

Роль нуклеотидной последовательности и статуса метилирования CpG-динуклеотидов при установлении гистоновых модификаций в чужеродном геномном контексте

¹ ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН», г. Москва, Россия

² ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН», г. Москва, Россия

³ ФГАОУВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», г. Долгопрудный, Россия

Метилирование цитозиновых оснований у млекопитающих является важным механизмом эпигенетической регуляции экспрессии генов и состояния хроматина. Метильные группы могут устанавливаться *de novo*, воспроизводиться при репликации ДНК или отщепляться. Метилирование цитозина скоординировано с другими механизмами эпигенетической регуляции, в частности, посттрансляционными модификациями гистонов. Однако взаимодействие между этими механизмами изучено еще недостаточно хорошо. Отчасти причиной этого становится сложность выделения одного механизма из-за взаимного влияния других механизмов. Общеизвестно, что регуляторные элементы могут влиять на состояние хроматина и экспрессию генов на довольно

больших расстояниях. Таким образом, при подготовке эксперимента сложно быть уверенным в том, что наблюдаемый эффект не является результатом действия неучтенных удаленных эпигенетических и транскрипционных регуляторов. Кроме того, не до конца понятно, в какой степени нуклеотидная последовательность определяет возможность возникновения конкретной эпигенетической модификации, хотя имеются отдельные работы, указывающие, например, что метилирование ДНК в большей степени зависит от GC состава, а не от частоты CG динуклеотидов (CpG), что можно было бы ожидать, зная, что CpG являются основным объектом метилирования.

Чтобы ответить на вопрос о роли нуклеотидного состава в установлении гистоновых меток, контролируя “эффекты окружения”, ранее мы произвели транслокацию 10 фрагментов геномной ДНК *H. sapiens* длиной 185-290 п.н. в бета-глобиновый локус, который в большинстве изученных клеточных линий взрослого организма не имеет собственных гистоновых меток. Для проведения транслокации мы использовали обмен генетических кассет, фланкированных LoxP сайтами под воздействием рекомбиназы Cre.

Из десяти фрагментов, подвергнувшихся транслокации, четыре фрагмента не содержали CpG динуклеотидов, три фрагмента содержали не более 2 CpG-динуклеотидов и имели GC-состав в пределах 65-68%, три фрагмента содержали 15-26 CpG-динуклеотидов, но имели GC-состав в пределах 56-60%. Мы установили, что ацетилирование 27-го остатка лизина в гистоне 3 (H3K27ac) установилось *de novo* на двух фрагментах с максимально высоким GC-составом. Однако в другой GC-богатой последовательности и во всех последовательностях, содержащих большое количество CpG динуклеотидов восстановления ацетилирования не произошло. Мы предполагаем, что, возможно, это связано с установлением в этом районе метилирования ДНК. Чтобы проверить эту гипотезу, в данной работе мы выделили геномную ДНК из клеточной линии Sak1-1, провели бисульфитную конверсию и амплифицировали целевые фрагменты ДНК, после чего отсековировали их по Сэнгеру, выявив какие из фрагментов восстановили в первую очередь метилирование ДНК. В дальнейшем полногеномные эксперименты будут проведены для того, чтобы построить модель взаимодействия между нуклеотидным составом, метилированием ДНК и ацетилированием гистонов.