

Нарушение межнуклеосомных взаимодействий приводит к заметным изменениям в архитектуре генома

Ульянов С.В.¹, Храмева Е.Е.², Михалева Е.А.³, Разин С.В.¹, Шевелев Ю.Я.^{3*}

¹ Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

² Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

* shevelev@img.ras.ru

Ключевые слова: ацетилирование гистонов; acidic patch; архитектура генома; LANA

Мотивация и цель: В неацетилированном хроматине взаимодействие N-конца гистона H4 одной нуклеосомы с участком acidic patch, образованным димером H2A/H2B другой нуклеосомы, приводит к агрегации нуклеосом и компактизации хроматиновой нити [1, 2]. В то же время ацетилирование N-конца гистона H4 предотвращает его связывание с участком acidic patch, нарушая тем самым межнуклеосомные взаимодействия и деконденсируя хроматин [3–6]. С участком acidic patch могут также связываться многочисленные белки хроматина (например, вирусный антиген LANA, нуклеопорин Elys и многие другие) [7, 8]. Поскольку эти белки конкурируют с неацетилированным N-концом гистона H4 за связывание с тем же интерфейсом, они могут мешать образованию межнуклеосомных взаимодействий. Целью данного исследования было выявление изменений в архитектуре генома, происходящих в ответ на искусственно вызванное нарушение межнуклеосомных взаимодействий.

Методы и алгоритмы: Hi-C проводили с использованием фермента Hind III, как было описано ранее [9].

Результаты: Чтобы исследовать, как нарушение взаимодействий между нуклеосомами влияет на архитектуру генома, мы применили два различных подхода. В первом из них мы транзientно трансфицировали клетки S2 дрозофилы конструкцией, экспрессирующей пептид LANA, который способен связываться с участком acidic patch, тем самым предотвращая взаимодействие между этим интерфейсом и положительно заряженным N-концом неацетилированного гистона H4 из других нуклеосом. Мы ожидали, что экспрессия LANA приведет к нарушению агрегации неацетилированных нуклеосом в топологически ассоциированных доменах (ТАДах), состоящих из неактивного хроматина. Во втором подходе мы транзientно трансфицировали клетки S2 конструкцией, экспрессирующей мутантную форму гистона H2A, лишенную аминокислот, образующих участок acidic patch, что также должно предотвращать агрегацию неацетилированных нуклеосомных нитей.

Мы провели Hi-C на клетках, экспрессирующих эти белковые факторы, с последующим секвенированием Hi-C библиотек. Идентифицированные ТАДы были разделены на четыре группы (A, B, C, D) в зависимости от соотношения в них активных и неактивных типов хроматина, где ТАДы группы A содержали наибольшую долю активного хроматина, а ТАДы группы D – наименьшую его долю. Затем мы подсчитали среднюю частоту контактов (ACF) внутри каждого ТАДа. На рис. 1 показаны изменения значений ACF в клетках, экспрессирующих

LANA или мутантный гистон H2A (H2Amut), по сравнению с контрольными клетками. При экспрессии LANA или H2Amut значения ACF и, следовательно, плотность упаковки ТАДов группы D, состоящих из неактивного хроматина, снижается. Таким образом, ингибирование связывания неацетилованного N-конца гистона H4 одной нуклеосомы с acidic patch интерфейсом другой нуклеосомы приводит к разрыхлению общей пространственной организации неактивных ТАДов. В то же время экспрессия обоих белковых факторов приводит к увеличению плотности упаковки ТАДов группы A, состоящих из активного высокоацетилованного хроматина (рис. 1).

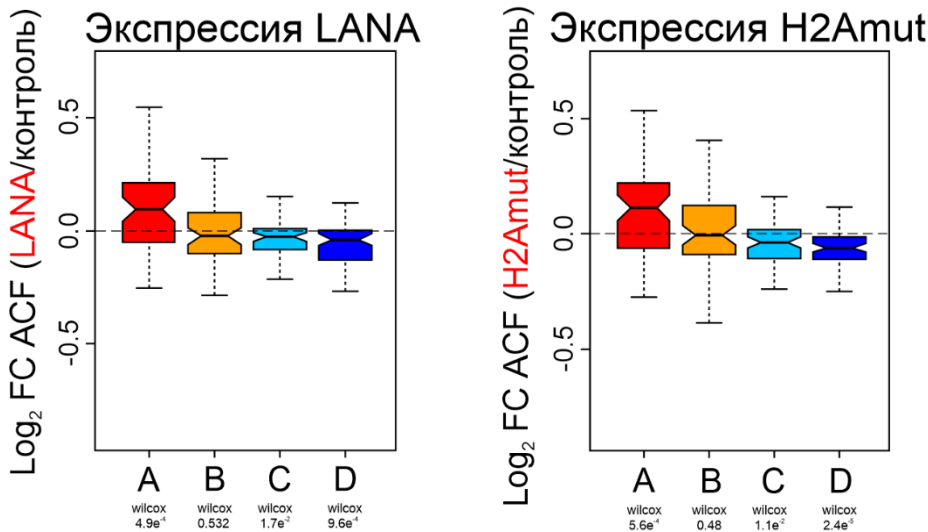


Рис. 1. Экспрессия LANA или мутантного гистона H2A в клетках S2 приводит к снижению плотности упаковки неактивных ТАДов и увеличению плотности упаковки активных ТАДов. Log₂(fold change ACF) в ТАДах четырех групп после экспрессии в клетках S2 LANA (левая панель) или мутантного гистона H2A, не способного образовывать acidic patch (правая панель). P-values определяли с помощью теста Вилкоксона

Было показано, что с участком acidic patch ацетилованных нуклеосом может связываться нуклеопорин Elys [8, 10], который, в свою очередь, может привлекать комплекс ремоделирования хроматина PBAP [11], деконденсирующий хроматин. В таком случае блокирование участка acidic patch с помощью LANA или отсутствие участка acidic patch в гистоне H2Amut может предотвращать связывание комплекса Elys/PBAP, тем самым делая хроматин более конденсированным.

Выводы: Наша работа показала, что как межнуклеосомные взаимодействия, так и связывание определенных белковых комплексов с нуклеосомами являются ключевыми факторами, определяющими трехмерную организацию хроматина в интерфазном ядре. Нарушение любого типа взаимодействий приводит к заметным изменениям в архитектуре генома.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

Disruption of inter-nucleosomal interactions leads to notable changes in genome architecture

Ulianov S.V.¹, Khrameeva E.E.², Mikhaleva E.A.³, Razin S.V.¹, Shevelyov Y.Y.^{3*}

¹ Institute of Gene Biology, RAS, Moscow, Russia

² Skolkovo Institute of Science and Technology, Skolkovo, Russia

³ National Research Centre “Kurchatov Institute”, Moscow, Russia

* shevelev@img.ras.ru

Key words: histone acetylation; acidic patch; genome architecture; LANA

Motivation and Aim: In the non-acetylated chromatin, the interaction of histone H4 tail of one nucleosome with the acidic patch interface formed by H2A/H2B dimer of another nucleosome leads to the aggregation of nucleosomes and to the compactization of chromatin fiber [1, 2]. At the same time, the acetylation of H4 tail prevents its binding with the acidic patch, thus disrupting inter-nucleosomal interactions and decondensing chromatin [3–6]. Numerous chromatin proteins (for example, viral latency-associated nuclear antigen (LANA), nucleoporin Elys, and many others) may also bind with the acidic patch [7, 8]. Since these proteins compete with the non-acetylated histone H4 tail for binding with the same interface, they may interfere with inter-nucleosomal interactions. The goal of this study was to reveal changes in genome architecture occurring in response to artificially induced disturbance of inter-nucleosomal interactions.

Methods and Algorithms: High-throughput chromosome conformation capture (Hi-C) was performed using Hind III digestion enzyme as described previously [9].

Results: To examine how the disturbance of interactions between nucleosomes affects genome architecture, we applied two different approaches. In the first one, we transiently transfected *Drosophila* S2 cells with the construct expressing LANA peptide, which is capable of binding to the acidic patch region, thereby preventing interactions between this interface and the positively charged tail of non-acetylated histone H4 from other nucleosomes. We expected that LANA expression would lead to the disruption of aggregation of non-acetylated nucleosomes in topologically associating domains (TADs) composed from the inactive chromatin. In the second approach, we transiently transfected S2 cells with the construct expressing mutant form of histone H2A, lacking amino acids forming the acidic patch region, which should also prevent the aggregation of non-acetylated nucleosomal arrays.

We performed Hi-C in cells expressing these protein factors, followed by sequencing of Hi-C libraries. The identified TADs were divided into four groups (A, B, C, D), depending on the proportion of active and inactive chromatin types within them, where group A TADs contained the largest proportion of active chromatin, while group D TADs – the lowest proportion of it. Next, average contact frequency (ACF) for each TAD was calculated. Figure 1 shows changes in ACF values in cells expressing LANA or mutant histone H2A (H2A_{mut}) relative to control cells. Upon the expression of LANA or H2A_{mut}, ACF values and, consequently, the packaging density of group D TADs, consisting of inactive chromatin, decreases. Thus, inhibition of binding of non-acetylated histone H4 terminus from one nucleosome with the acidic patch interface of another nucleosome leads to the loosening of general spatial organization of inactive

TADs. At the same time, the expression of both protein factors leads to the increase in packaging density of group A TADs, consisting of active, highly acetylated chromatin (Fig. 1).

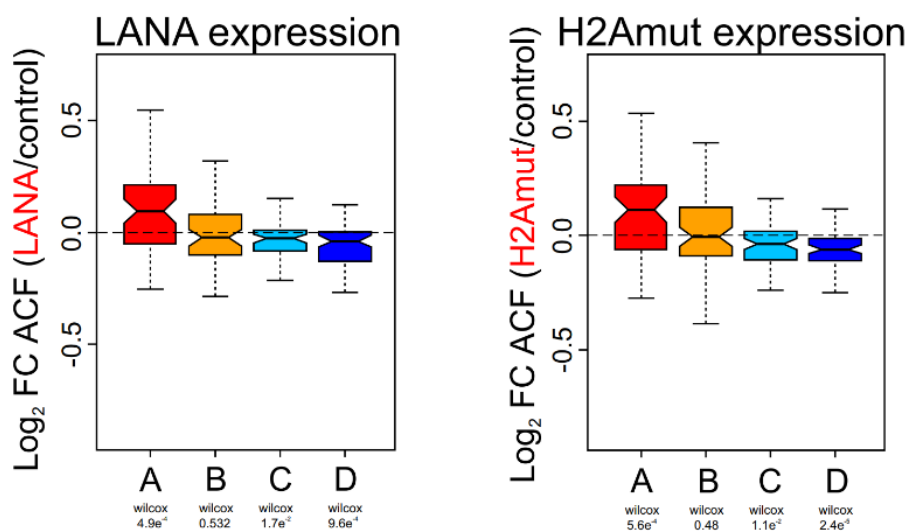


Fig. 1. Overexpression of LANA or mutant histone H2A in S2 cells leads to a decrease in the packaging density of inactive TADs and to an increase in the packaging density of active TADs. Log₂(fold change ACF) in TADs of four groups after overexpression in S2 cells of LANA (left panel) or mutant histone H2A, unable to form acidic patch interface (right panel). *P*-values were determined in the Wilcoxon test

It was shown that the acidic patch interface of acetylated nucleosomes may be bound by nucleoporin Elys [8, 10], which, in turn, may recruit the chromatin remodeling complex PBAP [11], known to decondense chromatin. Then, blocking of acidic patch by LANA, or the lack of acidic patch in the H2Amut can prevent binding of Elys/PBAP complex, thus making chromatin more condensed.

Conclusion: Our work has shown that both inter-nucleosomal interactions and binding of certain protein complexes to nucleosomes are the key factors determining the three-dimensional organization of chromatin in interphase nucleus. Disruption of any type of interactions leads to notable changes in genome architecture.

Funding: The study was carried out within the framework of the state task of NRC “Kurchatov Institute”.

Список литературы/References

1. Luger K., Mäder A.W., Richmond R.K., Sargent D.F., Richmond T.J. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*. 1997;389:251-260. doi 10.1038/38444
2. Sinha D., Shogren-Knaak M.A. Role of direct interactions between the histone H4 Tail and the H2A core in long range nucleosome contacts. *J Biol Chem*. 2010;285:16572-16581. doi 10.1074/jbc.M109.091298
3. Shogren-Knaak M., Ishii H., Sun J.M., Pazin M.J., Davie J.R., Peterson C.L. Histone H4-K16 acetylation controls chromatin structure and protein interactions. *Science*. 2006;311:844-847. doi 10.1126/science.1124000

4. Allahverdi A., Yang R., Korolev N., Fan Y., Davey C.A., Liu C.F., Nordenskiöld L. The effects of histone H4 tail acetylations on cation-induced chromatin folding and self-association. *Nucleic Acids Res.* 2011;39:1680-1691. doi 10.1093/nar/gkq900
5. Zhang R., Erler J., Langowski J. Histone acetylation regulates chromatin accessibility: role of H4K16 in inter-nucleosome interaction. *Biophys J.* 2017;112:450-459. doi 10.1016/j.bpj.2016.11.015
6. Otterstrom J., Castells-Garcia A., Vicario C., Gomez-Garcia P.A., Cosma M.P., Lakadamyali M. Super-resolution microscopy reveals how histone tail acetylation affects DNA compaction within nucleosomes in vivo. *Nucleic Acids Res.* 2019;47:8470-8484. doi 10.1093/nar/gkz593
7. Barbera A.J., Chodaparambil J.V., Kelley-Clarke B., Joukov V., Walter J.C., Luger K., Kaye K.M. The nucleosomal surface as a docking station for Kaposi's sarcoma herpesvirus LANA. *Science.* 2006;311:856-861. doi 10.1126/science.1120541
8. Skrajna A., Goldfarb D., Kedziora K.M., Cousins E.M., Grant G.D., Spangler C.J., Barbour E.H., Yan X., Hathaway N.A. et al. Comprehensive nucleosome interactome screen establishes fundamental principles of nucleosome binding. *Nucleic Acids Res.* 2020;48:9415-9432. doi 10.1093/nar/gkaa544
9. Ulianov S.V., Khrameeva E.E., Gavrilov A.A. et al. Active chromatin and transcription play a key role in chromosome partitioning into topologically associating domains. *Genome Res.* 2016;26:70-84. doi 10.1101/gr.196006.115
10. Kobayashi W., Takizawa Y., Aihara M., Negishi L., Ishii H., Kurumizaka H. Structural and biochemical analyses of the nuclear pore complex component ELYS identify residues responsible for nucleosome binding. *Commun Biol.* 2019;2:163. doi 10.1038/s42003-019-0385-7
11. Kuhn T.M., Pascual-Garcia P., Gozalo A., Little S.C., Capelson M. Chromatin targeting of nuclear pore proteins induces chromatin decondensation. *J Cell Biol.* 2019;218:2945-2961. doi 10.1083/jcb.201807139