

Моделирование пространственной организации хромосом типа ламповых щеток

Лагунов Т.^{1, 2*}, Константинов В.^{1, 2}, Гридина М.¹, Нурисламов А.^{1, 2}, Попов А.^{1, 2}, Куликова Т.³, Красикова А.³, Фишман В.^{1, 2}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* t.lagunov@g.nsu.ru

Ключевые слова: Hi-C; биополимеры; хроматин; транскрипция

Мотивация и цель: Хромосомы типа ламповых щеток — это особая пространственная организации хромосом, образующаяся в ооцитах большинства животных и яйцекладущих млекопитающих (но не других млекопитающих). Для этой структуры характерны большой размер ядра, элонгированная форма хромосом и очень высокий уровень транскрипции. Выявление критически важных точек для формирования такой структуры с последующим моделированием пространственной организации представляет важную задачу для фундаментальной биологии.

Методы и алгоритмы: В основе исследования лежит анализ контактов хроматна одиночных ооцитов курицы, картированных при помощи технологии Hi-C, и моделирование взаимодействия экструдеров с РНК-полимеразой (базирующаяся на статье [1]). Первичный анализ Hi-C-данных проведен с использование пакета juicer-1.6. Зависимость вероятности контактов от расстояния получена инструментами модуля cooltools. RNA-seq-данные получены из статьи [2] и картированы при помощи bwa (ver. 0.7.17-r1188) с последующей разметкой генов пакетом stringtie (v2.2.2). Автоматическая разметка доменов хроматина выполнена инструментом lavaburst (v0.2.0). Моделирование пространственной организации выполнено при помощи polychrom (v0.1.0) [3]. Статистическая обработка производилась на языке python.

Результаты: На картах пространственных контактов хромосом типа ламповых щеток выделены доменные структуры. Показана высокая воспроизводимость расположения границ доменов между одиночными ооцитами курицы (по сравнению с одиночными ооцитами мыши). Большая часть границ доменов в ооцитах не содержит сайтов посадки белка CTCF, что исключает типичный для большинства куриных клеток механизм формирования доменов посредством взаимодействия когезина с белком CTCF. Большая часть границ доменов находится между генами, конвергентно ориентированными друг относительно друга. Конденсация хромосом при искусственном «выключении» транскрипции позволяет предположить активное взаимодействие SMC-комплексов с хроматином, а наличие активных генов в границах доменов приводит к предположению о формировании границ доменов хроматина посредством взаимодействия активных экструдеров с РНК-полимеразным комплексом. Произведена оценка параметров экструдеров, необходимых для адекватного воспроизведения паттернов пространственной организации хроматина куриных

ооцитов. Произведена оценка плотности посадки РНК-полимераз на основании данных RNA-seq. Проведено моделирование различных участков хроматина хромосом типа ламповых щеток. Показано соответствие наблюдаемых в моделях закономерностей с аналогичными закономерностями на карте пространственных контактов.

Выводы: Формирование хромосом типа ламповых щеток обусловлено, по большей части, высоким уровнем транскрипционной активности. Большое количество РНК-матрикса увеличивает персистентную длину участков активной транскрипции создавая петли, длина которых дополнительно увеличивается благодаря удалению нуклеосом. Большая часть паттернов контактов на Hi-C карте объясняется взаимодействием SMC-комплекса с активными полимеразми.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке РФФ 22-14-00247.

Modeling spatial organization of lampbrush chromosomes

Lagunov T.^{1,2*}, Konstantinov V.^{1,2}, Gridina M.¹, Nurislamov A.^{1,2}, Popov A.^{1,2}, Kulikova T.³, Krasikova A.³, Fishman V.^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

* t.lagunov@g.nsu.ru

Key words: Hi-C; biopolymers; chromatin; transcription

Motivation and Aim: Lampbrush chromosomes represent a distinctive spatial arrangement of chromatin formed in the oocytes of most animals and oviparous mammals (but not other mammals). This structure is characterized by the large nucleus size, elongated chromosome shapes, and a very high levels of transcription. The identification of essential mechanisms underlining formation of such a structure, followed by the modeling of spatial organization, is an important task for fundamental biology of chromatin.

Methods and Algorithms: The study is based on the analysis of single-cell Hi-C data produced from chicken oocytes and modeling of the interaction of the chromatin extruders with RNA polymerase (based on the article by Mirniy et al. 2023 [1]). Hi-C data was preprocessed using the juicer-1.6 package. The dependence of the contact probability from genomic distance was accessed using cooltools software. The RNA-seq data was obtained from [2], and alignment was performed using the bwa package (ver. 0.7.17-r1188), followed by transcriptome assembly using the stringtie package (v2.2.2). Automatic chromatin domain segmentation was performed by the lavaburst tool (v0.2.0). Spatial organization modeling was performed using polychrom (v0.1.0) [3]. Statistical processing was performed in python.

Results: We identified chromatin domains based on the analysis of the Hi-C maps. We show that reproducibility of domain boundaries between individual chicken oocytes is substantially than for single mouse oocytes. Most of the domain boundaries in chicken oocytes do not contain CTCF protein binding sites, which is inconsistent with the mechanism of domain formation through the interaction of cohesin with CTCF, typical for most chicken cell types. Most of the domain boundaries are located between

convergently transcribed genes. Based on the previous evidence of 1) lampbrush chromosome condensation caused by transcription inhibition and 2) the presence of SMC complexes on lampbrush chromosomes, we proposed formation of chromatin domain boundaries through the interaction of active extruders with the RNA polymerase complex. We determined parameters of extruders necessary to reproduce patterns detected in chicken oocyte Hi-C data. The separation between RNA polymerases of each transcription unit was estimated based on RNA-seq data. Using these parameters, we developed models of several lampbrush chromosome loci and showed correspondence of the patterns observed in the models with the patterns on the corresponding Hi-C maps.

Conclusion: The formation of lampbrush chromosomes occurs mainly due to very active transcription. A large amount of RNA matrix increases the persistent length of active transcription sites and results in the formation loops. The length of loops is further increased due to the nucleosomes removal. Most of the contact patterns on the Hi-C map were explained by the interaction of the SMC complex with active polymerases.

Funding: The study is supported by RSF 22-14-00247.

Список литературы/References

1. Banigan E.J., Tang W., Van Den Berg A.A. et al. Transcription shapes 3D chromatin organization by interacting with loop extrusion. *PNAS*. 2023;120(11):e2210480120
2. Krasikova A., Kulikova T., Schelkunov M., Makarova N., Fedotova A., Bergardt V., Maslova A., Fedorov A. The first chicken oocyte nucleus whole transcriptomic profile defines the spectrum of maternal mRNA and non-coding RNA genes transcribed by the lampbrush chromosomes. *bioRxiv*. 2024 doi 10.1101/2024.02.05.577752
3. Imakaev M., Goloborodko A. Hbbrandao mirnylab/polychrom: v0.1.0. mirnylab/polychrom. 2019. [<https://zenodo.org/records/3579473>]