

УДК 576.315.42

РОЛЬ РАЗДЕЛЕНИЯ ЖИДКИХ ФАЗ В КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА И ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА

Обзор

© 2020 С.В. Разин^{1,2*}, А.А. Гаврилов¹

¹ Институт биологии гена Российской академии наук,
119334 Москва, Россия; электронная почта: sergey.v.razin@usa.net

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический университет, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 24.03.2020

После доработки 07.04.2020

Принята к публикации 09.04.2020

Функциональная компартментализация клеточного ядра играет важную роль в регуляции работы генома, обеспечивая возможность концентрации ферментов в реакционных центрах, таких как транскрипционные фабрики, тельца Кахаля, спеклы и др. Механизмы, обеспечивающие функциональную компартментализацию клеточного ядра, не до конца изучены. В настоящее время есть веские основания полагать, что ведущую роль здесь играет физический процесс разделения жидких фаз. В этом кратком обзоре проанализированы экспериментальные работы, демонстрирующие, что разделение жидких фаз не только обеспечивает функциональную компартментализацию клеточного ядра, но и вносит важный вклад в формирование 3D архитектуры генома.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: разделение жидких фаз, хроматин, клеточное ядро, транскрипция, ядерный компартмент, пространственная организация генома.

DOI: 10.31857/S0320972520060019

ВВЕДЕНИЕ

На роль стохастических процессов в компартментализации клеточного ядра обратили внимание сравнительно недавно в связи с демонстрацией того, что энтропийные силы, возникающие при очень высокой концентрации макромолекул, имеющей место в клеточном ядре (т. н. условия макромолекулярного краудинга), играют важную роль в формировании ядрышка, тельца Кахаля, PML-тельца и ряда других функциональных внутриядерных компартментов [1–4]. В данном обзоре функциональным компартментом обозначен локальный участок клеточного ядра, в котором концентрация ферментов и вспомогательных факторов, участвующих в осуществлении того или иного функционального процесса, существенно превышает таковую в остальных частях ядра. Функциональные компартменты включают т.н. ядерные тельца (тель-

ца Кахаля, PML-тельца, спеклы и др.), но не ограничиваются ими. К числу функциональных компартментов можно отнести, например, приламеллярный и околядрышковый слой ядра, где сосредоточена значительная часть неактивного хроматина. Было показано, что ядерные тельца легко разбираются при снижении уровня макромолекулярного краудинга и восстанавливаются при его повышении. Силы, возникающие в условиях макромолекулярного краудинга, способствуют агрегации любых крупных объектов [3]. Например, агрегации инициированных транскрипционных комплексов с образованием т.н. транскрипционных фабрик [5]. Однако неспецифическая агрегация тех или иных макромолекул и их комплексов не может объяснить многих свойств ядерных телец, которые характеризуются, в частности, сферической формой, способностью объединяться и быстрым обменом составляющими их компонентами с окружающей средой. Все это типично для объектов, возникших в результате разделения жидких фаз [6, 7]. Примером таких объектов могут служить капельки жира в водной среде. Для того, чтобы начался процесс разделения жидких фаз, необ-

Принятые сокращения: IDR (intrinsically disordered regions) – неструктурированный домен; IC (interchromatin compartment) – интерхроматиновый компартмент.

* Адресат для корреспонденции.

ходимо, чтобы составляющие выделяющуюся фазу компоненты были способны взаимодействовать друг с другом, причем взаимодействия должны быть множественными и неспецифическими [8]. Показано, что такие взаимодействия легко возникают между неструктурированными (дезорганизованными) доменами (intrinsically disordered regions, IDRs), присутствующими в составе многих ядерных белков, в том числе гистонов и белков гетерохроматина [9–16]. Будучи сконцентрированными в ограниченном пространстве, эти белки легко устанавливают множественные взаимодействия, приводящие к выделению их в отдельную жидкую фазу [8] (рис. 1). Характер взаимодействий может быть различным, однако в биологических системах наиболее часто разделение жидких фаз стимулируется гидрофобными взаимодействиями между IDR. Такие взаимодействия весьма чувствительны к обработке 2,6-гександиолом [17], в силу чего эта обработка используется для тестирования предположения о том, что изучаемый объект возник в силу разделения жидких фаз [13, 18, 19]. Типичным примером внутриядерного компартмента, возникшего посредством разделения жидких фаз, является ядрышко [20]. Находящиеся внутри ядрышка фибриллярные центры, в составе которых присутствует активная РНК полимеразы I, выделяются из остальной части ядрышка также благодаря разделению жидких фаз [21]. Таким образом, ядрышко является многокомпонентной системой, сформированной посредством разделения жид-

ких фаз [22]. На первый взгляд, существует некое противоречие между тем, что ядерные компартменты являются относительно специфичными (т.е. содержат определенные наборы белков), в то время как процесс выделения жидких фаз базируется на неспецифических взаимодействиях. В действительности, никакого противоречия здесь нет. Для того, чтобы инициировать процесс разделения жидких фаз, необходимо обеспечить высокую локальную концентрацию способных к взаимодействию белков. Это становится возможным благодаря мультимеризации, либо привлечения к некой платформе белков, обладающих способностью специфически связываться с этой платформой (рис. 1).

Платформой может быть белок, например, белок PML в PML тельцах [23, 24], или некодирующая РНК, например, NEAT в параспеклах [25–27]. Индуцированная светом определенной длины мультимеризация химерных белков используется в оптогенетической системе, позволяющей оценить потенциал различных IDR к образованию фазовых конденсатов [28]. В этой системе тестируемый IDR экспрессируется в составе химерного белка с активируемым светом, мультимеризующимся доменом белка Cry2 *Arabidopsis thaliana*. При достижении некоей пороговой концентрации химерного белка в клетках облучение их голубым светом приводит к мультимеризации химерного белка и последующему разделению жидких фаз в том случае, когда тестируемые IDR способны к неспецифическому взаимодействию.

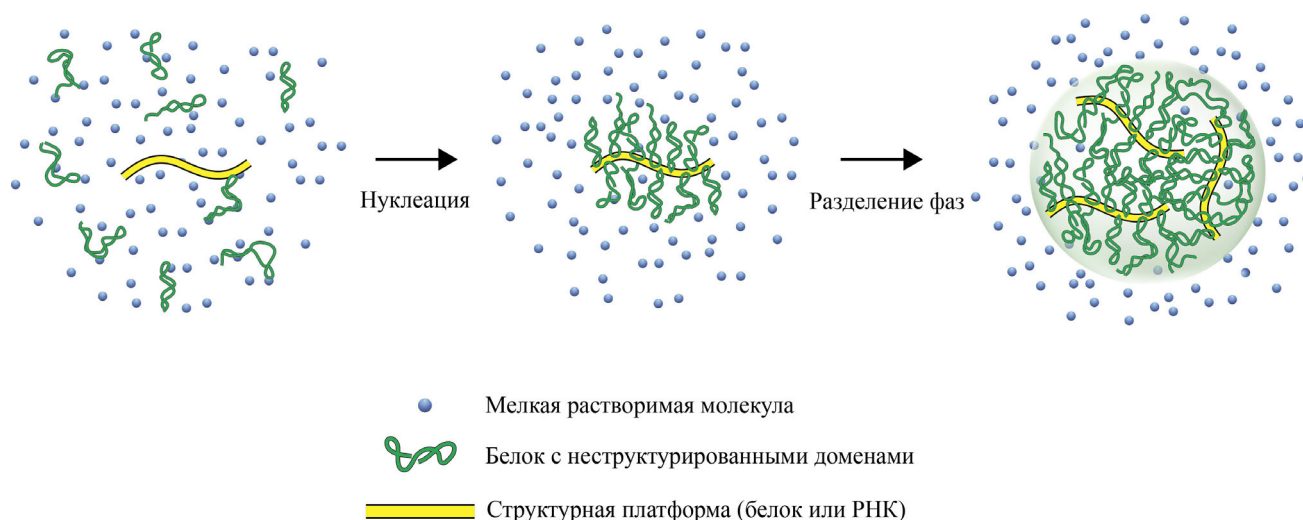


Рис. 1. Принцип разделения жидких фаз в клеточном ядре. Белки, несущие неструктурированные домены, взаимодействуют с общей структурной платформой, роль которой может выполнять белок или РНК. Дальнейшее взаимодействие неструктурированных доменов между собой приводит к образованию «белковой капли». (С цветным вариантом рис. 1 и 2 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>)

РОЛЬ РАЗДЕЛЕНИЯ ЖИДКИХ ФАЗ В ГЛОБАЛЬНОЙ КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИИ ЯДРА

Говоря о компартментализации клеточного ядра, стоит прежде всего упомянуть хроматиновый домен, состоящий из связанных друг с другом хромосомных территорий. Излишне говорить о том, что в этом домене крайне высока концентрация гистонов. Хорошо известно, что нуклеосомы могут устанавливать контакты через посредство *N*-концевых доменов гистонов [29–32]. Наиболее популярная модель объясняет установление таких контактов электростатическим взаимодействием *N*-концевого домена гистона H4 с отрицательно заряженным доменом (acidic patch) на поверхности соседней нуклеосомной глобулы [33–36]. Однако ряд результатов позволяет полагать, что не менее важным для опосредованной межнуклеосомными взаимодействиями конденсации хроматина является процесс разделения жидких фаз [37]. Разные типы хроматина, по-видимому, обладают неодинаковой способностью к выделению в обособленную фазу. Так, процесс образования фазовых конденсатов существенно стимулируется гистон H1, который в присутствии ДНК способен образовывать фазовые конденсаты *in vitro* [38]. Многие белки гетерохроматина, в том числе HP1 и белки комплексов Polycomb, также содержат IDR, способные взаимодействовать с образованием фазовых конденсатов [13, 14, 39–41]. В ряде ситуаций жидкие фазовые конденсаты могут в последующем переходить в гелеобразное состояние [39, 42]. Этот процесс фактически сводится к переходу от жидкого фазового конденсата к полимерному фазовому конденсату, возникновение которого обеспечивается установлением внутренних сшивок в полимере. Среди компонентов активного хроматина также есть белки, способные при определенных концентрациях формировать фазовые конденсаты [37]. IDR присутствуют в составе самой РНК полимеразы II, медиатора и многих транскрипционных факторов [15, 16, 43, 44].

В силу всего сказанного выше можно полагать, что хроматиновый домен в целом выделяется внутри ядра посредством фазового перехода. Более того, сам по себе хроматиновый домен состоит из двух различающихся фазовых конденсатов, соответствующих эухроматину и гетерохроматину. Анализ хромосомных территорий, выполненный с использованием микроскопии высокого разрешения, свидетельствует о том, что хромосомные территории состоят из глобулярных структур, содержащих ~ 1000 т.п.н. ДНК, на поверхности которых находится актив-

ный хроматин, а внутри — неактивный [45, 46]. Хроматиновый домен пронизывают так называемые интерхроматиновые каналы, совокупность которых составляет интерхроматиновый компартмент (interchromatin compartment, IC), который служит для транспорта различных макромолекул, в том числе, новосинтезированных РНК, а также является местом расположения различных ядерных структур, таких как ядрышко, спеклы, тельца Кахаля и др. [45–47]. Механизмы, обеспечивающие существование IC, не вполне понятны. Не исключено, что и здесь важную роль играет процесс разделения жидких фаз, потому что заполняющие IC РНК и РНК-связывающие белки могут взаимодействовать друг с другом, стимулируя процесс фазового разделения [48, 49].

Важную роль в глобальной организации клеточного ядра играют расположенные в IC функциональные компартменты, многие из которых являются фазовыми конденсатами [40]. Если говорить о глобальной организации ядра, то прежде всего следует обратить внимание на компартменты, играющие важную роль в пространственной организации хроматинового домена посредством привлечения к ним определенных типов хроматина. Давно известно, что значительная часть неактивного хроматина расположена рядом с ядрышком [50, 51]. Результаты полногеномных исследований, выполненных с использованием новых экспериментальных подходов, позволяющих картировать гены, расположенные рядом с различными ядерными компартментами, показывают, что ядрышко составляет своего рода инактивирующий хаб, рядом с которым сосредоточены неактивные гены [52, 53]. Другим таким хабом является ядерная ламина [52]. Активные гены предпочтительно сосредоточены рядом со спеклами [52, 53], которые также являются ядерными компартментами, возникающими вследствие разделения жидких фаз. В спеклах сосредоточены факторы сплайсинга. Предполагается, что привлечение к этим компартментам активных генов обеспечивает возможность быстрого процессинга новосинтезированных транскриптов. Существуют и другие объяснения повышения уровня транскрипции генов, расположенных рядом со спеклами [54]. Хорошо изученными ядерными компартментами, возникающими посредством разделения жидких фаз, являются тельца Кахаля. В этих тельцах сосредоточены ферменты, участвующие в модификации малых ядерных РНК, процессинге концов не подвергающейся полиаденилированию РНК и ряде других процессов [55]. Подобно спеклам, тельца Кахаля также являются некими хабами, к кото-

рым могут привлекаться различные гены вне зависимости от близости их расположения на ДНК [56, 57].

Еще одним типом внутриядерных компартов, который стоит упомянуть в нашей дискуссии, являются транскрипционные фабрики. Достаточно давно было показано, что иницированные и элонгирующие молекулы РНК полимеразы II собраны в кластеры, которые и получили название «транскрипционные фабрики» [58–61]. Механизмы формирования транскрипционных фабрик и возможная роль этих структур обсуждается в литературе в течение 25 лет [5, 58, 62, 63]. В последние годы появились убедительные свидетельства того, что кластеризация транскрипционных комплексов обеспечивается процессом разделения жидких фаз, регулируемого фосфорилированием С-концевого домена РНК полимеразы II [15]. Важно, что к транскрипционным фабрикам могут привлекаться гены, расположенные на значительных геномных расстояниях, а иногда и на разных хромосомах [64, 65]. То же справедливо и для привлечения генов к ядрышку или спеклам. В результате отдельные хромосомные территории оказываются объединенными в единый хроматиновый домен. Этот домен является достаточно эластичным в силу того, что уровень компактизации хроматина может изменяться в широких пределах в ответ на различные воздействия, например, в ответ на гипотонический шок. Было показано, что, будучи прикрепленным одновременно к ядрышку и ядерной ламине, хроматин механически растянут. Утрата заякориваний на ядерной ламине приводит к сокращению объема хроматинового домена [66].

РОЛЬ РАЗДЕЛЕНИЯ ЖИДКИХ ФАЗ В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ

Отличительной особенностью систем контроля транскрипции в эукариотической клетке является наличие удаленных энхансеров. По современным представлениям, количество энхансеров в геноме человека, по меньшей мере, в 10 раз превосходит количество промоторов [67, 68]. Механизм действия энхансеров остается предметом дискуссий [69]. В последние годы опубликовано несколько работ, указывающих на то, что на энхансере формируется активаторный комплекс, обогащенный различными транскрипционными факторами и компонентами транскрипционного аппарата [70]. В формировании данного комплекса ключевую роль играет процесс разделения жидких фаз, направляемый взаимодействием неструктурирован-

ных доменов, присутствующих в составе РНК полимеразы, медиатора и многих транскрипционных факторов [18, 70, 71]. Необходимая для инициации процесса разделения жидких фаз концентрация взаимодействующих компонентов обеспечивается наличием множественных сайтов их связывания в границах энхансера. Роль платформы, привлекающей дополнительные белки, может играть энхансерная РНК [72, 73]. Суперэнхансеры, как правило, состоят из нескольких энхансерных модулей, разделенных спейсерами различной длины. Выплетывание разделяющих энхансерные модули сегментов хроматиновой фибриллы позволяет объединиться собранным на этих доменах активаторным комплексам в единый комплекс [70]. Процесс этот может происходить без каких-либо затрат энергии, так как способность к слиянию является внутренним свойством жидких фазовых конденсатов [74]. Для того, чтобы быть активированным тем или иным энхансером, промотор должен оказаться внутри активаторного комплекса, собранного на этом энхансере. Повидимому, это происходит аналогично процессу объединения доменов суперэнхансера. На промоторе собирается свой жидкий конденсат, компоненты которого (транскрипционные факторы, РНК полимеразы и т.д.) в значительной мере перекрываются компонентами собранного на энхансере активаторного комплекса [15, 75]. Такие комплексы могут легко слиться, в результате чего промотор будет удерживаться в среде, обеспечивающей благоприятные условия для его работы [71] (рис. 2). Детали всех этих процессов еще предстоит выяснить. В настоящее время продемонстрировано, что на суперэнхансерах формируются фазовые конденсаты, содержащие различные факторы транскрипции, РНК полимеразу II и медиатор, и что к этим конденсатам привлекаются активные гены, работа которых направляется данными суперэнхансерами [18, 19]. Открытыми остаются вопросы о том, как определяется специфика активации суперэнхансером определенных промоторов, как происходит освобождение элонгирующей РНК полимеразы из энхансер-промоторного комплекса, влияет ли энхансер на процесс элонгации и т.д. Недавно было продемонстрировано, что фосфорилирование С-концевого домена РНК полимеразы II регулирует ее сродство к конденсатам, содержащим медиатор, и конденсатам, содержащим факторы сплайсинга [76]. Можно ожидать, что в ближайшее время число примеров регулируемого перемещения макромолекул между различными фазовыми компартментами существенно возрастет.

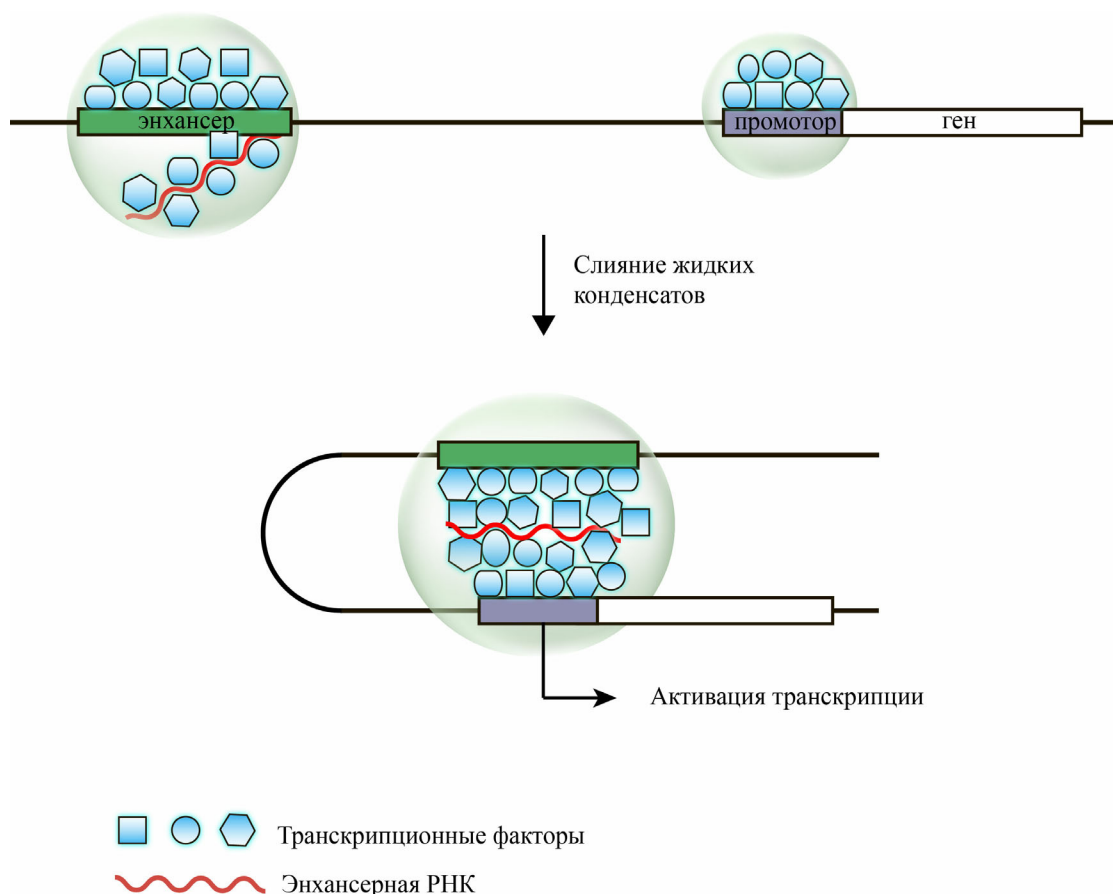


Рис. 2. Роль жидкостного разделения фаз в коммуникации энхансеров и промоторов. Транскрипционные факторы связываются с энхансером и промотором с образованием жидкостных конденсатов. Дальнейшее слияние конденсатов обеспечивает сближение промотора и энхансера и активацию транскрипции

Изучение роли разделения жидких фаз в клеточном ядре стало одним из наиболее динамично развивающихся направлений в молекулярной биологии. Иногда складывается впечатление, что разделением жидких фаз пытаются объяснить все, что происходит в клеточном ядре. При этом нередко игнорируются те факты, которые не укладываются в развиваемую модель. В этой связи хотелось бы обратить внимание на необходимость более взвешенного анализа результатов. Если говорить о роли разделения жидких фаз в формировании хроматиновых доменов, то стоит указать на то, что многие результаты, указывающие на способность гистонов и белков гетерохроматина образовывать фазовые конденсаты, получены в экспериментах *in vitro* [37]. Результаты экспериментов, предпринятых для того, чтобы продемонстрировать роль разделения жидких фаз в формировании гетерохроматина в живых клетках, остаются довольно противоречивыми [13, 77]. Критерии фазовых конденсатов остаются размытыми, и далеко не все объекты, которые принято считать фазо-

выми конденсатами, удовлетворяют всем этим критериям [42, 78]. Не отрицая важную роль процесса разделения жидких фаз в формировании внутриядерной архитектуры, включая и 3D организацию генома, мы полагаем, что вся эта организация складывается в результате кооперации комплекса различных механизмов, вклад каждого из которых будет различен в конкретных случаях. Так, формирование гетерохроматиновых доменов может начинаться с разделения жидких фаз и заканчиваться образованием гелей, которые по ряду параметров существенно отличаются от жидких конденсатов [39, 42].

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 18-14-00011).

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hancock, R. (2004) Internal organisation of the nucleus: assembly of compartments by macromolecular crowding and the nuclear matrix model, *Biol. Cell*, **96**, 595-601.
- Hancock, R. (2004) A role for macromolecular crowding effects in the assembly and function of compartments in the nucleus, *J. Struct. Biol.*, **146**, 281-290, doi: 10.1016/j.jsb.2003.12.008.
- Hancock, R. (2018) Crowding, entropic forces, and confinement: crucial factors for structures and functions in the cell nucleus, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 326-337, doi: 10.1134/S0006297918040041.
- Marenduzzo, D., Finan, K., and Cook, P. R. (2006) The depletion attraction: an underappreciated force driving cellular organization, *J. Cell. Biol.*, **175**, 681-686, doi: 10.1083/jcb.200609066.
- Razin, S. V., Gavrilov, A. A., Pichugin, A., Lipinski, M., Iarovaia, O. V., and Vassetzky, Y. S. (2011) Transcription factories in the context of the nuclear and genome organization, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 9085-9092, doi: 10.1093/nar/gkr683.
- Erdel, F., and Rippe, K. (2018) Formation of chromatin subcompartments by phase separation, *Biophys. J.*, **114**, 2262-2270, doi: 10.1016/j.bpj.2018.03.011.
- Boeynaems, S., Alberti, S., Fawzi, N. L., Mittag, T., Polymenidou, M., Rousseau, F., Schymkowitz, J., Shorter, J., Wolozin, B., Van Den Bosch, L., Tompa, P., and Fuxreiter, M. (2018) Protein phase separation: a new phase in cell biology, *Trends Cell. Biol.*, **28**, 420-435, doi: 10.1016/j.tcb.2018.02.004.
- Uversky, V. N. (2017) Protein intrinsic disorder-based liquid-liquid phase transitions in biological systems: complex coacervates and membrane-less organelles, *Adv. Coll. Interface Sci.*, **239**, 97-114, doi: 10.1016/j.cis.2016.05.012.
- Meng, F., Na, I., Kurgan, L., and Uversky, V. N. (2015) Compartmentalization and functionality of nuclear disorder: intrinsic disorder and protein-protein interactions in intra-nuclear compartments, *Intern. J. Mol. Sci.*, **17**, doi: 10.3390/ijms17010024.
- Darling, A. L., Liu, Y., Oldfield, C. J., and Uversky, V. N. (2018) Intrinsically disordered proteome of human membrane-less organelles, *Proteomics*, **18**, e1700193, doi: 10.1002/pmic.201700193.
- Uversky, V. N. (2017) Intrinsically disordered proteins in overcrowded milieu: membrane-less organelles, phase separation, and intrinsic disorder, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **44**, 18-30, doi: 10.1016/j.sbi.2016.10.015.
- Turner, A. L., Watson, M., Wilkins, O. G., Cato, L., Travers, A., Thomas, J. O., and Stott, K. (2018) Highly disordered histone H1-DNA model complexes and their condensates, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 11964-11969, doi: 10.1073/pnas.1805943115.
- Larson, A. G., Elnatan, D., Keenen, M. M., Trnka, M. J., Johnston, J. B., Burlingame, A. L., Agard, D. A., Redding, S., and Narlikar, G. J. (2017) Liquid droplet formation by HP1 α suggests a role for phase separation in heterochromatin, *Nature*, **547**, 236-240, doi: 10.1038/nature22822.
- Tatavosian, R., Kent, S., Brown, K., Yao, T., Duc, H. N., Huynh, T. N., Zhen, C. Y., Ma, B., Wang, H., and Ren, X. (2019) Nuclear condensates of the polycomb protein chromobox 2 (CBX2) assemble through phase separation, *J. Biol. Chem.*, **294**, 1451-1463, doi: 10.1074/jbc.RA118.006620.
- Boehning, M., Dugast-Darzacq, C., Rankovic, M., Hansen, A. S., Yu, T., Marie-Nelly, H., McSwiggen, D. T., Kokic, G., Dailey, G. M., Cramer, P., Darzacq, X., and Zweckstetter, M. (2018) RNA polymerase II clustering through carboxy-terminal domain phase separation, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **25**, 833-840, doi: 10.1038/s41594-018-0112-y.
- Nagulapalli, M., Maji, S., Dwivedi, N., Dahiya, P., and Thakur, J. K. (2016) Evolution of disorder in mediator complex and its functional relevance, *Nucleic Acids Res.*, **44**, 1591-1612, doi: 10.1093/nar/gkv1135.
- Alberti, S., Gladfelter, A., and Mittag, T. (2019) Considerations and challenges in studying liquid-liquid phase separation and biomolecular condensates, *Cell*, **176**, 419-434, doi: 10.1016/j.cell.2018.12.035.
- Sabari, B. R., Dall'Agnese, A., Boija, A., Klein, I. A., Coffey, E. L., Shrinivas, K., Abraham, B. J., Hannett, N. M., Zamudio, A. V., Manteiga, J. C., Li, C. H., Guo, Y. E., Day, D. S., Schuijers, J., Vasile, E., Malik, S., Hnisz, D., Lee, T. I., Cisse, I. I., Roeder, R. G., et al. (2018) Coactivator condensation at super-enhancers links phase separation and gene control, *Science*, **361**, doi: 10.1126/science.aar3958.
- Cho, W. K., Spille, J. H., Hecht, M., Lee, C., Li, C., Grube, V., and Cisse, I. I. (2018) Mediator and RNA polymerase II clusters associate in transcription-dependent condensates, *Science*, **361**, 412-415, doi: 10.1126/science.aar4199.
- Hernandez-Verdun, D. (2006) The nucleolus: a model for the organization of nuclear functions, *Histochem. Cell. Biol.*, **126**, 135-148, doi: 10.1007/s00418-006-0212-3.
- Yao, R. W., Xu, G., Wang, Y., Shan, L., Luan, P. F., Wang, Y., Wu, M., Yang, L. Z., Xing, Y. H., Yang, L., and Chen, L. L. (2019) Nascent pre-rRNA sorting via phase separation drives the assembly of dense fibrillar components in the human nucleolus, *Mol. Cell*, **76**, 767-783, e711, doi: 10.1016/j.molcel.2019.08.014.
- Correll, C. C., Bartek, J., and Dundr, M. (2019) The nucleolus: a multiphase condensate balancing ribosome synthesis and translational capacity in health, aging and ribosomopathies, *Cells*, **8**, doi: 10.3390/cells8080869.
- Ishov, A. M., Sotnikov, A. G., Negorev, D., Vladimirova, O. V., Neff, N., Kamitani, T., Yeh, E. T., Strauss, J. F., 3rd, and Maul, G. G. (1999) PML is critical for ND10 formation and recruits the PML-interacting protein daxx to this nuclear structure when modified by SUMO-1, *J. Cell. Biol.*, **147**, 221-234, doi: 10.1083/jcb.147.2.221.
- Lallemant-Breitenbach, V., and de The, H. (2010) PML nuclear bodies, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2**, a000661.
- Yamazaki, T., Nakagawa, S., and Hirose, T. (2020) Architectural RNAs for membraneless nuclear body formation, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, doi: 10.1101/sqb.2019.84.039404.
- Fox, A. H., and Lamond, A. I. (2010) Paraspeckles, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2**, a000687, doi: 10.1101/csh-perspect.a000687.
- Fox, A. H., Nakagawa, S., Hirose, T., and Bond, C. S. (2018) Paraspeckles: where long noncoding RNA meets phase separation, *Trends Biochem. Sci.*, **43**, 124-135, doi: 10.1016/j.tibs.2017.12.001.
- Shin, Y., Berry, J., Pannucci, N., Haataja, M. P., Toettcher, J. E., and Brangwynne, C. P. (2017) Spatiotemporal control of intracellular phase transitions using light-activated optodroplets, *Cell*, **168**, 159-171, doi: 10.1016/j.cell.2016.11.054.
- Zhou, J., Fan, J. Y., Rangasamy, D., and Tremethick, D. J. (2007) The nucleosome surface regulates chromatin compaction and couples it with transcriptional repression, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 1070-1076.
- Kalashnikova, A. A., Porter-Goff, M. E., Muthurajan, U. M., Luger, K., and Hansen, J. C. (2013) The role of the nucleosome acidic patch in modulating higher order chromatin

- structure, *J. Royal Soc. Interface/Royal Soc.*, **10**, 20121022, doi: 10.1098/rsif.2012.1022.
31. Sinha, D., and Shogren-Knaak, M. A. (2010) Role of direct interactions between the histone H4 tail and the H2A core in long range nucleosome contacts, *J. Biol. Chem.*, **285**, 16572-16581, doi: 10.1074/jbc.M109.091298.
 32. Pepenella, S., Murphy, K. J., and Hayes, J. J. (2014) Intra- and inter-nucleosome interactions of the core histone tail domains in higher-order chromatin structure, *Chromosoma*, **123**, 3-13, doi: 10.1007/s00412-013-0435-8.
 33. Luger, K., Mader, A. W., Richmond, R. K., Sargent, D. F., and Richmond, T. J. (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution, *Nature*, **389**, 251-260, doi: 10.1038/38444.
 34. Schalch, T., Duda, S., Sargent, D. F., and Richmond, T. J. (2005) X-ray structure of a tetranucleosome and its implications for the chromatin fibre, *Nature*, **436**, 138-141, doi: 10.1038/nature03686.
 35. Chodaparambil, J. V., Barbera, A. J., Lu, X., Kaye, K. M., Hansen, J. C., and Luger, K. (2007) A charged and contoured surface on the nucleosome regulates chromatin compaction, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 1105-1107, doi: 10.1038/nsmb1334.
 36. Chen, Q., Yang, R., Korolev, N., Liu, C. F., and Nordenskiöld, L. (2017) Regulation of nucleosome stacking and chromatin compaction by the histone H4 N-terminal tail-H2A acidic patch interaction, *J. Mol. Biol.*, **429**, 2075-2092, doi: 10.1016/j.jmb.2017.03.016.
 37. Gibson, B. A., Doolittle, L. K., Schneider, M. W. G., Jensen, L. E., Gamarra, N., Henry, L., Gerlich, D. W., Redding, S., and Rosen, M. K. (2019) Organization of chromatin by intrinsic and regulated phase separation, *Cell*, **179**, 470-484, doi: 10.1016/j.cell.2019.08.037.
 38. Shakya, A., Park, S., Rana, N., and King, J. T. (2020) Liquid-liquid phase separation of histone proteins in cells: role in chromatin organization, *Biophys. J.*, **118**, 753-764, doi: 10.1016/j.bpj.2019.12.022.
 39. Strom, A. R., Emelyanov, A. V., Mir, M., Fyodorov, D. V., Darzacq, X., and Karpen, G. H. (2017) Phase separation drives heterochromatin domain formation, *Nature*, **547**, 241-245, doi: 10.1038/nature22989.
 40. Strom, A. R., and Brangwynne, C. P. (2019) The liquid nucleome – phase transitions in the nucleus at a glance, *J. Cell. Sci.*, **132**, jcs235093, doi: 10.1242/jcs.235093.
 41. Plys, A. J., Davis, C. P., Kim, J., Rizki, G., Keenen, M. M., Marr, S. K., and Kingston, R. E. (2019) Phase separation of polycomb-repressive complex 1 is governed by a charged disordered region of CBX2, *Genes Dev.*, **33**, 799-813, doi: 10.1101/gad.326488.119.
 42. Peng, A., and Weber, S. C. (2019) Evidence for and against liquid-liquid phase separation in the nucleus, *Noncoding RNA*, **5**, doi: 10.3390/ncrna5040050.
 43. Boija, A., Klein, I. A., Sabari, B. R., Dall'Agnese, A., Coffey, E. L., Zamudio, A. V., Li, C. H., Shrinivas, K., Manteiga, J. C., Hannett, N. M., Abraham, B. J., Afeyan, L. K., Guo, Y. E., Rimel, J. K., Fant, C. B., Schuijers, J., Lee, T. I., Taatjes, D. J., and Young, R. A. (2018) Transcription factors activate genes through the phase-separation capacity of their activation domains, *Cell*, **175**, 1842-1855, doi: 10.1016/j.cell.2018.10.042.
 44. Tarczewska, A., and Greb-Markiewicz, B. (2019) The significance of the intrinsically disordered regions for the functions of the bHLH transcription factors, *Intern. J. Mol. Sci.*, **20**, doi: 10.3390/ijms20215306.
 45. Cremer, T., and Cremer, M. (2010) Chromosome territories, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2**, a003889, doi: 10.1101/cshperspect.a003889.
 46. Cremer, T., Cremer, M., Hubner, B., Silahtaroglu, A., Hendzel, M., Lancot, C., Strickfaden, H., and Cremer, C. (2020) The interchromatin compartment participates in the structural and functional organization of the cell nucleus, *BioEssays*, **42**, e1900132, doi: 10.1002/bies.201900132.
 47. Cremer, T., Cremer, M., and Cremer, C. (2018) The 4D nucleome: genome compartmentalization in an evolutionary context, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 313-325, doi: 10.1134/S000629791804003X.
 48. Garcia-Jove Navarro, M., Kashida, S., Chouaib, R., Souquere, S., Pierron, G., Weil, D., and Gueroui, Z. (2019) RNA is a critical element for the sizing and the composition of phase-separated RNA-protein condensates, *Nat. Commun.*, **10**, 3230, doi: 10.1038/s41467-019-11241-6.
 49. Fay, M. M., and Anderson, P. J. (2018) The role of RNA in biological phase separations, *J. Mol. Biol.*, **430**, 4685-4701, doi: 10.1016/j.jmb.2018.05.003.
 50. Fedoriw, A. M., Starmer, J., Yee, D., and Magnuson, T. (2012) Nucleolar association and transcriptional inhibition through 5S rDNA in mammals, *PLoS Genet.*, **8**, e1002468, doi: 10.1371/journal.pgen.1002468.
 51. Bersaglieri, C., and Santoro, R. (2019) Genome organization in and around the nucleolus, *Cells*, **8**, doi: 10.3390/cells8060579.
 52. Chen, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Zhang, L., Brinkman, E. K., Adam, S. A., Goldman, R., van Steensel, B., Ma, J., and Belmont, A. S. (2018) Mapping 3D genome organization relative to nuclear compartments using TSA-Seq as a cytological ruler, *J. Cell. Biol.*, **217**, 4025-4048, doi: 10.1083/jcb.201807108.
 53. Quinodoz, S. A., Ollikainen, N., Tabak, B., Palla, A., Schmidt, J. M., Detmar, E., Lai, M. M., Shishkin, A. A., Bhat, P., Takei, Y., Trinh, V., Aznauryan, E., Russell, P., Cheng, C., Jovanovic, M., Chow, A., Cai, L., McDonel, P., Garber, M., and Guttman, M. (2018) Higher-order inter-chromosomal hubs shape 3D genome organization in the nucleus, *Cell*, **174**, 744-757, doi: 10.1016/j.cell.2018.05.024.
 54. Kim, J., Venkata, N. C., Hernandez Gonzalez, G. A., Khanna, N., and Belmont, A. S. (2020) Gene expression amplification by nuclear speckle association, *J. Cell. Biol.*, **219**, e201904046, doi: 10.1083/jcb.201904046.
 55. Dundr, M. (2012) Nuclear bodies: multifunctional companions of the genome, *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **24**, 415-422, doi: 10.1016/j.ceb.2012.03.010.
 56. Sawyer, I. A., Sturgill, D., and Dundr, M. (2019) Membraneless nuclear organelles and the search for phases within phases, *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*, **10**, e1514, doi: 10.1002/wrna.1514.
 57. Wang, Q., Sawyer, I. A., Sung, M. H., Sturgill, D., Shevtsov, S. P., Pegoraro, G., Hakim, O., Baek, S., Hager, G. L., and Dundr, M. (2016) Cajal bodies are linked to genome conformation, *Nat. Commun.*, **7**, 10966, doi: 10.1038/ncomms10966.
 58. Carter, D. R., Eskiw, C., and Cook, P. R. (2008) Transcription factories, *Biochem. Soc. Trans.*, **36**, 585-589, doi: 10.1042/BST0360585.
 59. Hozak, P., Hassan, A. B., Jackson, D. A., and Cook, P. R. (1993) Visualization of replication factories attached to nucleoskeleton, *Cell*, **73**, 361-373.
 60. Iborra, F. J., Pombo, A., Jackson, D. A., and Cook, P. R. (1996) Active RNA polymerases are localized within discrete transcription "factories" in human nuclei, *J. Cell. Sci.*, **109**, 1427-1436.
 61. Jackson, D. A., Hassan, A. B., Errington, R. J., and Cook, P. R. (1993) Visualization of focal sites of transcription within human nuclei, *EMBO J.*, **12**, 1059-1065.
 62. Sutherland, H., and Bickmore, W. A. (2009) Transcription factories: gene expression in unions? *Nat. Rev. Genet.*, **10**, 457-466.

63. Cook, P. R., and Marenduzzo, D. (2018) Transcription-driven genome organization: a model for chromosome structure and the regulation of gene expression tested through simulations, *Nucl. Acids Res.*, **46**, 9895–9906, doi: 10.1093/nar/gky763.
64. Osborne, C. S., Chakalova, L., Brown, K. E., Carter, D., Horton, A., Debrand, E., Goyenechea, B., Mitchell, J. A., Lopes, S., Reik, W., and Fraser, P. (2004) Active genes dynamically colocalize to shared sites of ongoing transcription, *Nat. Genet.*, **36**, 1065–1071.
65. Osborne, C. S., Chakalova, L., Mitchell, J. A., Horton, A., Wood, A. L., Bolland, D. J., Corcoran, A. E., and Fraser, P. (2007) Myc dynamically and preferentially relocates to a transcription factory occupied by Igh, *PLoS Biol.*, **5**, e192.
66. Ulianov, S. V., Doronin, S. A., Khrameeva, E. E., Kos, P. I., Luzhin, A. V., Starikov, S. S., Galitsyna, A. A., Nenashina, V. V., Ilyin, A. A., Flyamer, I. M., Mikhaleva, E. A., Logacheva, M. D., Gelfand, M. S., Chertovich, A. V., Gavrillov, A. A., Razin, S. V., and Shevelyov, Y. Y. (2019) Nuclear lamina integrity is required for proper spatial organization of chromatin in *Drosophila*, *Nat. Commun.*, **10**, 1176, doi: 10.1038/s41467-019-09185-y.
67. Arnold, C. D., Gerlach, D., Stelzer, C., Boryn, L. M., Rath, M., and Stark, A. (2013) Genome-wide quantitative enhancer activity maps identified by STARR-seq, *Science*, **339**, 1074–1077, doi: 10.1126/science.1232542.
68. Consortium, E. P., Bernstein, B. E., Birney, E., Dunham, I., Green, E. D., Gunter, C., and Snyder, M. (2012) An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome, *Nature*, **489**, 57–74, doi: 10.1038/nature11247.
69. Furlong, E. E. M., and Levine, M. (2018) Developmental enhancers and chromosome topology, *Science*, **361**, 1341–1345, doi: 10.1126/science.aau0320.
70. Hnisz, D., Shrinivas, K., Young, R. A., Chakraborty, A. K., and Sharp, P. A. (2017) A phase separation model for transcriptional control, *Cell*, **169**, 13–23, doi: 10.1016/j.cell.2017.02.007.
71. Gurumurthy, A., Shen, Y., Gunn, E. M., and Bungert, J. (2019) Phase separation and transcription regulation: are super-enhancers and locus control regions primary sites of transcription complex assembly? *BioEssays*, **41**, e1800164, doi: 10.1002/bies.201800164.
72. Arnold, P. R., Wells, A. D., and Li, X. C. (2019) Diversity and emerging roles of enhancer RNA in regulation of gene expression and cell fate, *Front. Cell Develop. Biol.*, **7**, 377, doi: 10.3389/fcell.2019.00377.
73. Nair, S. J., Yang, L., Meluzzi, D., Oh, S., Yang, F., Friedman, M. J., Wang, S., Suter, T., Alshareedah, I., Gamliel, A., Ma, Q., Zhang, J., Hu, Y., Tan, Y., Ohgi, K. A., Jayani, R. S., Banerjee, P. R., Aggarwal, A. K., and Rosenfeld, M. G. (2019) Phase separation of ligand-activated enhancers licenses cooperative chromosomal enhancer assembly, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **26**, 193–203, doi: 10.1038/s41594-019-0190-5.
74. Hyman, A. A., Weber, C. A., and Julicher, F. (2014) Liquid–liquid phase separation in biology, *Ann. Rev. Cell Develop. Biol.*, **30**, 39–58, doi: 10.1146/annurev-cellbio-100913-013325.
75. Cramer, P. (2019) Organization and regulation of gene transcription, *Nature*, **573**, 45–54, doi: 10.1038/s41586-019-1517-4.
76. Guo, Y. E., Manteiga, J. C., Henninger, J. E., Sabari, B. R., Dall'Agnese, A., Hannett, N. M., Spille, J. H., Afeyan, L. K., Zamudio, A. V., Shrinivas, K., Abraham, B. J., Boija, A., Decker, T. M., Rimel, J. K., Fant, C. B., Lee, T. I., Cisse, I. I., Sharp, P. A., Taatjes, D. J., and Young, R. A. (2019) Pol II phosphorylation regulates a switch between transcriptional and splicing condensates, *Nature*, **572**, 543–548, doi: 10.1038/s41586-019-1464-0.
77. Erdel, F., Rademacher, A., Vlijm, R., Tunnermann, J., Frank, L., Weinmann, R., Schweigert, E., Yserentant, K., Hummert, J., Bauer, C., Schumacher, S., Al Alwash, A., Normand, C., Hertel, D. P., Engelhardt, J., and Rippe, K. (2020) Mouse heterochromatin adopts digital compaction states without showing hallmarks of HP1-driven liquid–liquid phase separation, *Mol. Cell*, doi: 10.1016/j.molcel.2020.02.005.
78. Mir, M., Bickmore, W., Furlong, E. E. M., and Narlikar, G. (2019) Chromatin topology, condensates and gene regulation: shifting paradigms or just a phase? *Development*, **146**, doi: 10.1242/dev.182766.

THE ROLE OF LIQUID–LIQUID PHASE SEPARATION IN THE COMPARTMENTALIZATION OF CELL NUCLEUS AND SPATIAL GENOME ORGANIZATION

Review

S. V. Razin^{1,2*} and A. A. Gavrillov¹

¹ Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, 119334 Moscow, Russia; E-mail: sergey.v.razin@usa.net

² Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, 119991 Moscow, Russia

Received March 24, 2020

Revised April 7, 2020

Accepted April 9, 2020

Functional compartmentalization of the cell nucleus plays an important role in the regulation of genome activity by providing accumulation of enzymes and auxiliary factors in the reaction centers, such as transcription factories, Cajal bodies, speckles, etc. The mechanisms behind the nucleus functional compartmentalization are still poorly understood. There are reasons to believe that the key role in the nucleus compartmentalization belongs to the process of liquid–liquid phase separation. In this brief review, we analyze results of experimental studies demonstrating that liquid–liquid phase separation not only governs functional compartmentalization of the cell nucleus but also contributes to the formation of the 3D genomic architecture.

Keywords: liquid–liquid phase separation, chromatin, cell nucleus, transcription, nuclear compartment, spatial genome organization