

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-257

**ИНДИВИДУАЛИЗАЦИЯ СЕСТРИНСКИХ ХРОМАТИД
В ИНТЕРФАЗЕ НА ФОНЕ НОКАУТА КОГЕЗИНА *****INDIVIDUALIZATION OF SISTER CHROMATIDS DURING INTERPHASE
UNDER COHESIN KNOCKOUT CONDITIONS**

Е. П. Казаков, И. И. Киреев

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

E. P. Kazakov, I. I. Kireev

Lomonosov Moscow State University

✉ kazakov.evgeny.2016@post.bio.msu.ru

Аннотация

На модели индуцибельного нокаута Rad21 с применением методов машинного обучения и субдифракционной микроскопии нами был разработан подход к классификации ядер клеток по фазам репликации и анализу структуры репликативных доменов. Данный подход позволил охарактеризовать пострепликативную реорганизацию хроматина с разным эпигенетическим статусом и роль когезинового комплекса в этом процессе.

Abstract

Using machine learning and subdiffraction microscopy, we developed an inspired by the Rad21-induced knockout model approach to classify cell nuclei by replication phase and analyze replicative domain structure. This approach characterized the post-replication reorganization of chromatin across different epigenetic states and defined the role of the cohesin complex in this process.

Архитектурные белки хроматина играют важную роль в организации и обеспечении функций генома [1]. Они поддерживают целостность генома, регулируют процессы репликации и транскрипции. Основными архитектурными комплексами являются когезин и конденсины I и II. Они упорядочивают петли хроматина в интерфазе (когезины) и в ходе митотической компактизации (конденсины). Формирование петель хроматина играет структурную роль в формировании ТАДов и функциональную в обеспечении взаимодействий энхансеров и промоторов для запуска транскрипции. Также когезин регулирует сегрегацию генома, удерживая сестринские хроматиды вместе, начиная с их формирования в S-фазе, вплоть до разделения их в анафазе. Индивидуализация хроматид на уровне отдельных генных локусов начинается в G2-фазе клеточного цикла [2], но не сопровождается значительным утолщением хроматиновых фибрилл [3]. В G2-фазе клеточного цикла есть две фракции когезина [4]. Первая связана с белком сорорином и обеспечивает непосредственно когезию хроматид, формируемых в ходе репликации. Вторая более мобильна и участвует в обособлении хроматид. Это ставит перед нами вопросы о том, как когезин обеспечивает премитотическую сегрегацию хроматид и какова роль их ранней индивидуализации. Целью исследования является анализ изменений, происходящих в структуре пострепликативного хроматина при дисфункции когезина.

В качестве объекта исследования мы использовали клеточные линии Nap1 и HCT116 с ауксиновым деградом Rad21 для моделирования нокаута когезина. Визуализацию репликативных доменов проводили с помощью EdU и последующей микроскопии структурированного освещения (SIM). Такой подход, с одной стороны, позволяет получать высокое разрешение, а с другой — имеет достаточную производительность. Затем мы проводили измерение различных параметров, характеризующих распределение репликативной метки в ядре, необходимых для дальнейшего машинного обучения. Измерение проводилось при помощи ПО CellProfiler. Были проведены измерения интенсивности и характеристик пространственного распределения флуоресценции репликативного сигнала, таких как гранулярность, текстура и др. Мы провели классификацию ядер по паттернам репликации на основе параметров, полученных из CellProfiler. Классификация проводилась с помощью алгоритма случайного леса. Предварительный анализ показал, что нокаут Rad21 приводит к декомпактизации репликативных фокусов и распределению репликативного сигнала вдоль хроматиновых фибрилл спустя некоторое время после репли-

* Исследование выполнено при финансовой поддержке Некоммерческого фонда развития науки и образования «Интеллект».

© Е. П. Казаков, И. И. Киреев, 2025

кативного мечения, что свидетельствует о значительной перестройке хроматиновых структур без значительного утолщения фибрилл.

Литература

1. Hoencamp C., Rowland B. D. Genome control by SMC complexes // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2023. Vol. 34. P. 633–650.
2. Stanyte R., Nuebler J., Blaukopf C. et al. Dynamics of sister chromatid resolution during cell cycle progression // *J. Cell Biology.* 2018. Vol. 217. P. 1985–2004.
3. Deng X., Zhironkina O. A., Cherepanytes V. D. et al. Cytology of DNA replication reveals dynamic plasticity of large-scale chromatin fibers // *Curr. Biol.* 2016. Vol. 26. P. 2527–2534.
4. Batty P., Langer C. C., Takacs Z. et al. Cohesin-mediated DNA loop extrusion resolves sister chromatids in G2 phase // *The EMBO J.* 2023. Vol. 42. e113475.