

УДК 576.315.42

ДОМЕННАЯ МОДЕЛЬ ОРГАНИЗАЦИИ ЭУКАРИОТИЧЕСКОГО ГЕНОМА: ОТ ЗАКРЕПЛЕННЫХ НА ЯДЕРНОМ МАТРИКСЕ ПЕТЕЛЬ ДНК К ТАДАМ

Обзор

© 2022 С.В. Разин^{1,2*}, И.В. Жегалова^{3,4,5}, О.Л. Кангидзе¹

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

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

³ Сколковский институт науки и технологий, 121205 Москва, Россия

⁴ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991 Москва, Россия

⁵ Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича, 127051 Москва, Россия

Поступила в редакцию 20.05.2022

После доработки 18.06.2022

Принята к публикации 22.06.2022

В обзоре анализируется развитие представлений о доменной организации эукариотического генома. Подробно рассматриваются результаты работ по изучению прикрепленных к ядерному матриксу петель ДНК и показывается место этих результатов в современной модели пространственной организации эукариотического генома. Приводится критический анализ результатов, демонстрирующих, что топологически-ассоциированные домены хроматина являются структурно-функциональными блоками генома, и обосновывается заключение о том, что эти блоки принципиально отличаются от тех доменов, существование которых предполагалось сформулированной в 80-е годы прошлого века доменной гипотезой организации эукариотического генома. На основании всего обсуждения делается заключение о том, что модель, постулирующая, что эукариотический геном построен из единообразно организованных функциональных блоков, оказалась несостоятельной.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хроматин, структурно-функциональные домены генома, топологически-ассоциированные домены хроматина, петли ДНК, ДНК-топоизомераза II.

DOI: 10.31857/S0320972522070090, EDN: AWAING

ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНО ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ К ДНКазе ДОМЕНЫ ГЕНОМА И ЗАКРЕПЛЕННЫЕ НА ЯДЕРНОМ МАТРИКСЕ ПЕТЛИ ДНК

Открытие нуклеосом в середине 70-х годов XX века [1, 2] ознаменовало начало новой эры в изучении хроматина. Одновременно с характеристикой собственно нуклеосом исследовате-

ли заинтересовались способом макроукладки нуклеосомной фибриллы. Прежде всего предметом изучения стала так называемая 30-нм хроматиновая фибрилла, которую представляли как соленоид [3], либо зигзагообразную структуру [4]. Вопрос о том, каким образом 30-нм хроматиновая фибрилла укладывается далее в интерфазных и метафазных хромосомах оставался открытым. Примерно в то же время Петер Кук и соавторы продемонстрировали, что после разрушения нуклеосом посредством экстракции ядер концентрированными солевыми растворами ДНК остается организованной в большие суперспирализованные петли, закрепленные на нерастворимой белко-

Принятые сокращения: ДНКазы – дезоксирибонуклеаза I, ТАДы – топологически-ассоциированные домены хроматина, т.п.н. – тысяча пар оснований, S/MARs – последовательности ДНК, предпочтительно связывающиеся с ядерным матриксом.

* Адресат для корреспонденции.

вой структуре [5, 6], которая получила название ядерный матрикс [7], или ядерный скелет [8]. Эти наблюдения были в последующем подтверждены в работах других лабораторий [9–11]. Особо стоит отметить визуализацию под электронным микроскопом закрепленных на остове метафазной хромосомы, либо ядерном матриксе петель ДНК [12, 13]. Оценка размера петель ДНК, проводившаяся с использованием разных методических подходов [14], привела к неоднозначным результатам: от 50 т.п.н. [12] до 1000–1500 т.п.н. [5, 15]. В рамках сформулированной несколько позднее радиально-петлевой модели иерархической упаковки ДНК в интерфазных и метафазных хромосомах [16–18], петли ДНК считали третьим уровнем упаковки после нуклеосомной нити и 30-нм нуклеосомной фибриллы. Иными словами, считалось, что 30-нм хроматиновая фибрилла организована в петли, закрепленные на скелетных структурах хромосомы.

Другие исследования, проводившиеся примерно в то же время, продемонстрировали, что активные гены предпочтительно расщепляются ДНКазой в пермеабилезованных клетках [19]. Последующие работы показали, что отличающиеся предпочтительной чувствительностью к ДНКазе сегменты генома являются достаточно протяженными и могут, наряду с активными генами, включать неработающие псевдогены [20–22]. На основании этих наблюдений была сформулирована доменная гипотеза организации эукариотического генома, основной постулат которой состоял в том, что геном построен из структурно-функциональных блоков, транскрипционный статус которых контролируется способом упаковки хроматиновой фибриллы в рамках блока в целом (рис. 1, *a*) [23, 24]. Регуляция транскрипции представлялась двухэтапным процессом: (1) активация хроматинового домена и (2) активация промоторов индивидуальных генов внутри домена [25]. Модель предполагала наличие регуляторных элементов, контролирующих транскрипционный статус домена в целом, и определенных структурных единиц в хромосомах, в границах которых могут происходить изменения способа укладки хроматина. Обнаружение области контроля локуса домена бета-глобиновых генов [26, 27] способствовало широкому признанию данной модели.

Что касается структурных единиц в хромосомах, то внимание ученых привлекли упоминавшиеся выше петли ДНК. Учитывая приблизительное сходство размеров этих петель и сегментов генома, демонстрирующих дифференциальную чувствительность к обработке

ДНКазой в клетках, дифференцированных по разным путям, было заманчиво предположить, что именно хроматиновые петли и являются структурно-функциональными блоками генома. Соответственно, участки закрепления оснований хроматиновых петель на скелетных структурах хромосомы должны были ограничивать геномный сегмент, в рамках которого могут происходить зависящие от типа клеток изменения способа упаковки хроматина [28]. Это стимулировало исследования участков прикрепления петель ДНК к ядерному матриксу/скелету.

Общая стратегия картирования оснований петель ДНК и позиций генов в петлях ДНК была предложена в лаборатории П. Кука [29]. Она состояла в анализе распределения индивидуальных последовательностей ДНК между отщепленной и оставшейся связанной со скелетными элементами хромосомы фракциями ДНК по ходу обработки экстрагированных концентрированным солевым раствором ядер возрастающими количествами нуклеаз (рис. 1, *б*). В предельном случае связанными со скелетными элементами хромосомы должны были остаться только основания петель ДНК. Результаты, полученные с использованием этого протокола, оказались достаточно неожиданными. Было продемонстрировано, что со скелетными элементами хромосомы предпочтительно связаны транскрибирующиеся и реплицирующиеся последовательности ДНК [7, 30–32]. Эти результаты были интерпретированы в терминах модели, постулирующей, что транскрипция и репликация осуществляются иммобилизованными РНК- и ДНК-полимеразами, организованными в транскрипционные и репликативные фабрики [33–35]. Последующие работы продемонстрировали существование в ядрах так называемых фокусов репликации и транскрипции, которые отождествили с упомянутыми выше репликативными и транскрипционными фабриками [36, 37]. Идея о том, что пространственная организация генома направляется привлечением различных его сегментов к транскрипционным фабрикам, не потеряла своей актуальности и в настоящее время [38, 39].

Демонстрация того, что прикрепление ДНК к скелетным элементам хромосомы прямо связано с осуществлением синтетических процессов, противоречила предположению о том, что хроматиновые петли являются структурно-функциональными блоками генома. В этой связи модель организации хроматиновых петель была модифицирована. Постулировалось, что наряду с динамичными функциональными прикреплениями ДНК к скелетным элементам

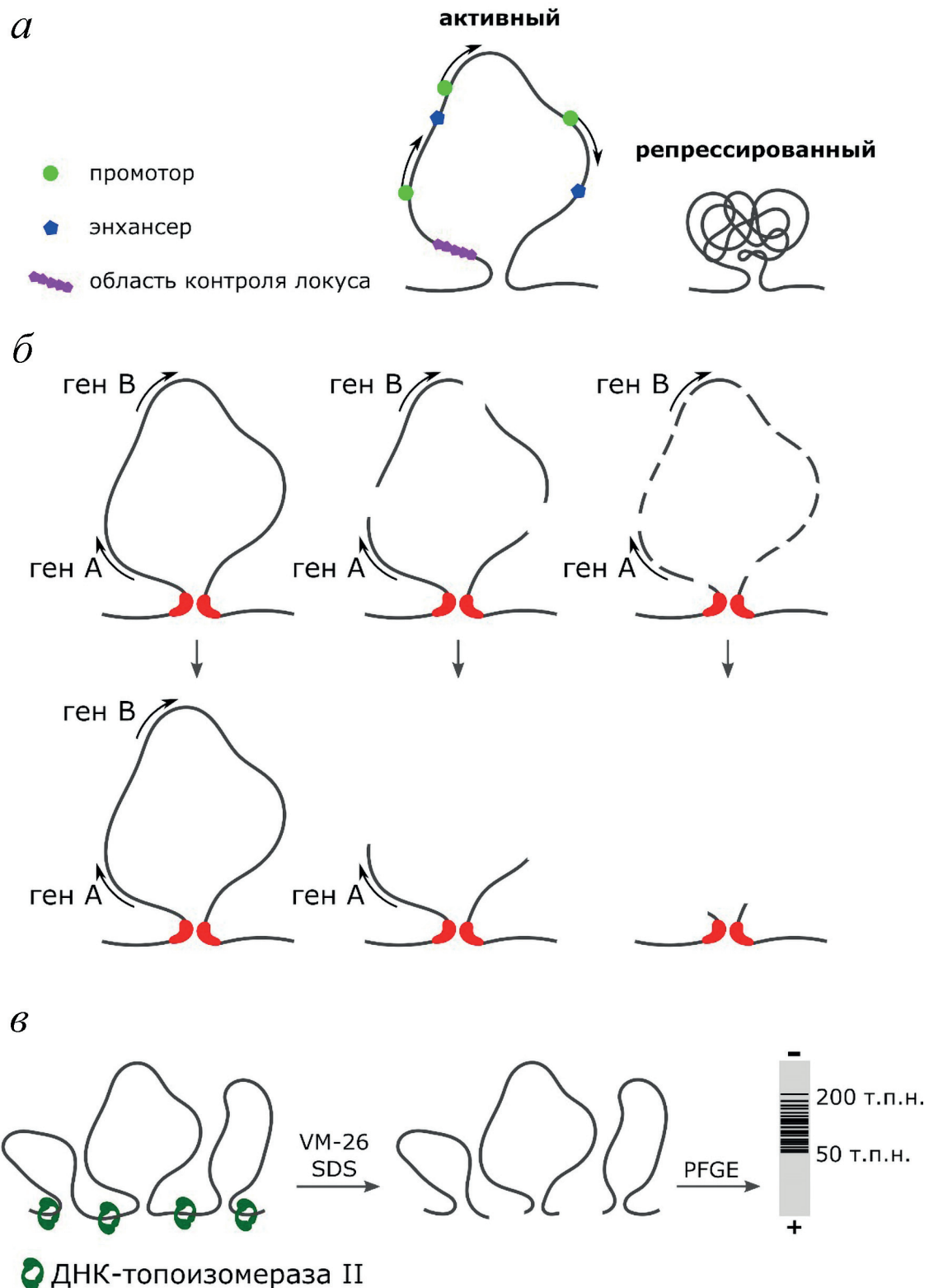


Рис. 1. Прикрепленные к ядерному матриксу петли ДНК. *a* – Схематическое представление доменной гипотезы организации генома. Группа генов, контролируемых энхансерами и областью контроля локуса (в современной терминологии – суперэнхансером), заключена в петлю ДНК. Изменение способа укладки хроматина в рамках всей петли контролирует транскрипционный статус домена. *б* – Стратегия картирования позиций генов относительно участков прикрепления петель ДНК к ядерному матриксу. По мере внесения разрывов в ДНК происходит переход в растворимую фракцию сначала дистальных частей петли ДНК, а потом и остальных ее частей, за исключением собственно участков прикрепления к ядерному матриксу. *в* – Разрезание генома на петлевые домены посредством внесения разрывов ДНК-топоизомеразой II, локализованной в основаниях хроматиновых петель. Последующий анализ проводится с использованием гель-электрофореза в пульсирующем поле. VM-26 – тенипозид; SDS – додецилсульфат натрия; PFGE – гель-электрофорез в пульсирующем поле

хромосомы существуют и постоянные структурные участки прикрепления, которые ограничивают структурно-функциональные блоки генома [40]. Некоторыми исследователями было высказано предположение о том, что ассоциация транскрибирующихся последовательностей ДНК со скелетными элементами хромосомы является артефактом, возникающим в результате агрегации транскрипционных комплексов и новосинтезированной РНК в ходе солевой экстракции [41]. Для того чтобы избежать такой агрегации, было предложено использовать для экстракции гистонов слабый ионный детергент, диодосалицилат лития [41]. Другие авторы предположили, что последовательности ДНК, участвующие в закреплении петель на ядерном матриксе, должны предпочтительно связываться с этой структурой *in vitro*. Оба подхода позволили идентифицировать одни и те же геномные элементы, которые получили названия SARs (Scaffold Attachment Regions) [41] и MARs (Matrix Attachment regions) [42]. Позже был предложен термин S/MARs, комбинирующий оба этих названия [43]. Хотя первоначальные результаты указывали на то, что S/MARs действительно могут организовывать в петли функциональные блоки генома [41, 42, 44–47], позже стало очевидно, что количество S/MARs в геноме избыточно по отношению к ожидаемому количеству структурно-функциональных блоков генома и что эти элементы могут располагаться как в некодирующих областях генома, так и внутри генов [48]. S/MAR-элементы не имеют выраженного сходства на уровне последовательности ДНК, но обладают рядом общих характеристик, таких как высокое содержание АТ-пар [42, 49, 50], присутствие сайтов узнавания ДНК-топоизомеразой II [51, 52] и способность плавиться в относительно мягких условиях, в том числе при повышенном уровне суперспирализации ДНК [53]. Из общих соображений можно было ожидать, что пограничные элементы структурно-функциональных доменов генома должны обладать барьерной активностью, т.е. должны препятствовать распространению гетерохроматина. Многочисленные попытки продемонстрировать такую активность S/MARs привели к неоднозначным результатам [54–56]. Кроме того, было показано, что S/MAR-элементы не обладают энхансер-блокирующей активностью [57]. В настоящее время наиболее обоснованной представляется модель, согласно которой S/MAR-элементы способствуют созданию и поддержанию открытых доменов хроматина. Продемонстрированная в ряде экспериментов способность S/MAR-элементов обеспечивать

высокий уровень экспрессии трансгенов скорее всего связана именно с поддержанием активного статуса хроматиновых доменов [58–60].

Способность S/MARs связываться *in vitro* со скелетными структурами ядра [42, 61] стимулировала поиск белков, связывающихся с S/MAR-элементами. Таких белков было обнаружено достаточно много [62]. Последующие исследования показали, что ряд из них (SATB1, SAF-A/hnRNP, SAF-B и другие) играют важную роль в контроле динамики хроматина и поддержании архитектуры клеточного ядра [62–65].

РАЗРЕЗАНИЕ ГЕНОМА ПО ГРАНИЦАМ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ДОМЕНОВ

Неоднозначные результаты о роли S/MAR-элементов в разграничении петлевых доменов ДНК стимулировали разработку других подходов для картирования границ петель ДНК. Как обычно в экспериментальной науке, разработка новых методов, в данном случае метода разделения чрезвычайно длинных фрагментов ДНК с помощью гель-электрофореза в пульсирующем поле [66], открыла новые возможности для решения старых вопросов. Вместо того чтобы пытаться изолировать фрагменты ДНК, лежащие в местах крепления петель ДНК к белковым структурам клеточного ядра, было предложено разрезать геном на петли, внося разрывы в основания петель с помощью ДНК-топоизомеразы II (рис. 1, в) [67, 68]. По ходу своей нормальной работы ДНК-топоизомераза II вносит двунитевые разрывы в ДНК, которые потом зашивает после пропускания одной двуспиральной молекулы ДНК через другую. Существует целый ряд агентов, которые блокируют работу ДНК-топоизомеразы II на стадии промежуточного комплекса с разорванной ДНК. Обработка клеток этими агентами может быть использована для внесения разрывов в ДНК в местах посадки фермента [69, 70]. Предложенная стратегия была основана на том факте, что ДНК-топоизомераза II является компонентом как ядерного матрикса, так и остова метафазной хромосомы [71, 72], в силу чего должна контактировать с основаниями петель ДНК, прикрепленными к этим структурам. Обработка концентрированными солевыми растворами не инактивирует ДНК-топоизомеразу II; поэтому расщепление ДНК этим ферментом можно проводить как в живых клетках, так и в ядрах, экстрагированных концентрированным солевым раствором.

Вырезанные петли ДНК разделяли посредством электрофореза в пульсирующем поле. Положения концов петель можно было картировать относительно сайтов расщепления ДНК редкощеплящими рестриктазами (Not I, Sfi I) с использованием метода непрямого мечения концов ДНК [73]. Применение этого протокола позволило картировать основания петель в нескольких сегментах различных геномов [67, 68, 74–76]. Домен куриных альфа-глобиновых генов оказался заключенным в одну петлю [68]. В рибосомных генах каждый повторяющийся блок локализован в отдельной петле [67]. В то же время ген дистрофина оказался организован в несколько петель [76]. Дальнейшие исследования показали, что крупномасштабная фрагментация ДНК (предположительно, вырезание петель ДНК) происходит на начальных стадиях апоптоза, запускаемого различными агентами [77–81]. Аналогичный паттерн крупномасштабного расщепления генома наблюдали и при ограниченной обработке пермеабилizированных клеток различными нуклеазами [82–84].

Концепция, постулирующая наличие в клеточном ядре жесткой поддерживающей структуры – ядерного матрикса – не получила удовлетворяющего экспериментального подтверждения [85–87]. Тем не менее крупномасштабная фрагментация генома, обнаруженная в ходе исследований ядерного матрикса, прямо указывает на существование протяженных структурных блоков в геноме. Следует сказать, что оценка размеров длинных фрагментов ДНК после их разделения посредством электрофореза в пульсирующем поле весьма приближительна, в том числе из-за присущих этому методу артефактов, проявляющихся в наличии участков компрессии. Рядом авторов было показано, что распределение вырезаемых фрагментов ДНК по длине является непрерывным и достаточно широким (от 50 т.п.н. до 1000 и более т.п.н.) [76]. Другие авторы сообщали о двух размерных классах сегментов генома, вырезаемых на начальных стадиях апоптоза: 100–1000 т.п.н. и 1000–2000 т.п.н. [80]. В рамках современных представлений об упаковке генома в клеточном ядре (см. ниже) такую фрагментацию можно объяснить внесением разрывов в основания петель ДНК различной природы (короткие фрагменты) и в границы топологически-ассоциированных доменов (длинные фрагменты). Исследования крупномасштабной фрагментации генома проводились до начала так называемой постгеномной эры. В связи с этим положения оснований петель были установлены только в ограниченном числе ге-

номных регионов. В ряде случаев эти положения совпадали с горячими точками хромосомных перестроек и ломкими сайтами (common fragile sites) в хромосомах [88–91]. Это позволило предположить, что петли ДНК могут быть эволюционными блоками генома [92, 93].

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ УПАКОВКЕ ДНК В ИНТЕРФАЗНЫХ ХРОМОСОМАХ

Результаты, полученные в последние десятилетия, поставили под сомнения иерархическую модель упаковки хроматина, сформулированную в 80-е годы прошлого столетия. Целый ряд наблюдений, сделанных с использованием различных методических подходов, показал, что 30-нм хроматиновая фибрилла, которую можно наблюдать в препаратах солюбилизованного хроматина, практически отсутствует в клеточном ядре. Было, в частности, показано, что как в гетерохроматине, так и в эухроматине уровень компактизации ДНК существенно превышает таковой в составе 30-нм фибриллы [94, 95]. Попытки обнаружить 30-нм фибриллы в ядрах и метафазных хромосомах с использованием различных вариантов электронной микроскопии оказались безуспешными [96–101]. Хотя полностью исключить возможность присутствия в клеточных ядрах коротких сегментов 30-нм фибриллы едва ли возможно, основным путем формирования компактных хроматиновых структур является упаковка 10-нм нуклеосомных нитей в нерегулярные компактные массы, стабилизированные взаимодействиями между нуклеосомами разных фибрилл [102–105]. Эти массы могут быть более или менее компактными в зависимости от профилей модификаций гистонов. В частности, ацетилирование гистонов способствует менее компактной укладке хроматиновых масс, препятствуя установлению межнуклеосомных контактов [106]. В компактизации локальных сегментов хроматина определенную роль играет формирование жидкофазных конденсатов [107–110]. При этом хроматин в целом демонстрирует характеристики, присущие скорее гидрогелю или даже твердому телу, чем жидкофазному конденсату [102, 111, 112].

На первый взгляд, упаковка хроматина в виде низкоупорядоченных компактных масс оставляет мало возможностей для существования структурных блоков хроматина на уровне макроукладки нуклеосомной фибриллы. Тем не менее анализ частот контактов между удаленными элементами генома с использова-

нием методов, основанных на перекрестном лигировании близкорасположенных фрагментов ДНК [113], продемонстрировал, что такие блоки все же существуют. Они получили название топологически-ассоциированных доменов (сокращенно – ТАДов) [114–116]. Размеры ТАДов существенно варьируют: в среднем они составляют ~ 1000 т.п.н. в геномах мыши и человека [115, 117] и ~ 100 т.п.н. в геноме дрозофилы [116]. Основной характеристикой ТАДов является то, что пространственные контакты равноудаленных фрагментов ДНК существенно чаще происходят внутри ТАДов, чем между ними.

ТАДы обычно представляют в виде компактных хроматиновых глобул (рис. 2, а). Хроматиновые глобулы, содержащие ~ 1000 т.п.н. ДНК, действительно легко видеть в интерфазных ядрах при анализе упаковки хроматина с помощью микроскопии сверхвысокого разрешения [118, 119]. С использованием техники визуализации ТАДов посредством гибридизации *in situ* с бакмидными пробами или наборами олигонуклеотидных проб было продемонстрировано, что ТАДы действительно имеют в первом приближении глобулярную форму [120, 121]. У дрозофилы можно наблюдать хорошее со-

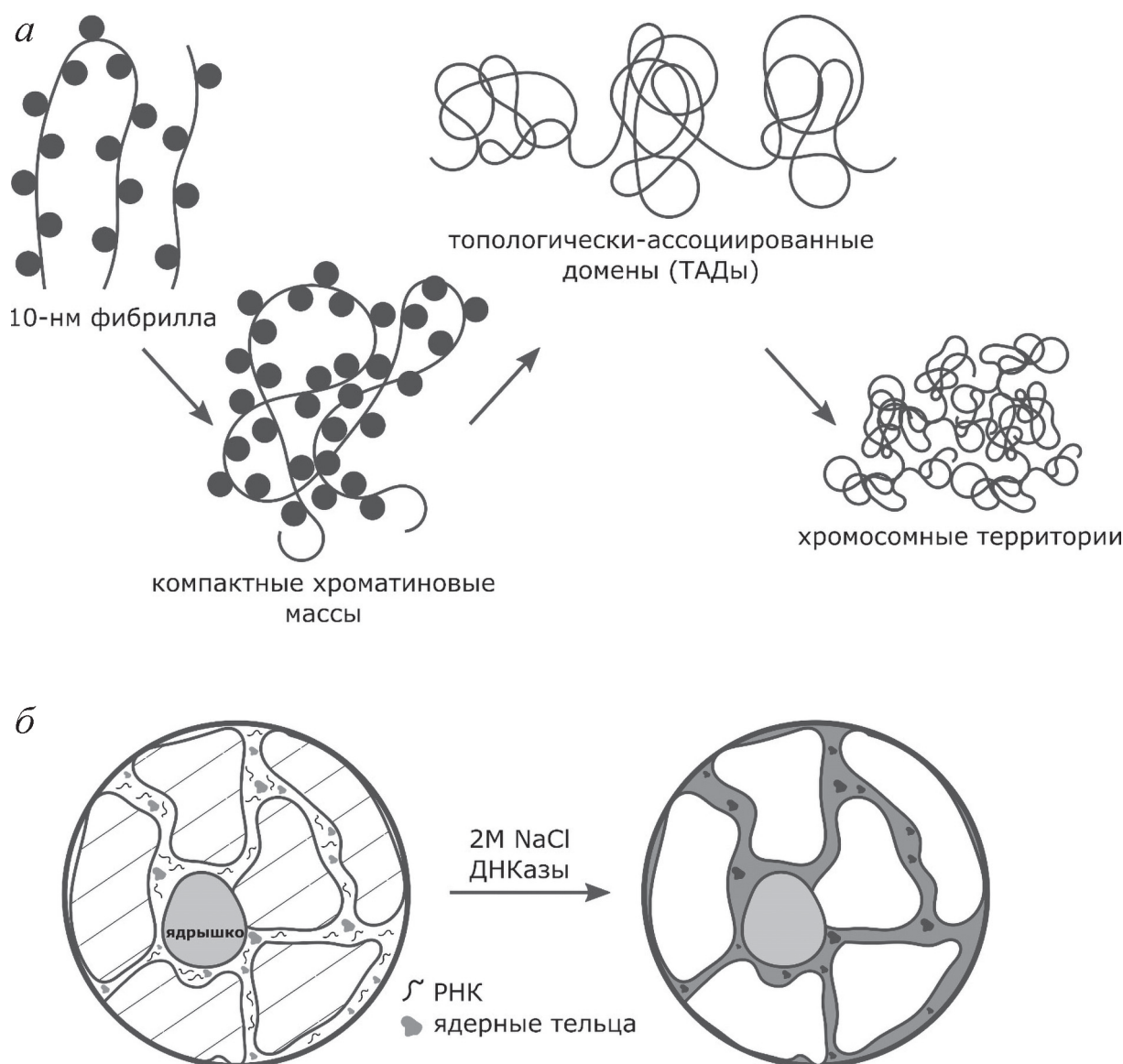


Рис. 2. Современные представления об укладке интерфазных хромосом в клеточном ядре. а – Организация 10-нм хроматиновой фибриллы в топологически-ассоциированные домены и далее в хромосомную территорию. б – Возникновение ядерного матрикса в результате агрегации содержимого интерхроматиновых каналов. Слева показана упрощенная модель организации хромосомных территорий (заштрихованные участки), разделенных интерхроматиновым компартментом. В интерхроматиновом компартменте находятся РНП-частицы и различные ядерные тельца (в том числе спеклы и транскрипционные фабрики). После обработки ядер DNКазой и солевой экстракции происходит солубилизация хроматина и агрегация содержимого интерхроматинового компартмента. Ядерные тельца оказываются включены в состав нерастворимого агрегата, который и называли ядерным матриксом

ответствие между ТАДами, выявляемыми на популяционных картах Hi-C, и индивидуальными глобулами, которые можно визуализировать посредством гибридизации *in situ* с соответствующими пробами [120]. У человека такое соответствие выражено намного хуже и становится очевидным лишь при усреднении результатов FISH на большом числе клеток [121]. Это хорошо согласуется с данными Hi-C на индивидуальных клетках, которые свидетельствуют о том, что менее 50% границ ТАДов совпадают между отдельными клетками [122].

Существуют убедительные свидетельства того, что в клетках позвоночных животных ТАДы формируются посредством динамической экструзии хроматиновых петель когезиновыми комплексами, которая ограничивается конвергентными сайтами связывания инсуляторного белка CTCF [123–125]. В границах ТАДов ДНК часто оказывается организованной в дополнительные петли различной природы, в том числе петли между сайтами связывания CTCF, энхансер-промоторные петли и петли между сайтами связывания репрессирующих транскрипцию комплексов Polycomb [117, 126].

Важной особенностью современной модели пространственной организации хромосом в клеточном ядре является то, что эта модель не предполагает наличия какой-либо непрерывной скелетной структуры (ядерного матрикса), участвующей в пространственной организации генома в интерфазном ядре. Петли ДНК, о которых говорилось выше, замыкаются благодаря взаимодействиям между привлеченными к их основаниям белками. В случае энхансер-промоторных петель существенную роль играет формирование активаторных фазовых конденсатов на энхансерах, к которым привлекаются промоторы [110]. То, что ранее называли ядерным матриксом, в действительности также является жидкофазным конденсатом, основу которого составляют гетерогенные ядерные рибонуклеопротеиновые частицы (hnRNP), которые заполняют интерхроматиновые каналы [127]. В ходе солевой экстракции ядер hnRNP-частицы агрегируют, захватывая находящиеся в интерхроматиновых каналах функциональные компартменты, в том числе центры сплайсинга (спеклы) и транскрипционные фабрики, к которым привлекаются активные гены (рис. 2, б) [87]. Таким образом формируется нерастворимый ядерный матрикс. Это объясняет, почему удерживаемая в составе ядерного матрикса фракция ДНК оказывается обогащена активными генами (см. выше). В недавно опубликованной работе процедуру, идентичную процедуре выделения ядерного

матрикса, предложили использовать для выделения ДНК, ассоциированной со спеклами [128]. Полученная авторами этой работы фракция ДНК демонстрировала те же характеристики, что изучавшаяся ранее фракция ДНК, прилежащая к ядерному матриксу [14, 128]. Пограничные участки ТАДов содержат активный хроматин [115, 129], который предпочтительно локализуется на границах интерхроматиновых каналов [130]. Соответственно, они также будут удерживаться в составе формирующегося в ходе солевой экстракции агрегата hnRNP-частиц.

Интересным представляется вопрос о том, по каким позициям происходит описанная в предыдущем разделе крупномасштабная фрагментация генома на начальных стадиях апоптоза и при обработке клеток ингибиторами ДНК-топоизомеразы II. Ряд наблюдений позволяет считать, что в этих условиях геном разрезается по границам ТАДов. Прежде всего, было продемонстрировано, что ДНК-топоизомераза II предпочтительно связывается с границами ТАДов, где она колокализуется с CTCF и когезином [131]. Кроме того, границы ТАДов содержат активный хроматин, повсеместно транскрибирующиеся гены и кластеры регуляторных элементов [115, 129]. Соответственно, границы ТАДов предпочтительно доступны для нуклеаз. Наконец, в границах ТАДов часто располагаются ранние участки начала репликации ДНК [132]. Это коррелирует с предшествующими наблюдениями, продемонстрировавшими, что участки начала репликации находятся в пограничных областях так называемых «структурных» (не связанных с осуществлением транскрипции) петель ДНК [133]. На модели домена альфа-глобиновых генов кур было показано, что сайт предпочтительного расщепления ДНК при ингибировании активности ДНК-топоизомеразы II локализуется рядом с участком начала репликации [68]. На первый взгляд, предположение о том, что крупномасштабная фрагментация генома происходит по границам ТАДов, противоречит существующим оценкам размеров прикрепленных к ядерному матриксу/скелету петель ДНК. Действительно, наиболее часто размер этих петель оценивается в 50–100 т.п.н. [14], что на порядок меньше среднего размера ТАДов в клетках млекопитающих [115]. Однако стоит принять во внимание гетерогенность хроматиновых петель, которые изучались в ранних работах [40], а также ограничения, присущие каждому методу оценки размеров петель ДНК [14]. Так, есть все основания полагать, что при спрединге дегистонизированных ядер и метафазных хромосом повреждаются наиболее длинные петли. Так что

оценка контурной длины петель на электронно-микроскопических снимках явно должна быть заниженной. Отдельно стоит сказать про метафазные хромосомы. В рамках первоначально сформулированной радиально-петлевой модели хромосомы было принято считать, что организация ДНК в петли является общей для интерфазной и метафазной хромосомы [134]. Дополнительная компактизация хромосомы при переходе из интерфазы к метафазе объяснялась реконfigurацией скелетных элементов, к которым прикреплены петли. В настоящее время продемонстрировано, что петли ДНК в метафазной хромосоме формируются заново посредством экструзии, осуществляемой конденсинами [135, 136]. При этом утрачивается организация ДНК в ТАДы. Характеристики сформированных петель, в том числе и их размеры (80 т.п.н. [135]), существенно отличаются от характеристик петель ДНК в интерфазной хромосоме. Таким образом, усредненные оценки длины петель ДНК в интерфазных и метафазных хромосомах не имеют смысла. Природа скелетных элементов метафазной хромосомы и ядерного матрикса также принципиально различна. Первые формируются из конденсина и ДНК-топоизомеразы II [137, 138], тогда как ядерный матрикс состоит преимущественно из белков hnRNP-частиц, ламинов и компонентов ядрышка [139, 140]. Возвращаясь к интерфазным хромосомам, стоит упомянуть о том, что первоначальные оценки размеров топологически-замкнутых доменов генома (петель ДНК в нуклеоидах) составляли ~ 1500 т.п.н. [6], что вполне соответствует размеру топологически-ассоциированных доменов в хромосомах млекопитающих [115]. При этом стоит отметить, что ТАДы достаточно гетерогенны по размерам. Анализ Hi-C-матриц высокого разрешения продемонстрировал, что существуют и достаточно маленькие ТАДы [117].

В рамках современной модели организации генома ТАДы рассматриваются как его эволюционные блоки [141–143]. Аналогия с тем, что говорилось ранее о закрепленных на ядерном матриксе петлях ДНК [92, 93], вполне очевидна.

НОВАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЛОКОВ ГЕНОМА

Современная модель работы энхансеров постулирует, что на энхансере формируется жидкофазный активаторный конденсат [144–147]. Для того чтобы энхансер мог активировать промотор, последний должен находиться

внутри активаторного конденсата. В большинстве случаев это достигается посредством выпетливания разделяющего промотор и энхансер фрагмента ДНК [148, 149]. Учитывая то обстоятельство, что пространственные контакты удаленных фрагментов генома возникают предпочтительно внутри ТАДов, можно ожидать, что ТАДы будут ограничивать сферу действия энхансеров. Действительно, в ряде работ было продемонстрировано, что удаление либо перемещение границ ТАДов в результате хромосомных делеций и инверсий приводит к изменению профилей транскрипции, что, в свою очередь, может стать причиной различных заболеваний [150–153]. Наряду с этим в экспериментах со случайной интеграцией в геном конструкта с репортерным геном было показано, что энхансер способен эффективно активировать промотор только в тех случаях, когда интеграция произошла в тот же ТАД, в котором находится энхансер [154]. Перечисленные результаты привели к возрождению модели построения генома из структурно-функциональных блоков, каковыми стали считать ТАДы [143, 155–158]. В этой связи хотелось бы отметить, что одним из ключевых постулатов сформулированной в 80-е годы прошлого века модели доменной организации генома являлось утверждение о том, что домен в целом является регуляторным блоком, статус которого может быть активным, либо неактивным. Далее постулировалось, что должны существовать регуляторные элементы доменного уровня, которые контролируют транскрипционный статус домена. В качестве примера таких регуляторных элементов обычно приводили область контроля локуса домена бета-глобиновых генов позвоночных животных [27, 159, 160]. Ясно, что ТАДы не соответствуют этим двум постулатам. Действительно, ТАД в целом не является регуляторным доменом, транскрипционный статус которого регулируется посредством изменения способа компактизации ДНК в границах всего ТАДа. Соответственно, не обнаружено и регуляторных элементов, контролирующих способ укладки ДНК внутри ТАДа. Говоря о регуляторном значении разделения генома на ТАДы, часто подчеркивают консервативность их профилей [115, 143], однако консервативность эта является весьма ограниченной. Так, при сравнении организации в ТАДы геномов человека и шимпанзе было выявлено лишь около 40% консервативных границ [161]. Стоит отметить и то, что в индивидуальных клетках профили разделения хромосом на ТАДы существенно различаются: меньше половины границ ТАДов в индивидуальных клетках со-

впадает со среднестатистическими границами, выявленными при анализе популяций клеток мыши или дрозофилы [122, 162]. Способность границ ТАДов препятствовать установлению энхансер-промоторной коммуникации также является относительной. Вероятность пространственных контактов внутри ТАДов лишь в два раза превышает вероятность контактов равноудаленных геномных элементов из разных ТАДов [163]. Описаны ситуации, когда энхансер и активируемый этим энхансером ген находятся в разных ТАДах [164]. В некоторых областях генома утрата границ ТАДов приводит к изменениям профилей транскрипции [165, 166], тогда как в других областях генома они не имеют выраженного эффекта [167, 168]. Утрата всех границ ТАДов в результате деплеции CTCF либо когезина не приводит к драматическим изменениям профилей транскрипции [169–172]. Складывается впечатление, что поддержание определенной пространственной конфигурации сегмента ДНК внутри ТАДа имеет большее функциональное значение, чем ограничение сферы действия энхансеров границами ТАДов [168, 173, 174].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сформулированная в 1980-е годы доменная модель организации эукариотического генома претерпела существенные изменения по ходу появления новых данных о пространственной организации генома в клеточном ядре. Привлекательность оригинальной версии этой модели [23, 24] состояла в том, что она позволяла рассчитывать на то, что понять механизм ра-

боты генома в целом можно изучая отдельные его домены. Сейчас очевидно, что такой подход оказался несостоятельным в том смысле, что геном нельзя представить в виде мозаики единообразно устроенных структурно-функциональных блоков. Хотя ТАДы в определенном смысле являются структурно-функциональными блоками генома, они не являются единообразно устроенными регуляторными доменами, которые могут активироваться или инактивироваться по принципу «все или ничего». Изучение регуляторных механизмов транскрипции на уровне всего генома демонстрирует существование множества индивидуальных решений, которые едва ли возможно уложить в некую общую модель.

Вклад авторов. Все авторы участвовали в выработке концепции и написании обзора.

Финансирование. Работа С.В. Разина и О.Л. Кантидзе поддержана Российским научным фондом (грант № 21-64-00001). Работа И.В. Жегаловой поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 20-34-90058).

Благодарности. Исследование выполнено в рамках Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Olins, A. L., and Olins, D. E. (1974) Spheroid chromatin units ([nu] bodies), *Science*, **183**, 330-332, doi: 10.1126/science.183.4122.330.
2. Axel, R. (1975) Cleavage of DNA in nuclei and chromatin with staphylococcal nuclease, *Biochemistry*, **14**, 2921-2925, doi: 10.1021/bi00684a020.
3. Finch, J. T., and Klug, A. (1976) Solenoidal model for superstructure in chromatin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**, 1897-1901, doi: 10.1073/pnas.73.6.1897.
4. Rydberg, B., Holley, W. R., Mian, I. S., and Chatterjee, A. (1998) Chromatin conformation in living cells: support for a zig-zag model of the 30 nm chromatin fiber, *J. Mol. Biol.*, **284**, 71-84, doi: 10.1006/jmbi.1998.2150.
5. Cook, P. R., Brazell, I. A., and Jost, E. (1976) Characterization of nuclear structures containing superhelical DNA, *J. Cell. Sci.*, **22**, 303-324, doi: 10.1242/jcs.22.2.303.
6. Cook, P. R., and Brazell, I. A. (1975) Supercoils in human DNA, *J. Cell. Sci.*, **19**, 261-279, doi: 10.1242/jcs.19.2.261.
7. Berezney, R., and Coffey, D. S. (1975) Nuclear protein matrix: association with newly synthesized DNA, *Science*, **189**, 291-293, doi: 10.1126/science.1145202.
8. Jackson, D. A., and Cook, P. R. (1985) Transcription occurs at a nucleoskeleton, *EMBO J.*, **4**, 919-925, doi: 10.1002/j.1460-2075.1985.tb03719.x.
9. Benyajati, C., and Worcel, A. (1976) Isolation, characterization, and structure of the folded interphase genome of *Drosophila melanogaster*, *Cell*, **9**, 393-407, doi: 10.1016/0092-8674(76)90084-2.

10. Igo-Kemennes, T., and Zachau, H. G. (1977) Domains in chromatin structure, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **42**, 109-118.
11. Razin, S. V., Mantieva, V. L., and Georgiev, G. P. (1979) The similarity of DNA sequences remaining bound to scaffold upon nuclease treatment of interphase nuclei and metaphase chromosomes, *Nucleic Acids Res.*, **7**, 1713-1735, doi: 10.1093/nar/7.6.1713.
12. Adolph, K. W., Chang, S. M., and Laemmli, U. K. (1977) Role of nonhistone proteins in metaphase chromosomes structure, *Cell*, **12**, 805-816, doi: 10.1016/0092-8674(77)90279-3.
13. Hancock, R., and Hughes, M. E. (1982) Organization of DNA in the eukaryotic nucleus, *Biol. Cell*, **44**, 201-212.
14. Razin, S. V., Gromova, I. I., and Iarovaia, O. V. (1995) Specificity and functional significance of DNA interaction with the nuclear matrix: new approaches to clarify the old questions, *Int. Rev. Cytol.*, **162B**, 405-448, doi: 10.1016/s0074-7696(08)62623-6.
15. Mullenders, L. H., van Zeeland, A. A., and Natarajan, A. T. (1983) Comparison of DNA loop size and super-coiled domain size in human cells, *Mutat. Res.*, **112**, 245-252, doi: 10.1016/0167-8817(83)90010-x.
16. Pienta, K. J., and Coffey, D. S. (1984) A structural analysis of the role of the nuclear matrix and DNA loops in the organization of the nucleus and chromosome, *J. Cell Sci. Suppl.*, **1**, 123-135, doi: 10.1242/jcs.1984.supplement_1.9.
17. Borland, L., Harauz, G., Bahr, G., and van Heel, M. (1988) Packing of the 30 nm chromatin fiber in the human metaphase chromosome, *Chromosoma*, **97**, 159-163, doi: 10.1007/BF00327373.
18. Getzenberg, R. H., Pienta, K. J., Ward, W. S., and Coffey, D. S. (1991) Nuclear structure and the three-dimensional organization of DNA, *J. Cell Biochem.*, **47**, 289-299, doi: 10.1002/jcb.240470402.
19. Weintraub, H., and Groudine, M. (1976) Chromosomal subunits in active genes have an altered conformation, *Science*, **73**, 848-856, doi: 10.1126/science.948749.
20. Stalder, J., Larsen, A., Engel, J. D., Dolan, M., Groudine, M., et al. (1980) Tissue-specific DNA cleavages in the globin chromatin domain introduced by DNAase I, *Cell*, **20**, 451-460, doi: 10.1016/0092-8674(80)90631-5.
21. Lawson, G. M., Knoll, B. J., March, C. J., Woo, S. L. C., Tsai, M.-J., et al. (1982) Definition of 5' and 3' structural boundaries of the chromatin domain containing the ovalbumin multigene family, *J. Biol. Chem.*, **257**, 1501-1507, doi: 10.1016/S0021-9258(19)68221-9.
22. Lawson, G. M., Tsai, M. J., and O'Malley, B. W. (1980) Deoxyribonuclease I sensitivity of the nontranscribed sequences flanking the 5' and 3' ends of the ovomucoid gene and the ovalbumin and its related X and Y genes in hen oviduct nuclei, *Biochemistry*, **19**, 4403-4441, doi: 10.1021/bi00560a004.
23. Bodnar, J. W. (1988) A domain model for eukaryotic DNA organization: a molecular basis for cell differentiation and chromosome evolution, *J. Theor. Biol.*, **132**, 479-507, doi: 10.1016/s0022-5193(88)80086-9.
24. Goldman, M. A. (1988) The chromatin domain as a unit of gene regulation, *Bioessays*, **9**, 50-55, doi: 10.1002/bies.950090204.
25. Razin, S. V., Iarovaia, O. V., Sjakste, N., Sjakste, T., Bagdoniene, L., et al. (2007) Chromatin domains and regulation of transcription, *J. Mol. Biol.*, **369**, 597-607, doi: 10.1016/j.jmb.2007.04.003.
26. Grosveld, F., van Assandelt, G. B., Greaves, D. R., and Kollias, B. (1987) Position-independent, high-level expression of the human b-globin gene in transgenic mice, *Cell*, **51**, 975-985, doi: 10.1016/0092-8674(87)90584-8.
27. Forrester, W. C., Epner, E., Driscoll, M. C., Enver, T., Brice, M., et al. (1990) A deletion of the human b-globin locus activation region causes a major alteration in chromatin structure and replication across the entire b-globin locus, *Genes Dev.*, **4**, 1637-1649, doi: 10.1101/gad.4.10.1637.
28. Razin, S. V. (1996) Functional architecture of chromosomal DNA domains, *Crit. Rev. Eukar. Gene Expr.*, **6**, 247-269, doi: 10.1615/critreveukargeneexpr.v6.i2-3.70.
29. Cook, P. R., and Brazell, I. A. (1980) Mapping sequences in loops of nuclear DNA by their progressive detachment from the nuclear cage, *Nucleic Acids Res.*, **8**, 2895-2907, doi: 10.1093/nar/8.13.2895.
30. Robinson, S. I., Nelkin, B. D., and Vogelstein, B. (1982) The ovalbumin gene is associated with the nuclear matrix of chicken oviduct cells, *Cell*, **28**, 99-106, doi: 10.1016/0092-8674(82)90379-8.
31. Robinson, S. I., Small, D., Idzerda, R., McKnight, G. S., and Vogelstein, B. (1983) The association of active genes with the nuclear matrix of the chicken oviduct, *Nucleic Acids Res.*, **15**, 5113-5130, doi: 10.1093/nar/11.15.5113.
32. Small, D., Nelkin, B., and Vogelstein, B. (1985) The association of transcribed genes with the nuclear matrix of *Drosophila* cells during heat shock, *Nucleic Acids Res.*, **13**, 2413-2431.
33. Cook, P. R. (1989) The nucleoskeleton and the topology of transcription, *Eur. J. Biochem.*, **185**, 487-501, doi: 10.1111/j.1432-1033.1989.tb15141.x.
34. Cook, P. R. (1991) The nucleoskeleton and the topology of replication, *Cell*, **66**, 627-635, doi: 10.1016/0092-8674(91)90109-c.
35. Cook, P. R. (1999) The organization of replication and transcription, *Science*, **284**, 1790-1795, doi: 10.1126/science.284.5421.1790.
36. 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 (Pt 6)**, 1427-1436, doi: 10.1242/jcs.109.6.1427.
37. Hozak, P., Hassan, A. B., Jackson, D. A., and Cook, P. R. (1993) Visualization of replication factories attached to nucleoskeleton, *Cell*, **73**, 361-373, doi: 10.1016/0092-8674(93)90235-i.
38. 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, *Nucleic Acids Res.*, **46**, 9895-9906, doi: 10.1093/nar/gky763.

39. Bertero, A. (2021) RNA biogenesis instructs functional inter-chromosomal genome architecture, *Front. Genet.*, **12**, 645863, doi: 10.3389/fgene.2021.645863.
40. Razin, S. V. (1987) DNA interaction with the nuclear matrix and spatial organization of replication and transcription, *BioEssays*, **6**, 19-23, doi: 10.1002/bies.950060106.
41. Mirkovitch, J., Mirault, M.-E., and Laemmli, U. K. (1984) Organization of the higher-order chromatin loop: specific DNA attachment sites on nuclear scaffold, *Cell*, **39**, 223-232, doi: 10.1016/0092-8674(84)90208-3.
42. Cockerill, P. N., and Garrard, W. T. (1986) Chromosomal loop anchorage of the kappa immunoglobulin gene occurs next to the enhancer in a region containing topoisomerase II sites, *Cell*, **44**, 273-282, doi: 10.1016/0092-8674(86)90761-0.
43. Bode, J., Schlake, T., Rios-Ramirez, M., Mielke, C., Stengert, M., et al. (1995) Scaffold/matrix-attached regions: Structural properties creating transcriptionally active loci, *Int. Rev. Cytol.*, **162A**, 389-454, doi: 10.1016/s0074-7696(08)61235-8.
44. Mirkovitch, J., Spierer, P., and Laemmli, U. K. (1986) Genes and loops in 320,000 base-pairs of the *Drosophila melanogaster* chromosome, *J. Mol. Biol.*, **190**, 255-258, doi: 10.1016/0022-2836(86)90296-2.
45. Gasser, S. M., and Laemmli, U. K. (1986) Cohabitation of scaffold binding regions with upstream/enhancer elements of three developmentally regulated genes of *D. melanogaster*, *Cell*, **46**, 521-530, doi: 10.1016/0092-8674(86)90877-9.
46. Schwartz, Y. B., Ioudinkova, E. S., Demakov, S. A., Razin, S. V., and Zhimulev, I. F. (1999) Interbands of *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes contain matrix association regions, *J. Cell Biochem.*, **72**, 368-372, doi: 10.1002/(SICI)1097-4644(19990301)72:3<368::AID-JCB6>3.0.CO;2-C.
47. Levy-Wilson, B., and Fortier, C. (1989) The limits of the DNase I-sensitive domain of the human apolipoprotein B gene coincide with the locations of chromosomal anchorage loops and define the 5' and 3' boundaries of the gene, *J. Biol. Chem.*, **264**, 21196-22204, doi: 10.1016/S0021-9258(19)30066-3.
48. Pathak, R. U., Srinivasan, A., and Mishra, R. K. (2014) Genome-wide mapping of matrix attachment regions in *Drosophila melanogaster*, *BMC Genomics*, **15**, 1022, doi: 10.1186/1471-2164-15-1022.
49. Liebich, I., Bode, J., Reuter, I., and Wingender, E. (2002) Evaluation of sequence motifs found in scaffold/matrix-attached regions (S/MARs), *Nucleic Acids Res.*, **30**, 3433-3442, doi: 10.1093/nar/gkf446.
50. Boulikas, T. (1992) Homeotic protein binding sites, origins of replication, and nuclear matrix anchorage sites share the ATTA and ATTTA motifs, *J. Cell Biochem.*, **50**, 111-123, doi: 10.1002/jcb.240500202.
51. Gasser, S. M., and Laemmli, U. K. (1986) The organization of chromatin loops: characterization of a scaffold attachment site, *EMBO J.*, **5**, 511-518, doi: 10.1002/j.1460-2075.1986.tb04240.x.
52. Adachi, Y., Käs, E., and Laemmli, U. K. (1989) Preferential, cooperative binding of DNA topoisomerase II to scaffold-associated regions, *EMBO J.*, **8**, 3997-4006, doi: 10.1002/j.1460-2075.1989.tb08582.x.
53. Bode, J., Winkelmann, S., Gotze, S., Spiker, S., Tsutsui, K., et al. (2006) Correlations between scaffold/matrix attachment region (S/MAR) binding activity and DNA duplex destabilization energy, *J. Mol. Biol.*, **358**, 597-613, doi: 10.1016/j.jmb.2005.11.073.
54. Attal, J., Cajero-Juarez, M., Petitclerc, D., Theron, M. C., Stinnakre, M. G., et al. (1995) The effect of matrix attached regions (MAR) and specialized chromatin structure (SCS) on the expression of gene constructs in cultured cells and in transgenic mice, *Mol. Biol. Rep.*, **22**, 37-46, doi: 10.1007/BF00996303.
55. McKnight, R. A., Shamay, A., Sankaran, L., Wall, R. J., and Hennighausen, L. (1992) Matrix-attachment regions can impart position-independent regulation of a tissue-specific gene in transgenic mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 6943-6947, doi: 10.1073/pnas.89.15.6943.
56. De Bolle, M. F., Butaye, K. M., Goderis, I. J., Wouters, P. F., Jacobs, A., et al. (2007) The influence of matrix attachment regions on transgene expression in *Arabidopsis thaliana* wild type and gene silencing mutants, *Plant Mol. Biol.*, **63**, 533-543, doi: 10.1007/s11103-006-9107-x.
57. Kellum, R., and Schedl, P. (1992) A group of scs elements function as boundaries in enhancer-blocking assay, *Mol. Cell. Biol.*, **12**, 2424-2431, doi: 10.1128/mcb.12.5.2424.
58. Zhao, C. P., Guo, X., Chen, S. J., Li, C. Z., Yang, Y., et al. (2017) Matrix attachment region combinations increase transgene expression in transfected Chinese hamster ovary cells, *Sci. Rep.*, **7**, 42805, doi: 10.1038/srep42805.
59. Ji, L., Xu, R., Lu, L., Zhang, J., Yang, G., et al. (2013) TM6, a novel nuclear matrix attachment region, enhances its flanking gene expression through influencing their chromatin structure, *Mol. Cells*, **36**, 127-137, doi: 10.1007/s10059-013-0092-z.
60. Fukuda, Y., and Nishikawa, S. (2003) Matrix attachment regions enhance transcription of a downstream transgene and the accessibility of its promoter region to micrococcal nuclease, *Plant Mol. Biol.*, **51**, 665-675, doi: 10.1023/a:1022509909838.
61. Izaurrealde, E., Mirkovich, J., and Laemmli, U. K. (1988) Interaction of DNA with nuclear scaffolds *in vitro*, *J. Mol. Biol.*, **200**, 111-125, doi: 10.1016/0022-2836(88)90337-3.
62. Wang, T. Y., Han, Z. M., Chai, Y. R., and Zhang, J. H. (2010) A mini review of MAR-binding proteins, *Mol. Biol. Rep.*, **37**, 3553-3560, doi: 10.1007/s11033-010-0003-8.
63. Naik, R., and Galande, S. (2019) SATB family chromatin organizers as master regulators of tumor progression, *Oncogene*, **38**, 1989-2004, doi: 10.1038/s41388-018-0541-4.
64. Marena, M., Lazarova, E., and Gilbert, N. (2022) The role of SAF-A/hnRNP U in regulating chromatin structure, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **72**, 38-44, doi: 10.1016/j.gde.2021.10.008.
65. Chattopadhyay, S., and Pavithra, L. (2007) MARs and MARBPs: key modulators of gene regulation and disease manifestation, *Subcell Biochem.*, **41**, 213-230.

66. Schwartz, D. C., and Cantor, C. R. (1984) Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis, *Cell*, **37**, 67-75, doi: 10.1016/0092-8674(84)90301-5.
67. Razin, S. V., Hancock, R., Iarovaia, O., Westergaard, O., Gromova, I., et al. (1993) Structural-functional organization of chromosomal DNA domains, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **58**, 25-35, doi: 10.1101/sqb.1993.058.01.006.
68. Razin, S. V., Petrov, P., and Hancock, R. (1991) Precise localization of the α -globin gene cluster within one of the 20- to 300-Kilobase DNA fragment released by cleavage of chicken chromosomal DNA at topoisomerase II site *in vivo*: evidence that the fragment are DNA loops or domains, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 8515-8519, doi: 10.1073/pnas.88.19.8515.
69. Liu, L. F. (1983) DNA topoisomerases – enzymes that catalyse the breaking and rejoining of DNA, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, **15**, 1-24, doi: 10.3109/10409238309102799.
70. Liu, L. F. (1989) DNA topoisomerase poisons as antitumor drugs, *Annu. Rev. Biochem.*, **58**, 351-375, doi: 10.1146/annurev.bi.58.070189.002031.
71. Berrios, M., Osheroff, N., and Fischer, P. A. (1985) In situ localization of DNA topoisomerase II, a major polypeptide component of the *Drosophila* nuclear matrix fraction, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 4142-4146, doi: 10.1073/pnas.82.12.4142.
72. Gasser, S. M., Laroche, T., Falquet, J., Boy de la Tour, E., and Laemmli, U. K. (1986) Metaphase chromosome structure. Involvement of topoisomerase II, *J. Mol. Biol.*, **188**, 613-629, doi: 10.1016/s0022-2836(86)80010-9.
73. Nedospasov, S. A., and Georgiev, G. P. (1980) Non-random cleavage of SV40 DNA in the compact minichromosome and free in solution by micrococcal nuclease, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **92**, 532-539, doi: 10.1016/0006-291x(80)90366-6.
74. Gromova, I. I., Thomsen, B., and Razin, S. V. (1995) Different topoisomerase II antitumor drugs direct similar specific long-range fragmentation of an amplified c-MYC gene locus in living cells and in high-salt-extracted nuclei, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 102-106, doi: 10.1073/pnas.92.1.102.
75. Iarovaia, O., Hancock, R., Lagarkova, M., Miassod, R., and Razin, S. V. (1996) Mapping of genomic DNA loop organization in a 500-kilobase region of the *Drosophila* X chromosome by the topoisomerase II-mediated DNA loop excision protocol, *Mol. Cell Biol.*, **16**, 302-308, doi: 10.1128/mcb.16.1.302.
76. Iarovaia, O. V., Bystritskiy, A., Ravcheev, D., Hancock, R., and Razin, S. V. (2004) Visualization of individual DNA loops and a map of loop-domains in the human dystrophin gene, *Nucleic Acids Res.*, **32**, 2079-2086, doi: 10.1093/nar/gkh532.
77. Lagarkova, M. A., Iarovaia, O. V., and Razin, S. V. (1995) The large-scale fragmentation of mammalian DNA in the course of apoptosis proceeds via excision of chromosomal DNA loops and their oligomers, *J. Biol. Chem.*, **270**, 20239-20241, doi: 10.1074/jbc.270.35.20239.
78. Solovyan, V. T., Bezvenyuk, Z. A., Salminen, A., Austin, C. A., and Courtney, M. J. (2002) The role of topoisomerase II in the excision of DNA loop domains during apoptosis, *J. Biol. Chem.*, **277**, 21458-21467, doi: 10.1074/jbc.M110621200.
79. Bezvenyuk, Z., Salminen, A., and Solovyan, V. (2000) Excision of DNA loop domains as a common step in caspase-dependent and -independent types of neuronal cell death, *Brain Res. Mol. Brain Res.*, **81**, 191-196, doi: 10.1016/s0169-328x(00)00174-1.
80. Rho, J. H., Kang, D. Y., Park, K. J., Choi, H. J., Lee, H. S., et al. (2005) Doxorubicin induces apoptosis with profile of large-scale DNA fragmentation and without DNA ladder in anaplastic thyroid carcinoma cells via histone hyperacetylation, *Int. J. Oncol.*, **27**, 465-471, doi: 10.3892/ijo.27.2.465.
81. Li, T. K., Chen, A. Y., Yu, C., Mao, Y., Wang, H., et al. (1999) Activation of topoisomerase II-mediated excision of chromosomal DNA loops during oxidative stress, *Genes Dev.*, **13**, 1553-1560, doi: 10.1101/gad.13.12.1553.
82. Gromova, I. I., Nielsen, O. F., and Razin, S. V. (1995) Long-range fragmentation of the eukaryotic genome by exogenous and endogenous nucleases proceeds in a specific fashion via preferential DNA cleavage at matrix attachment sites, *J. Biol. Chem.*, **270**, 18685-18690, doi: 10.1074/jbc.270.31.18685.
83. Lagarkova, M. A., Iarovaia, O. V., and Razin, S. V. (1995) Excision of chromosomal DNA loops by pretreatment of permeabilised cells with Bal 31 nuclease, *Mol. Gen. Genet.*, **249**, 253-256, doi: 10.1007/BF00290373.
84. Sotolongo, B., Huang, T. T., Isenberger, E., and Ward, W. S. (2005) An endogenous nuclease in hamster, mouse, and human spermatozoa cleaves DNA into loop-sized fragments, *J. Androl.*, **26**, 272-280, doi: 10.1002/j.1939-4640.2005.tb01095.x.
85. Hancock, R. (2000) A new look at the nuclear matrix, *Chromosoma*, **109**, 219-225, doi: 10.1007/s004120000077.
86. Pederson, T. (2000) Half a century of “the nuclear matrix”, *Mol. Biol. Cell*, **11**, 799-805, doi: 10.1091/mbc.11.3.799.
87. Razin, S. V., Iarovaia, O. V., and Vassetzky, Y. S. (2014) A requiem to the nuclear matrix: from a controversial concept to 3D organization of the nucleus, *Chromosoma*, **123**, 217-224, doi: 10.1007/s00412-014-0459-8.
88. Svetlova, E. Y., Razin, S. V., and Debatisse, M. (2001) Mammalian recombination hot spot and DNA loop anchorage region: a model for the study of common fragile sites, *J. Cell. Biochem.*, **S36**, 170-178, doi: 10.1002/jcb.1081.
89. Stanulla, M., Wang, J., Chervinsky, D. S., Thandla, S., and Aplan, P. D. (1997) DNA cleavage within the MLL breakpoint cluster region is a specific event which occurs as part of higher-order chromatin fragmentation during the initial stages of apoptosis, *Mol. Cell Biol.*, **17**, 4070-4079, doi: 10.1128/MCB.17.7.4070.
90. Aplan, P. D., Chervinsky, D. S., Stanulla, M., and Burhans, W. C. (1996) Site-specific DNA cleavage

- within the MLL breakpoint cluster region induced by topoisomerase II inhibitors, *Blood*, **87**, 2649-2658.
91. Felix, C. A. (1998) Secondary leukemias induced by topoisomerase-targeted drugs, *Biochim. Biophys. Acta*, **1400**, 233-255, doi: 10.1016/s0167-4781(98)00139-0.
 92. Razin, S. V. (1999) Chromosomal DNA loops may constitute basic units of the genome organization and evolution, *Crit. Rev. Eukar. Gene Exp.*, **9**, 279-283, doi: 10.1615/critreveukargeneexpr.v9.i3-4.120.
 93. Kantidze, O. L., and Razin, S. V. (2009) Chromatin loops, illegitimate recombination, and genome evolution, *Bioessays*, **31**, 278-286, doi: 10.1002/bies.200800165.
 94. Lawrence, J. B., Singer, R. H., and McNeil, J. A. (1990) Interphase and metaphase resolution of different distances within the human dystrophin gene, *Science*, **249**, 928-932, doi: 10.1126/science.2203143.
 95. Hu, Y., Kireev, I., Plutz, M., Ashourian, N., and Belmont, A. S. (2009) Large-scale chromatin structure of inducible genes: transcription on a condensed, linear template, *J. Cell Biol.*, **185**, 87-100, doi: 10.1083/jcb.200809196.
 96. Fussner, E., Strauss, M., Djuric, U., Li, R., Ahmed, K., et al. (2012) Open and closed domains in the mouse genome are configured as 10-nm chromatin fibres, *EMBO Rep.*, **13**, 992-996, doi: 10.1038/embor.2012.139.
 97. Nishino, Y., Eltsov, M., Joti, Y., Ito, K., Takata, H., et al. (2012) Human mitotic chromosomes consist predominantly of irregularly folded nucleosome fibres without a 30-nm chromatin structure, *EMBO J.*, **31**, 1644-1653, doi: 10.1038/emboj.2012.35.
 98. Eltsov, M., Maclellan, K. M., Maeshima, K., Frangakis, A. S., and Dubochet, J. (2008) Analysis of cryo-electron microscopy images does not support the existence of 30-nm chromatin fibers in mitotic chromosomes *in situ*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 19732-19737, doi: 10.1073/pnas.0810057105.
 99. Maeshima, K., Imai, R., Hikima, T., and Joti, Y. (2014) Chromatin structure revealed by X-ray scattering analysis and computational modeling, *Methods*, **70**, 154-161, doi: 10.1016/j.ymeth.2014.08.008.
 100. Joti, Y., Hikima, T., Nishino, Y., Kamada, F., Hihara, S., et al. (2012) Chromosomes without a 30-nm chromatin fiber, *Nucleus*, **3**, 404-410, doi: 10.4161/nucl.21222.
 101. Razin, S. V., and Gavrilov, A. A. (2014) Chromatin without the 30-nm fiber: constrained disorder instead of hierarchical folding, *Epigenetics*, **9**, 653-657, doi: 10.4161/epi.28297.
 102. Itoh, Y., Woods, E. J., Minami, K., Maeshima, K., and Collepardo-Guevara, R. (2021) Liquid-like chromatin in the cell: what can we learn from imaging and computational modeling? *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **71**, 123-135, doi: 10.1016/j.sbi.2021.06.004.
 103. Maeshima, K., Ide, S., Hibino, K., and Sasai, M. (2016) Liquid-like behavior of chromatin, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **37**, 36-45, doi: 10.1016/j.gde.2015.11.006.
 104. Nozaki, T., Kaizu, K., Pack, C. G., Tamura, S., Tani, T., et al. (2013) Flexible and dynamic nucleosome fiber in living mammalian cells, *Nucleus*, **4**, 349-356, doi: 10.4161/nucl.26053.
 105. Hansen, J. C., Connolly, M., McDonald, C. J., Pan, A., Pryamkova, A., et al. (2018) The 10-nm chromatin fiber and its relationship to interphase chromosome organization, *Biochem. Soc. Trans.*, **46**, 67-76, doi: 10.1042/BST20170101.
 106. Allahverdi, A., Yang, R., Korolev, N., Fan, Y., Davey, C. A., et al. (2011) The effects of histone H4 tail acetylations on cation-induced chromatin folding and self-association, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 1680-1691, doi: 10.1093/nar/gkq900.
 107. Laghmach, R., Di Pierro, M., and Potoyan, D. (2021) A liquid state perspective on dynamics of chromatin compartments, *Front. Mol. Biosci.*, **8**, 781981, doi: 10.3389/fmolb.2021.781981.
 108. Lee, R., Kang, M. K., Kim, Y. J., Yang, B., Shim, H., et al. (2022) CTCF-mediated chromatin looping provides a topological framework for the formation of phase-separated transcriptional condensates, *Nucleic Acids Res.*, **50**, 207-226, doi: 10.1093/nar/gkab1242.
 109. Rippe, K., and Papantonis, A. (2021) RNA polymerase II transcription compartments: from multivalent chromatin binding to liquid droplet formation? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **22**, 645-646, doi: 10.1038/s41580-021-00401-6.
 110. Razin, S. V., and Gavrilov, A. A. (2020) The role of liquid-liquid phase separation in the compartmentalization of cell nucleus and spatial genome organization, *Biochemistry (Moscow)*, **85**, 643-650, doi: 10.1134/S0006297920060012.
 111. Hansen, J. C., Maeshima, K., and Hendzel, M. J. (2021) The solid and liquid states of chromatin, *Epigenetics Chromatin*, **14**, 50, doi: 10.1186/s13072-021-00424-5.
 112. Strickfaden, H., Tolsma, T. O., Sharma, A., Underhill, D. A., Hansen, J. C., et al. (2020) Condensed chromatin behaves like a solid on the mesoscale in vitro and in living cells, *Cell*, **183**, 1772-1784.e1713, doi: 10.1016/j.cell.2020.11.027.
 113. De Wit, E., and de Laat, W. (2012) A decade of 3C technologies: insights into nuclear organization, *Genes Dev.*, **26**, 11-24, doi: 10.1101/gad.179804.111.
 114. Nora, E. P., Lajoie, B. R., Schulz, E. G., Giorgetti, L., Okamoto, I., et al. (2012) Spatial partitioning of the regulatory landscape of the X-inactivation centre, *Nature*, **485**, 381-385, doi: 10.1038/nature11049.
 115. Dixon, J. R., Selvaraj, S., Yue, F., Kim, A., Li, Y., et al. (2012) Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions, *Nature*, **485**, 376-380, doi: 10.1038/nature11082.
 116. Sexton, T., Yaffe, E., Kenigsberg, E., Bantignies, F., Leblanc, B., et al. (2012) Three-dimensional folding and functional organization principles of the Drosophila genome, *Cell*, **148**, 458-472, doi: 10.1016/j.cell.2012.01.010.
 117. Rao, S. S., Huntley, M. H., Durand, N. C., Stamenova, E. K., Bochkov, I. D., et al. (2014) A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping, *Cell*, **159**, 1665-1680, doi: 10.1016/j.cell.2014.11.021.

118. Smeets, D., Markaki, Y., Schmid, V. J., Kraus, F., Tattermusch, A., et al. (2014) Three-dimensional super-resolution microscopy of the inactive X chromosome territory reveals a collapse of its active nuclear compartment harboring distinct Xist RNA foci, *Epigenetics Chromatin*, **7**, 8, doi: 10.1186/1756-8935-7-8.
119. Cremer, T., Cremer, M., Hubner, B., Strickfaden, H., Smeets, D., et al. (2015) The 4D nucleome: Evidence for a dynamic nuclear landscape based on co-aligned active and inactive nuclear compartments, *FEBS Lett.*, **589**, 2931-2943, doi: 10.1016/j.febslet.2015.05.037.
120. Szabo, Q., Jost, D., Chang, J. M., Cattoni, D. I., Papadopoulos, G. L., et al. (2018) TADs are 3D structural units of higher-order chromosome organization in *Drosophila*, *Sci. Adv.*, **4**, eaar8082, doi: 10.1126/sciadv.aar8082.
121. Bintu, B., Mateo, L. J., Su, J. H., Sinnott-Armstrong, N. A., Parker, M., et al. (2018) Super-resolution chromatin tracing reveals domains and cooperative interactions in single cells, *Science*, **362**, doi: 10.1126/science.aau1783.
122. Flyamer, I. M., Gassler, J., Imakaev, M., Brandao, H. B., Ulianov, S. V., et al. (2017) Single-nucleus Hi-C reveals unique chromatin reorganization at oocyte-to-zygote transition, *Nature*, **544**, 110-114, doi: 10.1038/nature21711.
123. Fudenberg, G., Imakaev, M., Lu, C., Goloborodko, A., Abdennur, N., et al. (2016) Formation of chromosomal domains by loop extrusion, *Cell Rep.*, **15**, 2038-2049, doi: 10.1016/j.celrep.2016.04.085.
124. Sanborn, A. L., Rao, S. S., Huang, S. C., Durand, N. C., Huntley, M. H., 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**, E6456-6465, doi: 10.1073/pnas.1518552112.
125. Davidson, I. F., and Peters, J. M. (2021) Genome folding through loop extrusion by SMC complexes, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **22**, 445-464, doi: 10.1038/s41580-021-00349-7.
126. Cheutin, T., and Cavalli, G. (2014) Polycomb silencing: from linear chromatin domains to 3D chromosome folding, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **25**, 30-37, doi: 10.1016/j.gde.2013.11.016.
127. Razin, S. V., and Gavrillov, A. A. (2021) Non-coding RNAs in chromatin folding and nuclear organization, *Cell. Mol. Life Sci.*, **78**, 5489-5504, doi: 10.1007/s00018-021-03876-w.
128. Baudement, M. O., Cournac, A., Court, F., Seveno, M., Parrinello, H., et al. (2018) High-salt-recovered sequences are associated with the active chromosomal compartment and with large ribonucleoprotein complexes including nuclear bodies, *Genome Res.*, **28**, 1733-1746, doi: 10.1101/gr.237073.118.
129. Ulianov, S. V., Khrameeva, E. E., Gavrillov, A. A., Flyamer, I. M., Kos, P., et al. (2016) Active chromatin and transcription play a key role in chromosome partitioning into topologically associating domains, *Genome Res.*, **26**, 70-84, doi: 10.1101/gr.196006.115.
130. 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.
131. Uusküla-Reimand, L., Hou, H., Samavarchi-Tehrani, P., Vietri Rudan, M., Liang, M., et al. (2016) Topoisomerase II beta interacts with cohesin and CTCF at topological domain borders, *Genome Biol.*, **17**, 182, doi: 10.1186/s13059-016-1043-8.
132. Emerson, D. J., Zhao, P. A., Cook, A. L., Barnett, R. J., Klein, K. N., et al. (2022) Cohesin-mediated loop anchors confine the locations of human replication origins, *Nature*, **606**, 812-819, doi: 10.1038/s41586-022-04803-0.
133. Razin, S. V., Kekelidze, M. G., Lukanidin, E. M., Scherrer, K., and Georgiev, G. P. (1986) Replication origins are attached to the nuclear skeleton, *Nucleic Acids Res.*, **14**, 8189-8207, doi: 10.1093/nar/14.20.8189.
134. Micheli, G., Luzzatto, A. R., Carri, M. T., de Capoa, A., and Pelliccia, F. (1993) Chromosome length and DNA loop size during early embryonic development of *Xenopus laevis*, *Chromosoma*, **102**, 478-483, doi: 10.1007/BF00357103.
135. Naumova, N., Imakaev, M., Fudenberg, G., Zhan, Y., Lajoie, B. R., et al. (2013) Organization of the mitotic chromosome, *Science*, **342**, 948-953, doi: 10.1126/science.1236083.
136. Golfier, S., Quail, T., Kimura, H., and Brugués, J. (2020) Cohesin and condensin extrude DNA loops in a cell cycle-dependent manner, *Elife*, **9**, doi: 10.7554/eLife.53885.
137. Maeshima, K., and Laemmli, U. K. (2003) A two-step scaffolding model for mitotic chromosome assembly, *Dev. Cell*, **4**, 467-480, doi: 10.1016/s1534-5807(03)00092-3.
138. Meijering, A. E. C., Sarlos, K., Nielsen, C. F., Witt, H., Harju, J., et al. (2022) Nonlinear mechanics of human mitotic chromosomes, *Nature*, **605**, 545-550, doi: 10.1038/s41586-022-04666-5.
139. Mattern, K. A., Humbel, B. M., Muijsers, A. O., de Jong, L., and van Driel, R. (1996) hnRNP proteins and B23 are the major proteins of the internal nuclear matrix of HeLa S3 cells, *J. Cell Biochem.*, **62**, 275-289, doi: 10.1002/(SICI)1097-4644(199608)62:2<275::AID-JCB15>3.0.CO;2-K.
140. Martelli, A. M., Manzoli, L., Rubbini, S., Billi, A. M., Bareggi, R., et al. (1995) The protein composition of Friend cell nuclear matrix stabilized by various treatments. Different recovery of nucleolar proteins B23 and C23 and nuclear lamins, *Biol. Cell*, **83**, 15-22, doi: 10.1016/0248-4900(96)89927-8.
141. Liao, Y., Zhang, X., Chakraborty, M., and Emerson, J. J. (2021) Topologically associating domains and their role in the evolution of genome structure and function in *Drosophila*, *Genome Res.*, **31**, 397-410, doi: 10.1101/gr.266130.120.
142. Galupa, R., and Heard, E. (2017) Topologically associating domains in chromosome architecture and gene regulatory landscapes during development, disease, and evolution, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **82**, 267-278, doi: 10.1101/sqb.2017.82.035030.

143. Krefting, J., Andrade-Navarro, M. A., and Ibn-Salem, J. (2018) Evolutionary stability of topologically associating domains is associated with conserved gene regulation, *BMC Biol.*, **16**, 87, doi: 10.1186/s12915-018-0556-x.
144. Shrinivas, K., Sabari, B. R., Coffey, E. L., Klein, I. A., Boija, A., et al. (2019) Enhancer features that drive formation of transcriptional condensates, *Mol. Cell*, **75**, 549-561.e547, doi: 10.1016/j.molcel.2019.07.009.
145. Sabari, B. R., Dall'Agnesse, A., Boija, A., Klein, I. A., Coffey, E. L., et al. (2018) Coactivator condensation at super-enhancers links phase separation and gene control, *Science*, **361**, doi: 10.1126/science.aar3958.
146. 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.
147. Serebreni, L., and Stark, A. (2021) Insights into gene regulation: from regulatory genomic elements to DNA-protein and protein-protein interactions, *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **70**, 58-66, doi: 10.1016/j.ceb.2020.11.009.
148. Vernimmen, D., and Bickmore, W. A. (2015) The hierarchy of transcriptional activation: from enhancer to promoter, *Trends Genet.*, **31**, 696-708, doi: 10.1016/j.tig.2015.10.004.
149. Mifsud, B., Tavares-Cadete, F., Young, A. N., Sugar, R., Schoenfelder, S., et al. (2015) Mapping long-range promoter contacts in human cells with high-resolution capture Hi-C, *Nat. Genet.*, **47**, 598-606, doi: 10.1038/ng.3286.
150. Lupianez, D. G., Kraft, K., Heinrich, V., Krawitz, P., Brancati, F., et al. (2015) Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions, *Cell*, **161**, 1012-1025, doi: 10.1016/j.cell.2015.04.004.
151. Lupianez, D. G., Spielmann, M., and Mundlos, S. (2016) Breaking TADs: how alterations of chromatin domains result in disease, *Trends Genet.*, **32**, 225-237, doi: 10.1016/j.tig.2016.01.003.
152. Franke, M., Ibrahim, D. M., Andrey, G., Schwarzer, W., Heinrich, V., et al. (2016) Formation of new chromatin domains determines pathogenicity of genomic duplications, *Nature*, **538**, 265-269, doi: 10.1038/nature19800.
153. Valton, A. L., and Dekker, J. (2016) TAD disruption as oncogenic driver, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **36**, 34-40, doi: 10.1016/j.gde.2016.03.008.
154. Symmons, O., Uslu, V. V., Tsujimura, T., Ruf, S., Nassari, S., et al. (2014) Functional and topological characteristics of mammalian regulatory domains, *Genome Res.*, **24**, 390-400, doi: 10.1101/gr.163519.113.
155. Razin, S. V., and Ulianov, S. V. (2017) Gene functioning and storage within a folded genome, *Cell. Mol. Biol. Lett.*, **22**, 18, doi: 10.1186/s11658-017-0050-4.
156. Dekker, J., and Heard, E. (2015) Structural and functional diversity of topologically associating domains, *FEBS Lett.*, **589**, 2877-2884, doi: 10.1016/j.febslet.2015.08.044.
157. Le Dily, F., Bau, D., Pohl, A., Vicent, G. P., Serra, F., et al. (2014) Distinct structural transitions of chromatin topological domains correlate with coordinated hormone-induced gene regulation, *Genes Dev.*, **28**, 2151-2162, doi: 10.1101/gad.241422.114.
158. Le Dily, F., and Beato, M. (2015) TADs as modular and dynamic units for gene regulation by hormones, *FEBS Lett.*, **589**, 2885-2892, doi: 10.1016/j.febslet.2015.05.026.
159. Razin, S. V., Farrell, C. M., and Recillas-Targa, F. (2003) Genomic domains and regulatory elements operating at the domain level, *Int. Rev. Cytol.*, **226**, 63-125, doi: 10.1016/s0074-7696(03)01002-7.
160. Recillas-Targa, F., and Razin, S. V. (2001) Chromatin domains and regulation of gene expression: familiar and enigmatic clusters of chicken globin genes, *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.*, **11**, 227-242, doi: 10.1615/CritRevEukarGeneExpr.v11.i1-3.110.
161. Eres, I. E., and Gilad, Y. (2021) A TAD skeptic: is 3D genome topology conserved? *Trends Genet.*, **37**, 216-223, doi: 10.1016/j.tig.2020.10.009.
162. Ulianov, S. V., Zakharova, V. V., Galitsyna, A. A., Kos, P. I., Polovnikov, K. E., et al. (2021) Order and stochasticity in the folding of individual *Drosophila* genomes, *Nat. Commun.*, **12**, 41, doi: 10.1038/s41467-020-20292-z.
163. McCord, R. P., Nazario-Toole, A., Zhang, H., Chines, P. S., Zhan, Y., et al. (2013) Correlated alterations in genome organization, histone methylation, and DNA-lamin A/C interactions in Hutchinson–Gilford progeria syndrome, *Genome Res.*, **23**, 260-269, doi: 10.1101/gr.138032.112.
164. Beccari, L., Jaquier, G., Lopez-Delisle, L., Rodriguez-Carballo, E., Mascrez, B., et al. (2021) Dbx2 regulation in limbs suggests interTAD sharing of enhancers, *Dev. Dyn.*, **250**, 1280-1299, doi: 10.1002/dvdy.303.
165. Downen, J. M., Fan, Z. P., Hnisz, D., Ren, G., Abraham, B. J., et al. (2014) Control of cell identity genes occurs in insulated neighborhoods in mammalian chromosomes, *Cell*, **159**, 374-387, doi: 10.1016/j.cell.2014.09.030.
166. Hnisz, D., Day, D. S., and Young, R. A. (2016) Insulated neighborhoods: structural and functional units of mammalian gene control, *Cell*, **167**, 1188-1200, doi: 10.1016/j.cell.2016.10.024.
167. Xiao, J. Y., Hafner, A., and Boettiger, A. N. (2021) How subtle changes in 3D structure can create large changes in transcription, *Elife*, **10**, doi: 10.7554/eLife.64320.
168. Despang, A., Schopflin, R., Franke, M., Ali, S., Jerkovic, I., et al. (2019) Functional dissection of the Sox9-Kcnj2 locus identifies nonessential and instructive roles of TAD architecture, *Nat. Genet.*, **51**, 1263-1271, doi: 10.1038/s41588-019-0466-z.
169. Nora, E. P., Goloborodko, A., Valton, A. L., Gibcus, J. H., Uebersohn, A., et al. (2017) Targeted degradation of CTCF decouples local insulation of chromosome domains from genomic compartmentalization, *Cell*, **169**, 930-944.e922, doi: 10.1016/j.cell.2017.05.004.
170. Schwarzer, W., Abdennur, N., Goloborodko, A., Pekowska, A., Fudenberg, G., et al. (2017) Two

- independent modes of chromatin organization revealed by cohesin removal, *Nature*, **551**, 51-56, doi: 10.1038/nature24281.
171. Rao, S. S. P., Huang, S. C., Glenn St Hilaire, B., Engreitz, J. M., Perez, E. M., et al. (2017) Cohesin loss eliminates all loop domains, *Cell*, **171**, 305-320. e324, doi: 10.1016/j.cell.2017.09.026.
172. Zuin, J., Dixon, J. R., van der Reijden, M. I., Ye, Z., Kolovos, P., et al. (2014) Cohesin and CTCF differentially affect chromatin architecture and gene expression in human cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 996-1001, doi: 10.1073/pnas.1317788111.
173. Hanssen, L. L. P., Kassouf, M. T., Oudelaar, A. M., Biggs, D., Preece, C., et al. (2017) Tissue-specific CTCF-cohesin-mediated chromatin architecture delimits enhancer interactions and function *in vivo*, *Nat. Cell Biol.*, **19**, 952-961, doi: 10.1038/ncb3573.
174. Ulianov, S. V., Galitsyna, A. A., Flyamer, I. M., Golov, A. K., Khrameeva, E. E., et al. (2017) Activation of the alpha-globin gene expression correlates with dramatic upregulation of nearby non-globin genes and changes in local and large-scale chromatin spatial structure, *Epigenetics Chromatin*, **10**, 35, doi: 10.1186/s13072-017-0142-4.

DOMAIN MODEL OF EUKARYOTIC GENOME ORGANIZATION: FROM DNA LOOPS FIXED ON THE NUCLEAR MATRIX TO TADs

Review

S. V. Razin^{1,2*}, I. V. Zhegalova^{3,4,5}, and O. L. Kantidze¹

¹ *Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, 119334 Moscow, Russia; e-mail: sergey.v.razin@inbox.ru*

² *Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty, 119991 Moscow, Russia*

³ *Skolkovo Institute of Science and Technology, 121205 Moscow, Russia*

⁴ *Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia*

⁵ *A.A. Kharkevich Institute for Information Transmission Problems, 127051 Moscow, Russia*

In this review we analyze the development of ideas about the domain organization of the eukaryotic genome. The results of characterization of DNA loops attached to the nuclear matrix are considered in detail and the place of these results in the modern model of the spatial organization of the eukaryotic genome is discussed. A critical analysis of the results demonstrating that topologically associated chromatin domains are structural and functional blocks of the genome is presented, and the conclusion is substantiated that these blocks are fundamentally different from the structural-functional domains considered by the domain hypothesis of the eukaryotic genome organization that was formulated in the 1980s. Based on the entire discussion, it is concluded that the model postulating that the eukaryotic genome is built from uniformly organized functional units has proved to be an unacceptable simplification.

Keywords: chromatin, structural and functional domains of the genome, topologically associated chromatin domains, DNA loops, DNA topoisomerase II