

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМАТИНА

© А. В. Илатовский,<sup>1, 2, \*</sup> Д. В. Лебедев,<sup>1</sup> М. В. Филатов,<sup>1</sup>  
М. Г. Петухов,<sup>1, 2</sup> В. В. Исаев-Иванов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, и <sup>2</sup> С.-Петербургский государственный политехнический университет;  
\* электронный адрес: andreyi@omrb.pnpi.spb.ru

В обзорной статье обобщены современные представления о структурной организации хроматина на различных уровнях компактизации ДНК. Анализ имеющихся экспериментальных данных позволяет заключить, что только нуклеосомный уровень структурной организации исследован с удовлетворительной полнотой, в то время как вопрос о строении 30-нанометровой нити хроматина остается открытым. Рассмотренные данные о структуре хроматина на уровне целого ядра говорят в пользу двухфазной фрактальной организации хроматина.

Ключевые слова: ДНК, хроматин, нуклеосома, 30-нанометровая нить, фрактал.

Принятые сокращения: АСМ — атомно-силовая микроскопия, МУРН — малоугловое рассеяние нейтронов, ЭМ — электронная микроскопия, п. н. — пара нуклеотидов.

Ядерная ДНК в геномах эукариот находится в виде нуклеопротеинового комплекса — хроматина. Для компактного хранения генетической информации и обеспечения доступа к ней требуется его определенная организация. К середине 1970-х годов было известно, что хроматин состоит из ДНК и гистонов H1, H2A, H2B, H3 и H4 (Kornberg, Thomas, 1974). На основании имеющихся биохимических данных Корнбергом (Kornberg, 1974) была выдвинута гипотеза о существовании структурного элемента хроматина, которая позднее была подтверждена экспериментально (Oudet et al., 1975). Обнаруженные частицы назвали нуклеосомами. Позднее методом дифракции рентгеновского излучения была получена первая полноатомная структура нуклеосомы (Luger et al., 1997), в настоящий момент их известно более 30.

Достижимая с помощью нуклеосомной организации степень компактизации хроматина является недостаточной для объяснения наблюдаемой плотности ядерной упаковки, что указывает на наличие супернуклеосомных структур хроматина (Woodcock, Ghosh, 2010). Наблюдаемые при помощи электронной микроскопии 30-нанометровые нити хроматина считаются следующим этапом компактизации ДНК (Oudet et al., 1975; Finch, Klug, 1976). За прошедшие десятилетия нити хроматина исследовались множеством экспериментальных методов, тем не менее полученные результаты не позволяют сделать однозначные выводы об их структуре, а ряд исследователей ставят под сомнение само существование регулярной упаковки нуклеосом в нити диаметром 30 нм (Van Holde, Zlatanova, 1995; Tremethick, 2007; Fussner et al., 2011).

Определенный прогресс достигнут в исследовании структуры хроматина в масштабе целого ядра. При-

менение биофизических методов и биохимических техник позволило установить двухфазную фрактальную организацию хроматина (McNally, Mazza, 2010) и в ряде случаев построить трехмерные модели исследуемых геномов (Duan et al., 2010).

В настоящей работе подробно рассмотрены экспериментальные и теоретические работы, посвященные исследованию различных уровней организации хроматина.

### Структура нуклеосомы

Одни из первых доказательств существования структурного элемента хроматина были получены с помощью экспериментов по электрофоретическому разделению смесей гистоновых белков и исследования спектров рассеяния рентгеновских лучей на смесях ДНК и гистонов (Kornberg, 1974; Kornberg, Thomas, 1974). На электрограммах смеси гистонов H3 и H4 наблюдалось 8 полос, сохраняющихся в широком интервале концентраций. После соотнесения молекулярных масс и подвижности частиц стало ясно, что в растворе присутствуют гетеротетрамер  $(H3)_2(H4)_2$  и продукты его диссоциации вплоть до отдельных гистоновых белков. Аналогичным образом было установлено, что гистоны H2A и H2B образуют гетеродимер. Следующий этап исследования — получение спектров рассеяния рентгеновского излучения для растворов ДНК в присутствии тех или иных гистонов и их сравнение со спектрами для образцов хроматина, выделенных из клеток (Kornberg, Thomas, 1974). Оказалось, что для воспроизведения спектров и соответственно структуры хро-

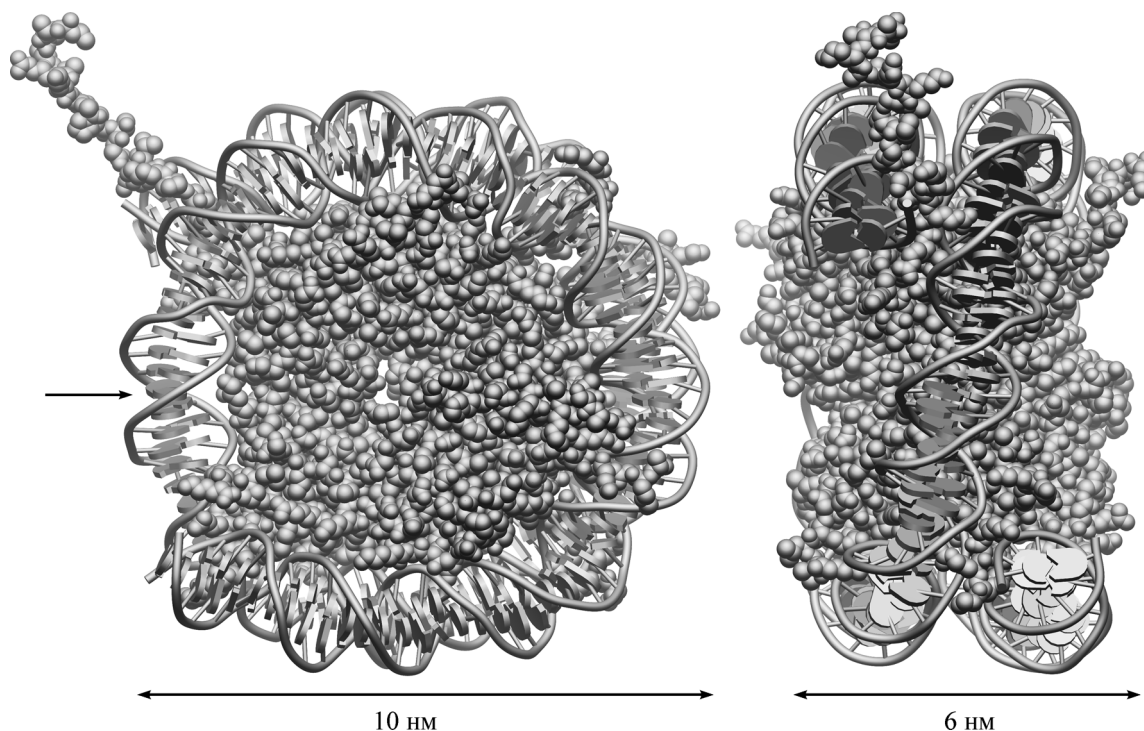


Рис. 1. Структура нуклеосомы PDB:1AOI (Luger et al., 1997).

Показаны два изображения одной структуры, полученные поворотом на  $90^\circ$  в плоскости, перпендикулярной плоскости рисунка. Гистоны (показаны шариками) образуют белковый кор, вокруг которого намотано около 1.7 витка суперспирали ДНК. Стрелкой (слева) отмечено направление оси псевдосимметрии второго порядка. В нижней части рисунка показаны характерные размеры нуклеосомы.

матина необходимо присутствие четырех гистонов — H2A, H2B, H3 и H4, но не H1.

На основании имевшихся цитологических, биохимических и биофизических данных была выдвинута гипотеза о том, что четыре гистона образуют комплекс с ДНК в виде гетерооктамера (включающего в себя по две субъединицы каждого гистона), причем один такой комплекс содержит порядка 200 пар нуклеотидов (п. н.) (Kornberg, 1974).

Применение электронной микроскопии (ЭМ) для визуализации структуры хроматина было ограничено высокой плотностью упаковки ДНК в ядре, которая не позволяла непосредственно наблюдать предсказанные частицы. В 1975 г. на основе имевшихся биохимических данных о свойствах гистоновых белков удалось разработать методы неразрушающего выделения отдельных элементов хроматина из целого ядра (Oudet et al., 1975). На электронных микрофотографиях были четко видны изолированные нити хроматина, образованные отдельными частицами диаметром около 13 нм, организованными в структуру типа «бусины-на-нити». Авторы назвали обнаруженные частицы нуклеосомами. Биохимический анализ показал, что эти частицы состоят из четырех коровых гистонов и ДНК. Таким образом, хроматин состоит из нуклеосом, соединенных линкерными сегментами ДНК.

Путем повышения ионной силы раствора (до 2 М NaCl) авторам удалось добиться диссоциации нуклеосом на белок и ДНК; при понижении ионной силы осуществлялась реассоциация, в результате которой получались ранее наблюдаемые структуры. Подобные эксперименты проводили с вирусной ДНК и гистонами млекопитающих. При этом образовывались рекомбинантные нуклеосомы, имеющие характерную структуру. Из этих наблюдений был сделан вывод о том, что специальных последователь-

ностей ДНК для сборки нуклеосом не требуется, механизм образования нуклеосом является универсальным (Oudet et al., 1975).

Данные эксперименты установили основные принципы устройства хроматина, однако детали структурной организации нуклеосом оставались неизвестными. Мощным методом исследования структуры сложных биомолекул является метод дифракции рентгеновского излучения на кристаллах. С помощью этого метода было установлено, что нуклеосома имеет цилиндрическую форму и размер  $11 \times 11 \times 5.7$  нм, при этом ДНК образует около 1.75 витка суперспирали (с шагом 2.8 нм) вокруг гистонного кора (Finch et al., 1977). Кроме того, было показано наличие некристаллической оси псевдосимметрии второго порядка (диады). Позднее была получена структура нуклеосомы с разрешением 0.7 нм (Richmond et al., 1984), что позволило установить местоположение каждого гистона в центральной области нуклеосомы. Оказалось, что ось псевдосимметрии совпадает с осью симметрии гетеротетрамера  $(H3)_2(H4)_2$  и проходит через центральную пару нуклеотидов.

Заменой нативной ДНК на высокорегулярную последовательность удалось получить структуру с разрешением 0.28 нм (Luger et al., 1997). Координаты доступны в международной базе данных PDB (Bertram et al., 2003) под индексом 1AOI. В качестве ДНК был взят сегмент длиной 73 п. н. из  $\alpha$ -сателлитных повторов хромосомы X человека (Yang et al., 1982), из которого был сконструирован палиндром длиной 146 п. н. Коровые гистоны были взяты из *Xenopus laevis* (африканская шпорцевая лягушка) и экспрессированы в *Escherichia coli*. Четыре коровых гистона H2A, H2B, H3 и H4 образуют октамер (белковый кор), состоящий из двух копий каждого из четырех гистонов. ДНК уложена таким образом, что на гистоновый кор

намотано примерно 1.7 витка ее суперспирали (рис. 1). Позднее была получена аналогичная структура, но с более высоким разрешением (0.19 нм) — PDB:1KX5 (Davey et al., 2002).

Необходимо отметить, что при экспрессии в *E. coli* гистоны не подвергаются модификациям, в то время как в реальных условиях наблюдается множество посттрансляционных модификаций: ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, убиквитинирование и т. п. (Khorasani-zadeh, 2004).

В 2000 г. была получена структура PDB:1EQZ, содержащая гистоны из эритроцитов курицы (Harp et al., 2000). ДНК, как и ранее, была сконструирована на основе генома человека. В целом технология приготовления кристаллов с такими биологическими макроструктурами, как нуклеосомы, использует нетривиальные подходы. Например, данная структура была получена в условиях микрогравитации на борту космического корабля «Space Shuttle» (NASA, США). Так как в этом случае белки выделяли из нативных ядер, гистоны могли подвергаться модификациям. Действительно, анализ гистона H3 из эритроцитов курицы с помощью масс-спектрометрии показал, что лизины 9, 14, 27, 36 и 79 метилированы, а 18 и 23 ацетилированы (Zhang et al., 2002). Тем не менее существенных отличий от ранее известных пространственных структур нуклеосом обнаружено не было.

Кроме этих структур в базе PDB есть около десятка структур, полученных из Sin-мутантов дрожжей (Muthurajan et al., 2004). В дрожжах присутствует ремоделирующий фактор SWI/SNF, функция которого заключается в перемещении нуклеосомы по цепи ДНК. Этот фактор жизненно важен, при его инактивации клетка погибает. Существуют дрожжи, имеющие мутации в гистонах, способные выживать без фактора SWI/SNF (мутанты SWI/SNF independent, или Sin). Были получены структуры нуклеосом с этими мутациями, которые, как оказалось, локализованы в области контакта гистонов H3 и H4 с ДНК и приводят к нарушению их взаимодействия. Всего таких контактов разрушается от 2 до 6 из общего количества около 120. Таким образом, малые изменения во взаимодействии ДНК и коровых гистонов могут оказать существенное влияние на стабильность и подвижность нуклеосом (Muthurajan et al., 2004).

Недавно в центромерах, где вместо гистона H3 присутствует специальный гистон CenH3, были *in vivo* обнаружены субнуклеосомные структуры (Dalal et al., 2007). По данным ЭМ, хроматин в центромерах упакован менее плотно, длина линкерных участков значительно превышает обычные значения. Кроме того, измерения высоты частиц с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) показали, что нуклеосомы с гистоном CenH3 имеют меньшую высоту по сравнению с обычными нуклеосомами. Биохимические эксперименты продемонстрировали, что длина ДНК в составе субнуклеосомной частицы около 100—120 п. н., в то время как обычно она составляет 150—170 п. н. По результатам всех исследований авторы сделали вывод о том, что при участии гистона CenH3 образуется не октамер, а тетрамер коровых гистонов, и соответственно в частице присутствует только один виток суперспирали ДНК.

Кроме мутаций и модификаций гистонов на стабильность нуклеосом может влиять последовательность ДНК (Segal et al., 2006). Были исследованы относительные частоты встречаемости динуклеотидов AA/TT/TA и GC в зависимости от их положения в структуре нуклеосомы.

Данные получены в экспериментах как с синтетическими последовательностями, так и с нуклеосомами из клеток дрожжей. Авторы обнаружили, что динуклеотиды распределены с периодом порядка 10 п. н., что отвечает витку спирали ДНК. При этом встречаемость динуклеотидов GC смещена на половину периода. Одним из объяснений обнаруженных предпочтений может быть зависимость механических свойств ДНК от конкретной последовательности, в частности способности изгибаться, что важно для стабильности нуклеосом (Garcia et al., 2006). В результате проведенных исследований была создана модель нуклеосомы с характерным периодическим расположением динуклеотидов AA/TT/TA и GC. С использованием этой модели был разработан алгоритм для предсказания положения нуклеосом в последовательности генома. Оказалось, что примерно половина экспериментально установленных сайтов образования нуклеосом может быть предсказана данным методом (Segal et al., 2006).

Таким образом, принципиальная структура нуклеосомы как уровня организации генетического материала более или менее изучена. Из гистонов и ДНК собирается комплекс, который обладает достаточной гибкостью для обеспечения необходимых клеточных процессов и в то же время является исходным материалом для следующего уровня компактизации.

### Компактизация хроматина

Компактизация хроматина достигается за счет взаимодействия ДНК, гистоновых белков — как коровых, так и линкерных, а также определенного молекулярного окружения. Одним из факторов, влияющих на организацию нуклеосом, является соотношение гистонов и ДНК (Nikova et al., 2004). При помощи АСМ наблюдали реассоциацию коровых гистонов и регуляторной ДНК, содержащей 12 копий одной и той же последовательности длиной 208 п. н. При соотношении гистонов и ДНК 1 : 1 наблюдали регулярную структуру, а при соотношении 0.75 : 1 — нерегулярную. Распределение высот во втором случае имеет несколько пиков, которые соответствуют димерам гистонов H2A—H2B, субнуклеосомным частицам (тетрамерам или гексамерам гистонов) и целым нуклеосомам. При соотношении 1.5 : 1 образуется плотно упакованная структура, в которой отдельные нуклеосомы неразличимы. Тем не менее, как показали наблюдения изолированной молекулы ДНК в жидкой фазе, эта структура является подвижной. На ряде АСМ-изображений, полученных с временным интервалом 30 с, видны признаки как выпетливания, так и конденсации ДНК.

Другим фактором, влияющим на компактизацию хроматина, является ионная сила раствора (Zlatanova et al., 1998). При ее повышении наблюдается увеличение плотности упаковки хроматина. Из сравнения АСМ-изображений следует, что влияние двухзарядных ионов в процессе конденсации значительно выше, чем однозарядных.

Кроме того, известно, что ремоделирующие факторы, в частности белки ISWI семейства SWI/SNF, могут организовывать регулярные массивы нуклеосом (Längst, Becker, 2001; Eberhardter, Becker, 2004).

Наконец, присутствие линкерного гистона также может влиять на формирование нитей хроматина (Thoma, Koller, 1977; Thoma et al., 1979). Многочисленные исследования дают различные оценки роли линкерного гистона — от незначительной (Wittig, Wittig, 1977; Yao et al.,



1991; Kruithof et al., 2009; Schlick, Perišić, 2009) до существенной (Fujiwara et al., 1989; Bednar et al., 1995, 1998; Leuba et al., 1998; Robinson, Rhodes, 2006).

В 1993 г. была решена структура глобулярного домена гистона H5 — PDB:1HST (Ramakrishnan et al., 1993). Аминокислотная последовательность белка курицы была модифицирована для экспрессии в клетках *E. coli*, которые росли на среде, содержащей селенометионин. Включение селена в состав белка и применение специальных методик кристаллографического исследования позволили улучшить качество структуры, итоговое разрешение составило 0.26 нм.

На основе полученных координат была построена полноатомная модель комплекса линкерного гистона H1 с нуклеосомой (хроматосомы) (Bharath et al., 2003). Роль гистона H1 заключается в стабилизации ориентации линкерных сегментов относительно кора, при этом каждый домен отвечает за отдельный участок ДНК. Так, С-концевой домен взаимодействует преимущественно с исходящим линкерным сегментом, существенно искривляя его, а глобулярный домен — с входящим линкером. Построенная модель описывает примерно 40 п. н. линкерной ДНК.

Методом крио-АСМ (при температуре ~80 К) были получены изображения нуклеосом из ядер эритроцитов курицы (Sheng et al., 2006). Специальные условия позволили достичь высокого разрешения и детально рассмотреть структуру хроматина. На основе АСМ-изображений была построена модель хроматосомы, согласно которой линкерный гистон располагается в области центральных пар нуклеотидов и имеет контакты с входящей и исходящей ДНК. Также была получена оценка размеров хроматосомы: цилиндрическая нуклеосома имеет размер  $12.5 \times 12.5 \times 6$  нм, комплекс линкерного гистона и ДНК —  $8 \times 7 \times 3$  нм.

Для исследования структуры хроматосомы были *in vivo* проведены эксперименты с помощью метода FRAP (fluorescence recovery after photobleaching) (Brown et al., 2006). Суть эксперимента состоит в том, что к гистону H1 (нативному или с мутацией) пришивают флуоресцентную метку, затем на клетке «выжигают» небольшой участок и наблюдают за восстановлением флуоресценции. Если гистон не связан с ДНК или другими тяжелыми молекулами, то он быстро диффундирует к месту выжигания и флуоресценция быстро восстанавливается, и наоборот. Нативная форма линкерного гистона H1 имеет характерное время полувосстановления флуоресценции 50 с, а некоторые мутанты — порядка нескольких секунд. На основании данных FRAP-экспериментов были определены аминокислоты, участвующие в связывании с ДНК. С использованием структуры PDB:1HST (Ramakrishnan et al., 1993) авторы построили модель взаимодействия глобулярного домена гистона H1 с ДНК. Сайт 1 (His25, Arg47, Lys69, Lys73, Arg74 и Lys85) связывается с ДНК в области центральной пары нуклеотидов, сайт 2 (Arg42, Arg94 и Lys97) — с одним из двух линкерных сегментов ДНК.

Более поздние исследования структурной организации хроматосомы с использованием метода определения сайтов линкерной ДНК, доступных для растворителя, позволили сопоставить различные молекулярные модели хроматосомы (Meuer et al., 2011). Выяснилось, что в отличие от модели, предложенной в работе (Brown et al., 2006), глобулярный домен линкерного гистона имеет три сайта связывания с ДНК, взаимодействуя как с ДНК в составе нуклеосомы (в области центральной пары нуклеотидов), так и с обоими линкерными сегментами на

протяжении первых (от нуклеосомы) 10 п. н. линкерных ДНК. При этом С-концевой домен образует дополнительные контакты с линкерными ДНК, увеличивая полную длину сайта взаимодействия до 20 п. н. Кроме того, оба линкерных сегмента находятся в контакте друг с другом на протяжении еще 20 п. н., таким образом, длина полулинкера составляет 40 п. н.

Получение кристаллов комплексов нуклеосом и белков, позволившее бы пролить свет на структуру хроматосомы, представляет собой сложную задачу, и к настоящему моменту решена только одна такая структура — комплекс нуклеосомы и фактора RCC1 из дрозофилы (Makde et al., 2010); детальная организация хроматосомы пока остается нерешенной проблемой.

## Структура нити хроматина

Из имеющихся экспериментальных данных более или менее определенно известна только общая структурная информация о нитях хроматина. Методом ЭМ установлен их диаметр — около 10 и 30 нм (Oudet et al., 1975; Finch, Klug, 1976). 10-нанометровая нить хроматина представляет собой цепочку нуклеосом с относительной линейной плотностью (количество нуклеосом в нити по отношению к диаметру нуклеосомы), равной 1, определенной с помощью малоуглового рассеяния рентгеновского излучения (Sperling, Tardieu, 1976). 30-нанометровая нить хроматина имеет переменную линейную плотность, которая по данным малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН) и сканирующей просвечивающей ЭМ составляет от 1 до 6 при концентрациях NaCl 0 и  $\geq 80$  мМ соответственно (Gerschman, Ramakrishnan, 1987). При этом переходных состояний между 10- и 30-нанометровыми нитями не наблюдали. Детальная организация 30-нанометровой нити хроматина является предметом дискуссии.

Нуклеосомы имеют много степеней свободы, что позволяет конструировать из них множество разнообразных структур (Engelhardt, 2007). Если зафиксировать размеры гистонового кора и длину ДНК, то остаются 3 незафиксированных угла: углы  $\alpha$  и  $\eta$  между входящей и исходящей ДНК в плоскости  $\Theta$ , параллельной основанию цилиндра, описывающего нуклеосому, и перпендикулярной плоскости соответственно, а также угол  $\beta$  между плоскостями  $\Theta$  соседних нуклеосом. Меняя значения этих параметров, можно получить всевозможные структуры, ряд которых запрещен стерически. Необходимо отметить, что во всех случаях они представляют собой регулярные спирали, различающиеся только по количеству нуклеосом на виток и шагу спирали. Диаметр спиралей варьирует в гораздо меньшей степени и составляет от 25 до 40 нм.

Кроме стерических запретов существуют и другие ограничения. Так, были проанализированы возможные варианты укладки нуклеосом в плотную структуру с минимальными отклонениями структуры линкерной ДНК от энергетически выгодной конформации (Scipioni et al., 2010). Оказалось, что в зависимости от длины ДНК на нуклеосому разрешенным является ограниченное число классов спиральных структур. Тем не менее спектр возможных структур избыточен: например, спирали класса 13/5 (количество нуклеосом на виток/количество витков в периодическом элементе структуры) имеют диаметр ~34 нм для 177, 187 и 197 п. н. ДНК на нуклеосому, что не позволяет сделать однозначные выводы об организации 30-нанометровой нити хроматина.

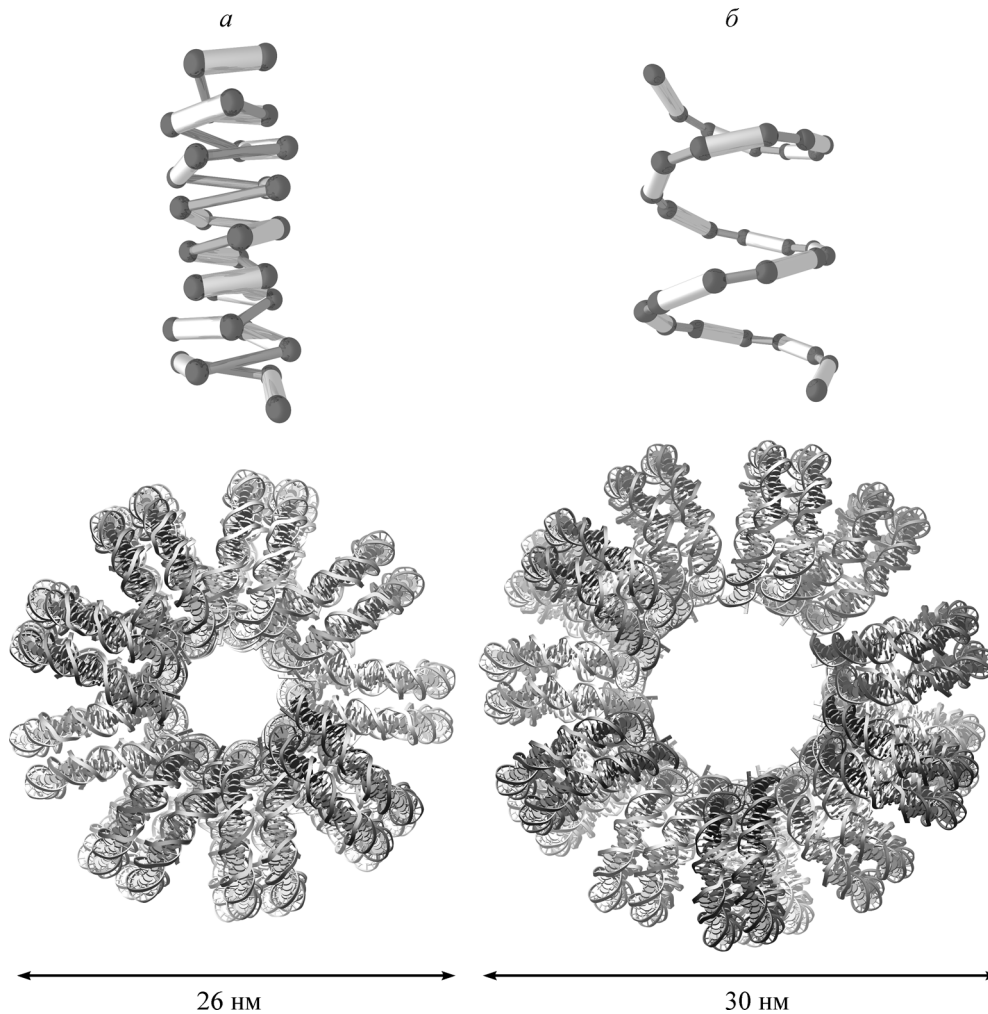


Рис. 2. Регуляторные супернуклеосомные структуры из 15 нуклеосом, соответствующие моделям «зигзаг» (а) и «соленид» (б). Вверху приведены схемы хода ДНК; внизу показан вид супернуклеосомных структур в плоскости, перпендикулярной оси супернуклеосомной спирали, и приведены характерные размеры.

Способы укладки нуклеосом в плотную нить хроматина широко обсуждаются в литературе с момента получения первых электронных микрофотографий (Finch, Klug, 1976; Thoma, Koller, 1977; Woodcock et al., 1984; Bednar et al., 1995, 1998; Robinson, Rhodes, 2006; Woodcock, Ghosh, 2010; Fussner et al., 2011). Основными являются две модели — модель «соленид» (Finch, Klug, 1976; McGhee et al., 1983) и модель «зигзаг» (Thoma et al., 1979; Woodcock et al., 1984). В модели «соленид» цепочка нуклеосом закручена в суперспираль, на один виток которой приходится 6 нуклеосом, при этом шаг спирали составляет 11 нм (рис. 2). Структура стабилизируется за счет белок-белковых взаимодействий коровых гистонов. В модели «зигзаг» входящие и выходящие нити ДНК образуют контакт, стабилизируемый линкерным гистоном, в результате чего получается плотная спиралеобразная упаковка, характеризующаяся большим расстоянием между соседними по цепи нуклеосомами по сравнению с расстояниями между нуклеосомами, разделенными одной (или более) нуклеосомой (рис. 2).

В ряде экспериментов с помощью крио-ЭМ исследовали нити хроматина из эритроцитов курицы (Bednar et al., 1995, 1998). В методике крио-ЭМ образец в водном растворе подвергается сверхбыстрой заморозке, вода переходит в твердое аморфное состояние и фиксирует обра-

зец. Получаемые данные позволяют определить относительное местоположение нуклеосом в образце, тем не менее их недостаточно, чтобы узнать детали механизма компактизации отдельных цепочек нуклеосом в плотные нити. Авторами (Bednar et al., 1995, 1998) была предложена следующая модель нити хроматина. В зависимости от ионной силы раствора меняется угол между входящими и исходящими линкерными сегментами, что приводит к различным зигзагообразным структурам. Параметры этих структур согласуются с данными, полученными экспериментальными методами (Gerchman, Ramakrishnan, 1987), что говорит в пользу модели «зигзаг». Важным свойством такой модели является то, что она допускает различные уровни компактизации без существенных структурных перестроек.

С помощью МУРН и седиментационных исследований были определены межнуклеосомные расстояния в ди- и тринуклеосомных частицах, выделенных из ядер эритроцитов курицы и клеточной линии из почек обезьяны, при различных концентрациях NaCl (Hammermann et al., 2000). Было установлено, что для динуклеосом при увеличении концентрации NaCl с 5 до 100 мМ межнуклеосомные расстояния уменьшаются с 22 до 15 и с 18 до 14 нм соответственно. Тринуклеосомы имеют несколько отличный механизм компактизации: при концентрации NaCl

менее 20 мМ расстояния между соседними по цепи нуклеосомами остаются постоянными, но уменьшается угол между входящим и исходящим линкерными сегментами при центральной нуклеосоме. При увеличении концентрации NaCl (более 20 мМ) начинают уменьшаться и межнуклеосомные расстояния.

Для изучения влияния ионной силы раствора на упаковку нуклеосом была построена квазимолекулярная модель нуклеосомы (Beard, Schlick, 2001). Каждая нуклеосома, а также линкерная ДНК были представлены в виде совокупности заряженных шариков, создающих такой же электростатический потенциал, как и более детальная полноатомная модель. Затем были проведены *in silico* эксперименты по молекулярной динамике ди- и тринуклеосом для различных значений ионной силы, в результате были получены характерные структурные мотивы упаковки нуклеосом, в которых линкер был изогнут, но соседние нуклеосомы не контактировали друг с другом.

При использовании полученных мотивов в качестве периодических элементов образуются структуры диаметром ~30 нм, соответствующие модели «зигзаг». Рассчитанные для этих структур спектры малоуглового рассеяния рентгеновского излучения находятся в согласии с полученными экспериментально (Fujiwara et al., 1989; Fujiwara, 1992). Более того, рассчитанные для динуклеосом коэффициенты диффузии оказались близки к определенным в работе (Bednar et al., 1995), авторы которой также интерпретируют полученные данные в пользу модели «зигзаг». Однако это противоречит более ранним экспериментам по определению коэффициентов диффузии динуклеосом (Yao et al., 1990, 1991), поддерживающим модель «соленоид», в которой соседние нуклеосомы образуют контакт.

Молекулярно-динамические исследования, проведенные для существенно более длинных структур (12 и 24 нуклеосомы) с использованием расширенной модели, включающей в себя линкерный гистон, показали, что при длине ДНК 173 п. н. на нуклеосому получают только упаковки типа «зигзаг», в то время как для длины 209 п. н. возможны оба типа упаковки (Schlick, Perisic, 2009).

Были проведены эксперименты по измерению динамических характеристик нити хроматина методом силовой спектроскопии единичных молекул с помощью лазерной ловушки (Cui, Bustamante, 2000). Суть эксперимента состояла в том, что к нити хроматина (выделенного из ядер эритроцитов курицы) пришивают шарик из полистирола, затем один из шариков захватывают микропипеткой, а второй — лазерным пинцетом. Смещение микропипетки приводит к деформации нити хроматина. В эксперименте измеряли профиль растяжения и восстановления хроматина. Анализ полученных данных говорит в пользу модели «зигзаг», при этом энергия связывания нуклеосом в структуре хроматина составляет порядка 3.4 *kT* на нуклеосому.

Аналогичные эксперименты с применением магнитного пинцета для нитей хроматина показали, что профили растяжения/восстановления в области малых сил могут быть интерпретированы в рамках простейшего приближения упругой пружины, описываемого законом Гука (Kruithof et al., 2009). Сопоставление характерных свойств с профилем растяжения, рассчитанным для различных моделей нити хроматина, поддерживало модель «соленоид», при этом длина ДНК на нуклеосому составляла 197 п. н.,

а линейная плотность — 1.6—2.0 нм на нуклеосому. Дополнительные эксперименты с добавлением линкерного гистона не изменили общей картины упругого растяжения. Анализ профилей растяжения также позволил оценить энергию взаимодействия нуклеосом в нити хроматина, которая оказалась равной 14 *kT*.

Сравнивая свои результаты с более ранними, авторы (Kruithof et al., 2009) указали, что в исследовании (Cui, Bustamante, 2000) использованы нити хроматина с другими характеристиками (длина ДНК на нуклеосому была 167 п. н.) и в иных условиях, а именно при низкой ионной силе и в отсутствие двухвалентных ионов, которые существенным образом влияют на компактизацию хроматина. Были проведены измерения для нитей хроматина с длиной ДНК на нуклеосому, равной 167 п. н. Полученные профили также описываются законом Гука, однако первоначальная длина нитей оказалась больше, а относительное удлинение — меньше, чем в первой серии экспериментов, при этом коэффициент жесткости вырос в 2.7 раза. Авторы интерпретировали эти данные в пользу модели «зигзаг», заключая, что основным фактором, влияющим на организацию нити хроматина, является длина ДНК на нуклеосому.

Методом рентгеноструктурного анализа получена структура тетрануклеосомы PDB:1ZBB (Schalch et al., 2005). ДНК в этой нуклеосоме представляет собой 4 копии специальной последовательности длиной 147 п. н. с линкерными участками длиной 20 п. н., линкерный гистон в структуре отсутствовал; компактизация была достигнута за счет высокой концентрации двухзарядных катионов. Из копий исходной структуры была построена спиральная модель укладки тетрануклеосом в регулярную структуру, которая соответствует модели «зигзаг» с диаметром спирали 25 нм.

Были построены и альтернативные модели нити хроматина на основе кристаллической структуры тетрануклеосомы, но для 177 п. н. на нуклеосому (Robinson et al., 2006). Из сравнения этих моделей с микрофотографиями структур, полученных для высокорегулярной ДНК и полного набора гистонов с помощью крио-ЭМ, был сделан вывод о том, что модель «соленоид» описывает наблюдаемую структуру лучше.

Итак, большинство экспериментальных данных говорит в пользу модели «зигзаг», хотя в ряде экспериментальных и теоретических исследований (Kruithof et al., 2009; Schlick, Perišić, 2009) получены доказательства существования структур, описываемых обеими моделями. Тем не менее в работе (Castro-Hartmann et al., 2010) методом трансмиссионной ЭМ были исследованы частично денатурированные хромосомы клеток HeLa, и авторы не обнаружили признаков какой-либо регулярной упаковки нуклеосом. По мнению ряда исследователей (Van Holde, Zlatanova, 1995; Tremethick, 2007; Fussner et al., 2011), накапливающиеся данные свидетельствуют об отсутствии регулярной структуры 30-нанометровой нити хроматина, а все наблюдения могут быть интерпретированы с использованием модели нерегулярной упаковки 10-нанометровой нити хроматина.

Таким образом, несмотря на многолетнее изучение структуры нити хроматина с использованием богатого арсенала экспериментальных техник и теоретических методов и прогресс в понимании ее устройства, вопрос об организации нити хроматина все еще остается открытым.



## Структура хроматина на уровне ядра

Основными объектами исследования при изучении структуры хроматина являются отдельные нуклеосомы и нити хроматина. Исследование же целых ядер представляет собой нетривиальную задачу, и в настоящее время имеется весьма ограниченная информация о структуре хроматина на уровне ядра.

Сейчас считается, что организация хромосом в ядре неслучайна и характеризуется наличием так называемых хромосомных территорий — наблюдаемых с помощью флуоресцентной микроскопии областей ядра диаметром около 2 мкм, в которых преимущественно локализованы определенные хромосомы (Meaburn, Misteli, 2007). Функциональная роль и внутренняя структура хромосомных территорий являются предметом дискуссии, предложено несколько теоретических моделей их строения. Однако экспериментальные исследования могут дать лишь общую структурную информацию.

Так, методом флуоресцентной гибридизации *in situ* для интерфазных хромосом человека в трехмерном пространстве были измерены средние значения расстояний между флуоресцентными маркерами, находящимися на расстояниях в цепи ДНК от  $1.5 \times 10^5$  до  $1.9 \times 10^8$  п. н. (Yokota et al., 1995; Munkel et al., 1999). При построении полученных среднеквадратичных расстояний в двойном логарифмическом масштабе оказалось, что график этой зависимости описывается двумя прямыми с коэффициентами углового наклона, равными 0.46 и 0.32 для меньших и больших размеров соответственно, при этом точка кроссовера была около 1 мкм ( $2 \times 10^6$  п. н.). Эти данные были интерпретированы в рамках двух различных геометрических моделей: до точки кроссовера хроматин ведет себя как случайная цепь, а после — как плотная глобула.

В последнее время получила развитие техника фиксации конформации хромосом (методы 3C, 4C и 5C), позволяющая установить взаимодействие близкорасположенных участков геномной ДНК. В сочетании с массивным секвенированием данная методика позволила установить контакты внутри гаплоидного генома одного из простейших эукариот *Saccharomyces cerevisiae* (геном состоит из 16 хромосом общим размером  $12 \times 10^6$  п. н.) с разрешением порядка  $10^3$  п. н. и построить его трехмерную модель (Duan et al., 2010).

Недавние исследования внутренней структуры ядра выявили фрактальную организацию хроматина (McNally, Mazza, 2010). Фракталы являются относительно «молодыми» математическими объектами, однако многие физические и биологические феномены могут быть адекватно описаны с их использованием (Мандельброт, 2002). Фрактальная упаковка хроматина позволяет описать его высокую степень компактизации и динамику. Так, близкорасположенные по цепи ДНК участки генома являются сближенными в трехмерном пространстве и могут быть деконденсированы без нарушения упаковки соседних участков ядра.

В одном из исследований структурной организации хроматина применили новую экспериментальную технику фиксации конформации генома (метод Hi-C) к ядрам лимфобластной клеточной линии человека (Lieberman-Aiden et al., 2009). Суть метода заключается в фиксации ядерной ДНК при помощи формальдегида, последующей обработке нуклеазой с образованием «липких» концов, лигировании разрывов биотинированными нуклеотидами (с образованием молекул ДНК, содержащих

гибридные последовательности близкорасположенных в пространстве участков генома), выделении и нарезке ДНК на небольшие фрагменты с использованием другой нуклеазы, экстракции фрагментов с биотином и их секвенировании. После сопоставления полученной библиотеки сшитых последовательностей с эталонной последовательностью генома человека была составлена карта внутри- и межхромосомных контактов с разрешением порядка  $10^6$  п. н. На основе этой карты была вычислена вероятность контакта как функция от расстояния  $d$  в цепи ДНК; оказалось, что вероятность контакта пропорциональна  $1/d$  для интервала значений  $d$  от 0.5 до  $7.0 \cdot 10^6$  п. н. Такое поведение согласуется с моделью фрактальной глобулы (Grosberg et al., 1993), которая предсказывает значение фрактальной размерности, равное 3.

Наблюдения за диффузией флуоресцентных меток *in vivo* в ядрах клеток почки крысы и фибробластов мыши также поддерживают гипотезу о фрактальной организации хроматина (Bancaud et al., 2009). Данные, полученные с помощью методов флуоресцентной корреляционной спектроскопии для диффузии олигомеров зеленого флуоресцентного белка, прямого наблюдения за перемещениями одиночного агрегата квантовых точек и локальной фотоактивации взаимодействующих с хроматином белковых маркеров, были интерпретированы в рамках теории аномальной диффузии, описывающей поведение частиц во фрактальной среде. Стоит отметить, что характерные размеры системы, исследуемой при помощи данных методов, составляют менее 100 нм. Авторы рассчитали фрактальные размерности эухроматина (2.6) и гетерохроматина (2.2), которые оказались близки к оценкам фрактальной размерности (2.3—2.4), сделанным на основе древовидной фрактальной модели второго порядка (Takahashi, 1989).

В ряде работ получены спектры МУРН для нативных ядер из эритроцитов курицы (Lebedev et al., 2005) и других типов клеток (Исаев-Иванов и др., 2010). Спектры МУРН имели линейные участки в двойном логарифмическом масштабе для широкого интервала размеров (от 15 нм до 1.5 мкм), что говорит о фрактальной природе исследованной системы (Schmidt, 1989). Фрактальная размерность хроматина (рассчитанная как коэффициент углового наклона линейных участков спектров МУРН, взятый с обратным знаком) составила 2.4 для размеров менее 420 нм и  $\sim 3$  для больших размеров.

Таким образом, имеющиеся экспериментальные данные говорят о двухфазной фрактальной организации хроматина. В области малых размеров фрактальная размерность составляет 2.2—2.6 (случайная цепь с преобладанием притяжения над отталкиванием звеньев), в области больших — близка к 3 (плотная глобула).

Работа выполнена при финансовой поддержке РАН (программа «Нейтронные исследования структуры вещества и фундаментальных свойств материи») и Министерства образования и науки РФ (РНП 2.2.1.1.4663, контракты 02.740.11.5223 и 11.519.11.2002).

## Список литературы

Исаев-Иванов В., Лебедев Д., Лаутер Х., Пантина Р., Куллин А., Исламов А., Филатов М. 2010. Сравнительный анализ нуклеосомной структуры клеточных ядер — малоугловое нейтронное рассеяние. Физика твердого тела. 52(5): 996—1005.

- Мандельброт Б. 2002. Фрактальная геометрия природы. М.: Институт компьютерных исследований. 656 с.
- Bancaud A., Huet S., Daigle N., Mozziconacci J., Beaudouin J., Ellenberg J. 2009. Molecular crowding affects diffusion and binding of nuclear proteins in heterochromatin and reveals the fractal organization of chromatin. *EMBO J.* 28 : 3785—3798.
- Beard D., Schlick T. 2001. Computational modeling predicts the structure and dynamics of chromatin fiber. *Structure.* 9 : 105—114.
- Bednar J., Horowitz R., Dubochet J., Woodcock C. 1995. Chromatin conformation and salt-induced compaction: three-dimensional structural information from cryoelectron microscopy. *J. Cell Biol.* 131 : 1365—1376.
- Bednar J., Horowitz R., Grigoryev S., Carruthers L., Hansen J., Koster A., Woodcock C. 1998. Nucleosomes, linker DNA, and linker histone form a unique structural motif that directs the higher-order folding and compaction of chromatin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 95 : 14173—14178.
- Berman H., Henrick K., Nakamura H. 2003. Announcing the worldwide Protein Data Bank. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 10 : 980.
- Bharath M., Chandra N., Rao M. 2003. Molecular modeling of the chromosome particle. *Nucl. Acids Res.* 31 : 4264—4274.
- Brown D., Izard T., Misteli T. 2006. Mapping the interaction surface of linker histone H1<sup>o</sup> with the nucleosome of native chromatin *in vivo*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 13 : 250—255.
- Castro-Hartmann P., Milla M., Daban J.-R. 2010. Irregular orientation of nucleosomes in the well-defined chromatin plates of metaphase chromosomes. *Biochemistry.* 49 : 4043—4050.
- Cui Y., Bustamante C. 2000. Pulling a single chromatin fiber reveals the forces that maintain its higher-order structure. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 97 : 127—132.
- Dalal Y., Wang H., Lindsay S., Henikoff S. 2007. Tetrameric structure of centromeric nucleosomes in interphase *Drosophila* cells. *PLoS Biol.* 5 : e218.
- Davey C., Sargent D., Luger K., Maeder A., Richmond T. 2002. Solvent mediated interactions in the structure of the nucleosome core particle at 1.9 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 319 : 1097—1113.
- Duan Z., Andronescu M., Schutz K., McIlwain S., Kim Y., Lee C., Shendure J., Fields S., Blau C., Noble W. 2010. A three-dimensional model of the yeast genome. *Nature.* 465 : 363—367.
- Eberharter A., Becker P. 2004. ATP-dependent nucleosome remodelling: factors and functions. *J. Cell Sci.* 117 : 3707—3711.
- Engelhardt M. 2007. Choreography for nucleosomes: the conformational freedom of the nucleosomal filament and its limitations. *Nucl. Acids Res.* 35 : e106.
- Finch J., Klug A. 1976. Solenoidal model for superstructure in chromatin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 73 : 1897—1901.
- Finch J., Lutter L., Rhodes D., Brown R., Rushton B., Levitt M., Klug A. 1977. Structure of nucleosome core particles of chromatin. *Nature.* 269 : 29—36.
- Fujiwara S. 1992. Interpretation of the X-ray scattering profiles of chromatin at various NaCl concentrations by a simple chain model. *Biophys. Chem.* 43 : 81—87.
- Fujiwara S., Inoko Y., Ueki T. 1989. Synchrotron X-ray scattering study of chromatin condensation induced by monovalent salt: analysis of the small-angle scattering data. *J. Biochem.* 106 : 119—125.
- Fussner E., Ching R., Bazett-Jones D. 2011. Living without 30 nm chromatin fibers. *Trends Biochem. Sci.* 36 : 1—6.
- Garcia H., Grayson P., Han L., Inamdar M., Kondev J., Nelson P., Phillips R., Widom J., Wiggins P. 2006. Biological consequences of tightly bent DNA: the other life of a macromolecular celebrity. *Biopolymers.* 85 : 115—130.
- Gerchman S., Ramakrishnan V. 1987. Chromatin higher-order structure studied by neutron scattering and scanning transmission electron microscopy. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 84 : 7802—7806.
- Grosberg A., Rabin Y., Havlin S., Neer A. 1993. Crumpled globule model of the three-dimensional structure of DNA. *Europhys. Lett.* 23 : 373—378.
- Hammermann M., Toth K., Rodemer C., Waldeck W., May R., Langowski J. 2000. Salt-dependent compaction of di- and trinucleosomes studied by small-angle neutron scattering. *Biophys. J.* 79 : 584—594.
- Harp J., Hanson B., Timm D., Bunick G. 2000. Asymmetries in the nucleosome core particle at 2.5 Å resolution. *Acta Crystallogr. D.* 56 : 1513—1534.
- Khorasanizadeh S. 2004. The nucleosome: from genomic organization to genomic regulation. *Cell.* 116 : 259—272.
- Kornberg R. 1974. Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA. *Science.* 184 : 868—871.
- Kornberg R., Thomas J. 1974. Chromatin structure: oligomers of the histones. *Science.* 184 : 865—868.
- Kruithof M., Chien F.-T., Routh A., Logie C., Rhodes D., van Noort J. 2009. Single-molecule force spectroscopy reveals a highly compliant helical folding for the 30-nm chromatin fiber. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 16 : 534—540.
- Längst G., Becker P. 2001. Nucleosome mobilization and positioning by ISWI-containing chromatin-remodeling factors. *J. Cell Sci.* 114 : 2561—2568.
- Lebedev D., Filatov M., Kuklin A., Islamov A., Kentzinger E., Pantina R., Toperverg B., Isaev-Ivanov V. 2005. Fractal nature of chromatin organization in interphase chicken erythrocyte nuclei: DNA structure exhibits biphasic fractal properties. *FEBS Lett.* 579 : 1465—1468.
- Leuba S., Bustamante C., Zlatanova J., van Holde K. 1998. Contributions of linker histones and histone H3 to chromatin structure: scanning force microscopy studies on trypsinized fibers. *Biophys. J.* 74 : 2823—2829.
- Lieberman-Aiden E., van Berkum N., Williams L., Imakaev M., Ragozcy T., Telling A., Amit I., Lajoie B., Sabo P., Dorschner M., Sandstrom R., Bernstein B., Bender M., Groudine M., Gnirke A., Stamatoyannopoulos J., Mirny L., Lander E., Dekker J. 2009. Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science.* 326 : 289—293.
- Luger K., Mäder A., Richmond R., Sargent D., Richmond T. 1997. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature.* 389 : 251—260.
- Makde R., England J., Yennawar H., Tan S. 2010. Structure of RCC1 chromatin factor bound to the nucleosome core particle. *Nature.* 467 : 562—566.
- McGhee J., Nickol J., Felsenfeld G., Rau D. 1983. Higher order structure of chromatin: orientation of nucleosomes within the 30 nm chromatin solenoid is independent of species and spacer length. *Cell.* 33 : 831—841.
- McNally J., Mazza D. 2010. Fractal geometry in the nucleus. *EMBO J.* 29 : 2—3.
- Meaburn K., Misteli T. 2007. Cell biology: chromosome territories. *Nature.* 445 : 379—381.
- Meyer S., Becker N., Syed S., Goutte-Gattat D., Shukla M., Hayes J., Angelov D., Bednar J., Dimitrov S., Everaers R. 2011. From crystal and NMR structures, footprints and cryo-electron micrographs to large and soft structures: nanoscale modeling of the nucleosomal stem. *Nucl. Acids Res.* 39 : 9139—9154.
- Münkel C., Eils R., Dietzel S., Zink D., Mehring C., Wedemann G., Cremer T., Langowski J. 1999. Compartmentalization of interphase chromosomes observed in simulation and experiment. *J. Mol. Biol.* 285 : 1053—1065.
- Muthurajan U., Bao Y., Forsberg L., Edayathumangalam R., Dyer P., White C., Luger K. 2004. Crystal structures of histone Sin mutant nucleosomes reveal altered protein-DNA interactions. *EMBO J.* 23 : 260—271.
- Nikova D., Pope L., Bennink M., Leijenhorst-Groener K. V., Werf K. V. D., Greve J. 2004. Unexpected binding motifs for sub-nucleosomal particles revealed by atomic force microscopy. *Biophys. J.* 87 : 4135—4145.
- Oudet P., Gross-Bellard M., Chambon P. 1975. Electron microscopic and biochemical evidence that chromatin structure is a repeating unit. *Cell.* 4 : 281—300.
- Ramakrishnan V., Finch J., Graziano V., Lee P., Sweet R. 1993. Crystal structure of globular domain of histone H5 and its implications for nucleosome binding. *Nature.* 362 : 219—223.
- Richmond T., Finch J., Rushton B., Rhodes D., Klug A. 1984. Structure of the nucleosome core particle at 7 Å resolution. *Nature.* 311 : 532—537.



- Robinson P., Fairall L., Huynh V., Rhodes D. 2006. EM measurements define the dimensions of the «30-nm» chromatin fiber: evidence for a compact, interdigitated structure. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 103 : 6506—6511.
- Robinson P., Rhodes D. 2006. Structure of the «30 nm» chromatin fibre: a key role for the linker histone. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 16 : 336—343.
- Schalch T., Duda S., Sargent D., Richmond T. 2005. X-ray structure of a tetranucleosome and its implications for the chromatin fibre. *Nature.* 436:138—141.
- Schlick T., Perisic O. 2009. Mesoscale simulations of two nucleosome-repeat length oligonucleosomes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 11 : 10729—10737.
- Schmidt P. 1989. Use of scattering to determine the fractal dimension. In: *The fractal approach to heterogeneous chemistry: surfaces, colloids, polymers.* New York: J. Wiley & Sons Ltd. 67—79.
- Scipioni A., Turchetti G., Morosetti S., De Santis P. 2010. Geometrical, conformational and topological restraints in regular nucleosome compaction in chromatin. *Biophys. Chem.* 148 : 56—67.
- Segal E., Fondufe-Mittendorf Y., Chen L., Thastrom A., Finkel Y., Moore I., Wang J.-P., Widom J. 2006. A genomic code for nucleosome positioning. *Nature.* 442 : 772—778.
- Sheng S., Czajkowsky D., Shao Z. 2006. Localization of linker histone in chromatosomes by cryo-atomic force microscopy. *Biophys. J.* 91 : L35-L37.
- Sperling L., Tardieu A. 1976. The mass per unit length of chromatin by low-angle X-ray scattering. *FEBS Lett.* 64 : 89—91.
- Takahashi M. 1989. A fractal model of chromosomes and chromosomal DNA replication. *J. Theor. Biol.* 141 : 117—136.
- Thoma F., Koller T. 1977. Influence of histone H1 on chromatin structure. *Cell.* 12 : 101—107.
- Thoma F., Koller T., Klug A. 1979. Involvement of histone H1 in the organization of the nucleosome and of the salt-dependent superstructures of chromatin. *J. Cell Biol.* 83 : 403—427.
- Tremethick D. 2007. Higher-order structures of chromatin: the elusive 30 nm fiber. *Cell.* 128 : 651—654.
- Van Holde K., Zlatanova J. 1995. Chromatin higher order structure: chasing a mirage? *J. Biol. Chem.* 270 : 8373—8376.
- Wittig B., Wittig S. 1977. Nucleosome mono-, di-, tri-, and tetramers from chicken embryo chromatin. *Nucl. Acids Res.* 4 : 3901—3917.
- Woodcock C., Frado L.-L., Rattner J. 1984. The higher-order structure of chromatin: evidence for a helical ribbon arrangement. *J. Cell Biol.* 99 : 42—52.
- Woodcock C., Ghosh R. 2010. Chromatin higher-order structure and dynamics. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2 : a000596.
- Yang T., Hansen S., Oishi K., Ryder O., Hamkalo B. 1982. Characterization of a cloned repetitive DNA sequence concentrated on the human X chromosome. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 79 : 6593—6597.
- Yao J., Lowary P., Widom J. 1990. Direct detection of linker DNA bending in defined-length oligomers of chromatin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 87 : 7603—7607.
- Yao J., Lowary P., Widom J. 1991. Linker DNA bending induced by the core histones of chromatin. *Biochemistry.* 30 : 8408—8414.
- Yokota H., van den Engh G., Hearst J., Sachs R., Trask B. 1995. Evidence for the organization of chromatin in megabase pair-sized loops arranged along a random walk path in the human G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> interphase nucleus. *J. Cell Biol.* 130 : 1239—1249.
- Zhang K., Tang H., Huang L., Blankenship J., Jones P., Xi-ang F., Yau P., Burlingame A. 2002. Identification of acetylation and methylation sites of histone H3 from chicken erythrocytes by high-accuracy matrix-assisted laser desorption ionization—time-of-flight, matrix-assisted laser desorption ionization—postsorce decay, and nanoelectrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Biochem.* 306 : 259—269.
- Zlatanova J., Leuba S., van Holde K. 1998. Chromatin fiber structure: morphology, molecular determinants, structural transitions. *J. Biol. Chem.* 273 : 2554—2566.

Поступила 3 XI 2011

## CURRENT INSIGHTS INTO CHROMATIN STRUCTURE ORGANIZATION

A. V. Ilatovskiy,<sup>1,2,\*</sup> D. V. Lebedev,<sup>1</sup> M. V. Filatov,<sup>1</sup> M. G. Petukhov,<sup>1,2</sup> V. V. Isaev-Ivanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Petersburg Nuclear Physics Institute, Gatchina,  
and <sup>2</sup> St. Petersburg State Polytechnic University;  
\* e-mail: andreyi@omrb.pnpi.spb.ru

This review summarizes current insights into organization of chromatin structure at different levels of DNA compaction. Analysis of available experimental data allowed concluding that only nucleosomal level of structural organization was sufficiently investigated, whereas structure of a 30-nm chromatin fiber remains an open issue. The data on the chromatin structure obtained at the level of the nucleus speak in favor of a biphasic fractal organization of chromatin.

Key words: DNA, chromatin, nucleosome, 30-nm fiber, fractal.