doi 10.18699/bgrs2026-261

Конденсин-опосредованная укладка митотических хромосом сохраняется в интерфазе в виде структурного эха

Юнусова А.М.[1, 2], Цой Е.А.[1, 2], Смирнов А.В.[1], Шнайдер Т.А.[1], Пристяжнюк И.Е.[1], Гридина М.М.[1, 2], Фишман В.С.[1, 2], Баттулин Н.Р.[1, 2*]

[1] *Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*
* *battulin@bionet.nsc.ru*

Ключевые слова: 3D-геномика; конденсины; мышиные эмбриональные стволовые клетки; Hi-C; компартментализация хроматина

Мотивация и цель: Пространственная организация генома играет ключевую роль в регуляции экспрессии генов и поддержании целостности ДНК. Два типа белковых комплексов SMC (Structural Maintenance of Chromosomes) – когезин и конденсины – отвечают за укладку хроматина в ядре. Когезин организует интерфазный хроматин в петли и топологически ассоциированные домены (ТАДы), в то время как конденсины I и II традиционно считаются основными факторами компактизации хромосом во время митоза. Однако, учитывая ядерную локализацию конденсина II в интерфазе и недавние данные о частичном присутствии конденсина I в ядре, их возможная роль в формировании межфазной архитектуры генома остается малоизученной и противоречивой. Целью данной работы было определить вклад конденсинов в организацию хроматина в интерфазных ядрах и выявить механизмы, связывающие митотическую и интерфазную укладку генома.

Методы и алгоритмы: Для исследования мы использовали набор линий мышиных эмбриональных стволовых клеток с ауксин-индуцибельной деградацией ключевых субъединиц SMC-комплексов: Rad21 (когезин), Ncaph (конденсин I), Ncaph2 (конденсин II) и Smc2 (оба конденсина). Применяя Hi-C (высокопроизводительное секвенирование конформации хромосом), мы проанализировали изменения в 3D-структуре хроматина после кратковременной (2 часа) и длительной (24 часа) инактивации каждого комплекса, а также в условиях гипернагрузки конденсина II в клетках с нокаутом гена Mcph1. Для разделения эффектов, возникающих в митозе и интерфазе, мы использовали синхронизацию клеток тимидином. Данные Hi-C анализировались с помощью разработанных пайплайнов (Juicer, Cooler, cooltools) для оценки компартментализации (A/B компартменты), вероятности контактов P(s), агрегированных ТАДов и петель, а также межхромосомных взаимодействий (Rabl-конфигурация). Полученные данные были дополнены микроскопией хромосомных препаратов, подсчетом количества хромоцентров и анализом транскриптома (RNA-seq).

Результаты: Мы показали, что деплеция конденсина I (Ncaph) приводит к значительному ослаблению сегрегации хроматина на A/B компартменты, что является эффектом, противоположным действию когезина и не связанным напрямую с активностью петлевой экструзии. Этот эффект наблюдается даже при деградации белка исключительно в интерфазе, что указывает на новую, ранее неизвестную функцию конденсина I. В противоположность этому, удаление конденсина II не влияло на компартментализацию, но драматически меняло глобальную архитектуру ядра. Анализ кривых P(s) показал, что характерный паттерн контактов «второй диагонали», формируемый конденсином II в метафазных хромосомах, сохраняется в интерфазе (в G1, S и G2 фазах), выступая в роли «структурного эха». Хроническое отсутствие конденсина II приводило к исчезновению этого пика и усилению кластеризации центромер, что соответствует усилению Rabl-подобной конфигурации. Напротив, отсутствие конденсина I способствовало декомпактизации хромоцентров и усилению территориальности хромосом. В модели с гипернагрузкой хроматина конденсином II (нокаут Mcph1) мы наблюдали резкое ослабление компартментализации и формирование очень крупных (несколько Мб) петель, однако конденсин II не создавал сайт-специфичных структур (ТАДов), характерных для когезина, и не влиял на уже существующие ТАДы.

Выводы: Наше исследование демонстрирует, что влияние конденсинов на интерфазный ядерный ландшафт является более сложным, чем предполагалось ранее. Конденсин II не участвует в формировании петель в интерфазе напрямую, но укладка митотических хромосом, которую он создает, служит матрицей, чья структура сохраняется в дочерних ядрах. Конденсин I, помимо своей митотической роли, необходим для поддержания правильной компартментализации хроматина. Таким образом, конфигурация генома в интерфазе является результатом наложения двух процессов: активной петлевой экструзии когезина и пассивного наследования («структурного эха») архитектуры, заложенной конденсинами во время митоза.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-74-00055).

Condensins-mediated mitotic folding persists as a structural echo in interphase chromatin

Yunusova A.M.[1, 2], Tsoi E.A.[1, 2], Smirnov A.V.[1], Shnaider T.A.[1, 2], Pristyazhnuk I.E.[1, 2], Gridina M.M.[1, 2], Fishman V.S.[1, 2], Battulin N.R.[1, 2*]

[1] *Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

[2] *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

* *battulin@bionet.nsc.ru*

Key words: 3D genomics; condensins; mouse embryonic stem cells; Hi-C; chromatin compartmentalization

Motivation and Aim: The three-dimensional organization of the genome is crucial for gene regulation and genome integrity. Two families of SMC protein complexes – cohesin and condensins – are key architects of chromatin. While cohesin organizes interphase chromatin into loops and topologically associating domains (TADs), condensins I and II are primarily known for compacting chromosomes during mitosis. However, given the nuclear localization of condensin II during interphase and recent evidence of a nuclear pool of condensin I, their potential role in shaping interphase genome architecture remains poorly understood and controversial. This study aims to dissect the contribution of condensins to interphase chromatin folding and to identify the mechanisms linking mitotic and interphase genome organization.

Methods and Algorithms: We utilized a panel of mouse embryonic stem (ES) cell lines with auxin-inducible degradation of key SMC complex subunits: RAD21 (cohesin), NCAPH (condensin I), NCAPH2 (condensin II), and SMC2 (both condensins). Using Hi-C, we profiled 3D genome changes after short-term (2h) and long-term (24h) depletion of each complex, as well as under conditions of condensin II overload in Mcph1 knockout cells. To separate mitotic and interphase effects, we employed thymidine synchronization. Hi-C data were analyzed using custom pipelines (Juicer, Cooler, cooltools) to assess A/B compartmentalization (saddle strength), contact probability P(s), aggregated TAD/loop analysis, and inter-chromosomal interactions (Rabl configuration). Data were complemented by microscopy of chromosome spreads, chromocenter counting, and transcriptome analysis (RNA-seq).

Results: We found that depletion of condensin I (NCAPH) leads to a significant weakening of A/B compartment segregation, an effect opposite to that of cohesin and independent of canonical loop extrusion activity. This effect persists even upon protein degradation restricted to interphase, suggesting a novel function for condensin I. In contrast, condensin II depletion did not affect compartmentalization but dramatically altered global nuclear architecture. Analysis of P(s) curves revealed that the "second diagonal" contact pattern, established by condensin II in metaphase chromosomes, persists throughout interphase (G1, S, G2), acting as a "structural echo." Chronic loss of condensin II abolished this peak and led to hyperclustering of centromeres (increased Rabl configuration). Conversely, loss of condensin I reduced chromocenter clustering, promoting chromosome territory formation. In the condensin II overload model (Mcph1 KO), we observed a sharp decrease in compartmentalization and the formation of very large (>1 Mb) loops, but condensin II did not create site-specific structures like TADs and did not interfere with pre-existing cohesin-dependent loops.

Conclusion: Our study reveals that condensins shape the interphase nuclear landscape through mechanisms beyond their canonical mitotic roles. Condensin II does not actively extrude loops in interphase, but the architecture it imposes on mitotic chromosomes serves as a template inherited by daughter nuclei. Condensin I, apart from its mitotic function, is required for maintaining proper interphase compartmentalization. Therefore, interphase genome configuration results from the superposition of active cohesin loop extrusion and the passive inheritance (a "structural echo") of the architecture established by condensins during mitosis.

Funding: The study is supported by the Russian Science Foundation grant #23-74-00055.