

Количественный полиморфизм тандемных повторов как способ эпигенетической регуляции ответа клеток человека на окислительный стресс

Вейко Н.Н., Ершова Е.С., Конькова М.С., Малиновская Е.М., Костюк С.В.

Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова
115522, г. Москва, ул. Москворечье д.1.

Пространственная организация хроматина важна для нормального функционирования клетки. На архитектуру ядра влияют размеры отдельных фрагментов генома, которые коррелируют с числом копий этих фрагментов. Перемещение локусов 1q12 от поверхности ядра в центральные области является ключевой стадией адаптивного ответа клетки на стресс. Мы предположили, что размер локусов 1q12, который коррелирует с содержанием повтора f-SatIII, может влиять на перемещение этих участков хроматина в ядре. Методом FISH на выделенных лимфоцитах показали, что в контроле локусы 1q12 расположены вблизи поверхности ядра, в ядрах лимфоцитов больных шизофренией (БШ) и облученных контрольных клеток локусы 1q12 расположены в центральных районах ядра. Длительное культивирование облученных лимфоцитов сопровождалось гибелью клеток, и снижением содержания f-SatIII в ДНК. Очевидно, что погибали клетки с большим размером 1q12 (много f-SatIII), обогащая популяцию клетками с низким содержанием f-SatIII. В клетках БШ и в облученных клетках мы обнаружили повышение уровня РНК SATIII. Размеры гетерохроматина 1q12 в клетках человека могут влиять на процессы пролиферации и ответа клетки на стресс. Количественный полиморфизм тандемных повторов генома – один из эпигенетических механизмов регуляции ответа клеток на окислительный стресс.

Ключевые слова: CNVs, сателлит III, рибосомная ДНК, шизофрения, 1q12, окислительный стресс.

Для цитирования: Вейко Н.Н., Ершова Е.С., Конькова М.С., Малиновская Е.М., Костюк С.В. Количественный полиморфизм тандемных повторов как способ эпигенетической регуляции ответа клеток человека на окислительный стресс. *Медицинская генетика* 2020; 19(12): 68-70.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.12.68-70

Автор для корреспонденции: Вейко Наталья Николаевна; **e-mail:** satelit32006@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (No. 18-15-00437).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020.

Quantitative polymorphism of tandem repeats as a method of epigenetic regulation of the of human cells response to oxidative stress

Veiko N.N., Ershova E.S., Konkova M.C., Malinovskaya E.M., Kostyuk S.V.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechye str. 1, Moscow, 115522, Russia

The spatial organization of chromatin is important for the normal functioning of the cell. Genome repeat cluster sizes can affect the chromatin spatial configuration and function. The 1q12 heterochromatin loci movement from the periphery to the center of the nucleus is the cells' universal response to various types of stress. We hypothesized that a large 1q12 domain could affect chromatin movement, thereby inhibiting adaptive response (AR). Using the FISH method, we shown that in the control, 1q12 loci are located near the surface of the nucleus; in the lymphocyte nuclei of schizophrenic patients and irradiated control cells, 1q12 loci are located in the central regions of the nucleus. During prolonged cultivation, the irradiated cells with a large Large f-SatIII amount die and the population is enriched with the cells with low f-SatIII content. In intact SZ patients' lymphocytes and in irradiated cells we found an increase in SATIII RNA levels. The size of heterochromatin 1q12 loci in human cells can affect to the proliferation and cells' adaptive response to stress. Quantitative polymorphism of tandem genome repeats is one of the epigenetic mechanisms of genome expression's regulation.

Keywords: CNVs, satellite III, rDNA, schizophrenia, 1q12 cell-free dna, oxidative stress.

For citation: Veiko N.N., Ershova E.S., Konkova M.C., Malinovskaya E.M., Kostyuk S.V. Quantitative polymorphism of tandem repeats as a method of epigenetic regulation of the of human cells response to oxidative stress. *Medical genetics*. 2020; 19(12): 68-70. (In Rus.).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.12.68-70

Corresponding author: Natalia Nikolaevna Veiko; **e-mail:** satelit32006@yandex.ru

Funding. The Russian Science Foundation (Grant No. 18-15-00437) supported this research.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest

Accepted: 20.05.2020.

Пространственная организация хроматина важна для нормального функционирования клетки. На архитектуру ядра влияют размеры отдельных фрагментов генома, которые коррелируют с числом копий этих фрагментов. Например, изменение числа копий рибосомного повтора приводит к изменению профиля экспрессии тысяч генов и изменению баланса между гетерохроматином и эухроматином [1]. Исследуемый нами фрагмент сателлита III (f-SatIII, 1770 п.н.) входит в состав самого большого гетерохроматинового блока, который расположен в прицентромерном участке 1q12 первой хромосомы. F-SatIII — высококопийный тандемный повтор (ТП). Район 1q12 относится к нестабильным участкам генома, в котором часто наблюдают разрывы ДНК, перестройки и количественный полиморфизм ТП. Эта область слабо изучена с точки зрения копийности этих повторов, поскольку ТП плохо поддаются количественному анализу методом ПЦР. Разработка метода нерадиоактивной количественной гибридизации (NQH) позволила впервые оценить вариабельность содержания f-SatIII в геноме человека [2]. Было показано, что вариабельность f-SatIII в лейкоцитах человека значительно возрастает при естественном старении, и в условиях хронического воздействия на организм малых доз ионизирующего излучения [3]. В лейкоцитах больных шизофренией (БШ) содержание f-SatIII значительно снижено по сравнению со здоровым контролем (ЗК). Все три состояния при которых изменяется содержание f-SatIII в геноме связаны с хроническим окислительным стрессом, который сопровождает старение, действие радиации или такое заболевание, как шизофрения.

Цель исследования: выяснение эпигенетического механизма, действие которого направлено на изменение числа копий f-SatIII в условиях окислительного стресса.

Материал и методы

Исследовали по 10 образцов выделенных лимфоцитов групп ЗК и БШ (F20.00). У БШ кровь из вены брали в день поступления в стационар до начала терапии. Получено письменное согласие больных на проведение исследования. Для анализа 1q12 применили метод FISH с флуоресцентно меченным зондом на f-SatIII. Анализировали расположение в ядре и площадь сигналов. В качестве модели окислительного стресса использовали облучение лимфоцитов ЗК ионизирующим излучением (10 сГр). Содержание f-SatIII в ДНК определяли методом NQH с биотинированным ДНК-зондом. РНК SATIII анализировали методом РТ-ПЦР.

Результаты

Ранее мы показали, что клетки одного человека гетерогенны по содержанию повтора f-SatIII. Различные участки мозга БШ содержали различное количество f-SatIII. Клонирование культивируемых фибробластов кожи (HSF) показало, что пролиферативным потенциалом обладают только клетки с низким содержанием f-SatIII. При репликативном старении HSF мы наблюдали увеличение содержания f-SatIII в ДНК клеток после 20 пассажа. Ближе к окончательной остановке пролиферации клетки снижали содержание повтора. Действие генотоксичного агента (Cr(VI)) сопровождалось увеличением содержания f-SatIII в штаммах клеток с низким содержанием повтора и снижением в штаммах с большим количеством f-SatIII. Мы предположили, что селекция клеток по содержанию f-SatIII происходит на стадии ответа клетки на окислительный стресс.

В работах Д.М. Спитковского было показано, что при действии малых доз радиации локусы 1q12 перемещаются от поверхности ядра в центральные области. Это перемещение является ключевой стадией адаптивного ответа клетки на стресс. Отсутствие перемещения локусов коррелирует с отсутствием адаптивного ответа и повышенным уровнем гибели клеток. Ранее мы рассматривали транспозицию локусов 1q12 только как маркер изменения архитектуры хроматина, которое необходимо для изменения профиля экспрессии генома в ответ на стресс. Однако сейчас мы предположили, что размер локусов 1q12, который коррелирует с содержанием повтора f-SatIII, может влиять на перемещение этих участков хроматина в ядре. Для проверки гипотезы использовали метод FISH. Анализировали нормированные к радиусу ядра радиус-вектора (r) и площади (Sfs) флуоресцентных сигналов (FS), полученных при гибридизации ядер, необлученных и облученных дозой 10 сГр лимфоцитов, с флуоресцентно меченым зондом на f-SatIII. Кроме того, анализировали лимфоциты БШ. В контроле локусы 1q12 расположены вблизи поверхности ядра ($r > 0,75$), причем Sfs не зависит от значений r ($p > 0,05$). В ядрах лимфоцитов БШ и облученных контрольных клеток локусы 1q12 расположены в центральных районах ядра ($r < 0,75$), при этом наблюдали зависимость Sfs от значений r ($p < 10^{-20}$).

Длительное культивирование облученных лимфоцитов (доза 10 сГр, 1 неделя) сопровождалось гибелью клеток, снижением содержания f-SatIII в ДНК и уменьшением Sfs. Очевидно, что погибали клетки с большим размером 1q12 (много f-SatIII). В клетках БШ и в облученных клетках мы обнаружили по-

вышение уровня РНК SATIII. Окислительный стресс индуцирует транскрипцию участков 1q12. Известно, что транскрипция сателлита может приводить к увеличению содержания повтора в геноме путем встраивания гибридов ДНК SATIII–РНК SATIII в область 1q12 по местам разрывов ДНК или в процессе репарации. Активация транскрипции SATIII происходит в старых клетках и в условиях стресса. Этот процесс приводит к увеличению содержания f-SatIII в ДНК.

Таким образом, мы описали новый эпигенетический механизм, который обуславливает значительное изменение размера гетерохроматина 1q12 при старении и в условиях стресса. Стресс индуцирует увеличение количества сателлитных повторов вследствие транскрипции последовательностей сателлита. Отсутствие перемещения объемного локуса 1q12 в ответ на стресс вызвано, очевидно, стерическими препятствиями. Невозможность реорганизации хроматина для нормального изменения профиля экспрессии генома в ответ на стресс приводит к блокировке адаптивного ответа в клетках с большим количеством f-SatIII. Эти клетки накапливаются в популяции, а при увеличении интенсивности стресса начинают массово гибнуть. Клетки с большим количеством f-SatIII не могут пролифери-

ровать, поскольку в процессе клеточного цикла также должно происходить перемещение участков 1q12 к центру ядра и их взаимодействие с ядрышком [4]. Размеры гетерохроматина 1q12 в клетках человека могут влиять на процессы пролиферации и ответа клетки на стресс. Количественный полиморфизм tandemных повторов генома — один из эпигенетических механизмов регуляции ответа клеток на окислительный стресс.

Литература/ References

1. Paredes S., Maggert, K. A. Ribosomal DNA contributes to global chromatin regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009; 106 (42): 17829–17834.
2. Ershova E. S., Agafonova O. N., Zakharova N. V., Bravve L. V., Jestkova E. M., Golimbet V. E., et al. Copy number variation of satellite III (1q12) in patients with schizophrenia. *Front. Genet.* 2019; 10: v1132.
3. Korzeneva I. B., Kostuyk S. V., Ershova E. S., Skorodumova E. N., Zhuravleva V. F., Pankratova G. V., et al. Human circulating ribosomal DNA content significantly increases while circulating satellite III (1q12) content decreases under chronic occupational exposure to low-dose gamma-neutron and tritium beta-radiation. *Mutat. Res.* 2016; 791–792: 49–60.
4. Léger I., Guillaud M., Krief B., and Brugal G. Interactive computer-assisted analysis of chromosome 1 colocalization with nucleoli. *Cytometry.* 1994; 16: 313–323.