

КРУПНОМАСШТАБНАЯ СТРУКТУРА ХРОМАТИНА: ФРАКТАЛЬНАЯ ГЛОБУЛА ИЛИ ЛОГАРИФМИЧЕСКИЙ ФРАКТАЛ?

Е. Г. Яшина^{}, С. В. Григорьев*

*Санкт-Петербургский государственный университет
198504, Санкт-Петербург, Россия*

*Петербургский институт ядерной физики, НИЦ «Курчатовский институт»
188300, Гатчина, Ленинградская обл., Россия*

Поступила в редакцию 22 февраля 2019 г.,
после переработки 18 апреля 2019 г.
Принята к публикации 19 апреля 2019 г.

Рассмотрены две физические модели для описания крупномасштабной структуры хроматина в ядре биологической клетки, находящейся в интерфазном состоянии: модель фрактальной глобулы и модель логарифмического фрактала. Основываясь на классификации фрактальных объектов, разработанной с помощью метода малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН), показано, что модель фрактальной глобулы не удовлетворяет экспериментальным данным малоуглового рассеяния нейтронов на ядрах биологических клеток. Напротив, модель логарифмического фрактала хорошо описывает экспериментальные данные МУРН, а следовательно, является хорошим приближением для описания крупномасштабной структуры хроматина. Модель логарифмического фрактала предсказывает, что ядерное пространство заполнено хроматином ровно наполовину, в то время как остальную его половину составляют межхроматиновые пустоты, заполненные нуклеоплазмой, в которой осуществляются различные ядерные процессы. Таким образом, в структурной организации хроматина сбалансированы две противоборствующие тенденции: увеличение площади поверхности хроматина в ядре клетки (доступности для внешних агентов) и уменьшение занимаемого хроматином объема (компактности ядра).

DOI: 10.1134/S0044451019090177

Интерес к вопросу о том, как двуспиральная нить ДНК, длина которой составляет несколько метров, уложена в ядре клетки размером в несколько микрон не ослабевает в течение нескольких десятилетий, несмотря на колоссальный прогресс в биологии, генетике и особенно в технологиях исследования биологической клетки. Многократное сокращение линейных размеров ДНК обеспечивается ее упаковкой в хроматин с помощью специальных «архитектурных» белков. Упаковка ДНК происходит в несколько этапов. Наиболее изученной считается нуклеосомная структура интерфазного хроматина, в то время как его крупномасштабная структура на сегодняшний момент достоверно неизвестна.

В 1980-е гг. группой ученых, специализирующихся в области теоретической биофизики и физики полимеров, под руководством А. Ю. Гросберга была разработана модель складчатой, или фрактальной, глобулы [1] и предложена в качестве трехмерной структуры ДНК [2]. Фрактальная глобула — модель одномерной полимерной цепи, плотно заполняющей пространство без самопересечений, аналогом которой во фрактальной геометрии является кривая Пеано или любая другая кривая, заполняющая трехмерное пространство (Гильберта, Госпера и т. д.)

Классическая кривая Пеано — это кривая на плоскости, и с математической точки зрения она является необычным представлением области или участка плоскости (двумерного пространства), размерность Хаусдорфа (фрактальная размерность) D_H которого естественным образом равняется 2 [3]. Это определение можно обобщить на случай трехмерного пространства; таким образом, кривая Пе-

^{*} E-mail: yashina_91@inbox.ru

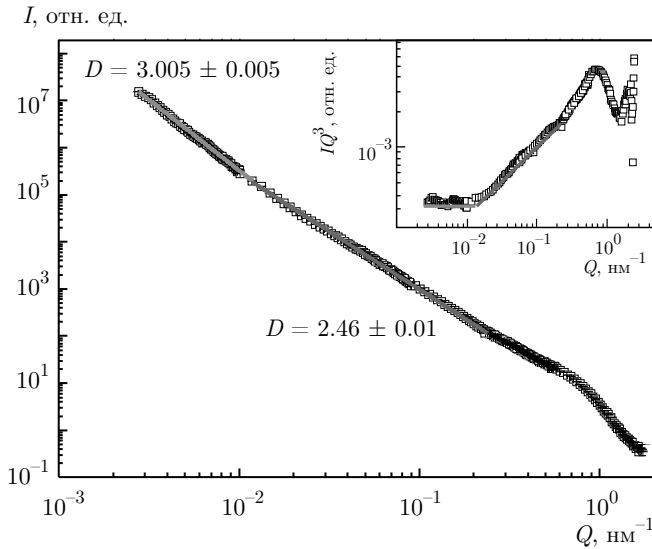


Рис. 1. (В цвете онлайн) Малоугловое рассеяние нейтронов на ядрах куриных эритроцитов. Интенсивность рассеяния нейтронов в диапазоне переданных импульсов 10^{-3} – 10^{-2} нм^{-1} — данные установки TPA LLB, Сакле, Франция. Интенсивность рассеяния нейтронов в диапазоне переданных импульсов 10^{-2} – 10^0 нм^{-1} — данные установки PA20 LLB, Сакле, Франция

ано в этом случае осуществляет способ полностью заполнить пространство и, соответственно, ее размерность Хаусдорфа равна 3.

Оказалось, что эксперименты по малоугловому рассеянию нейтронов способны подтвердить или опровергнуть справедливость той или иной модели, построенной для описания крупномасштабной структуры хроматина.

Эксперименты по малоугловому рассеянию нейтронов (МУРН) на хроматине в интерфазном ядре демонстрируют двухуровневую степенную зависимость интенсивности рассеяния нейтронов $I(Q)$ от модуля переданного импульса Q . Для получения структурной информации о хроматине как едином комплексе нуклеиновых кислот с белками (нуклеопротеиде) ядра клеток помещались в тяжелую воду D_2O . Интенсивность рассеяния нейтронов на ядрах куриных эритроцитов описывается степенной функцией:

$$I(Q) \sim Q^{-D}. \tag{1}$$

Эксперименты по МУРН на ядрах куриных эритроцитов проводились на установках PA20 и TPA (LLB, Сакле, Франция), их результаты представлены на рис. 1. В диапазоне переданных импульсов 10^{-2} – 10^{-1} нм^{-1} степень $D = 2.46 \pm 0.01$,

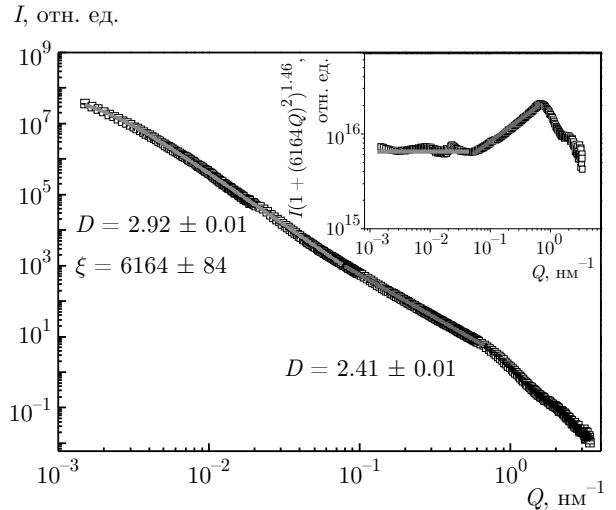


Рис. 2. (В цвете онлайн) Малоугловое рассеяние нейтронов на ядрах HeLa. Интенсивность рассеяния нейтронов в диапазоне переданных импульсов $1.5 \cdot 10^{-3}$ – $2 \cdot 10^{-2}$ нм^{-1} — данные установки KWS-3, MLZ, Гархинг, Германия. Интенсивность рассеяния нейтронов в диапазоне переданных импульсов $2 \cdot 10^{-2}$ – $3 \cdot 10^0$ нм^{-1} — данные установки D11, ILL, Гренобль, Франция

а в диапазоне 10^{-3} – 10^{-2} нм^{-1} степень $D = 3.005 \pm 0.005$ [4–6].

Результаты экспериментов по МУРН на ядрах HeLa, представленные на рис. 2, демонстрируют аналогичный двухуровневый степенной характер поведения интенсивности рассеяния нейтронов. В диапазоне переданных импульсов $8 \cdot 10^{-2}$ – $7 \cdot 10^{-1}$ нм^{-1} интенсивность рассеяния описывается степенной функцией со степенью $D = 2.41$, а в диапазоне переданных импульсов $1.5 \cdot 10^{-3}$ – $8 \cdot 10^{-2}$ нм^{-1} — степенной функцией с учетом конечного размера рассеивающей частицы, которая имеет вид

$$I(Q) \sim \frac{1}{(1 + (Q\xi)^2)^{D/2}} \tag{2}$$

со степенью $D = 2.92 \pm 0.01$ и корреляционной длиной $\xi = 6164 \pm 84$ нм. Эксперименты проводились на установках KWS-3 (MLZ, Гархинг, Германия) и D11 (ILL, Гренобль, Франция).

Важно отметить, что выражение (1) является асимптотикой выражения (2) при $Q \gg 1/\xi$. В классическом малоугловом рассеянии нейтронов зачастую используют выражение (1), поскольку разрешения, достигаемого в эксперименте, оказывается недостаточно для определения размера частицы ξ .

В модели фрактальной (складчатой) глобулы нить ДНК, подобно кривой Пеано, полностью за-

полняет трехмерное пространство, а ее размерность Хаусдорфа равна $D_H = 3$ [1]. С точки зрения МУРН складчатая глобула неотличима от любого другого однородно заполненного объекта, повторяющего ее форму. Малоугловое рассеяние нейтронов происходит на неоднородностях среды, а поскольку внутри фрактальной глобулы неоднородностей нет (трехмерное пространство ею заполнено полностью и однородно), то рассеяние происходит на контрасте плотности, образованном только краями глобулы. Следовательно, МУРН на фрактальной глобуле даст классический случай рассеяния на нефрактальных трехмерных неоднородностях [7, 8], где рассеивающий объект представляет собой двухфазную систему с распределенными случайным образом частицами различной формы со средним размером ξ в однородном растворе или материале. А интенсивность рассеяния нейтронов на фрактальной глобуле размером ξ будет описываться выражением (2) со степенью $D = 4$. Реальные эксперименты по МУРН на хроматине дают степень $D = 3$ или близкую к ней [4–6], что противоречит модели складчатой глобулы и фактически отрицает ее как модель для описания крупномасштабной структуры хроматина в ядре биологической клетки.

Для того чтобы объяснить экспериментальный факт зависимости $I(Q) \sim (1 + (Q\xi)^2)^{-3/2}$, необходимо перейти к корреляционной функции объекта. Если сделать преобразование Фурье от выражения (2) с произвольным параметром D , то получится выражение для корреляционной функции [9]

$$\gamma(r) = \frac{2^{(5-D)/2}}{\sqrt{\pi}\Gamma(D/2 - 1)} \left(\frac{r}{\xi}\right)^{(D-3)/2} \times K_{(D-3)/2}\left(\frac{r}{\xi}\right), \quad (3)$$

где $K_\nu(x)$ — функция Макдональда порядка ν , $\Gamma(x)$ — гамма-функция.

На малых расстояниях r корреляции между точками, находящимися внутри частицы, преобладают над корреляциями между точками вблизи ее границы. Поэтому рассмотрим подробно корреляционные функции (3) при $r/\xi \ll 1$ для того, чтобы понять, что происходит внутри частицы. Пользуясь интегральным представлением для функции Макдональда, можно получить асимптотические выражения для (3) при $r/\xi \ll 1$, которые приводят в рамках фрактальной концепции к следующей классификации. В зависимости от значения степени D происходит разделение на поверхностные фракталы

при $4 > D > 3$, логарифмический фрактал при $D = 3$ и объемные фракталы при $3 > D > 2$ [6, 9]. Случаи $D = 4$ и $D = 2$ соответствуют нефрактальным трехмерному и двумерному объектам [7, 8, 10–12].

Для поверхностных фракталов, т. е. при $3 < D < 4$, асимптотика соответствующей корреляционной функции имеет вид

$$\gamma(r) \sim 1 - \alpha \left(\frac{r}{\xi}\right)^{D-3}, \quad (4)$$

где

$$\alpha = \frac{\pi 2^{4-D}}{(D-3)\Gamma^2\left(\frac{D-3}{2}\right) \sin\frac{\pi(D-3)}{2}}.$$

Это свидетельствует о том, что поверхностный фрактал имеет однородное по плотности ядро, которое вносит главный вклад в корреляции на малых расстояниях, таких что $\alpha(r/\xi)^{D-3} \ll 1$. При увеличении аргумента r рассеяние происходит на фрактальной поверхности при $\alpha(r/\xi)^{D-3} \lesssim 1$. Размерность Хаусдорфа фрактальной поверхности определяется соотношением $D_H = 6 - D$. Параметры α и D определяют толщину фрактальной поверхности и размер плотного ядра.

Для $D = 3$ асимптотика соответствующей корреляционной функции выражается в виде логарифма:

$$\gamma(r) \sim \ln(\xi/r). \quad (5)$$

При стремлении $D \rightarrow 3$ размер плотного ядра уменьшается и при $D = 3$ ядро исчезает, а асимптотика корреляционной функции становится пропорциональной логарифму, и поверхностный фрактал превращается в логарифмический. Корреляционная функция (5) обладает необычным масштабным свойством: $\gamma(r/a) = \gamma(r) + \ln a$, т. е. уменьшение масштаба в a раз дает аддитивную добавку к корреляционной функции, что отличает ее от классического однородного фрактала (D_H имеет одно значение во всех его областях), характеризующегося мультипликативной добавкой [6]. Это свидетельствует о том, что частица имеет иерархически разветвленную структуру, что обеспечивает максимальную доступность любого участка для внешних факторов. В терминах поверхностных фракталов это можно переформулировать следующим образом: поверхность такого объекта присутствует на всех масштабах длины, вследствие чего она имеет максимально возможную площадь [6, 9].

Далее при $3 > D > 2$ логарифмический фрактал переходит в объемный, а асимптотика корреляционной функции имеет вид

$$\gamma(r) \sim \left(\frac{r}{\xi}\right)^{D-3}. \quad (6)$$

Объемный фрактал соответствует классическому представлению во фрактальной геометрии как о самоподобном объекте, повторяющем свое геометрическое строение на любых масштабах. Размерность Хаусдорфа объемного фрактала D_H совпадает с полученным при рассеянии на нем параметром D в интенсивности малоуглового рассеяния (2).

Во всех случаях приближение $r/\xi \lesssim 0.1$ хорошо работает, демонстрируя фрактальные особенности частицы [9].

Кроме анализа асимптотики выражения для корреляционной функции (3) можно привести интегральную оценку средней плотности частицы, характеризуемой этой корреляционной функцией. Смысл корреляционной функции — вероятность найти ненулевую плотность на расстоянии r от выбранной начальной точки, усредненная по всем точкам частицы, поэтому корреляционная функция — это аналог плотности. Проинтегрировав ее по трехмерному пространству, можно получить объем частицы. Поскольку в корреляционной функции (3) учтен конечный размер частицы, такая процедура не требует дополнительных модификаций для учета ее границы. Интегрирование приводит к следующему простому результату:

$$V_D = \frac{2^{(9-D)/2} \sqrt{\pi}}{\Gamma(D/2 - 1)} \int_0^\infty \left(\frac{r}{\xi}\right)^{(D-3)/2} \times \\ \times K_{(D-3)/2} \left(\frac{r}{\xi}\right) r^2 dr = 4\pi(D-2)\xi^3. \quad (7)$$

Случай $D = 2$ соответствует плоским частицам и объем всей частицы в соответствии с формулой (7) равен нулю. При $D = 4$ объект полностью заполняет отведенное ему границами частицы трехмерное пространство и без ограничения общности мы называем его однородной частицей с четкой границей. Так можно сравнить степень заполненности пространства веществом (хроматином) с различными фрактальными свойствами. Согласно (7) фрактальная глобула, рассеяние на которой даст степенной закон (2) с параметром $D = 4$, заполняет пространство полностью, что в два раза больше, нежели в случае логарифмического фрактала, рассеяние на котором описывается степенным законом (2) с пара-

метром $D = 3$. То есть в случае структурной организации частицы в виде логарифмического фрактала трехмерное пространство заполнено лишь половиной. При этом остальное пространство отведено межхроматиновым пустотам, которые представляют собой инвертированную по отношению к хроматину пространственную сеть «каналов», заполненных нуклеоплазмой.

Интересно также отметить, что логарифмический фрактал, в свою очередь, занимает в два раза больше пространства, чем объемный фрактал с размерностью Хаусдорфа $D_H = 2.5$, функция рассеяния которого выражается формулой (2) с параметром $D = 2.5$. Таким образом, крупномасштабная фрактальная организация хроматина является в 2 раза менее плотной, чем фрактальная глобула, а мелкомасштабная фрактальная организация — в 4 раза менее плотной.

Имеющиеся экспериментальные данные по МУРН представляют сложную картину двухуровневой фрактальной организации хроматина в ядре. Мелкомасштабная фрактальная структура соответствует объемному фракталу с размерностью $D_H \approx 2.5$, а крупномасштабная соответствует логарифмическому фракталу с корреляционной функцией $\gamma(r) \sim \ln(\xi/r)$. Характеристики этих двух наблюдаемых типов организации хроматина в ядре совершенно различны. Объемный фрактал самоподобен на разных масштабах, тогда как логарифмический фрактал иерархически изменяется при масштабировании [6].

Структура логарифмического фрактала формируется, на наш взгляд, под влиянием двух факторов: максимизации площади поверхности (доступность для внешних агентов) и минимизации объема (компактность) [6, 13]. Максимально возможная площадь поверхности способствует диффузионным процессам и механизмам целевого поиска ядерных белков, таким как транскрипция. С другой стороны, логарифмический фрактал является более компактным, чем объемный фрактал, и поэтому эффективность взаимодействий между удаленными геномными локусами повышается за счет уменьшения расстояния между ними [6, 9].

Что касается мелкомасштабной фрактальной организации, то она имеет структуру, напоминающую кластер диффузионно-ограниченной агрегации, и построена так, чтобы максимально облегчить диффузию белков.

В заключение нами рассмотрена физическая модель логарифмического фрактала для описания крупномасштабной структуры хроматина в ядре

биологической клетки, находящейся в интерфазе. Основываясь на данных экспериментов по малоугловому рассеянию нейтронов на хроматине, зафиксированном в ядре клетки, показано, что модель логарифмического фрактала, являясь хорошим приближением для описания крупномасштабной структуры хроматина, предсказывает, что ядерное пространство заполнено хроматином ровно наполовину, в то время как остальная его половина составляет межхроматиновые пустоты, заполненные нуклеоплазмой, в которой осуществляются различные ядерные процессы. Пространственное и функциональное соотношение между двумя видами фракталов, обнаруженных в структуре хроматина (логарифмический и объемный фракталы), является, по-видимому, результатом действия разного типа механизмов формирования структуры хроматина на разных масштабах.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-02-00313 А).

ЛИТЕРАТУРА

1. A. Yu. Grosberg, S. K. Nechaev, and E. I. Shakhnovich, *J. Phys. France* **49**, 2095 (1988).
2. A. Grosberg, Y. Rabin, S. Havlin, and A. Neer, *Europhys. Lett.* **23** (5), 373 (1993).
3. B. Mandelbrot, *The Fractal Geometry of Nature*, Freeman, New York (1983).
4. D. V. Lebedev, M. V. Filatov, A. I. Kuklin, A. K. Islamov, E. Kentzinger, R. A. Pantina, B. P. Toperverg, and V. V. Isaev-Ivanov, *FEBS Lett.* **579**, 1465 (2005).
5. A. V. Platonovskiy, D. V. Lebedev, M. V. Filatov, M. G. Petukhov, and V. V. Isaev-Ivanov, *J. Phys.: Conf. Ser.* **351**, 012007 (2012).
6. E. G. Iashina, E. V. Velichko, M. V. Filatov, W. G. Bouwman, C. P. Duif, A. Brulet, and S. V. Grigoriev, *Phys. Rev. E* **96**, 012411 (2017).
7. P. Debye and A. M. Bueche, *J. Appl. Phys.* **20**, 518 (1949).
8. P. Debye, H. R. Anderson, and H. Brumberger, *J. Appl. Phys.* **28**, 679 (1957).
9. Е. Г. Яшина, С. В. Григорьев, *Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования* **9**, 5 (2017).
10. А. З. Паташинский, В. Л. Покровский, *Флуктуационная теория фазовых переходов*, Наука, Москва (1975).
11. С. В. Малеев, В. А. Рубан, *ЖЭТФ* **62**, 415 (1972).
12. H. E. Stanley, *Introduction to Phase Transitions and Critical Phenomena*, Clarendon Press, Oxford (1971).
13. G. B. West, J. H. Brown, and B. J. Enquist, *Science* **284**, 1677 (1999).