

УДК 577.323:576.08

ВНУТРІШНІ ТА ПОВЕРХНЕВІ ПЕТЛІ ДНК: ДАНИ КОМЕТНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ В ПУЛЬСУЮЧОМУ ПОЛІ

М. ЧОПЕЙ, В. ОЛЕФІРЕНКО, К. АФАНАСЬЄВА, А. СИВОЛОБ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

E-mail: mariana.chopei@gmail.com, aphon@ukr.net

На вищих рівнях організації хроматин укладений у вигляді петель ДНК, формування яких відіграє важливу роль у регуляції транскрипції. У наших попередніх роботах ми досліджували кінетику міграції петель ДНК під час гель-електрофорезу ізольованих клітин (кометний електрофорез) з нуклеоїдів, отриманих з лізованих клітин. Було показано, що ДНК нуклеоїдів можна розділити на три частини: ДНК у складі досить невеликих петель, які швидко мігрують; ДНК у складі петель розміром до ~150 тис. пар нуклеотидів, міграція яких уповільнена; і петлі більшого розміру, які не можуть мігрувати. Тут ми вперше застосували кометний електрофорез в пульсуючому полі. Наші результати показують, що перший швидкий етап під час стандартного кометного електрофорезу можна віднести до петель на поверхні нуклеоїду, тоді як другий повільний компонент являє собою петлі всередині нуклеоїду.

Ключові слова: *петлі ДНК, нуклеоїд, кометний електрофорез, імпульсний електрофорез.*

Вступ. В еукаріотичних клітинах молекули ДНК знаходяться у вигляді нуклеопротейнового комплексу – хроматину. Крім упаковки довгих молекул ДНК в обмеженому просторі ядра, хроматину належить значна роль в регуляції транскрипції (Maston et al, 2006; Kadauke et al, 2009; Cook, 2010). Просторова регуляція транскрипції, яка полягає у фізичному наближенні регуляторних елементів (енхансерів, сайленсерів) до їх мішеней (промоторів), призводить до утворення петельних доменів ДНК – відносно автономних структур хроматину, кінці яких фіксуються за допомогою специфічних білків,

основними з яких є білки CTCF та когезини (Lieberman-Aiden et al, 2009; Van Bortle et al, 2012; Ong et al, 2014; Rao et al, 2014; Dekker et al, 2015; Sanborn et al, 2015; Krietenstein et al, 2020). Петлі можуть також формуватися за рахунок взаємодії гетерохроматинових ділянок ДНК з білками ядерної ламіни на периферії ядра (Meuleman et al, 2012; Kind et al, 2015; Yáñez-Cuna et al, 2017). Обидва типи петельних доменів є динамічними структурами: вони можуть з'являтися та зникати в залежності від рівня транскрипційної активності клітини, стадії клітинного циклу тощо (Afanasieva et al, 2016; Afanasieva et al, 2017; Kieffer-Kwon et al, 2017).

На сьогоднішній день розвинуто багато методів для дослідження різних аспектів просторової організації хроматину в клітинному ядрі, у тому числі – особливостей структури петельних доменів ДНК (Dekker et al, 2013; Nagano et al, 2013; Rao et al, 2014; Rodríguez-Ubrea et al, 2014; Aughey et al, 2015). Одним із таких методів є гель-електрофорез ізольованих клітин (кометний електрофорез) (Shaposhnikov et al, 2008; Afanasieva et al, 2013). Суть методу полягає в реєстрації електрофоретичної міграції ДНК із нуклеоїдів – структур, отриманих шляхом лізису клітин, іммобілізованих в шарі агарози на поверхні предметного скла (Olive, et al, 2002). Після руйнування клітинних мембран та дисоціації більшості хроматинових білків у нуклеоїдах залишаються надспіралізовані петельні домени ДНК (надспіралізація є наслідком дисоціації нуклеосом), що закріплені на нечутливих до умов лізису білках (Cook et al, 1975; Olive, et al, 2002; Afanasieva et al, 2010).

© М. ЧОПЕЙ, В. ОЛЕФІРЕНКО, К. АФАНАСЬЄВА,
А. СИВОЛОБ, 2022

За умови використання інтактних непошкоджених клітин та системи нейтрального (при рН 7) кометного електрофорезу спостерігається витягування до аноду таких петель під дією електричного поля (формується зона електрофоретичного треку – хвоста комети) (Afanasieva et al, 2013). Аналіз кінетики міграції дозволяє оцінити ряд параметрів петельної організації нуклеїдів (Afanasieva et al, 2013; Afanasieva et al, 2018). Зокрема, у попередніх роботах нами була проведена оцінка рівня надспіралізації петель ДНК, їх довжини, встановлені механізми закріплення петель нуклеїдів на білкових структурах ядра тощо (Afanasieva et al, 2013; Chopei et al, 2014). Однією з універсальних характеристик петельної організації нуклеїдів, отриманих із клітин різних типів, є наявність трьох типів петель (Afanasieva et al, 2017): перший тип – невеликі петлі ДНК (до ~ 25 т.п.н.), які швидко мігрують з нуклеїду (в інтервалі між 0 і 30 хв електрофорезу); другий – більші петлі (в діапазоні від ~ 30 до ~ 150 т.п.н.), міграція яких сповільнена (між 30 та 120 хв електрофорезу); третій тип – петлі розміром понад ~200 т.п.н., які не мігрують навіть при довготривалому електрофорезі.

Одним з найочевидніших пояснень різниці у швидкості міграції петель є їх розмір: у відповідності до теорії електрофорезу, петлі меншого розміру швидше мігрують у пори агарози, а петлі дуже великого розміру не виходять взагалі. Одним з відомих підходів, що дозволяє досліджувати міграцію молекул ДНК дуже великого розміру, є гель-електрофорез в пульсуючому полі (імпульсний електрофорез) (Wagner et al, 1994). Принцип методу полягає в тому, що електрофорез проводять не в постійному, а в імпульсному полі. Під час подачі напруги (час імпульсу) молекули ДНК витягуються вздовж електричного поля, а у проміжок часу між імпульсами – релаксують. Залежно від довжини молекул, вони встигають релаксувати різною мірою, що зумовлює різницю в їхній рухливості. Пульс-електрофорез є добре відомим підходом, але, наскільки нам відомо, ніколи не використовувався у кометному електрофорезі.

У даній роботі ми застосували розроблену нами модифікацію методу кометного електрофорезу в пульсуючому полі для більш деталь-

ного аналізу міграції трьох вказаних вище типів петель ДНК. Зокрема, ми мали надію у такий спосіб візуалізувати міграцію петель третього типу – великих петель ДНК, які взагалі не виходять з нуклеїда при стандартному кометному електрофорезі. Така надія базувалась на припущенні, що імпульсний режим дозволить деяким петлям подолати тертя ДНК всередині нуклеїда (яке, як показано у наших попередніх роботах (Afanasieva et al, 2013), є суттєвим фактором, що впливає на міграцію) і вийти назовні.

Отримані результати показують, що ті петлі, які характеризуються швидкою міграцією при стандартному кометному електрофорезі, розташовані на поверхні нуклеїда (тобто, відносяться до периферичних петель ядра). Петлі, міграція яких спостерігається на пізніх етапах електрофорезу, – це внутрішні петлі ядра. Петлі, міграція яких взагалі не спостерігається при стандартному кометному електрофорезі, позбавлені такої можливості також і в системі пульсуючого поля, що підтверджує припущення про їх занадто великі розміри.

Матеріали і методи. *Приготування препаратів.* Лімфоцити виділяли з периферичної крові здорових донорів шляхом центрифугування в градієнті щільності Histopaque-1077 («Sigma», США) впродовж 40 хв при 1500 об/хв. Отриману суспензію двічі відмивали в розчині Хенкса, центрифугуючи по 10 хв при 1000 об/хв. Виділені лімфоцити змішували з 1%-ою легкоплавкою агарозою («Sigma», США) у співвідношенні 1 : 2 та наносили на поверхню предметного скла, попередньо вкритого 1%-ою тугоплавкою агарозою («Chemapol», Чехія). Суміш рівномірно розподіляли по поверхні за допомогою покривних скелець так, щоб утворювався моношар клітин.

Після полімеризації агарози препарати поміщали у лізуючий буфер (2,5 М NaCl, 0,01 М Tris-HCl, 0,1 М Na₂EDTA та 1 % Triton X-100 («Ferak», Німеччина), рН 7,5) та проводили лізис від 2 до 5 год при температурі 4 °С. Такі відносно м'які умови лізису забезпечували руйнування усіх мембран та дисоціацію від ДНК більшості білків, залишаючи петельні домени максимально непошкодженими (Liao et al, 2009).

Електрофорез. Перед проведенням електрофорезу слайди двічі відмивали в буфері TBE (89 мМ Tris-HCl, 89 мМ H_3BO_3 , 2 мМ Na_2EDTA , рН 7,5). Декілька препаратів, приготованих одночасно з однієї суспензії клітин, піддавали стандартному кометному електрофорезу протягом 120 хв у тому ж буфері при температурі 4 °С та напруженості електричного поля 1 В/см. Для дослідження кінетики виходу ДНК у хвіст комети приготовані одночасно скельця аналізували послідовно через кожні 5 або 10 хв.

Для дослідження можливості виходу петельних доменів ДНК великого розміру під час гелелектрофорезу ізольованих клітин, було проведено кометний електрофорез в пульсуючому полі. Для цього слайди попередньо піддавали стандартному кометному електрофорезу впродовж 70 хв, після чого здійснювали пульс-електрофорез із зміною електричного поля на 180 °С та співвідношенням прямого і зворотного імпульсів 3 : 1 с. Тривалість електрофорезу в пульсуючому полі становила 80 та 180 хв.

Візуалізація та аналіз результатів. Після закінчення електрофорезу слайди фарбували флуоресцентним барвником DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole, «Sigma», США) та аналізували під люмінесцентним мікроскопом (ЛОМО, Росія) при збільшенні в 100 разів. Зразки фотографували камерою Canon EOS 1000 D, під'єднаною до мікроскопа, та аналізували зображення за допомогою програмного забезпечення CometScore («ГіТек», США). Визначали відносний вміст ДНК у хвості комети і довжину хвоста. Відносний вміст ДНК в хвості комети визначали як відношення рівня інтенсивності флуоресценції у хвості до загального рівня інтенсивності флуоресценції комети. Довжина хвоста визначалась як відстань від центру мас голови комети до дистального кінця хвоста комети. Аналізували 100–200 випадково вибраних комет та підраховували середні значення двох зазначених параметрів. Для визначення розмірів найдовших петель ДНК (в парах нуклеотидів) у хвостах комет, значення довжини хвоста було помножено на 2 (контурна довжина петельного домену приблизно в два рази більша, ніж довжина витягнутої петлі) та поділено на 0,34 нм (відстань між сусідніми парами нуклеотидів).

Кожен варіант експерименту було проведено від п'яти до десяти разів. Після цього обраховували середнє значення по всім незалежним експериментам та стандартне відхилення.

Двоступенева кінетична залежність відносного вмісту ДНК у хвостах комет (F) від тривалості електрофорезу (t) була апроксимована за допомогою рівняння (Afanasieva et al, 2013):

$$F = A_1 F_1 + A_2 F_2, \quad (1)$$

де A_1 та A_2 – максимальні амплітуди двох компонентів кінетичної кривої. Функція F_1 є стандартним рівнянням мономолекулярної кінетики:

$$F_1 = 1 - \exp(-t/\tau), \quad (2)$$

де τ – характеристичний час (τ^{-1} – константа швидкості). Функція F_2 – рівняння Больцмана для сигмоїдальної функції:

$$F_2 = 1/[1 + \exp(k_2(t_0 - t))], \quad (3)$$

де k_2 – константа швидкості, а t_0 – час напівпереходу. Слід зауважити, що наведені вище рівняння відображають накопичення в хвості кількості розтягнутих петель, а не процес їх розтягування (див. (Afanasieva et al, 2013)). Рівняння, які дуже добре описують кінетичні дані, засновані на теорії електрофорезу гнучкого поліелектроліту, що утримується в гелі об'ємною міткою: теорія показує, що час розтягування ланцюга до його контурної довжини за порядком величини не більше часу рептації, тобто дуже короткий (Défontanes and Viovy, 1993).

Результати та обговорення. Як було зазначено у Матеріалах і методах, проведенню електрофорезу у пульсуючому полі передував стандартний кометний електрофорез. Кінетика міграції ДНК та морфологія комет були подібні до отриманих нами у попередніх експериментах (рис. 1) (Afanasieva et al, 2013; Afanasieva et al, 2017). Так, на ранніх етапах електрофоретичного пробігу спостерігали міграцію петель ДНК розміром до ~25 т.п.н., частка ДНК у хвостах комет становила близько 8 % (нижнє плато кінетичних кривих на рис. 1, а, б). Далі, в інтервалі між 40 та 60 хв, відбувалась міграція петельних доменів розміром до ~150 т.п.н., а частка ДНК у хвостах комет зростала до близько 22 % (верхнє плато кінетичних кривих, вихід на яке спосте-

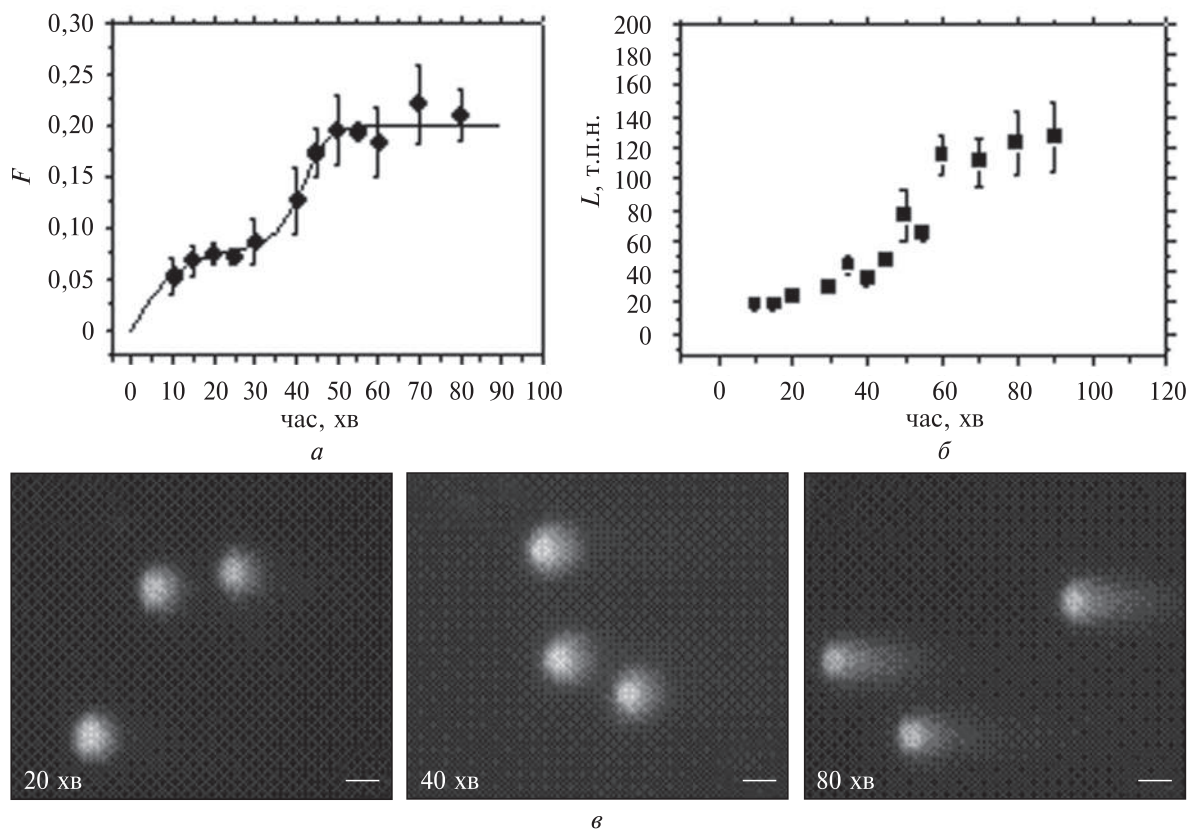


Рис. 1. Відносна частка ДНК у хвостах комет F (а) та середня контурна довжина L у тисячах пар нуклеотидів (т.п.н.) найдовших петель (б) як функції тривалості електрофорезу (при стандартному кометному електрофорезі в постійному електричному полі). Суцільна крива – результат підгонки під відповідну теоретичну модель (див. Матеріали і методи); наведені похибки – стандартні відхилення. На панелі с представлені типові фотографії комет після 20, 40 та 80 хв електрофорезу нуклеотидів (шкала – 10 мкм)

рігався після приблизно 60 хв електрофорезу, рис. 1, а, б). Таким чином, близько 14 % ДНК мігрувало у хвості комет на другому етапі.

Після того як показник кількості ДНК у хвостах комет виходив на рівень верхнього плато, проводили пульс-електрофорез впродовж 80 і 180 хв (див. Матеріали і методи) із наступним аналізом частки ДНК та розміру найдовших петельних доменів у хвості комети. Результати кометного електрофорезу у пульсуючому полі виявилися досить неочікуваними: частка ДНК у хвостах була майже вдвічі меншою, ніж та, яка спостерігалася одразу після 70 хв стандартного електрофорезу, і становила $0,14 \pm 0,02$ та $0,12 \pm 0,01$ після 80 та 180 хв пульс-електрофорезу, відповідно (рис. 2, а). При цьому довжина найдовших петель, що містилися у хвостах комет, була співставна, принаймні в межах похибки,

із такою, що була зафіксована після 70 хв. звичайного електрофорезу (рис. 2, б).

Поясненням зафіксованого зменшення кількості ДНК в хвостах комет може бути переорієнтація петель ДНК при пульсуючій зміні напрямку електричного поля. Візуальним доказом такої переорієнтації є наявність на препаратах комет не одного, а двох треків, спрямованих у протилежних напрямках (рис. 3). Наведені на рис. 2, а значення частки ДНК у хвостах стосуються тільки одного – основного – треку, напрям якого співпадає з напрямом електрофорезу на попередньому етапі (в постійному електричному полі). Аналіз частки ДНК, що припадає на «переорієнтовані» петлі (у додатковому хвості), та їх розмірів доводить, що переорієнтацію здійснюють невеликі за розміром петельні домени із контурною довжиною $23 \pm$

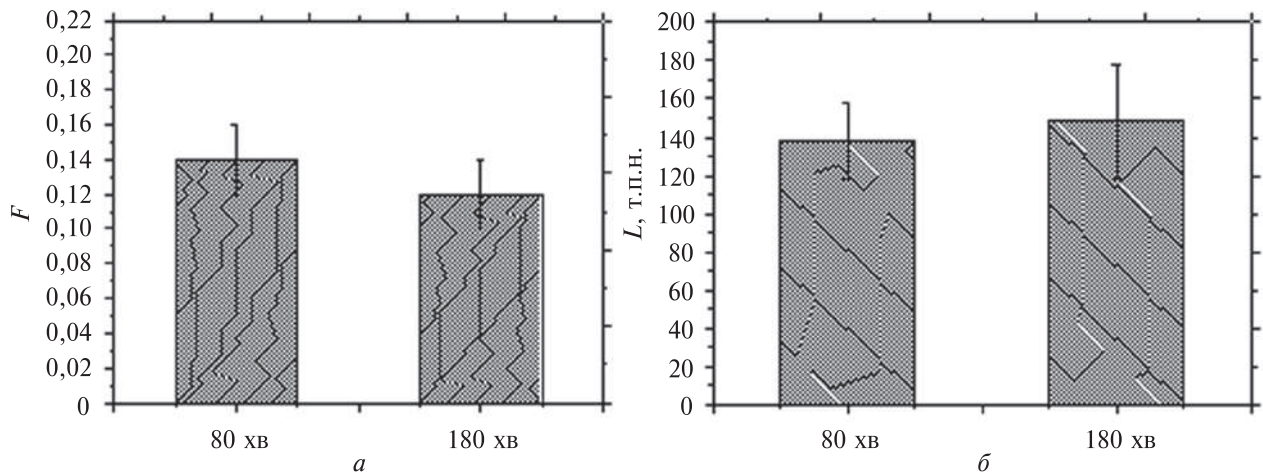


Рис. 2. Частка ДНК F у основних (див. рис. 3) хвостах комет (*a*) та розмір найдовших петель L у тисячах пар нуклеотидів (*b*) після 80 та 180 хв кометного електрофорезу в пульсуючому полі. Наведені похибки – стандартні відхилення

$\pm 2,1$ т.п.н., частка яких становить $0,07 \pm 0,01$. Тут слід зазначити, що обидва досліджувані параметри з точністю в межах похибки співпадають із такими для першого плато кінетичних кривих при стандартному кометному електрофорезі (рис. 1 *a, b*). При цьому частка петель ДНК, які не переорієнтуються, співпадає із часткою ДНК, що мігрує на другому затриманому етапі стандартного кометного електрофорезу.

Для пояснення отриманого результату варто звернутися до отриманих нами раніше даних щодо оборотності руху ДНК при стандартному кометному електрофорезі (Afanasieva et al, 2013). Суть експериментів зводилася до наступного: після довготривалого електрофорезу (більше години), коли частка ДНК у хвостах комет досягала свого максимуму, вимикали струм і аналізували відсоток ДНК у хвостах через певні проміжки часу витримки препаратів у буферному розчині. Отриманий результат свідчив про поступове зниження частки ДНК в хвостах комет від ~ 22 до ~ 10 %. Повторне увімкнення струму призводило до дуже швидкого наростання (за 10 хв) частки ДНК у хвостах комет до максимального рівня. Оборотність руху петель пояснюється наявністю у петлях торсійної напруги, яка виникає при витягуванні до аноду надспіралізованих петель ДНК: під дією еластичних сил такі петлі доволі швидко

мігрують назад після вимкнення електричного струму. Очевидно, що до зворотного руху здатні не всі петлі, а лише певна їх частина: навіть після довготривалої витримки препаратів без струму ~ 10 % петель залишилася у хвості. Найбільш імовірною причиною відсутності оборотності руху цих петель є їх релаксований стан (відсутність торсійної напруги), який є наслідком або накопичення розривів у петлях, або відсутністю топологічних обмежень на кінцях петель. Для пояснення гістерезисної поведінки міграції петель, який ми спостерігали при повторному увімкненні струму, ми припустили, що петлі, які повертаються назад у голову комети, розташовуються на поверхні нуклеоїду і тому так швидко витягуються до аноду після увімкнення електрофорезу знову. Відповідно, ми припустили також, що петлі, які мігрують на ранніх етапах електрофорезу (перша сходинка на кривих рис. 1 *a, b*), розташовані на периферії нуклеоїдів і саме просторовим розміщенням (а не розміром) в першу чергу пояснюється висока швидкість їх міграції.

Отриманий результат щодо переорієнтації петель ДНК при кометному пульс-електрофорезі дозволяє експериментально підтвердити дане припущення. На частку ДНК у складі петельних доменів, які встигають переорієнтуватися за час зворотного імпульсу, припадає практично така сама кількість ДНК, яка формує перше плато

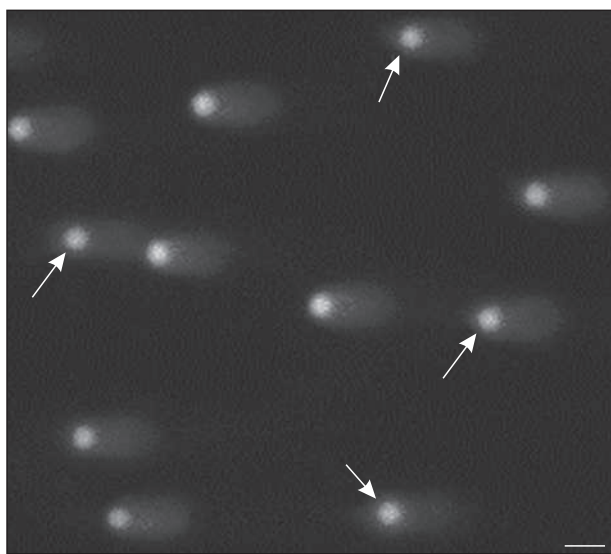


Рис. 3. Приклади комет, отриманих після 180 хв при кометному електрофорезі у пульсуючому полі. Стрілками вказано формування зміщення – додаткового хвоста комети у напрямку, протилежному прямому імпульсу. Шкала – 10 мкм

кінетичної кривої при стандартному кометному електрофорезі (рис. 1, а). Швидка переорієнтація, як і швидкий рух до аноду при стандартній схемі електрофорезу, можливі лише за умови поверхневого розміщення цих петель. Отже, частка ДНК у складі периферичних (поверхневих) петель нуклеоїду становить ~7–8 %, а розмір цих петель не перевищує ~25 тис. пар нуклеотидів.

Петлі, які не змінюють напрямку свого руху при пульс-електрофорезі і залишаються у «основному» хвості комети, який був сформований при стандартному кометному електрофорезі, репрезентують собою внутрішні петлі нуклеоїду (саме тому їх міграція в хвіст є уповільненою (Afanasieva et al, 2013)). Маневреність їхнього руху під дією змінного електричного поля очевидно ускладнюється їхніми значними розмірами (до ~150 тис. пар нуклеотидів). У таких петлях розміщено ~14 % геномної ДНК. ДНК, рух якої не спостерігається при стандартному кометному електрофорезі, не мігрує також і при пульс-електрофорезі. Відсутність міграції може бути пов'язана з двома досить очевидними причинами. По-перше, частина петель, виявлених у клітинах людини, має дуже великі розміри

(до 200 млн пар нуклеотидів (Rao et al, 2014; Afanasieva et al, 2017)), тобто, вони занадто великі для міграції як при стандартному, так і при пульс-електрофорезі. По-друге, досить значна частина ДНК розташована на ділянках між петельними доменами – міграція такої ДНК взагалі виглядає вельми проблематичною.

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить будь-яких досліджень з використанням людей і тварин як об'єктів.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Це дослідження не отримувало будь-якого конкретного гранту від фінансуючих установ у державному, комерційному або некомерційному секторах.

INNER AND OUTER DNA LOOPS IN CELL NUCLEI: EVIDENCE FROM PULSED-FIELD COMET ASSAY

M. Chopei, V. Olefirenko, K. Afanasieva, A. Sivolob

Taras Shevchenko National University of Kyiv

E-mail: mariana.chopei@gmail.com, aphon@ukr.net

At higher order levels chromatin is organized into loops, and this looping plays an important role in transcription regulation. In our previous works we investigated the kinetics of DNA loop migration during single cell gel electrophoresis (the comet assay) of nucleoids obtained from lysed cells. It was shown that there are three parts of DNA in nucleoids: DNA in rather small loops which migrate rapidly; DNA in the loops up to ~150 kb, the migration of which is retarded; and larger loops that cannot migrate. Here we applied, for the first time, the pulse-field electrophoresis in the comet assay. Our results show that the first rapid step during the usual comet assay can be attributed to loops on the nucleoid surface while the second slow component represents loops inside the nucleoid.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Afanasieva K, Zazhytska M, Sivolob A. (2010) Kinetics of comet formation in single-cell gel electrophoresis: Loops and fragments Electrophoresis 31(3):512–519. doi: 10.1002/elps.200900421
- Afanasieva K, Chopei M, Zazhytska M et al. (2013) DNA loop domain organization as revealed by single-cell gel electrophoresis Biochim Biophys Acta Mol Cell Res 1833(12):3237–3244. doi: 10.1016/j.bbamcr.2013.09.021
- Afanasieva K, Chopei M, Lozovik A et al. (2016)

- Redistribution of loop domains in human lymphocytes under blast transformation with interleukin 2 *Ukr Biochem J* 88(6):45–51. doi: 10.15407/ubj88.06.045
- Afanasieva K, Chopei M, Lozovik A et al. (2017) DNA loop domain organization in nucleoids from cells of different types *Biochem Biophys Res Commun* 483(1):142–146. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.12.177
- Afanasieva K, Sivolob A. (2018) Physical principles and new applications of comet assay *Biophys Chem* 238:1–7. doi: 10.1016/j.bpc.2018.04.003
- Aughey G, Southall T. (2015) Dam it's good! DamID profiling of protein-DNA interactions *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 5(1):25–37. doi: 10.1002/wdev.205
- Chopei M, Afanasieva K, Sivolob A. (2014) Protein intercalation in DNA as one of main modes of fixation of the most stable chromatin loop domains *Ukr Biochem J* 86(4):110–118
- Cook P, Brazell I. (1975) Supercoils in human DNA *J Cell Sci* 19(2):261–279
- Cook P. (2010) A model for all genomes: the role of transcription factories *J Mol Biol* 395(1):1–10. doi: 10.1016/j.jmb.2009.10.031
- Défontaines, AD, Viovy JL. (1993) Gel electrophoresis of an end-labeled DNA. I. Dynamics and trapping in constant fields *Electrophoresis* 14(1–2):8–17. doi: 10.1002/elps.1150140103
- Dekker J, Marti-Renom M, Mirny L. (2013) Exploring the three-dimensional organization of genomes: interpreting chromatin interaction data *Nat Rev Genet* 14(6):390–403. doi: 10.1038/nrg3454
- Dekker J, Misteli T. (2015) Long-range chromatin interactions *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7(10):p. a019356. doi: 10.1101/cshperspect.a019356
- Kadauek S, Blobel G. (2009) Chromatin loops in gene regulation *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech* 1789(1):17–25. doi: 10.1016/j.bbagr.2008.07.002
- Kieffer-Kwon K, Nimura K, Rao S et al. (2017) Myc regulates chromatin decompaction and nuclear architecture during B cell activation *Mol Cell* 67(4):566–578. doi: 10.1016/j.molcel.2017.07.013
- Kind J, Pagie L, de Vries S et al. (2015) Genome-wide maps of nuclear lamina interactions in single human cells *Cell* 163(1):134–147. doi: 10.1016/j.cell.2015.08.040
- Krietenstein N, Abraham S, Venev S et al. (2020) Ultrastructural details of mammalian chromosome architecture *Mol Cell* 78:554–565. doi: 10.1016/j.molcel.2020.03.003
- Liao W, McNutt M, Zhu W. (2009) The comet assay: A sensitive method for detecting DNA damage in individual cells *Methods* 48(1):46–53. doi: 10.1016/j.ymeth.2009.02.016
- Lieberman-Aiden E, van Berkum N, Williams L et al. (2009) Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome *Science* 326(5950):289–293. doi: 10.1126/science.1181369
- Maston G, Evans S, Green M. (2006) Transcriptional regulatory elements in the human genome *Ann Rev Genomics Hum Genet* 7:29–59. doi: 10.1146/annurev.genom.7.080505.115623
- Meuleman W, Peric-Hupkes D, Kind J et al. (2012). Constitutive nuclear lamina-genome interactions are highly conserved and associated with A/T-rich sequence *Genome Res* 23(2):270–280. doi: 10.1101/gr.141028.112
- Nagano T, Lubling Y, Stevens T et al. (2013) Single-cell Hi-C reveals cell-to-cell variability in chromosome structure *Nature* 502(7469):59–64. doi: 10.1038/nature12593
- Ong, C, Corces V. (2014) CTCF: an architectural protein bridging genome topology and function *Nat Rev Genet* 15(4):234–246. doi: 10.1038/nrg3663
- Olive P. (2002) The comet assay: an overview of techniques *Methods Mol Biol* 203:179–194. doi: 10.1385/1-59259-179-5:179
- Rao S, Huntley M, Durand N et al. (2014) A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping *Cell* 159(7):1665–1680. doi: 10.1016/j.cell.2014.11.021
- Rodriguez-Ubrea J, Ballestar E. (2014) Chromatin Immunoprecipitation. *Methods Mol Biol* 1094:309–318. doi: 10.1007/978-1-62703-706-8_24
- Sanborn A, Rao S, Huang S et al. (2015) Chromatin extrusion explains key features of loop and domain formation in wild-type and engineered genomes *Proc Natl Acad Sci USA* 112(47):E6456–E6465. doi: 10.1073/pnas.1518552112
- Shaposhnikov S, Salenko V, Brunborg G et al. (2008) Single-cell gel electrophoresis (the comet assay): Loops or fragments? *Electrophoresis* 29(14):3005–3012. doi: 10.1002/elps.200700921
- Van Bortle K, Corces V. (2012) Nuclear organization and genome function *Ann Rev Cell Dev Biol* 28:163–187. doi: 10.1146/annurev-cellbio-101011-155824
- Wagner L, Lai E. (1994) Separation of large DNA molecules with high voltage pulsed field gel electrophoresis *Electrophoresis* 15(1):1078–1083. doi: 10.1002/elps.11501501161
- Yáñez-Cuna J, van Steensel B. (2017) Genome–nuclear lamina interactions: from cell populations to single cells *Curr Opin Genet Dev* 43:67–72. doi: 10.1016/j.gde.2016.12.005

Надійшла в редакцію 30.12.21
Після доопрацювання 25.01.22
Прийнята до друку 18.07.22