирующие комплексы, кроме ферментативной субъединицы, ответственной за перемещение гистонов [76], содержат и другие субъединицы, количество которых увеличивается в ходе эволюции [77]. Ранее считалось, что некаталитические субъединицы комплексов-ремоделеров хроматина ответственны за специфичность рекрутирования комплексов на хроматин. Было показано, что снижение внутриклеточного уровня отдельных некаталитических субъединиц SWI/SNF дрожжей приводит к полному нарушению связывания данного комплекса с хроматином при сохранности его корового модуля, содержащего АТФ-азу [78]. Однако в последнее время отношение к функциональным возможностям некаталитических субъединиц ремоделеров несколько изменилось. Появились данные, позволяющие предполагать наличие дополнительных функций у комплексов-ремоделеров, за которые ответственны именно некаталитические субъединицы. Стоит отметить, что такое развитие ситуации вы-

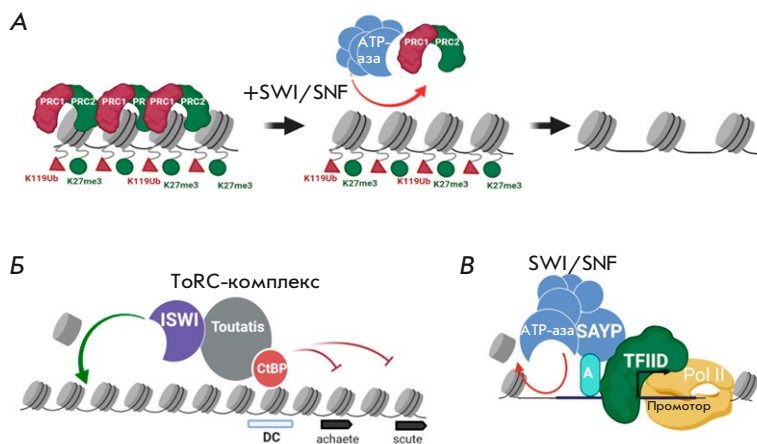


Рис. 4. А – искусственное рекрутирование комплекса SWI/SNF приводит к снижению уровня PRC в репрессированном локусе. Б – ремоделер ISWI в составе репрессорного комплекса ToRC дрозофилы взаимодействует с репрессором транскрипции CtBP, причем CtBP усиливает ремоделирующие свойства ISWI, а ISWI участвует в репрессии транскрипции CtBP-зависимых генов. В – субъединица SAYP комплекса SWI/SNF рекрутирует SWI/SNF и TFIID на сайты в геноме дрозофилы. Более детальное описание рисунков приведено в тексте. Там же приведены ссылки на работы, послужившие основой для формирования молекулярных моделей процессов, ассоциированных с транскрипцией. Все модели созданы при помощи приложения BioRender.com

глядит достаточно логичным с эволюционной точки зрения. Процессы активации и репрессии транскрипции чрезвычайно динамичные и сложные. В ходе этих процессов множество многокомпонентных комплексов с большой скоростью обменивается в ограниченном пространстве (на регуляторных элементах ДНК). Подобный обмен предполагает высокую вероятность контактов между участниками и, соответственно, возможность положительной и отрицательной взаимной регуляции. Комплексы-ремоделеры хроматина в ходе своей работы на регуляторном элементе приносят множество дополнительных некаталитических субъединиц. Вполне вероятно, что пока ATP-азная часть комплекса осуществляет свою основную каталитическую функцию, остальные субъединицы могут участвовать также в процессе активации/репрессии транскрипции [79]. Лучше всего охарактеризована ассоциация ATP-азных субъединиц комплексов-ремоделеров с транскрипционными репрессорами. В ходе исследования репрессорного комплекса ToRC дрозофилы была описана способность ферментативной субъединицы-ремоделера ISWI физически взаимодействовать с репрессором транскрипции CtBP [80]. Причем ATP-азная и репрессорная субъединицы в составе данного комплекса взаимно влияют друг на друга: CtBP усиливает способность ISWI удалять или встраивать нуклеосомы, а ISWI, судя по всему, вовлечен в осуществление транскрипционной репрессии на CtBP-зависимых генах (рис. 4Б). Другой фермент-ремоделер, хромоменсодержащая ATP-аза CHD4/Mi-2, также обладает способностью объединяться с другими белками, формируя комплекс NuRD, репрессирующий транскрипцию [81]. Этот репрессорный комплекс содержит существенно больше субъединиц, чем описанный выше комплекс ToRC. Субъединицы в составе NuRD образуют динамично взаимодействующие между собой модули, обладающие ремоделирующей

активностью за счет субъединицы CHD4/Mi-2 или гистон-деацетилазной активностью за счет Rpd3 [82]. Функциональная роль NuRD включает одновременный контроль плотности нуклеосом и уровня их ковалентных модификаций на энхансерах, управляющих транскрипцией генов развития [83].

Интересно, что ATP-азная субъединица комплекса SWI/SNF (белок BRM) способна репрессировать транскрипцию независимо от ее каталитической активности [84, 85]. С какими дополнительными субъединицами объединяется BRM для осуществления своей репрессорной функции еще не установлено. Однако, по-видимому, можно предложить механизм участия SWI/SNF в активации транскрипции, не зависящий от ATP-азной активности данного комплекса. Около 10 лет назад обнаружили, что SWI/SNF дрозофилы способен физически взаимодействовать с общим фактором транскрипции TFIID посредством его SAYP-субъединицы [79, 86]. Показано, что эта субъединица играет ключевую роль в привлечении SWI/SNF-комплекса на половину его геномных мишеней [87]. Взаимодействие с TAF5 позволяет SAYP рекрутировать на его геномные мишени не только ремоделирующий комплекс SWI/SNF, но и TFIID, способствуя формированию преинициаторного комплекса (рис. 4В) [79, 88, 89]. Таким образом, некаталитическая субъединица SWI/SNF является бифункциональным регулятором, способствующим одновременно и ремоделированию хроматина, и инициации транскрипции.

Транскрипционные комплексы, ковалентно модифицирующие гистоны

С момента появления гипотезы «гистонового кода» белки, способные осуществлять ковалентную модификацию гистонов, стали предметом многочисленных исследований [90]. Долгое время предполагалось, что именно набор модификаций гистонов определяет набор транскрипционных комплексов, ассоциирован-

ных с регуляторными элементами генома (что и является концепцией «гистонового кода»). В настоящее время исследователи склоняются к тому, что наличие определенной модификации хроматина можно считать достаточным условием для рекрутирования лишь ограниченного числа регуляторов [1]. В большинстве случаев связывание модификации гистона служит лишь дополнительным фактором привлечения транскрипционного регулятора или может совсем не влиять на его привлечение на хроматин.

Роль ковалентных модификаций гистонов в привлечении транскрипционных комплексов на хроматин

Исходно гипотезу «гистонового кода» изучали в контексте процесса активации транскрипции. Многие исследователи пытались обнаружить гистоновые модификации, определяющие рекрутирование белковых комплексов, стимулирующих транскрипцию. В свою очередь в составе белковых комплексов пытались определить домены, отвечающие за привлечение комплексов к соответствующей «активирующей» модификации. Стоит отметить, что многие из таких исследований не увенчались успехом. Оказалось, что подобные «активирующие» модификации гистонов зачастую не способны в одиночку рекрутировать транскрипционный комплекс. Ярким примером «активирующей» модификации со сложной историей изучения является триметилирование гистона H3 по положению 4 (H3K4me3). Действительно, получено много свидетельств о корреляции между наличием данной модификации на промоторе и активной работой соответствующего гена [91]. Однако роль данной модификации в привлечении транскрипционных регуляторов к промоторам не столь однозначна. В различных белковых комплексах обнаружены домены, способные специфически взаимодействовать с модификацией H3K4me3 (особенно стоит отметить комплексы TFIID, NURF, mSin3a–HDAC1 и SAGA) [92, 93]. Впервые специфический домен, связывающий модификацию H3K4me3, обнаружили в белке ING2, входящем в состав комплекса mSin3a–HDAC1, который репрессирует транскрипцию [94]. Однако почти сразу выяснилось, что нарушение взаимодействия между ING2 и H3K4me3-модификацией гистона приводит скорее к изменению функциональной активности комплекса (снижению деацетилирующей активности), чем к нарушению его рекрутирования [95]. Сходным образом развивалось и изучение домена, распознающего модификацию H3K4me3, в составе регулятора структуры хроматина CHD1 [96]. Оказалось, что специфическое взаимодействие CHD1 с этой модификацией нарушает функциональную активность комплекса, но не препятствует его вза-

имодействию с хроматином [97]. Следует отметить, что положительный вклад белковых доменов, распознающих модификацию H3K4me3, в рекрутирование комплексов к сайтам в геноме все-таки удалось показать в случае TFIID и NURF [98–100].

Судя по всему, процесс привлечения белковых комплексов к регуляторным элементам ДНК более сложен, чем мы представляли ранее: он не реализуется за счет отдельных белок-белковых взаимодействий (например, между модификацией гистона и отдельным белковым доменом, «читающим» модификацию, или между ДНК-связывающим транскрипционным фактором и субъединицей белкового комплекса). Белковые комплексы, регулирующие транскрипцию, чаще всего состоят из набора субъединиц, многие из которых содержат различные домены (ДНК-связывающие, распознающие гистоновые модификации, взаимодействующие с транскрипционными факторами). Вполне вероятно, что в единственном акте рекрутирования транскрипционного комплекса на хроматин принимают участие несколько подобных доменов, входящих в состав различных субъединиц. Именно набор таких ДНК-белковых и белок-белковых взаимодействий, реализующихся в отдельном акте рекрутирования комплекса к регуляторному элементу, может определять тип функциональной активности комплекса на данном участке хроматина (рис. 5А).

Гораздо детальнее и более однозначно определена роль ковалентных модификаций гистонов в распространении компактизированного хроматина, репрессирующего транскрипцию. Для создания областей компактизированного хроматина и подавления нежелательной транскрипции генов клетка использует различные системы. Можно выделить две активных системы компактизации хроматина, в основе которых лежат белки Pc и HP1, несущие в своем составе хромодомены, способные связывать специфические метилированные остатки гистона H3 [101–103]. Интересно, что в обеих системах компактизации (Pc- и HP1-зависимых) распознавание ковалентных гистоновых модификаций играет роль именно на стадии распространения хроматина внутри хромосомного домена, но не на стадии первичного рекрутирования репрессирующих комплексов к ДНК (осуществляемого специфическими ДНК-связывающими белками) (рис. 5Б). Так, распространение Pc-зависимой репрессии происходит при участии комплексов PRC1 и PRC2, один из которых способен распознавать модификацию H3K27me3 хроматина, а второй, соответственно, ее вносить. Взаимосвязанная работа данных комплексов организует распространение Pc-зависимой репрессии вокруг PRE-элементов, представляющих собой инициаторы Pc-зависимой компактизации [104]. Судя по всему, модификация H3K27me3

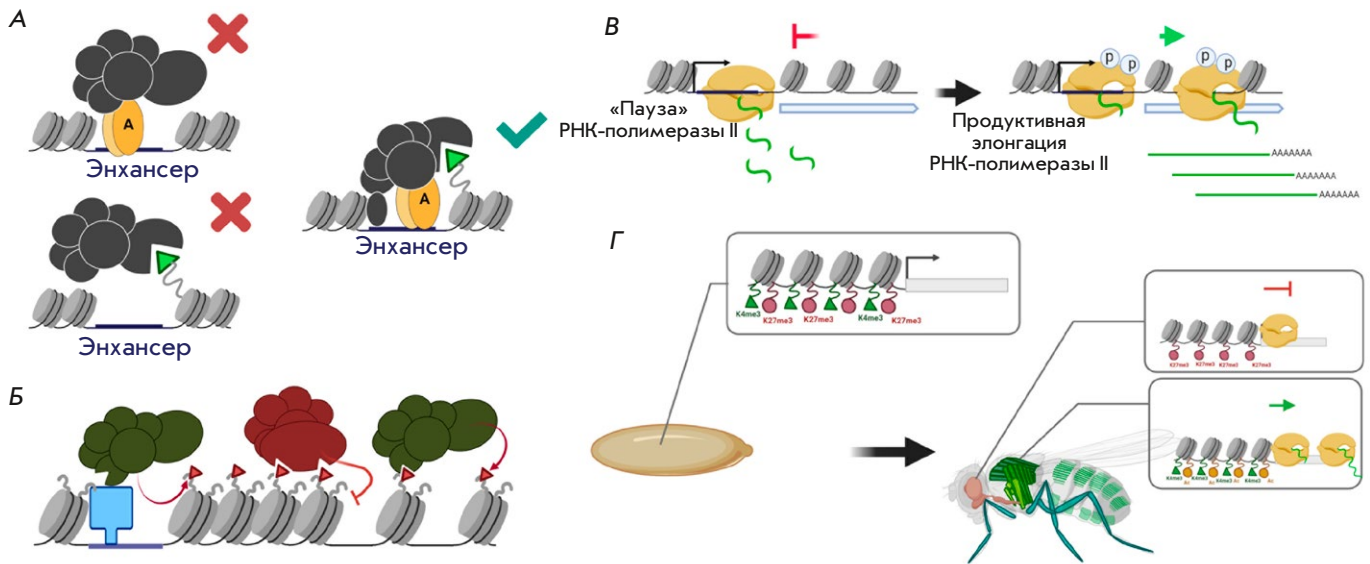


Рис. 5. А – комбинаторный характер рекрутирования транскрипционных корегуляторов. В состав субъединиц корегуляторов часто входят ДНК-связывающие мотивы, домены, распознающие ковалентные модификации гистонов, а также домены ассоциации с ядерными рецепторами и транскрипционными факторами. Целый ряд белковых доменов может играть роль в ассоциации корегулятора с регуляторным элементом ДНК, а также оказывать воздействие на его функциональную активность. Б – общая концепция роли гистоновых модификаций в распространении компактизованного хроматина. Первоначальный рекрутинг комплексов, компактизирующих хроматин, происходит за счет ДНК-связывающих факторов. Ковалентные модификации гистонов важны именно для распространения компактизации хроматина вокруг первоначального сайта связывания комплексов. В – состояние «паузы» РНК-полимеразы II характеризуется наличием на промоторе неактивных генов коротких «абортивных» транскриптов. Г – гены с бивалентными модификациями нуклеосом (активными, H3K4me3, и репрессивными, H3K27me3) в эмбриогенезе характеризуются возможностью дальнейшей репрессии или активации транскрипции в отдельных тканях при их дифференцировке. Более детальное описание рисунков приведено в тексте. Там же приведены ссылки на работы, послужившие основой для формирования молекулярных моделей процессов, ассоциированных с транскрипцией. Все модели созданы при помощи приложения BioRender.com

необходима не только для распространения Рс-зависимого хроматина вдоль нити ДНК, но и для сохранения соответствующего статуса хроматина после прохождения через него вилки репликации [105]. В механизме распространения перичентромерного гетерохроматина также функционирует положительная петля обратной связи, основанная на распространении ковалентной модификации гистона. В данном случае метилтрансфераза Su(var)3-9 (Suv39H у млекопитающих) модифицирует гистон H3 по положению 9, что приводит к рекрутированию белка гетерохроматина HP1 (который, в свою очередь, привлекает новую порцию метилтрансферазы на компактизируемый участок) [106].

Как мы видим, в процессах активации и репрессии транскрипции распознавание гистоновых модификаций зачастую не является первичным сигналом, определяющим рекрутирование транскрипционных регуляторов. Закономерным развитием идеи «гистонового» кода стала гипотеза о том, что ковалентные модификации гистонов необходимы для обмена транскрипционных комплексов на регуляторных

сайтах [107]. Этому способствовали эксперименты, показавшие существование активного обмена нуклеосом и ассоциированных с ними белков на работающих регуляторных элементах [108].

Роль ковалентных модификаций гистонов в регуляции паузы РНК-полимеразы II

Долгое время привлечение РНК-полимеразы II на промоторы считалось основным механизмом активации транскрипции генов. Позднее стало известно, что многие гены многоклеточных содержат на своих промоторах связанную РНК-полимеразу II, находясь при этом в неактивном состоянии [109]. Транскрипция таких генов активируется путем стимуляции продуктивной элонгации транскрипции РНК-полимеразой II. Такой механизм регуляции транскрипции называется «паузой» РНК-полимеразы II и характеризуется присутствием на промоторе неактивных генов коротких «абортивных» транскриптов (рис. 5В). В настоящее время известно, что этот механизм широко используется организмами в регуляции транскрипции генов, тре-

бующей высокой точности активации в пространстве и времени (например, в определенной ткани или стадии развития) [110]. Распространенность данного механизма сделала его привлекательным для исследований. Одним из интенсивных направлений исследования «паузы» РНК-полимеразы II стал поиск ассоциированных с ней ковалентных гистоновых маркеров, а также с выходом из данного состояния в ходе индукции транскрипции.

Именно в контексте изучения «паузы» РНК-полимеразы II были впервые описаны бивалентные нуклеосомы [111]. Оказалось, что в эмбриональных стволовых клетках мыши «пауза» РНК-полимеразы II присутствует на промоторах, несущих в хроматине модификацию H3K27me3, характерную для репрессии транскрипции. В то же время на промоторах, несущих одновременно и активную модификацию H3K4me3, и репрессивную H3K27me3 (содержащие бивалентные нуклеосомы), РНК-полимераза II отсутствовала [112]. Позже стало понятно, что в эмбриональных стволовых клетках бивалентные модификации присутствуют в основном на промоторах генов, транскрипция которых будет по-разному регулироваться в ходе дифференцировки [113]. В определенных тканях эти гены будут активироваться (на их промоторы будет внесена активная модификация H3K27Ac), в других останутся неактивными (с их промоторов будет удалена модификация H3K4me3, сохранена H3K27me3, а гены переведены в состояние транскрипционной «паузы») (рис. 5Г) [114]. Эта концепция подтверждена различными данными. Установлено, что поддержание промоторов генов в состоянии «паузы», а также перевод промоторов в это состояние осуществляют ферменты, модифицирующие остатки K4 и K27 в гистоне H3. Так, поддержание состояния «паузы» на промоторах генов в эмбриональных стволовых клетках мыши связано с активностью H3K4me3-специфичной деметилазы Lsd1 [115]. Выявлено участие фермента JMJD3, связанного с деметилированием модификации H3K27me3, в контроле элонгации транскрипции в клетках человека [116]. Снижение внутриклеточного уровня данной деметилазы приводило к падению уровня элонгирующей РНК-полимеразы II.

В то же время существует ряд ковалентных модификаций гистонов, появление которых связывают с выходом РНК-полимеразы II из состояния «паузы» путем стимуляции элонгации транскрипции. В первую очередь такими позитивными маркерами являются ацетильные остатки гистонов. Так, обнаружено участие основной ацетилтрансферазы, функционирующей на энхансерах, – белка СВР – в преодолении паузы транскрипции и стимуляции элонгации [117]. Показано, что именно СВР отвечает за ацетилиро-

вание первой нуклеосомы в теле гена по положению H3K27, что необходимо для ее преодоления элонгирующим комплексом РНК-полимеразы II. Другая ацетильная модификация гистонов, H3K9Ac, связана с выходом РНК-полимеразы II из «паузы», способствуя рекрутированию комплекса SEC (Super elongation complex), содержащего ряд факторов, необходимых для элонгации транскрипции [118]. Оказалось, что снижение уровня H3K9Ac препятствует элонгации и приводит к росту индекса «паузы» (увеличения соотношения между уровнем РНК-полимеразы II на промоторе и в теле гена).

Недавно наша группа исследовала кинетику привлечения модификаторов хроматина и появления ковалентных гистоновых модификаций в первые минуты после активации транскрипции генов развития, пребывающих в состоянии «паузы» транскрипции в клетках дрозофилы [119]. Нами исследовано рекрутирование двух десятков транскрипционных комплексов, что позволило обнаружить неожиданный регуляторный эффект. Мы практически не наблюдали роста уровня связывания модифицирующих хроматин комплексов с промоторами генов в ходе их активации. Но при этом обнаружили значительное повышение уровня модификаций хроматина, вносимых этими комплексами. Данный эффект был назван «паузой» коактиваторов транскрипции (рис. 6А). По-видимому, в ходе формирования транскрипционной «паузы» на неактивный промотор рекрутируется не только РНК-полимераза II, но и многие комплексы, модифицирующие хроматин. Сигнал, индуцирующий транскрипцию, не приводит к дальнейшему увеличению уровня связывания данных комплексов, но стимулирует их функциональную активность, что приводит к росту уровня вносимых ими модификаций. Проверить распространенность эффекта «паузы» коактиваторов в геноме дрозофилы мы планируем в дальнейших исследованиях.

Ковалентные модификации гистонов – на самом деле «побочные цели»?

Популярность гипотезы «гистонового кода» привела к тому, что ковалентные модификации гистонов долгое время привлекали внимание исследователей. В частности, описано множество транскрипционных регуляторов (в том числе и мультисубъединичных комплексов), основной молекулярной функцией которых была признана ковалентная модификация гистоновых белков. Позднее оказалось, что ряд модификаций вносит достаточно скромный функциональный вклад в регуляцию транскрипции, а ферментативное действие вносящих их регуляторов направлено на другую негистоновую белковую мишень, имеющую большее значение.

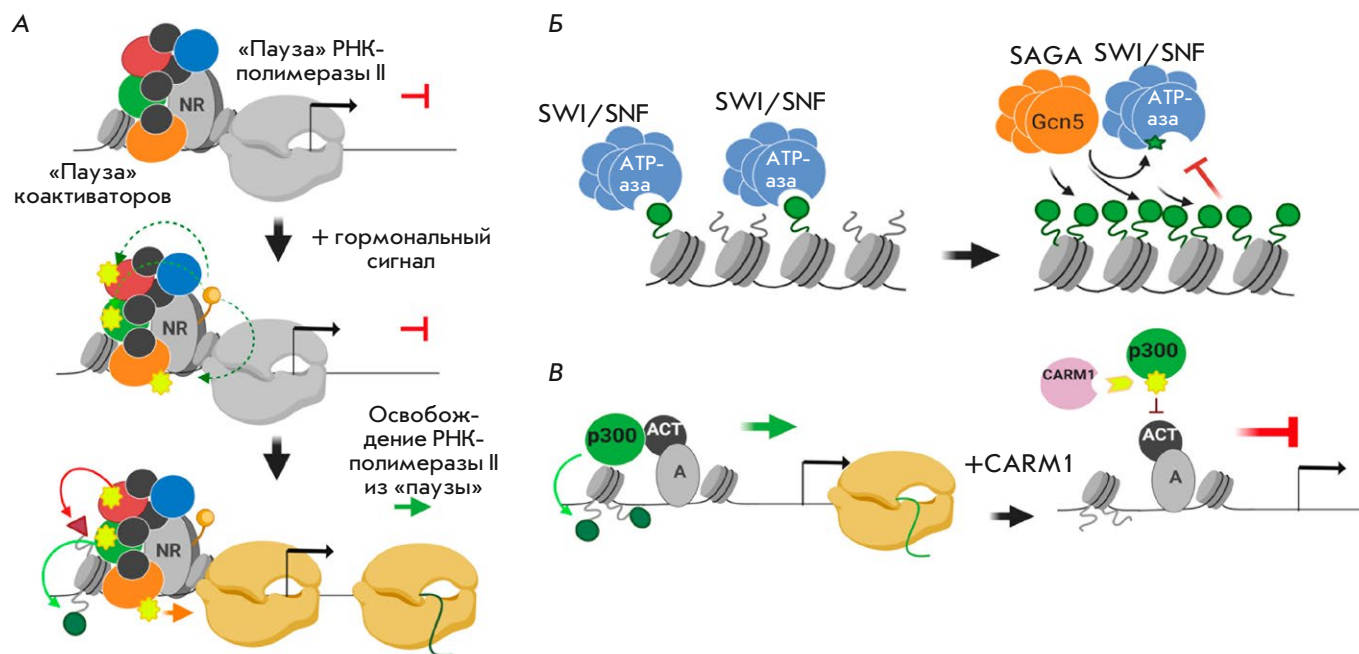


Рис. 6. А – промоторы генов, регулируемых по механизму «паузы» РНК-полимеразы II, содержат в их неактивном состоянии не только связанную с ними РНК-полимеразу II, но и коактиваторные комплексы. Транскрипция таких генов активируется не за счет рекрутирования корегуляторных комплексов, а за счет изменения их функциональной активности. Б – гистон-ацетилазный комплекс SAGA ацетилюет АТФ-азную субъединицу комплекса SWI/SNF, регулируя силу ее связывания с хроматином. В – аргинин-метилтрансфераза CARM1 метилирует ацетилазназу CBP/p300 на энхансерах, снижая активность CBP/p300 и нарушая ее способность связывать активаторы транскрипции. Более детальное описание рисунков приведено в тексте. Там же приведены ссылки на работы, послужившие основой для формирования молекулярных моделей процессов, ассоциированных с транскрипцией. Все модели созданы при помощи приложения BioRender.com

Яркий пример такого регулятора – модификатора хроматина – комплекс SAGA, способный ацетилировать остатки лизина в молекулах гистонов H3 и H4. Долгое время полагали, что ацетильные группы, вносимые этим комплексом, можно рассматривать как специфические метки, которые аккуратно «читаются» другими транскрипционными регуляторами при помощи белковых доменов-«ридеров». В частности, предполагалось, что метки, вносимые комплексом SAGA, распознаются бромодоменом, входящим в состав комплекса SWI/SNF, который получает способность ремоделировать именно ацетилированные гистоны [120]. Эта гипотеза хорошо соответствовала факту совместного присутствия комплексов SAGA и SWI/SNF на сайтах в геноме различных организмов [10, 121]. Со временем стало понятно, что ацетильные остатки гистонов вряд ли служат специфическим маркером для привлечения каких-то определенных комплексов. Дело в том, что функциональный эффект на транскрипцию ацетильных остатков хроматина связан с общим количеством остатков, но почти не зависит от их качественного состава [122, 123]. Более глубокие исследования привели к описанию дополнительных мишеней ацетилирования посредством комплекса SAGA. В частности,

оказалось, что SAGA ацетилюет АТФ-азную субъединицу комплекса SWI/SNF, регулируя тем самым силу ее связывания с хроматином (рис. 6Б) [124].

Обнаружены дополнительные белковые мишени и у других модификаторов хроматина. Оказалось, что аргинин-метилтрансфераза CARM1, исходно описанная как специфический модификатор Arg17 гистона H3, на самом деле метилирует остатки Arg во многих транскрипционных регуляторах, модулируя их функции [125, 126]. В частности, мишенями CARM1 оказались факторы сплайсинга, метилируя которые данный белок провоцирует пропуск экзонов в мРНК [35]. Другая мишень метилирования CARM1 – ацетилазназа CBP/p300 – один из ключевых ферментов, функционирующих на энхансерах. Метилирование CBP/p300, осуществляемое CARM1, снижает активность этой ацетилазназы, а также нарушает ее способность связывать активаторы транскрипции (рис. 6В) [36, 127].

Таким образом, более глубокое исследование транскрипционных регуляторов, исходно охарактеризованных как модификаторы хроматина, приводит к выявлению их дополнительных ферментативных мишеней. Вполне вероятно, что дальнейшее изучение этих дополнительных мишеней может показать

их более высокую функциональную значимость по сравнению с мишенями-гистонами, которые могут быть лишь «побочными целями» ряда модификаторов. Это предположение подкрепляется результатами некоторых мутационных исследований, направленных на выявление функциональной значимости отдельных гистоновых модификаций. Так, мутации отдельных модификаторов хроматина сильнее действуют на регуляцию транскрипции, чем мутации их сайтов-мишеней в гистонах, что указывает на существование каких-то более значимых мишеней-регуляторов [128, 129]. Вполне вероятно, что будут найдены и другие модификации гистонов, которые являются лишь побочным продуктом действия модификатора хроматина на пути к достижению им своей основной регуляторной цели.

ДАЛЬНЕЙШИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ И НЕРЕШЕННЫЕ ВОПРОСЫ

Растущий объем информации о механизмах регуляции транскрипции и активности корегуляторов не всегда приводит к разрешению вопросов, которые сформировались ранее. Ниже мы приведем несколько таких проблем, точного решения которых пока не найдено, несмотря на имеющийся в настоящее время богатейший экспериментальный арсенал.

Рекрутирование транскрипционного регулятора на хроматин: в комплексе с ДНК-связывающим белком или последовательно

Специфичность действия корегулятора на транскрипцию определяется ДНК-связывающими белками. Именно они опосредуют связывание корегуляторов с последовательностями энхансеров и промоторов. Механизм взаимодействия корегуляторов с ДНК на сегодняшний день остается непонятным. Происходит ли последовательное связывание ДНК-связывающего белка с регуляторным элементом с последующим рекрутированием корегуляторного комплекса или же происходит связывание ранее сформированного между ними комплекса (рис. 7А). В контексте исследований динамики связывания белков с хроматином концепция последовательного рекрутинга выглядит сомнительно. Показано, что ассоциация любых белков с ДНК не может превышать нескольких минут [107]. Поэтому последовательная ассоциация белков на регуляторном элементе выглядит маловероятной – для функционального действия остается совсем маленькое временное окно. Гипотеза одновременного рекрутирования корегуляторов и ДНК-связывающих белков высказывалась неоднократно и достаточно давно, однако исходная концепция последовательного связывания до сих пор имеет большее распространение [67]. При этом

недавно предположили, что именно комплексы транскрипционных факторов (ядерных рецепторов) с корегуляторами, ремоделирующими хроматин, способны взаимодействовать с хроматином, выступая в роли факторов-«пионеров» [130]. Кроме того, показано, что нокаут АТФ-азных субъединиц корегуляторов SWI/SNF и ISWI значительно нарушает связывание транскрипционных факторов в геноме эмбриональных стволовых клеток мыши (что невозможно в концепции последовательного рекрутирования) [131]. Все эти данные значительно укрепляют модель совместного рекрутирования корегуляторов и ДНК-связывающих факторов. Серьезным доводом в пользу этой концепции стало бы биохимическое выделение транскрипционных факторов в комплексе с корегуляторами. Однако обычно связь между транскрипционным фактором и корегулятором является хотя и специфическим, но слабым взаимодействием, которое легко теряется при биохимической очистке. Будем надеяться, что разработанные за последнее время методики исследования слабых белково-белковых взаимодействий (например, *in vivo* биотинилирование белков) помогут прояснить механизмы взаимодействия корегуляторов с хроматином.

Изменение субъединичного состава белковых комплексов в ходе транскрипции: трансформация комплекса или рекрутирование нового

Известно, что многие корегуляторные комплексы принимают участие в различных этапах транскрипции генов. Зачастую при изучении подобных комплексов основное внимание направлено на распределение и свойства ферментативных субъединиц комплекса, тогда как поведение остальных субъединиц остается неисследованным. Тем не менее показано, что состав ряда транскрипционных комплексов не постоянен, а может меняться в зависимости от этапа транскрипции (рис. 7Б). Так, известно, что транскрипционный корегулятор SAGA обладает ацетилтрансферазной и деубиквитинирующей активностью по отношению к гистонам. Обе эти активности необходимы для функционирования SAGA на промоторе гена, где он способствует инициации транскрипции [132, 133]. В то же время известно, что компонент деубиквитинирующего модуля комплекса SAGA, белок SGF11, также ассоциирован с кепом новосинтезированной мРНК, где он принимает участие в ее экспорте из ядра в цитоплазму [134]. Интерес вызывает возможность перехода субъединицы SAGA в комплекс AMEX в ходе транскрипции. Происходит ли независимое рекрутирование двух отдельно существующих комплексов к активному гену или имеет место субъединичная трансформация комплекса SAGA, исходно рекрутированного к промотору, в ходе перехода комплекса

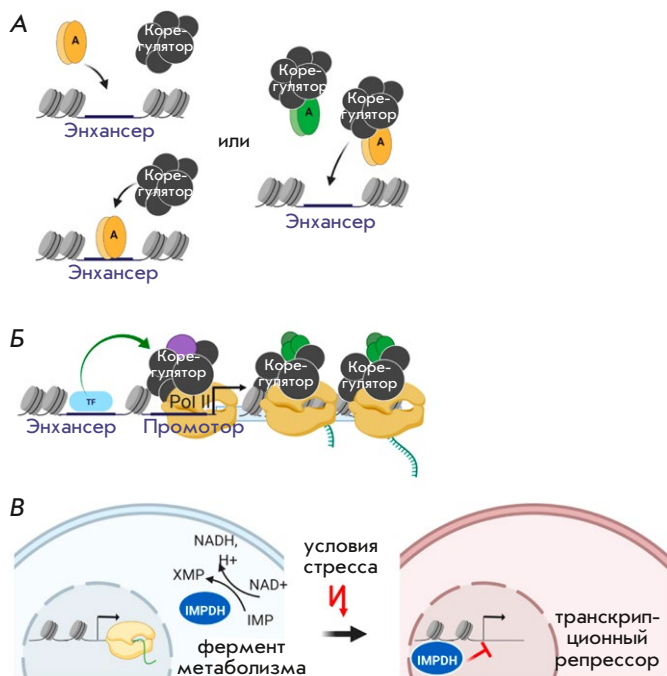


Рис. 7. А – рекрутирование транскрипционного регулятора на хроматин: в комплексе с ДНК-связывающим белком или последовательно. Б – изменение субъединичного состава белковых комплексов в ходе транскрипции: трансформация того же комплекса или рекрутирование нового. В – инозин-5'-монофосфатдегидрогеназа (IMPDH), фермент биосинтеза пуринов, работающий в цитоплазме клетки, в стрессовых условиях способен проникать в ядро и регулировать транскрипцию генов. Более детальное описание рисунков приведено в тексте. Там же приведены ссылки на работы, послужившие основой для формирования молекулярных моделей процессов, ассоциированных с транскрипцией. Все модели созданы при помощи приложения BioRender.com

РНК-полимеразы II в тело гена. Другой хорошо известный пример изменения субъединичного состава корегулятора в процессе транскрипции – комплекс Mediator. Основная роль этого огромного многосубъединичного комплекса состоит в координации рекрутирования РНК-полимеразы к промотору и инициации транскрипции [135]. Однако в состав Mediator входит отдельный четырехсубъединичный модуль CDK8, обладающий киназной активностью и выполняющий ряд дополнительных функций. Интересно, что взаимодействие коровой части Mediator с РНК-полимеразой исключает присутствие в нем модуля CDK8. При этом широко известна роль модуля CDK8 в стимуляции элонгации, т.е. в поздних этапах активации транскрипции [136]. Остается неясным, каким образом модуль CDK8 рекрутируется на гены для участия в стимуляции элонгации. Является ли этот путь альтернативой привлечению Mediator или имеет ме-

сто структурная трансформация полного комплекса Mediator в ходе транскрипционного цикла?

Два приведенных примера лишь иллюстрируют наши проблемы в изучении сложных мультисубъединичных комплексов. Получено множество косвенных подтверждений изменения состава и свойств корегуляторных комплексов в ходе транскрипции. Однако прямых экспериментальных доказательств пока еще нет, поскольку отсутствуют методики, необходимые для проведения таких исследований.

Влияние нетранскрипционных комплексов на транскрипцию: иерархия функций, определение ведущей функции

Исходной стратегией при изучении функций белков и белковых комплексов было углубленное исследование одной функции, по которой данный белок был охарактеризован. Позднее популярным стало другое направление, в котором старались найти и описать как можно больше новых функций единственного белка, в том числе в достаточно далеких друг от друга молекулярных процессах. Так, например, была обнаружена способность ряда метаболических ферментов, в норме работающих в цитоплазме клетки, в стрессовых условиях проникать внутрь клеточного ядра и управлять транскрипцией генов, выступая в роли транскрипционных регуляторов (рис. 7В) [137]. Другой впечатляющий пример – комплекс ORC, отвечающий за распознавание ориджинов репликации и инициацию формирования пререпликативного комплекса на ДНК [138]. Совсем недавно показано, что этот комплекс целиком вовлечен в процессинг мРНК и ее транспорт из ядра в цитоплазму. Оказалось, что многие субъединицы ORC взаимодействуют *in vivo* с факторами процессинга, а их нокдаун приводит к нарушению транспорта мРНК [139, 140].

В столь сложных случаях многофункциональности белков и белковых комплексов в какой-то момент встает проблема переосмысления имеющихся данных и устоявшихся взглядов на их ведущие функции. Вполне может оказаться, что первоначально описанная функциональная роль многих регуляторов может быть лишь косвенным результатом выполнения ими своей ведущей функции, идентифицированной гораздо позднее. Учитывая экспоненциальный рост количества экспериментальных данных, вполне вероятно, что нам придется пройти через этапы переосмысления иерархии функций большинства известных белков. Нам кажется, что хорошим подспорьем в данном случае могут стать эволюционные исследования. Получение информации о функциональных свойствах белков у родственных, немодельных организмов, может помочь проследить историю возникновения новых функций и составить иерархию их значимости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как мы видим, организм использует корегуляторные комплексы в качестве одного из способов контроля транскрипции определенного набора генов. Таким образом, корегуляторные транскрипционные комплексы вполне могут быть перспективными терапевтически мишенями при разработке лекарственных средств, направленных на изменение уровня транскрипции специфического набора генов. Уже в настоящее время ряд подобных лекарственных препаратов проходят клинические испытания. В настоящее время перспективными мишенями-корегуляторами транскрипции для разработки низкомолекулярных ингибиторов

считаются ферментативная субъединица EZH2 комплекса PRC2, корегулятор элонгации транскрипции Brd4, а также различные гистондеацетилазы HDAC [141–143]. Разработка и тестирование лекарственных препаратов, направленных на модификацию функциональных свойств данных белков, начались совсем недавно. Безусловно, семейство транскрипционных регуляторов все еще скрывает в себе множество других перспективных белков-мишеней. ●

*Данная работа поддержана грантом
Российского научного фонда № 18-14-00219
(рук. Н.Е. Воробьева).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Krasnov A.N., Mazina M.Y., Nikolenko J.V., Vorobyeva N.E. // Cell Biosci. 2016. V. 6. P. 15.
- Rybakova K.N., Bruggeman F.J., Tomaszewska A., Moné M.J., Carlberg C., Westerhoff H.V. // PLoS Comput. Biol. 2015. V. 11. № 4. P. e1004236.
- Wang Y., Ni T., Wang W., Liu F. // Biol. Rev. 2019. V. 94. № 1. P. 248–258.
- Azpeitia E., Wagner A. // Front. Mol. Biosci. 2020. V. 7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7198700/>.
- Harada B.T., Hwang W.L., Deindl S., Chatterjee N., Bartholomew B., Zhuang X. // eLife. 2016. V. 5. P. e10051.
- Yague-Sanz C., Vázquez E., Sánchez M., Antequera F., Hermand D. // Curr. Genet. 2017. V. 63. № 2. P. 187–193.
- Rawal Y., Chereji R.V., Qiu H., Ananthakrishnan S., Govind C.K., Clark D.J., Hinnebusch A.G. // Genes Dev. 2018. V. 32. № 9–10. P. 695–710.
- Dechassa M.L., Sabri A., Pondugula S., Kassabov S.R., Chatterjee N., Klädde M.P., Bartholomew B. // Mol. Cell. 2010. V. 38. № 4. P. 590–602.
- Mazina M.I., Vorob'eva N.E., Krasnov A.N. // Tsitologiya. 2013. V. 55. № 4. P. 218–224.
- 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.
- Chatterjee N., Sinha D., Lemma-Dechassa M., Tan S., Shogren-Knaak M.A., Bartholomew B. // Nucl. Acids Res. 2011. V. 39. № 19. P. 8378–8391.
- Mitra D., Parnell E.J., Landon J.W., Yu Y., Stillman D.J. // Mol. Cell. Biol. 2006. V. 26. № 11. P. 4095–4110.
- Sullivan E.K., Weirich C.S., Guyon J.R., Sif S., Kingston R.E. // Mol. Cell. Biol. 2001. V. 21. № 17. P. 5826–5837.
- Yudkovsky N., Logie C., Hahn S., Peterson C.L. // Genes Dev. 1999. V. 13. № 18. P. 2369–2374.
- Zhang B., Chambers K.J., Faller D.V., Wang S. // Oncogene. 2007. V. 26. № 50. P. 7153–7157.
- McKnight J.N., Jenkins K.R., Nodelman I.M., Escobar T., Bowman G.D. // Mol. Cell. Biol. 2011. V. 31. № 23. P. 4746–4759.
- Collins N., Poot R.A., Kukimoto I., García-Jiménez C., Dellaire G., Varga-Weisz P.D. // Nat. Genet. 2002. V. 32. № 4. P. 627–632.
- Wysocka J., Swigut T., Xiao H., Milne T.A., Kwon S.Y., Landry J., Kauer M., Tackett A.J., Chait B.T., Badenhorst P., et al. // Nature. 2006. V. 442. № 7098. P. 86–90.
- Eberharder A., Ferrari S., Längst G., Straub T., Imhof A., Varga-Weisz P., Wilm M., Becker P.B. // EMBO J. 2001. V. 20. № 14. P. 3781–3788.
- Badenhorst P., Xiao H., Cherbas L., Kwon S.Y., Voas M., Rebay I., Cherbas P., Wu C. // Genes Dev. 2005. V. 19. № 21. P. 2540–2545.
- Song H., Spichiger-Haeusermann C., Basler K. // EMBO Rep. 2009. V. 10. № 10. P. 1140–1146.
- Siggins L., Cordeddu L., Rönnerblad M., Lennartsson A., Ekwall K. // Epigenetics Chromatin. 2015. V. 8. № 1. P. 4.
- Smolle M., Workman J.L. // Biochim. Biophys. Acta BBA – Gene Regul. Mech. 2013. V. 1829. № 1. P. 84–97.
- Bracken A.P., Brien G.L., Verrijzer C.P. // Genes Dev. 2019. V. 33. № 15–16. P. 936–959.
- Krietenstein N., Wal M., Watanabe S., Park B., Peterson C.L., Pugh B.F., Korber P. // Cell. 2016. V. 167. № 3. P. 709–721.e12.
- Udugama M., Sabri A., Bartholomew B. // Mol. Cell. Biol. 2011. V. 31. № 4. P. 662–673.
- Willhoft O., Wigley D.B. // Curr. Opin. Struct. Biol. 2020. V. 61. P. 50–58.
- Poli J., Gerhold C.-B., Tosi A., Hustedt N., Seeber A., Sack R., Herzog F., Pasero P., Shimada K., Hopfner K.-P., et al. // Genes Dev. 2016. V. 30. № 3. P. 337–354.
- Lafon A., Taranom S., Pietrocola F., Dingli F., Loew D., Brahma S., Bartholomew B., Papamichos-Chronakis M. // Mol. Cell. 2015. V. 60. № 5. P. 784–796.
- Hallson G., Hollebakken R.E., Li T., Syrzycka M., Kim I., Cotsworth S., Fitzpatrick K.A., Sinclair D.A.R., Honda B.M. // Genetics. 2012. V. 190. № 1. P. 91–100.
- Bae H.J., Dubarry M., Jeon J., Soares L.M., Dargemont C., Kim J., Geli V., Buratowski S. // Nat. Commun. 2020. V. 11. № 1. P. 2181.
- Tie F., Banerjee R., Saiakhova A.R., Howard B., Monteith K.E., Scacheri P.C., Cosgrove M.S., Harte P.J. // Dev. Camb. Engl. 2014. V. 141. № 5. P. 1129–1139.
- Carbonell A., Mazo A., Serras F., Corominas M. // Mol. Biol. Cell. 2013. V. 24. № 3. P. 361–372.
- Schurter B.T., Koh S.S., Chen D., Bunick G.J., Harp J.M., Hanson B.L., Henschen-Edman A., Mackay D.R., Stallcup M.R., Aswad D.W. // Biochemistry. 2001. V. 40. № 19. P. 5747–5756.
- Cheng D., Côté J., Shaaban S., Bedford M.T. // Mol. Cell. 2007. V. 25. № 1. P. 71–83.
- Bao J., Rousseaux S., Shen J., Lin K., Lu Y., Bedford M.T. // Nucl. Acids Res. 2018. V. 46. № 9. P. 4327–4343.
- Xu W., Cho H., Kadam S., Banayo E.M., Anderson S., Yates J.R., Emerson B.M., Evans R.M. // Genes Dev. 2004. V. 18. № 2. P. 144–156.
- Strahl B.D., Briggs S.D., Brame C.J., Caldwell J.A., Koh S.S., Ma H., Cook R.G., Shabanowitz J., Hunt D.F., Stallcup M.R., et al. // Curr. Biol. 2001. V. 11. № 12. P. 996–1000.

39. Kwak Y.T., Guo J., Prajapati S., Park K.-J., Surabhi R.M., Miller B., Gehrig P., Gaynor R.B. // *Mol. Cell.* 2003. V. 11. № 4. P. 1055–1066.
40. Zhang C., Robinson B.S., Xu W., Yang L., Yao B., Zhao H., Byun P.K., Jin P., Veraksa A., Moberg K.H. // *Dev. Cell.* 2015. V. 34. № 2. P. 168–180.
41. Le Romancer M., Treilleux I., Leconte N., Robin-Lespinasse Y., Sentis S., Bouchekioua-Bouzaghrou K., Goddard S., Gobert-Gosse S., Corbo L. // *Mol. Cell.* 2008. V. 31. № 2. P. 212–221.
42. Tang J., Kao P.N., Herschman H.R. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 26. P. 19866–19876.
43. Sun X.-J., Wei J., Wu X.-Y., Hu M., Wang L., Wang H.-H., Zhang Q.-H., Chen S.-J., Huang Q.-H., Chen Z. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 42. P. 35261–35271.
44. Chen K., Liu J., Liu S., Xia M., Zhang X., Han D., Jiang Y., Wang C., Cao X. // *Cell.* 2017. V. 170. № 3. P. 492–506.e14.
45. Kizer K.O., Phatnani H.P., Shibata Y., Hall H., Greenleaf A.L., Strahl B.D. // *Mol. Cell. Biol.* 2005. V. 25. № 8. P. 3305–3316.
46. Govind C.K., Qiu H., Ginsburg D.S., Ruan C., Hofmeyer K., Hu C., Swaminathan V., Workman J.L., Li B., Hinnebusch A.G. // *Mol. Cell.* 2010. V. 39. № 2. P. 234–246.
47. Bonnet J., Wang C.-Y., Baptista T., Vincent S.D., Hsiao W.-C., Stierle M., Kao C.-F., Tora L., Devys D. // *Genes Dev.* 2014. V. 28. № 18. P. 1999–2012.
48. Riss A., Scheer E., Joint M., Trowitzsch S., Berger I., Tora L. // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290. № 48. P. 28997–29009.
49. Weake V.M., Workman J.L. // *Trends Cell Biol.* 2012. V. 22. № 4. P. 177–184.
50. Jin Q., Yu L.-R., Wang L., Zhang Z., Kasper L.H., Lee J.-E., Wang C., Brindle P.K., Dent S.Y.R., Ge K. // *EMBO J.* 2011. V. 30. № 2. P. 249–262.
51. Tropberger P., Pott S., Keller C., Kamieniarz-Gdula K., Caron M., Richter F., Li G., Mittler G., Liu E.T., Bühler M., et al. // *Cell.* 2013. V. 152. № 4. P. 859–872.
52. Han Y., Jin Y.-H., Kim Y.-J., Kang B.-Y., Choi H.-J., Kim D.-W., Yeo C.-Y., Lee K.-Y. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. V. 375. № 4. P. 576–580.
53. Bedford D.C., Kasper L.H., Fukuyama T., Brindle P.K. // *Epigenetics.* 2010. V. 5. № 1. P. 9–15.
54. Wang F., Marshall C.B., Ikura M. // *Cell. Mol. Life Sci. CMLS.* 2013. V. 70. № 21. P. 3989–4008.
55. Kim J., Hake S.B., Roeder R.G. // *Mol. Cell.* 2005. V. 20. № 5. P. 759–770.
56. Sun Z.-W., Allis C.D. // *Nature.* 2002. V. 418. № 6893. P. 104–108.
57. Van Oss S.B., Shirra M.K., Bataille A.R., Wier A.D., Yen K., Vinayachandran V., Byeon I.-J.L., Cucinotta C.E., Héroux A., Jeon J., et al. // *Mol. Cell.* 2016. V. 64. № 4. P. 815–825.
58. Clapier C.R., Iwasa J., Cairns B.R., Peterson C.L. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2017. V. 18. № 7. P. 407–422.
59. Mazina M.Y., Vorobyeva N.E. // *Rus. J. Genet.* 2016. V. 52. № 5. P. 463–472.
60. Zaret K.S., Carroll J.S. // *Genes Dev.* 2011. V. 25. № 21. P. 2227–2241.
61. Cirillo L.A., Lin F.R., Cuesta I., Friedman D., Jarnik M., Zaret K.S. // *Mol. Cell.* 2002. V. 9. № 2. P. 279–289.
62. Updike D.L., Mango S.E. // *PLoS Genet.* 2006. V. 2. № 9. P. e161.
63. Lupien M., Eeckhoute J., Meyer C.A., Wang Q., Zhang Y., Li W., Carroll J.S., Liu X.S., Brown M. // *Cell.* 2008. V. 132. № 6. P. 958–970.
64. Hurtado A., Holmes K.A., Ross-Innes C.S., Schmidt D., Carroll J.S. // *Nat. Genet.* 2011. V. 43. № 1. P. 27–33.
65. Kong S.L., Li G., Loh S.L., Sung W.-K., Liu E.T. // *Mol. Syst. Biol.* 2011. V. 7. P. 526.
66. Belandia B., Orford R.L., Hurst H.C., Parker M.G. // *EMBO J.* 2002. V. 21. № 15. P. 4094–4103.
67. Vicent G.P., Nacht A.S., Font-Mateu J., Castellano G., Gaveglia L., Ballaré C., Beato M. // *Genes Dev.* 2011. V. 25. № 8. P. 845–862.
68. Tang L., Nogales E., Ciferri C. // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2010. V. 102. № 2. P. 122–128.
69. Torigoe S.E., Urwin D.L., Ishii H., Smith D.E., Kadonaga J.T. // *Mol. Cell.* 2011. V. 43. № 4. P. 638–648.
70. Li M., Hada A., Sen P., Olufemi L., Hall M.A., Smith B.Y., Forth S., McKnight J.N., Patel A., Bowman G.D., et al. // *eLife.* 2015. V. 4. P. e06249.
71. Manning B.J., Peterson C.L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. № 50. P. 17827–17832.
72. Rege M., Feldman J.L., Adkins N.L., Peterson C.L. // *bioRxiv.* 2020. P. 2020.03.24.006205.
73. Kia S.K., Gorski M.M., Giannakopoulos S., Verrijzer C.P. // *Mol. Cell. Biol.* 2008. V. 28. № 10. P. 3457–3464.
74. Kim K.H., Kim W., Howard T.P., Vazquez F., Tsherniak A., Wu J.N., Wang W., Haswell J.R., Walensky L.D., Hahn W.C., et al. // *Nat. Med.* 2015. V. 21. № 12. P. 1491–1496.
75. Kadoch C., Williams R.T., Calarco J.P., Miller E.L., Weber C.M., Braun S.M.G., Pulice J.L., Chory E.J., Crabtree G.R. // *Nat. Genet.* 2017. V. 49. № 2. P. 213–222.
76. Längst G., Manlyte L. // *Genes.* 2015. V. 6. № 2. P. 299–324.
77. Kadoch C., Crabtree G.R. // *Sci. Adv.* 2015. V. 1. № 5. P. e1500447.
78. Moshkin Y.M., Mohrmann L., van Ijcken W.F.J., Verrijzer C.P. // *Mol. Cell. Biol.* 2007. V. 27. № 2. P. 651–661.
79. Vorobyeva N.E., Soshnikova N.V., Nikolenko J.V., Kuzmina J.L., Nabirochkina E.N., Georgieva S.G., Shidlovskii Y.V. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. № 27. P. 11049–11054.
80. Emelyanov A.V., Vershilova E., Ignatyeva M.A., Pokrovsky D.K., Lu X., Konev A.Y., Fyodorov D.V. // *Genes Dev.* 2012. V. 26. № 6. P. 603–614.
81. Torrado M., Low J.K.K., Silva A.P.G., Schmidberger J.W., Sana M., Sharifi Tabar M., Isilak M.E., Winning C.S., Kwong C., Bedward M.J., et al. // *FEBS J.* 2017. V. 284. № 24. P. 4216–4232.
82. Zhang W., Aubert A., Gomez de Segura J.M., Karuppusamy M., Basu S., Murthy A.S., Diamante A., Drury T.A., Balmer J., Cramard J., et al. // *J. Mol. Biol.* 2016. V. 428. № 14. P. 2931–2942.
83. Bornelöv S., Reynolds N., Xenophontos M., Gharbi S., Johnstone E., Floyd R., Ralser M., Signolet J., Loos R., Dietmann S., et al. // *Mol. Cell.* 2018. V. 71. № 1. P. 56–72.e4.
84. Kwok R.S., Li Y.H., Lei A.J., Ederly I., Chiu J.C. // *PLoS Genet.* 2015. V. 11. № 7. P. e1005307.
85. Jordán-Pla A., Yu S., Waldholm J., Källman T., Östlund Farrants A.-K., Visa N. // *BMC Genomics.* 2018. V. 19. № 1. P. 367.
86. Vorobyeva N.E., Soshnikova N.V., Kuzmina J.L., Kopantseva M.R., Nikolenko J.V., Nabirochkina E.N., Georgieva S.G., Shidlovskii Y.V. // *Cell Cycle.* 2009. V. 8. № 14. P. 2152–2156.
87. Moshkin Y.M., Chalkley G.E., Kan T.W., Reddy B.A., Ozgur Z., van Ijcken W.F.J., Dekkers D.H.W., Demmers J.A., Travers A.A., Verrijzer C.P. // *Mol. Cell. Biol.* 2012. V. 32. № 3. P. 675–688.
88. Vorobyeva N.E., Nikolenko J.V., Krasnov A.N., Kuzmina J.L., Panov V.V., Nabirochkina E.N., Georgieva S.G., Shidlovskii Y.V. // *Cell Cycle Georget. Tex.* 2011. V. 10. № 11. P. 1821–1827.
89. Panov V.V., Kuzmina J.L., Doronin S.A., Kopantseva M.R., Nabirochkina E.N., Georgieva S.G., Vorobyeva N.E., Shidlovskii Y.V. // *Nucl. Acids Res.* 2012. V. 40. № 6. P. 2445–2453.
90. Jenuwein T., Allis C.D. // *Science.* 2001. V. 293. № 5532. P. 1074–1080.
91. Howe F.S., Fischl H., Murray S.C., Mellor J. // *BioEssays.* 2017. V. 39. № 1. P. e201600095.

92. Musselman C.A., Lalonde M.-E., Côté J., Kutateladze T.G. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2012. V. 19. № 12. P. 1218–1227.
93. Yun M., Wu J., Workman J.L., Li B. // *Cell Res.* 2011. V. 21. № 4. P. 564–578.
94. Peña P.V., Davrazou F., Shi X., Walter K.L., Verkhusa V.V., Gozani O., Zhao R., Kutateladze T.G. // *Nature.* 2006. V. 442. № 7098. P. 100–103.
95. Shi X., Hong T., Walter K.L., Ewalt M., Michishita E., Hung T., Carney D., Peña P., Lan F., Kaadige M.R., et al. // *Nature.* 2006. V. 442. № 7098. P. 96–99.
96. Sims R.J., Chen C.-F., Santos-Rosa H., Kouzarides T., Patel S.S., Reinberg D. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 51. P. 41789–41792.
97. Morettini S., Tribus M., Zeilner A., Sebald J., Campo-Fernandez B., Scheran G., Wörle H., Podhraski V., Fyodorov D.V., Lusser A. // *Nucl. Acids Res.* 2011. V. 39. № 8. P. 3103–3115.
98. Lauberth S.M., Nakayama T., Wu X., Ferris A.L., Tang Z., Hughes S.H., Roeder R.G. // *Cell.* 2013. V. 152. № 5. P. 1021–1036.
99. Li H., Ilin S., Wang W., Duncan E.M., Wysocka J., Allis C.D., Patel D.J. // *Nature.* 2006. V. 442. № 7098. P. 91–95.
100. Li Y., Schulz V.P., Deng C., Li G., Shen Y., Tusi B.K., Ma G., Stees J., Qiu Y., Steiner L.A., et al. // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № 15. P. 7173–7188.
101. Beisel C., Paro R. // *Nat. Rev. Genet.* 2011. V. 12. № 2. P. 123–135.
102. Kassis J.A., Brown J.L. // *Advances in Genetics* / Eds Friedmann T., Dunlap J.C., Goodwin S.F. Acad. Press, 2013. V. 81. P. 83–118. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124076778000038>.
103. Saksouk N., Simboeck E., Déjardin J. // *Epigenetics Chromatin.* 2015. V. 8. № 1. P. 3.
104. Kahn T.G., Dorafshan E., Schultheis D., Zare A., Stenberg P., Reim I., Pirrotta V., Schwartz Y.B. // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № 21. P. 10132–10149.
105. Francis N.J., Follmer N.E., Simon M.D., Aghia G., Butler J.D. // *Cell.* 2009. V. 137. № 1. P. 110–122.
106. Müller-Ott K., Erdel F., Matveeva A., Mallm J.-P., Rademacher A., Hahn M., Bauer C., Zhang Q., Kaltofen S., Schotta G., et al. // *Mol. Syst. Biol.* 2014. V. 10. № 8. P. 746.
107. Coulon A., Chow C.C., Singer R.H., Larson D.R. // *Nat. Rev. Genet.* 2013. V. 14. № 8. P. 572–584.
108. Deal R.B., Henikoff J.G., Henikoff S. // *Science.* 2010. V. 328. № 5982. P. 1161–1164.
109. Adelman K., Lis J.T. // *Nat. Rev. Genet.* 2012. V. 13. № 10. P. 720–731.
110. Gaertner B., Johnston J., Chen K., Wallaschek N., Paulson A., Garruss A.S., Gaudenz K., De Kumar B., Krumlauf R., Zeitlinger J. // *Cell Rep.* 2012. V. 2. № 6. P. 1670–1683.
111. Min I.M., Waterfall J.J., Core L.J., Munroe R.J., Schimenti J., Lis J.T. // *Genes Dev.* 2011. V. 25. № 7. P. 742–754.
112. Vastenhouw N.L., Schier A.F. // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2012. V. 24. № 3. P. 374–386.
113. Kuroda M.I., Kang H., De S., Kassis J.A. // *Annu. Rev. Biochem.* 2020. V. 89. P. 235–253.
114. Atlasi Y., Stunnenberg H.G. // *Nat. Rev. Genet.* 2017. V. 18. № 11. P. 643–658.
115. Kim H.J., Kim T., Oldfield A.J., Yang P. // *bioRxiv.* 2020. P. 2020.10.13.338103.
116. Chen S., Ma J., Wu F., Xiong L., Ma H., Xu W., Lv R., Li X., Villen J., Gygi S.P., et al. // *Genes Dev.* 2012. V. 26. № 12. P. 1364–1375.
117. Boija A., Mahat D.B., Zare A., Holmqvist P.-H., Philip P., Meyers D.J., Cole P.A., Lis J.T., Stenberg P., Mannervik M. // *Mol. Cell.* 2017. V. 68. № 3. P. 491–503.e5.
118. Gates L.A., Shi J., Rohira A.D., Feng Q., Zhu B., Bedford M.T., Sagum C.A., Jung S.Y., Qin J., Tsai M.-J., et al. // *J. Biol. Chem.* 2017. V. 292. № 35. P. 14456–14472.
119. Mazina M.Yu., Kovalenko E.V., Derevyanko P.K., Nikolenko J.V., Krasnov A.N., Vorobyeva N.E. // *Biochim. Biophys. Acta BBA – Gene Regul. Mech.* 2018. V. 1861. № 2. P. 178–189.
120. Chandy M., Gutiérrez J.L., Prochasson P., Workman J.L. // *Eukaryot. Cell.* 2006. V. 5. № 10. P. 1738–1747.
121. Qiu H., Chereji R.V., Hu C., Cole H.A., Rawal Y., Clark D.J., Hinnebusch A.G. // *Genome Res.* 2016. V. 26. № 2. P. 211–225.
122. Dion M.F., Altschuler S.J., Wu L.F., Rando O.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. № 15. P. 5501–5506.
123. Shahbazian M.D., Grunstein M. // *Annu. Rev. Biochem.* 2007. V. 76. № 1. P. 75–100.
124. Kim J.-H., Saraf A., Florens L., Washburn M., Workman J.L. // *Genes Dev.* 2010. V. 24. № 24. P. 2766–2771.
125. Daujat S., Bauer U.-M., Shah V., Turner B., Berger S., Kouzarides T. // *Curr. Biol.* 2002. V. 12. № 24. P. 2090–2097.
126. Ma H., Baumann C.T., Li H., Strahl B.D., Rice R., Jelinek M.A., Aswad D.W., Allis C.D., Hager G.L., Stallcup M.R. // *Curr. Biol.* 2001. V. 11. № 24. P. 1981–1985.
127. Chevillard-Briet M., Trouche D., Vandel L. // *EMBO J.* 2002. V. 21. № 20. P. 5457–5466.
128. Dorafshan E., Kahn T.G., Glotov A., Savitsky M., Walther M., Reuter G., Schwartz Y.B. // *EMBO Rep.* 2019. V. 20. № 4. P. e46762.
129. Hödl M., Basler K. // *Curr. Biol.* 2012. V. 22. № 23. P. 2253–2257.
130. Swinstead E.E., Paakinaho V., Presman D.M., Hager G.L. // *BioEssays.* 2016. V. 38. № 11. P. 1150–1157.
131. Barisic D., Stadler M.B., Iurlaro M., Schübeler D. // *Nature.* 2019. V. 569. № 7754. P. 136–140.
132. Baptista T., Grünberg S., Minoungou N., Koster M.J.E., Timmers H.T.M., Hahn S., Devys D., Tora L. // *Mol. Cell.* 2017. V. 68. № 1. P. 130–143.e5.
133. Chandrasekharan M.B., Huang F., Sun Z.-W. // *Epigenetics.* 2010. V. 5. № 6. P. 460–468.
134. Gurskiy D., Orlova A., Vorobyeva N., Nabirochkina E., Krasnov A., Shidlovskii Y., Georgieva S., Kopytova D. // *Nucl. Acids Res.* 2012. V. 40. № 21. P. 10689–10700.
135. Allen B.L., Taatjes D.J. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2015. V. 16. № 3. P. 155–166.
136. Fant C.B., Taatjes D.J. // *Transcription.* 2018. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/21541264.2018.1556915>.
137. van der Knaap J.A., Verrijzer C.P. // *Genes Dev.* 2016. V. 30. № 21. P. 2345–2369.
138. Hoggard T., Fox C.A. // *The Initiation of DNA Replication in Eukaryotes* / Ed. Kaplan D.L. Cham. Springer Internat. Publ. 2016. P. 159–188. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24696-3_9.
139. Kopytova D., Popova V., Kurshakova M., Shidlovskii Y., Nabirochkina E., Brechalov A., Georgiev G., Georgieva S. // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № 10. P. 4920–4933.
140. Popova V.V., Brechalov A.V., Georgieva S.G., Kopytova D.V. // *Nucleus.* 2018. V. 9. № 1. P. 460–473.
141. Fioravanti R., Stazi G., Zwergel C., Valente S., Mai A. // *Chem. Rec.* 2018. V. 18. № 12. P. 1818–1832.
142. Laubach J.P., San-Miguel J.F., Hungria V., Hou J., Moreau P., Lonial S., Lee J.H., Einsele H., Alsina M., Richardson P.G. // *Expert Rev. Hematol.* 2017. V. 10. № 3. P. 229–237.
143. Waring M.J., Chen H., Rabow A.A., Walker G., Bobby R., Boiko S., Bradbury R.H., Callis R., Clark E., Dale I., et al. // *Nat. Chem. Biol.* 2016. V. 12. № 12. P. 1097–1104.