

УДК 577.323.722

НУКЛЕОСОМЫ В ГЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ: ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ

© 2011 г. В. Б. Тейф^{1*}, А. В. Шкробков², В. П. Егорова², В. И. Крот³

¹Bioquant and German Cancer Research Center, 69120 Heidelberg, Germany

²Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка, Минск, 220050, Беларусь

³Белорусский государственный университет, Минск, 220030, Беларусь

Поступила в редакцию 24.03.2011 г.

Принята к печати 28.04.2011 г.

Рассмотрены современные теоретические биофизические и биоинформатические подходы, позволяющие описывать расстановку нуклеосом в хроматине и связывание регуляторных белков с нуклеосомной ДНК. Роль нуклеосом в генной регуляции обсуждается с молекулярно-механистической и биологической точек зрения. Наряду с классическими проблемами затронуты актуальные вопросы эпигенетической регуляции. Представлен ряд наиболее любопытных концепций и заслуживающих внимания гипотез. Математические подходы объясняются упрощенным языком с целью акцентирования внимания на наиболее важных в данной области направлениях.

Ключевые слова: нуклеосома, хроматин, решеточные модели, факторы транскрипции, конкурентное связывание.

NUCLEOSOMES IN GENE REGULATION: THEORETICAL APPROACHES, by V. B. Teif^{1*}, A. V. Shkrabkou², V. P. Egorova², V. I. Krot³ (¹Bioquant and German Cancer Research Center, 69120 Heidelberg, Germany; *e-mail: Vladimir.Teif@bioquant.uni-heidelberg.de; ²Tank Belarusian State Pedagogical University, Minsk, 220050 Belarus; ³Belarusian State University, Minsk, 220030 Belarus). This work reviews current theoretical approaches of biophysics and bioinformatics for the description of nucleosome arrangement in chromatin and transcription factor binding to nucleosomal organized DNA. The role of nucleosomes in gene regulation is discussed from molecular mechanistic and biological point of view. In addition to classical problems of this field, actual questions of epigenetic regulation are mentioned. The authors selected for discussion what seem to be the most interesting concepts and hypotheses. Mathematical approaches are described in a simplified language to attract attention to the most important directions of this field.

Keywords: nucleosome, chromatin, lattice models, competitive binding, transcription factors.

В клеточном ядре ДНК упакована в составе нуклеосом, о чем известно уже почти 40 лет [1]. Открытие нуклеосомы по значимости можно сравнить с открытием двойной спирали ДНК. Так, незадолго до исторической статьи супругов Olins [1], обнаруживших сферические частицы хроматина диаметром ~70 Å, аналогичная статья Woodcock была отклонена анонимным рецензентом со следующим комментарием: “Если бы это было правдой, то потребовало бы переписать все существующие учебники по цитологии и генетике. Я никогда не читал столь наивной статьи, претендующей на столь фундаментальное открытие” [2]. На сегодняшний день при помощи рентгеноструктурного анализа установлены мельчайшие детали комплекса ДНК с гистоновыми белками в составе нуклеосомы [3]. Нуклеосома состоит из белкового октамера, содержащего по два димера

H2A-H2B и H3-H4, вокруг которого обернуты 146–147 п.н. ДНК, что составляет 1.67 оборота двойной спирали. Нуклеосомная упаковка помогает разместить все хромосомы человека (ДНК почти двухметровой длины) внутри клеточного ядра размером всего лишь ~10 мкм. Однако подобной компактизации можно было бы достичь и без нуклеосом. Например, плотность упаковки ДНК примитивного одноклеточного динофлагеллята (не имеющего нуклеосом) сравнима с плотностью упаковки у высших эукариот [4]. Кроме компактизации ДНК у нуклеосомы есть и другие не менее важные функции. Поскольку около 3/4 всей геномной ДНК находится в составе нуклеосом, большинство регуляторных участков так или иначе ими закрыты. Однако для начала транскрипции необходима определенная расстановка вдоль этих участков соответствующих белков – транскрипционных факторов. Расположение нуклеосом регулирует доступность ДНК для тран-

* Эл. почта: Vladimir.Teif@bioquant.uni-heidelberg.de

скрипционных факторов и РНК-полимераз [5–8]. В зависимости от ситуации нуклеосомы могут препятствовать связыванию транскрипционных факторов [9] или, наоборот, способствовать ему [10]. Таким образом, нуклеосомы являются одним из важнейших регуляторов транскрипции. Как регуляторные белки связываются с ДНК в контексте нуклеосомной организации генома? Может ли нуклеосомная ДНК быть доступной для связывания транскрипционных факторов? Что определяет места расстановки нуклеосом в геноме? Насколько важна эта расстановка? Как ее можно изменить? Как ковалентные модификации гистонов реализуют эпигенетическую “память” нуклеосом? Настоящий миниобзор не претендует на решение этих задач, но мы попытаемся дать представление о современных теоретических концепциях, используемых для их решения. Эта работа дополняет недавние обзоры, где акцент сделан на экспериментальные детали процессов с участием нуклеосом [11–14].

ПОЗИЦИОНИРОВАНИЕ НУКЛЕОСОМ

Гипотеза о том, что расположение нуклеосом в геноме определяется нуклеотидной последовательностью, была выдвинута Эдуардом Трифоновым еще 30 лет назад на основе анализа небольшого набора секвенированных к тому времени геномных участков [15, 16]. Оказалось, что ряд динуклеотидов повторяется в геноме с периодичностью, кратной 10 п.н., что совпадает с периодом двойной спирали ДНК. Однако бум работ в этой области начался лишь недавно, после разработки экспериментальных методов, позволяющих анализировать расстановку нуклеосом вдоль всего генома [17–20]. В таких опытах ДНК, расположенную между нуклеосомами, разрушают при помощи нуклеазы микрококков (MNase), и анализируют оставшиеся участки нуклеосомной ДНК при помощи микрочипов или геномного секвенирования [21–23]. Последовавшие усовершенствования в области секвенирования создали беспрецедентную ситуацию, когда экспериментальные данные стали накапливаться быстрее, чем развивались биофизические модели [22, 24–29]. На данный момент установлено, что позиционирование нуклеосом в хроматине определяется тремя основными факторами. Во-первых, сродством гистонов к нуклеотидной последовательности [9, 18, 20, 30–33]. Во-вторых, конкурентным и кооперативным связыванием транскрипционных факторов и других белков хроматина [27, 34–37]. В третьих, АТР-зависимыми молекулярными моторами — так называемыми ремоделерами хроматина, которые могут изменять нуклеосомы, переставлять их на другие места либо удалять [25, 31, 38–41].

СРОДСТВО ГИСТОНОВОГО ОКТАМЕРА К ДНК

При физиологических значениях ионной силы двойная спираль ДНК имеет персистентную длину около 50 нм, что соизмеримо с диаметром гистонового октамера. Жесткость двойной спирали в значительной степени обусловлена расталкиванием отрицательно заряженных фосфатов. Соответственно, чтобы сделать два оборота ДНК вокруг гистонового октамера требуется существенная нейтрализация заряда. Это достигается за счет положительно заряженных гистонов. В принципе, нуклеосома может быть сформирована на любой нуклеотидной последовательности. Однако жесткость двойной спирали и, следовательно, затраты энергии на формирование нуклеосомы, зависят от последовательности оснований в ДНК. Так, свойства двух нуклеотидов, следующих один за другим (динуклеотид), определяют способность двойной спирали изгибаться в данном месте. В оптимальных условиях при формировании нуклеосомы сайты изгиба должны располагаться равномерно. Наиболее сильные контакты гистонов с ДНК в нуклеосоме разделены ~10 п.н. вдоль каждой нити ДНК [42], и, соответственно, оптимальные нуклеосомные последовательности характеризуются осцилляцией динуклеотидов с периодом 10 п.н. [43]. Аналогичные закономерности в расстановке динуклеотидов обнаружены в ДНК большинства исследованных организмов. Например, в геноме *Saccharomyces cerevisiae* 14 динуклеотидов (все, кроме AC и GT) повторяются с периодичностью 10.4 п.н., у *Drosophila melanogaster* повторяются четыре динуклеотида (AA, TT, CG и GC), тогда как у *Homo sapiens* — только CG [44]. Это может означать, что роль динуклеотидных повторов, вероятно, уменьшается с увеличением сложности организма. Любопытно, что ремоделеры хроматина также передвигают нуклеосомы шагами, кратными 10 п.н. Например, ремоделеры NURF и ISW2 могут переставлять нуклеосомы шагами ~10 п.н., тогда как у SWI/SNF шаг равен примерно 50 п.н. [45, 46]. Кроме этого, некоторые более длинные последовательности, такие, например, как poly(dA·dT) (так называемые А-тракты) имеют низкое сродство к гистоновому октамеру за счет своей особой изогнутой и при этом жесткой структуры [47]. В эукариотических геномах А-тракты часто ограничивают гены с обеих сторон. Кроме того, идентифицировано большое число не связанных с А-трактом последовательностей с низким сродством к нуклеосоме, например (CCGNN)_n [48]. *In vitro* определен целый ряд последовательностей с низким и высоким сродством к нуклеосоме [20, 30, 49]. В геномных последовательностях разница энергии формирования нуклеосомы меняется от нуля до 2.4 ккал/моль, а в искусственных последовательностях она может достигать

4.1 ккал/моль, что соответствует 1000-кратной разнице в константах диссоциации [50, 51].

В отсутствие конкуренции гистонового октамера с транскрипционными факторами и в отсутствие действия ремоделеров предпочтительную расстановку нуклеосом можно предсказать по нуклеотидной последовательности. За последние годы разработано несколько методов такого расчета. Биофизические методы основаны на расчете гибкости участка двойной спирали, составленного из различных последовательностей нуклеотидов, и соответствующих энергий формирования нуклеосомы [35, 42, 52–56]. Вторая группа методов более ориентирована на биоинформатические подходы, где позиции нуклеосом в секвенированных геномах используются для обучения компьютерных алгоритмов на базе нейронных сетей и/или марковских цепей [18, 20, 32, 57–63]. Несмотря на кажущееся сходство проблемы нахождения вероятности образования нуклеосомы на данной нуклеотидной последовательности с проблемой связывания с ДНК транскрипционного фактора, к нуклеосомам невозможно применить стандартные методы. Дело в том, что типичные транскрипционные факторы обычно закрывают при связывании ~10 п.н., что позволяет составить из четырех нуклеотидов 4^{10} (более миллиона) возможных комбинаций. Это число кажется большим, но, тем не менее, оно соизмеримо с числом олигонуклеотидов, которые сегодня реально проверить в одном эксперименте при помощи микрочипов [64]. Теоретический анализ подобных экспериментальных данных обычно исходит из предположения, что ДНК представляет собой одномерную решетку микроскопических сайтов связывания (нуклеотидов, пар оснований, динуклеотидов и т.д.), действие которых аддитивно в пределах сайта связывания одного белка (т.е. складываются энергии всех контактов каждого белка) [64, 65]. Информация о специфичности каждого белка хранится в виде матриц статистических весов (PWM), которые позволяют получить относительные константы связывания для любой нуклеотидной последовательности. Матрицы статистических весов многих регуляторных белков уже определены и систематизированы в базах данных, таких как FlyTF [66], JASPAR [67] и TRANSFAC [68]. Однако для нуклеосомы, которая закрывает при связывании 147 п.н., такой метод неприменим, поскольку экспериментальное тестирование $\sim 4^{147}$ различных ДНК длиной 147 п.н. не представляется возможным. В связи с этим требуются некие дополнительные упрощения. Например, алгоритм Segal et al. [20, 59] задает определенные статистические веса только небольшому числу факторов позиционирования нуклеосом: упомянутым выше повторам динуклеотидов и мотивам, состоящим из пяти нуклеотидов. Выбор длины в пять, а не, скажем, шесть нуклеотидов — чисто технический.

Существует также алгоритм, где статистические веса задаются тетрамерным последовательностям [69]. С другой стороны, в алгоритме Трифонова и соавт. [70] в качестве базового мотива выбрана последовательность длиной 10 нуклеотидов. Это мотивировано тем, что все положения внутри нуклеосомы, разделенные расстояниями в 10 нуклеотидов, равноправны. В этом случае математический анализ показывает, что оптимальной нуклеосомной последовательностью является $(GGAAATTTCC)_n$, а все остальные могут рассматриваться как отклонения от нее [29, 33]. Чем больше отклонений, тем ниже сродство к гистоновому октамеру. На сегодняшний день существует несколько онлайн серверов, где можно ввести интересующую нуклеотидную последовательность, и программа выдаст вероятности формирования нуклеосом вдоль нее [20, 56, 62, 71, 72].

РЕШЕТОЧНЫЕ МОДЕЛИ

Предсказать сродство октамера к последовательности ДНК — это лишь часть задачи. Вторая же часть заключается в том, чтобы по известным сайт-специфичным константам связывания реконструировать расстановку нуклеосом и транскрипционных факторов на ДНК [73]. Последняя задача зачастую более сложная. В общем случае каждый белок характеризуется своей молярной концентрацией, сайт-специфичными константами связывания с ДНК и константами взаимодействия с другими белками, а при связывании может занимать одну или несколько ячеек одномерной решетки ДНК. В качестве элементарной ячейки такой одномерной решетки рассматривают нуклеотиды, динуклеотиды, и т.д. Существуют различные методы, позволяющие рассчитать карту многокомпонентного кооперативного связывания белков с ДНК. В их число входят метод бинарных переменных, комбинаторный метод, метод производящих функций, матричный метод и метод рекуррентных соотношений, детально описанные в недавних обзорах [27, 73]. Метод рекуррентных соотношений, относящийся к классу алгоритмов динамического программирования, оказался наиболее быстрым, поэтому он получил широкое распространение в работах по расчету расстановки нуклеосом и белков в хроматине [20, 35, 36, 74–78]. Следует отметить, что в общем случае, учитывая взаимодействие между белками, разделенными несколькими парами нуклеотидов на ДНК, этот метод предложили в 1978 году Гурский и Заседателев [79]. Теория Гурского и Заседателева освещена в целом ряде работ [27, 80–82] и вошла в классические учебники по биофизике под редакцией Волькенштейна. Однако, по видимому, этот метод опередил свое время. Дело в том, что в 70-е годы прошлого века решеточные модели использовались в основном для расчета

кривых титрования, что можно сделать многими способами. Сегодня же на первый план выходит расчет карт связывания многих белков для больших геномных участков, где время расчета становится критическим фактором. В методе Гурского и Заседателява время расчета растет линейно с длиной ДНК – это, вероятно, самый быстрый алгоритм для данной задачи.

Нуклеосома может рассматриваться в решеточных моделях как один из множества типов комплексов белок-ДНК. Непосредственно для нуклеосом первую решеточную модель разработали Kornberg и Stryer [83]. В этой модели количество нуклеосом на ДНК было фиксированным, но изменялись их позиции. Эта работа предсказала, что положения нуклеосом вблизи границ рассматриваемого сегмента ДНК осциллируют – периодичность расположения нуклеосом затухает при удалении от границы. Такие граничные эффекты не являются специфичными для нуклеосом, они наблюдаются в общем случае связывания ДНК с белками [84–86]. Недавние экспериментальные данные [53, 87–89] и теоретические исследования [39, 90] подтвердили важность граничных эффектов для позиционирования нуклеосом на ДНК. Например, участок ДНК, предшествующий сайту начала транскрипции, как правило, лишен нуклеосом. Этот участок образует барьер, определяющий осциллирующее позиционирование ближайших нуклеосом [87, 88]. Еще более сильный барьер формируется при связывании так называемого “изоляторного” белка CTCF, который может позиционировать около 20 нуклеосом [89]. Двадцать лет назад Kornberg и Stryer предположили, что “граничный эффект является эффектом первого порядка, в то время как сайт-специфическое связывание гистоновых белков с определенными последовательностями ДНК – это эффект второго порядка, чье влияние на соседние нуклеосомы относится к эффектам третьего порядка” [83]. Как мы увидим ниже, до настоящего момента вопрос относительного влияния каждого из трех эффектов остается предметом для дискуссии. Модель Kornberg и Stryer с фиксированным числом нуклеосом была затем расширена Нечипуренко и соавт. [91–93] для случая переменного числа нуклеосом по аналогии с обычным связыванием ДНК с лигандами. Это потребовало введения энергетических параметров – константы связывания с ДНК гистоновых октамеров, а также их эффективной концентрации и константы кооперативности межнуклеосомного взаимодействия. В настоящее время аналогичные подходы успешно используются для анализа позиционирования нуклеосом в геноме [18, 20, 27, 39, 94, 95].

РАЗВОРАЧИВАНИЕ НУКЛЕОСОМ

Решеточные модели связывания белков с ДНК, описанные выше, обычно рассматривают нуклеосому в виде единого целого. При этом предполагается, что белок при связывании с ДНК закрывает фиксированное число пар нуклеотидов, т.е. белок может быть либо связан, либо нет, а промежуточные состояния запрещены. Например, если белок закрывает m нуклеотидов при связывании с сайтом ДНК, начинающимся с позиции n , то все нуклеотиды от n до $n + m - 1$ связаны с данным белком и не могут быть связаны с другими белками. Однако в действительности связывание белков с ДНК не осуществляется посредством простого механизма типа “все или ничего”, а проходит через ряд промежуточных состояний. Так, например, фактор транскрипции UBF состоит из нескольких HMG-доменов, которые последовательно связываются с ДНК в зависимости от изгиба двойной спирали, вызванного связыванием предыдущих доменов этого белка [96]. Такой тип связывания является скорее правилом, чем исключением. В частности, в хроматине регуляция доступности ДНК для факторов транскрипции зачастую осуществляется за счет частичной диссоциации или разворачивания нуклеосомы [49, 97–106]. Ранее был предложен общий матричный метод для описания в рамках решеточных моделей ассоциации/диссоциации белковых мультимеров при их связывании с ДНК [107]. Нуклеосома – это частный случай белкового мультимера, поэтому аналогичную логику можно применить для описания частичной диссоциации нуклеосомы, когда один или более гистоновых димеров покидают октамер [27].

Что касается частичного разворачивания нуклеосомной ДНК, то в последние годы предложено несколько моделей для описания экспериментов с единичными волокнами хроматина, где нить ДНК с нуклеосомами растягивают при помощи магнитного пинцета или атомной силовой микроскопии [14, 108–111]. Однако эти описания не применимы напрямую к разворачиванию нуклеосомы *in vivo*, которое может происходить спонтанно в отсутствие внешних сил. В связи с этим недавно разработали одномерную решеточную модель, основанную на классических решеточных моделях связывания ДНК с белком, но позволяющую описывать промежуточные состояния, где нуклеосома частично развернута [37]. Идея этой модели заключается в том, что хотя физически ДНК обернута вокруг гистонового октамера, математически это равносильно тому, что при связывании белковый комплекс закрывает $m = 147$ п.н. или меньше. Комплексы с $m < 147$ п.н. соответствуют частичному разворачиванию нуклеосомы и численно характеризуются статистическими весами для разрыва, соответственно, од-

ного или большего числа контактов ДНК с гистоновым октамером. Эта модель предсказала два эффекта. Во-первых, благодаря разворачиванию нуклеосомной ДНК, с ней могут связаться транскрипционные факторы, тогда как центральная часть нуклеосомы, наоборот, стабилизируется и становится еще более недоступной для связывания. Во-вторых, частично развернутые нуклеосомы могут плавно переходить друг в друга, так что две нуклеосомы закрывают меньше чем 2×147 п.н. Оба эти эффекта действительно обнаружены экспериментально [103, 112]. Более того, решеточная модель, учитывающая разворачивание нуклеосомной ДНК, позволила численно описать результаты опытов, где позиции нуклеосом на известной нуклеотидной последовательности определяли *in vitro* при помощи атомной силовой микроскопии [53]. Сравнение расчетов в рамках данной модели с результатами опытов другого типа, в которых с помощью метода флуоресцентной микроскопии определяли доступность нуклеосомной ДНК в зависимости от позиции сайта внутри нуклеосомы [102], позволило оценить энергию разворачивания в $1-2 k_B T$ на нанометр ДНК, что совпадает с предыдущими теоретическими оценками [109]. Решеточная модель, учитывающая разворачивание нуклеосомы, сформулирована при помощи матричного формализма так, что она включает в себя в качестве частного случая традиционную модель диссоциации нуклеосомы по принципу “все или ничего”, и таким образом может заменить предыдущие модели [37]. Похожую модель в упрощенном варианте (без сайт-специфичности связывания) недавно рассмотрел Мирный в рамках комбинаторного метода [113]. Тейф и Rippe также сформулировали решение этой задачи методом рекуррентных соотношений [73]. Было показано, что при учете возможности разворачивания нуклеосомы время расчета методом матричного формализма и методом рекуррентных соотношений сопоставимо.

СВЯЗЫВАНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ С НУКЛЕОСОМНОЙ ДНК

Взаимодействие транскрипционных факторов с нуклеосомами – неотъемлемая часть почти любого процесса генной регуляции. Существует класс транскрипционных факторов, которые могут связаться не с самой двойной спиралью ДНК, а с нуклеосомой как целым – так называемые затравочные (*pioneer*) транскрипционные факторы [51]. К их числу относится, например, FoxA [114]. Однако большинство транскрипционных факторов конкурирует с гистоновым октамером за связывание с ДНК. В этой связи особенно интересна ситуация, когда два и более сайта связывания транскрипционных факторов находятся рядом. Теоретические расчеты показывают, что если одному фактору удалось связаться с нуклеосомной

ДНК, то это стабилизирует частично развернутую конформацию нуклеосомы, и второму транскрипционному фактору связаться легче [26, 37, 113]. Поскольку в геноме сайты связывания транскрипционных факторов зачастую образуют небольшие кластеры (~10–20 сайтов на участке в несколько сотен пар нуклеотидов) [115], то такого рода кооперативные эффекты вполне ожидаемы *in vivo* и наблюдались экспериментально *in vitro* [116, 117]. Подобный тип кооперативности назван “коллоборативной конкуренцией” [117]. Расчеты, проведенные для коротких участков ДНК длиной 147 п.н., показывают, что если нуклеосома не разворачивается, то связывание единичного транскрипционного фактора с ДНК в составе нуклеосомы является маловероятным процессом для типичных энергий связывания небольших белков. При учете возможности частичного разворачивания нуклеосомы вероятность связывания транскрипционного фактора существенно увеличивается. Если же сайты связывания транскрипционных факторов расположены на расстоянии <60 п.н., то проявляется эффект коллоборативной конкуренции, и вероятность связывания обоих факторов возрастает. С учетом частичного разворачивания нуклеосомы роль этого эффекта увеличивается. Любопытно, что если продолжить увеличивать расстояние между сайтами связывания транскрипционных факторов, то расчеты предсказывают противоположный эффект. В этом случае между двумя транскрипционными факторами может разместиться частично развернутая нуклеосома, и если гистоновый октамер кооперативно взаимодействует с одним из транскрипционных факторов, то второй транскрипционный фактор “выталкивается” нуклеосомой. Предложено, что такой механизм может быть характерен для ряда транскрипционных факторов-антагонистов, в частности для репрессоров и активаторов транскрипции Giant и Twist, регулирующих эмбриональное развитие *Drosophila* [137].

Когда аналогичный расчет провели для более длинных геномных участков, то оказалось, что факторы транскрипции, расположенные тандемом (разделенные расстояниями ~10–20 п.н.), практически всегда выигрывали конкуренцию с нуклеосомами [37]. Последнее утверждение не означает, что вероятность связывания фактора транскрипции выше вероятности встретить в данном месте нуклеосому, а означает, что вероятность обнаружить нуклеосому существенно уменьшается (относительно своего среднего уровня) из-за связывания фактора транскрипции [37]. В экспериментах, где распределение нуклеосом вдоль генома определяют при помощи методов ChIP-seq или ChIP-chip, области с низким заполнением нуклеосомами обычно интерпретируются как последовательности с низким сродством к нуклеосо-

мам. Однако анализ, приведенный выше, говорит о том, что такие участки могут также соответствовать и кластерам сайтов факторов транскрипции [37]. Экспериментально обнаружено, что промоторы транскрипционно активных генов чаще свободны от нуклеосом, тогда как промоторы неактивных генов заняты нуклеосомами, которые затем удаляются или перемещаются ремоделерами в ходе активации генов [118–120]. Многие промоторы не только содержат сайты связывания факторов транскрипции и РНК-полимеразы, но и имеют плохое сродство к гистоновому октамеру (например, повторы poly(dA·dT)) [25, 40, 47]. Таким образом, вопрос “курица или яйцо” остается открытым. Не понятно, то ли на промоторных участках нуклеосом меньше из-за низкого сродства к последовательности ДНК, то ли из-за конкуренции с факторами транскрипции.

ПЕРЕСТАНОВКИ НУКЛЕОСОМ

Картина, описанная выше, основана на принципах равновесной термодинамики, где предполагается, что расположение нуклеосом соответствует термодинамическому равновесию. В реальности же в клеточном ядре термодинамическое равновесие отсутствует. Большая вязкость среды и малое число копий белков приводит к тому, что говорить о концентрациях свободных молекул становится в ряде случаев бессмысленно, и преобладают кинетические эффекты [4]. Однако даже в отсутствие термодинамического равновесия усредненная картина распределения небольших транскрипционных факторов вдоль ДНК соответствует картине, которая наблюдалась бы в равновесии [121]. В случае нуклеосом дело обстоит иначе, и, по-видимому, существенная часть нуклеосом находится в “кинетических ловушках”, в положениях, отличных от наиболее оптимальных с точки зрения термодинамики [122]. Более того, положения нуклеосом динамически меняются с течением времени. Чтобы убедиться в этом, достаточно взглянуть на такой интегральный параметр, как средняя длина ДНК между нуклеосомами [51]. Длина линкера отличается не только у разных организмов (~7 п.н. у *Schizosaccharomyces pombe*, ~18 п.н. у *S. cerevisiae*, ~28 п.н. у *Drosophila melanogaster* и *Caenorhabditis elegans*, ~38 п.н. у *Homo sapiens* [22, 123]), но и в различных типах клеток одного и того же организма (~26 п.н. в корковых нейронах человека и 60 п.н. в глиальных клетках) [2]). Более того, даже клетки одного типа характеризуются разной средней длиной линкера на разных стадиях развития [124, 125] и в зависимости от активации различных иммунных процессов [39, 118].

В связи с этим разработана решеточная модель, в которой распределение нуклеосом вдоль ДНК рассчитывалось итеративно с использованием правил перестановки нуклеосом ремоделе-

рами [39]. Правила ремоделеров при этом задавались при помощи небольшого числа параметров, специфичных для ремоделера данного типа: 1) Шаг ремоделера – расстояние, на которое перемещается нуклеосома в ходе элементарной реакции. Шаг определяется длиной петли ДНК, которую формирует ремоделер. Считается, что механизм перемещения нуклеосомы заключается в передислокации этой петли ДНК из начала в конец нуклеосомы без ее диссоциации [126]. У большинства ремоделеров величина шага кратна 10 п.н. 2) Вероятность перемещения нуклеосомы налево или направо. Этот параметр зависит от нуклеотидной последовательности ДНК и от типа ремоделера, поскольку предполагается, что ремоделер интегрирует два сигнала: собственные предпочтения и сродство гистонового октамера к данному сайту ДНК. Расчет показал, что в результате большого числа итераций действие ремоделера, который не имеет собственных предпочтений, приводит к тому, что нуклеосомы вблизи границы располагаются через равномерные промежутки [39]. Подобный эффект был действительно обнаружен в недавних экспериментах. Оказалось, что позиционирование нуклеосом, реконструированных *in vitro*, существенно отличалось от позиционирования нуклеосом на том же участке ДНК *in vivo*. Однако при добавлении *in vitro* ремоделеров в присутствии АТР восстанавливалась характерная осцилляция позиций нуклеосом вблизи старта транскрипции, наблюдавшаяся на данных участках *in vivo* [138]. Действие ремоделера, который усиливает существующие предпочтения гистонового октамера к ДНК, заключается в избирательном перераспределении вероятности обнаружения нуклеосом между существующими сайтами. Действие ремоделера, который имеет ярко выраженные собственные предпочтения, заключается в удалении некоторых конкретных нуклеосом с их сайтов. Ремоделеры других типов оказалось возможным свести к трем перечисленным выше. Недавняя экспериментальная работа, в которой используется нокаут ремоделера Isw1, подтвердила эти теоретические выводы и также обнаружила эти три возможных сценария действия ремоделеров [127]. Следующим шагом, очевидно, станет идентификация правил перестановки нуклеосом специфическими ремоделерами. Эта задача ожидает своего решения.

СКОЛЬКО КОДОВ В ГЕНОМЕ?

В последнее время стала довольно популярной идея о существовании так называемого “нуклеосомного кода”, однозначно определяющего позиционирование нуклеосом [15, 20]. Однако, поскольку число возможных комбинаций нуклеосомных последовательностей – 4^{147} – намного больше длины любого генома, то на практике нуклеосом-

ный код, полученный на основе одного генома не всегда служит хорошим предсказанием для другого организма [40, 128]. Дискуссии о том, является ли нуклеотидная последовательность определяющей при формировании нуклеосом *in vivo*, в последнее время становятся весьма острыми [22, 24–26, 29, 40, 129–131]. Так, недавно было показано, что нуклеаза микрококков, используемая в большинстве опытов по позиционированию нуклеосом для разрушения линкерной ДНК, имеет собственные предпочтения, коррелирующие с нуклеосомным кодом [132]. В связи с этим было предложено вместо нуклеазы использовать ультразвук. Однако оказалось, что и ультразвук разрушает ДНК не случайным образом, а в зависимости от нуклеотидной последовательности [133]. В любом случае, сегодня уже твердо установлено, что связывание гистонового октамера с ДНК, как и связывание любого другого белкового комплекса – сайт-специфическое. Вопрос только в том, в какой мере проявляется эта сайт-специфичность. Здесь все познается в сравнении. Например, недавно показали, что связывание с ДНК бактериальных белков H-NS, которые выполняют роль, аналогичную роли гистонов у эукариот, также характеризуется небольшой, но четко выраженной сайт-специфичностью [134]. Однако роль подобной сайт-специфичности в генной регуляции у прокариот по аналогии с эукариотическим хроматином пока не выявлена. В случае же хроматина прямыми экспериментами показано, что положение нуклеосом непосредственно влияет на активность промотора [7]. По-видимому, нуклеосомный код накладывается на целый ряд других кодов хроматина. Например, на так называемый STCF-код, который определяет сайты связывания STCF-белков, служащих, как отмечено выше, организующими элементами для позиционирования нуклеосом [135]. Кроме того, в свете недавней волны публикаций о так называемом гистоновом коде, реализующемся при помощи ковалентных модификаций гистонов [136], предполагается, что практически все нуклеосомы отличаются друг от друга, что также может нести дополнительный сигнал для ремоделеров о разрешенной или запрещенной перестановке данной нуклеосомы [27]. Таким образом, несмотря на огромный прогресс в этой области, многие вопросы остаются открытыми.

Авторы благодарят Karsten Rippe за плодотворные обсуждения и Евгения Вайнштейна за критические замечания по тексту статьи.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (Б10М-2010) и гранта EpiGenSys в рамках программы EraSysBio+ (BMBF).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Olins A.L., Olins D.E. 1974. Spheroid chromatin units (v bodies). *Science*. **183**, 330–332.
2. van Holde K.E. 1989. *Chromatin*. N.Y.: Springer-Verlag.
3. Davey C.A., Sargent D.F., Luger K., Maeder A.W., Richmond T.J. 2002. Solvent mediated interactions in the structure of the nucleosome core particle at 1.9 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **319**, 1097–1113.
4. Teif V.B., Bohinc K. 2011. Condensed DNA: condensing the concepts. *Progress Biophys. Mol. Biol.* **105**, 208–222.
5. Boeger H., Griesenbeck J., Kornberg R.D. 2008. Nucleosome retention and the stochastic nature of promoter chromatin remodeling for transcription. *Cell*. **133**, 716–726.
6. Kim H.D., O'Shea E.K. 2008. A quantitative model of transcription factor-activated gene expression. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **15**, 1192–1198.
7. Lam F.H., Steger D.J., O'Shea E.K. 2008. Chromatin decouples promoter threshold from dynamic range. *Nature*. **453**, 246–250.
8. Petesch S.J., Lis J.T. 2008. Rapid, transcription-independent loss of nucleosomes over a large chromatin domain at Hsp70 loci. *Cell*. **134**, 74–84.
9. Whitehouse I., Rando O.J., Delrow J., Tsukiyama T. 2007. Chromatin remodelling at promoters suppresses antisense transcription. *Nature*. **450**, 1031–1035.
10. Zhao X., Pendergrast P.S., Hernandez N. 2001. A positioned nucleosome on the human U6 promoter allows recruitment of SNAPc by the Oct-1 POU domain. *Mol. Cell*. **7**, 539–549.
11. Разин С.В. 2007. Хроматин и регуляция транскрипции. *Молекуляр. биология*. **41**, 387–394.
12. Разин С.В., Быстрицкий А.А. 2009. *Хроматин: упакованный геном*. М.: БИНОМ, 171 с.
13. Осипов С.А., Преображенская О.В., Карпов В.Л. 2010. Структура хроматина и регуляция транскрипции у *Saccharomyces cerevisiae*. *Молекуляр. биология*. **44**, 966–979.
14. Сиволоб А.В. 2010. Конформационная подвижность нуклеосом в экспериментах с индивидуальными хроматиновыми фибриллами. *Биополимеры и клетка*. **26**, 351–359.
15. Trifonov E.N. 1980. Sequence-dependent deformational anisotropy of chromatin DNA. *Nucl. Acids Res.* **8**, 4041–4053.
16. Trifonov E.N., Sussman J.L. 1980. The pitch of chromatin DNA is reflected in its nucleotide sequence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **77**, 3816–3820.
17. Yuan G.C., Liu Y.J., Dion M.F., Slack M.D., Wu L.F., Altschuler S.J., Rando O.J. 2005. Genome-scale identification of nucleosome positions in *S. cerevisiae*. *Science*. **309**, 626–630.
18. Ioshikhes I.P., Albert I., Zanton S.J., Pugh B.F. 2006. Nucleosome positions predicted through comparative genomics. *Nat. Genet.* **38**, 1210–1215.
19. Johnson S.M., Tan F.J., McCullough H.L., Riordan D.P., Fire A.Z. 2006. Flexibility and constraint in the nucleosome core landscape of *Caenorhabditis elegans* chromatin. *Genome Res.* **16**, 1505–1516.

20. Segal E., Fondufe-Mittendorf Y., Chen L., Thåström A., Field Y., Moore I.K., Wang J.P., Widom J. 2006. A genomic code for nucleosome positioning. *Nature*. **442**, 772–778.
21. Schones D.E., Zhao K. 2008. Genome-wide approaches to studying chromatin modifications. *Nat. Rev. Genet.* **9**, 179–191.
22. Jiang C., Pugh B.F. 2009. Nucleosome positioning and gene regulation: advances through genomics. *Nat. Rev. Genet.* **10**, 161–172.
23. Park P.J. 2009. ChIP-seq: advantages and challenges of a maturing technology. *Nat. Rev. Genet.* **10**, 669–680.
24. Cairns B.R. 2009. The logic of chromatin architecture and remodelling at promoters. *Nature*. **461**, 193–198.
25. Radman-Livaja M., Rando O.J. 2009. Nucleosome positioning: How is it established, and why does it matter? *Dev. Biol.* **339**, 258–266.
26. Segal E., Widom J. 2009. From DNA sequence to transcriptional behaviour: a quantitative approach. *Nat. Rev. Genet.* **10**, 443–456.
27. Teif V., Rippe K. 2010. Statistical-mechanical lattice models for protein-DNA binding in chromatin. *J. Phys.: Condens. Matter*. **22**, 414105.
28. Tolkunov D., Morozov A.V. 2010. Genomic studies and computational predictions of nucleosome positions and formation energies. *Adv. Prot. Chem. Struct. Biol.* **79**, 1–57.
29. Trifonov E.N. 2011. Cracking the chromatin code: Precise rule of nucleosome positioning. *Phys. Life Rev.* **8**, 39–50.
30. Thåström A., Lowary P.T., Widlund H.R., Cao H., Kubista M., Widom J. 1999. Sequence motifs and free energies of selected natural and non-natural nucleosome positioning DNA sequences. *J. Mol. Biol.* **288**, 213–229.
31. Whitehouse I., Tsukiyama T. 2006. Antagonistic forces that position nucleosomes *in vivo*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **13**, 633–640.
32. Peckham H.E., Thurman R.E., Fu Y., Stamatoyannopoulos J.A., Noble W.S., Struhl K., Weng Z. 2007. Nucleosome positioning signals in genomic DNA. *Genome Res.* **17**, 1170–1177.
33. Trifonov E.N. 2010. Nucleosome positioning by sequence, state of the art and apparent finale. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **27**, 741–746.
34. Workman J.L., Kingston R.E. 1992. Nucleosome core displacement *in vitro* via a metastable transcription factor-nucleosome complex. *Science*. **258**, 1780–1784.
35. Morozov A.V., Fortney K., Gaykalova D.A., Studitsky V.M., Widom J., Siggia E.D. 2009. Using DNA mechanics to predict *in vitro* nucleosome positions and formation energies. *Nucl. Acids Res.* **37**, 4707–4722.
36. Wasson T., Hartemink A.J. 2009. An ensemble model of competitive multi-factor binding of the genome. *Genome Res.* **19**, 2101–2112.
37. Teif V., Ettig R., Rippe K. 2010. A lattice model for nucleosome unwrapping. *Biophys. J.* **99**, 2597–2607.
38. Hartley P.D., Madhani H.D. 2009. Mechanisms that specify promoter nucleosome location and identity. *Cell*. **137**, 445–458.
39. Teif V.B., Rippe K. 2009. Predicting nucleosome positions on the DNA: combining intrinsic sequence preferences and remodeler activities. *Nucl. Acids Res.* **37**, 5641–5655.
40. Zhang Y., Moqtaderi Z., Rattner B.P., Euskirchen G., Snyder M., Kadonaga J.T., Liu X.S., Struhl K. 2009. Intrinsic histone-DNA interactions are not the major determinant of nucleosome positions *in vivo*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **16**, 847–852.
41. Erdel F., Schubert T., Marth C., Langst G., Rippe K. 2010. Human ISWI chromatin-remodeling complexes sample nucleosomes via transient binding reactions and become immobilized at active sites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **107**, 19873–19878.
42. Xu F., Olson W.K. 2010. DNA architecture, deformability, and nucleosome positioning. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **27**, 725–739.
43. Heddi B., Oguey C., Lavelle C., Fologne N., Hartmann B. 2010. Intrinsic flexibility of B-DNA: the experimental TRX scale. *Nucl. Acids Res.* **38**, 1034–1047.
44. Bettecken T., Trifonov E.N. 2009. Repertoires of the nucleosome-positioning dinucleotides. *PLoS One*. **4**, e7654.
45. Schwanbeck R., Xiao H., Wu C. 2004. Spatial contacts and nucleosome step movements induced by the NURF chromatin remodeling complex. *J. Biol. Chem.* **279**, 39933–39941.
46. Zofall M., Persinger J., Kassabov S.R., Bartholomew B. 2006. Chromatin remodeling by ISW2 and SWI/SNF requires DNA translocation inside the nucleosome. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **13**, 339–346.
47. Segal E., Widom J. 2009. Poly(dA:dT) tracts: major determinants of nucleosome organization. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **19**, 65–71.
48. Bi X., Yu Q., Sandmeier J.J., Zou Y. 2004. Formation of boundaries of transcriptionally silent chromatin by nucleosome-excluding structures. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 2118–2131.
49. Anderson J.D., Widom J. 2000. Sequence and position-dependence of the equilibrium accessibility of nucleosomal DNA target sites. *J. Mol. Biol.* **296**, 979–987.
50. Thåström A., Lowary P.T., Widom J. 2004. Measurement of histone-DNA interaction free energy in nucleosomes. *Methods*. **33**, 33–44.
51. Längst G., Teif V.B., Rippe K. 2011. Chromatin remodeling by translocation of nucleosomes. In: *Genome organization and function in the cell nucleus*. Ed. Rippe K. Weinheim: Wiley-VCH, 111–139.
52. Tolstorukov M.Y., Choudhary V., Olson W.K., Zhurkin V.B., Park P.J. 2008. nuScore: a web-interface for nucleosome positioning predictions. *Bioinformatics*. **24**, 1456–1458.
53. Milani P., Chevereau G., Vaillant C., Audit B., Haftek-Terreau Z., Marilley M., Bouvet P., Argoul F., Arneodo A. 2009. Nucleosome positioning by genomic excluding-energy barriers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **106**, 22257–22262.

54. Scipioni A., Morosetti S., de Santis P. 2009. A statistical thermodynamic approach for predicting the sequence-dependent nucleosome positioning along genomes. *Biopolymers*. **91**, 1143–1153.
55. Cui F., Zhurkin V.B. 2010. Structure-based analysis of DNA sequence patterns guiding nucleosome positioning *in vitro*. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **27**, 821–841.
56. Locke G., Tolkunov D., Moqtaderi Z., Struhl K., Morozov A.V. 2010. High-throughput sequencing reveals a simple model of nucleosome energetics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **107**, 20998–21003.
57. Albert I., Mavrich T.N., Tomsho L.P., Qi J., Zanton S.J., Schuster S.C., Pugh B.F. 2007. Translational and rotational settings of H2A. Z nucleosomes across the *Saccharomyces cerevisiae* genome. *Nature*. **446**, 572–576.
58. Lee W., Tillo D., Bray N., Morse R.H., Davis R.W., Hughes T.R., Nislow C. 2007. A high-resolution atlas of nucleosome occupancy in yeast. *Nat. Genet.* **39**, 1235–1244.
59. Field Y., Kaplan N., Fondufe-Mittendorf Y., Moore I.K., Sharon E., Lubling Y., Widom J., Segal E. 2008. Distinct modes of regulation by chromatin encoded through nucleosome positioning signals. *PLoS Comput Biol.* **4**, e1000216.
60. Gupta S., Dennis J., Thurman R.E., Kingston R., Stamatoyannopoulos J.A., Noble W.S. 2008. Predicting human nucleosome occupancy from primary sequence. *PLoS Comp. Biol.* **4**, e1000134.
61. Yuan G.-C., Liu J.S. 2008. Genomic sequence is highly predictive of local nucleosome depletion. *PLoS Comp. Biol.* **4**, e13.
62. Gabdank I., Barash D., Trifonov E.N. 2010. FineStr: a web server for single-base-resolution nucleosome positioning. *Bioinformatics*. **26**, 845–846.
63. Ogawa R., Kitagawa N., Ashida H., Saito R., Tomita M. 2010. Computational prediction of nucleosome positioning by calculating the relative fragment frequency index of nucleosomal sequences. *FEBS Lett.* **584**, 1498–1502.
64. Stormo G.D., Zhao Y. 2010. Determining the specificity of protein-DNA interactions. *Nat. Rev. Genet.* **11**, 751–760.
65. Berg O.G., von Hippel P.H. 1987. Selection of DNA binding sites by regulatory proteins. Statistical-mechanical theory and application to operators and promoters. *J. Mol. Biol.* **193**, 723–750.
66. Pfreundt U., James D.P., Tweedie S., Wilson D., Teichmann S.A., Adryan B. 2010. FlyTF: improved annotation and enhanced functionality of the *Drosophila* transcription factor database. *Nucl. Acids Res.* **38**, D443–447.
67. Portales-Casamar E., Thongjuea S., Kwon A.T., Arenillas D., Zhao X., Valen E., Yusuf D., Lenhard B., Wasserman W.W., Sandelin A. 2010. JASPAR 2010: the greatly expanded open-access database of transcription factor binding profiles. *Nucl. Acids Res.* **38**, D105–110.
68. Wingender E., Dietze P., Karas H., Knuppel R. 1996. TRANSFAC: a database on transcription factors and their DNA binding sites. *Nucl. Acids Res.* **24**, 238–241.
69. Collings C.K., Fernandez A.G., Pitschka C.G., Hawkins T.B., Anderson J.N. 2010. Oligonucleotide sequence motifs as nucleosome positioning signals. *PLoS ONE*. **5**, e10933.
70. Gabdank I., Barash D., Trifonov E.N. 2009. Nucleosome DNA bendability matrix (*C. elegans*). *J. Biomol. Struct. Dyn.* **26**, 403–411.
71. Levitsky V.G. 2004. RECON: a program for prediction of nucleosome formation potential. *Nucl. Acids Res.* **32**, W346–349.
72. Xi L., Fondufe-Mittendorf Y., Xia L., Flatow J., Widom J., Wang J.P. 2010. Predicting nucleosome positioning using a duration Hidden Markov Model. *BMC Bioinformatics*. **11**, 346.
73. Teif V.B., Rippe K. 2011. Calculating transcription factor binding maps for chromatin. *Brief. Bioinform.* In press. DOI:10.1093/bib/bbr037.
74. Hermsen R., Tans S., ten Wolde P.R. 2006. Transcriptional regulation by competing transcription factor modules. *PLoS Comput Biol.* **2**, e164.
75. Segal E., Raveh-Sadka T., Schroeder M., Unnerstall U., Gaul U. 2008. Predicting expression patterns from regulatory sequence in *Drosophila segmentation*. *Nature*. **451**, 535–540.
76. He X., Chen C.C., Hong F., Fang F., Sinha S., Ng H.H., Zhong S. 2009. A biophysical model for analysis of transcription factor interaction and binding site arrangement from genome-wide binding data. *PLoS One*. **4**, e8155.
77. Laurila K., Yli-Harja O., Lähdesmäki H. 2009. A protein-protein interaction guided method for competitive transcription factor binding improves target predictions. *Nucl. Acids Res.* **37**, e146.
78. He X., Samee M.A., Blatti C., Sinha S. 2010. Thermodynamics-based models of transcriptional regulation by enhancers: the roles of synergistic activation, cooperative binding and short-range repression. *PLoS Comput Biol.* **6**, e1000935.
79. Гурский Г.В., Заседателев А.С. 1978. Точные соотношения, описывающие связывание регуляторных белков и других решеточных лигандов на двухспиральных полинуклеотидах. *Биофизика*. **23**, 932–946.
80. Krylov A.S., Grokhovsky S.L., Zasedatelev A.S., Zhuze A.L., Gursky G.V., Gottikh B.P. 1979. Quantitative estimation of the contribution of pyrrolcarboxamide groups of the antibiotic distamycin A into specificity of its binding to DNA AT pairs. *Nucl. Acids Res.* **6**, 289–304.
81. Wolfe A.R., Meehan T. 1992. Use of binding site neighbor-effect parameters to evaluate the interactions between adjacent ligands on a linear lattice. Effects on ligand-lattice association. *J. Mol. Biol.* **223**, 1063–1087.
82. Нечипуренко Ю.Д., Гурский Г.В. 2003. Термодинамические модели связывания лигандов с ДНК. *Биофизика*. **48**, 773–796.
83. Kornberg R.D., Stryer L. 1988. Statistical distributions of nucleosomes: nonrandom locations by a stochastic mechanism. *Nucl. Acids Res.* **16**, 6677–6690.
84. Epstein I.R. 1978. Cooperative and noncooperative binding of large ligands to a finite one-dimensional lat-

- tice. A model for ligand-oligonucleotide interactions. *Biophys. Chem.* **8**, 327–339.
85. Di Cera E., Phillipson P.E. 1996. Map analysis of ligand binding to a linear lattice. *Biophys. Chem.* **61**, 125–129.
86. Flyvbjerg H., Keatch S.A., Dryden D.T. 2006. Strong physical constraints on sequence-specific target location by proteins on DNA molecules. *Nucl. Acids Res.* **34**, 2550–2557.
87. Kharchenko P.V., Woo C.J., Tolstorukov M.Y., Kingston R.E., Park P.J. 2008. Nucleosome positioning in human *HOX* gene clusters. *Genome Res.* **18**, 1554–1561.
88. Mavrich T.N., Ioshikhes I.P., Venters B.J., Jiang C., Tomsho L.P., Qi J., Schuster S.C., Albert I., Pugh B.F. 2008. A barrier nucleosome model for statistical positioning of nucleosomes throughout the yeast genome. *Genome Res.* **18**, 1073–1083.
89. Cuddapah S., Jothi R., Schones D.E., Roh T.-Y., Cui K., Zhao K. 2009. Global analysis of the insulator binding protein CTCF in chromatin barrier regions reveals demarcation of active and repressive domains. *Genome Res.* **19**, 24–32.
90. Vaillant C., Palmeira L., Chevereau G., Audit B., d'Aubenton-Carafa Y., Thermes C., Arneodo A. 2010. A novel strategy of transcription regulation by intragenic nucleosome ordering. *Genome Res.* **20**, 59–67.
91. Нечипуренко Ю.Д., Волькенштейн М.В. 1986. Анализ расположения нуклеосом на сателлитной ДНК. *ДАН СССР.* **286**, 216–220.
92. Нечипуренко Ю.Д. 1988. Антикооперативные взаимодействия между ближайшими соседними хроматосомами. *Биофизика.* **33**, 580–583.
93. Йованович Б., Нечипуренко Ю.Д. 1990. Анализ распределения лигандов, адсорбированных на фрагментах ДНК. *Молекуляр. биология.* **24**, 478–486.
94. Schwab D.J., Bruinsma R.F., Rudnick J., Widom J. 2008. Nucleosome switches. *Phys. Rev. Lett.* **100**, 228105.
95. Chevereau G., Palmeira L., Thermes C., Arneodo A., Vaillant C. 2009. Thermodynamics of intragenic nucleosome ordering. *Phys. Rev. Lett.* **103**, 188103.
96. Stefanovsky V.Y., Pelletier G., Bazett-Jones D.P., Crane-Robinson C., Moss T. 2001. DNA looping in the RNA polymerase I enhancosome is the result of non-cooperative in-phase bending by two UBF molecules. *Nucl. Acids Res.* **29**, 3241–3247.
97. Anderson J.D., Thåström A., Widom J. 2002. Spontaneous access of proteins to buried nucleosomal DNA target sites occurs via a mechanism that is distinct from nucleosome translocation. *Mol. Cell. Biol.* **22**, 7147–7157.
98. Li G., Levitus M., Bustamante C., Widom J. 2005. Rapid spontaneous accessibility of nucleosomal DNA. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **12**, 46–53.
99. Bucci A., Kapitzka K., Thoma F. 2006. Rapid accessibility of nucleosomal DNA in yeast on a second time scale. *EMBO J.* **25**, 3123–3132.
100. Poirier M.G., Bussiek M., Langowski J., Widom J. 2008. Spontaneous access to DNA target sites in folded chromatin fibers. *J. Mol. Biol.* **379**, 772–786.
101. Gansen A., Valeri A., Hauger F., Felekyan S., Kalinin S., Toth K., Langowski J., Seidel C.A. 2009. Nucleosome disassembly intermediates characterized by single-molecule FRET. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**, 15308–15313.
102. Koopmans W.J., Buning R., Schmidt T., van Noort J. 2009. spFRET using alternating excitation and FCS reveals progressive DNA unwrapping in nucleosomes. *Biophys. J.* **97**, 195–204.
103. Poirier M.G., Oh E., Tims H.S., Widom J. 2009. Dynamics and function of compact nucleosome arrays. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **16**, 938–944.
104. Shlyakhtenko L.S., Lushnikov A.Y., Lyubchenko Y.L. 2009. Dynamics of nucleosomes revealed by time-lapse atomic force microscopy. *Biochemistry.* **48**, 7842–7848.
105. Zlatanova J., Bishop T.C., Victor J.M., Jackson V., van Holde K. 2009. The nucleosome family: dynamic and growing. *Structure.* **17**, 160–171.
106. Suzuki Y., Higuchi Y., Hizume K., Yokokawa M., Yoshimura S.H., Yoshikawa K., Takeyasu K. 2010. Molecular dynamics of DNA and nucleosomes in solution studied by fast-scanning atomic force microscopy. *Ultramicroscopy.* **110**, 682–688.
107. Teif V.B. 2007. General transfer matrix formalism to calculate DNA-protein-drug binding in gene regulation: application to O_R operator of phage lambda. *Nucl. Acids Res.* **35**, e80.
108. Brower-Toland B.D., Smith C.L., Yeh R.C., Lis J.T., Peterson C.L., Wang M.D. 2002. Mechanical disruption of individual nucleosomes reveals a reversible multistage release of DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **99**, 1960–1965.
109. Kulić I.M., Schiessel H. 2004. DNA spools under tension. *Phys. Rev. Lett.* **92**, 228101.
110. Möbius W., Neher R.A., Gerland U. 2006. Kinetic accessibility of buried DNA sites in nucleosomes. *Phys. Rev. Lett.* **97**, 208102.
111. Qamhieh K., Nylander T., Ainalem M.L. 2009. Analytical model study of dendrimer/DNA complexes. *Biomacromolecules.* **10**, 1720–1726.
112. Engholm M., de Jager M., Flaus A., Brenk R., van Noort J., Owen-Hughes T. 2009. Nucleosomes can invade DNA territories occupied by their neighbors. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **16**, 151–158.
113. Mirny L.A. 2010. Nucleosome-mediated cooperativity between transcription factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **107**, 22534–22539.
114. Sekiya T., Muthurajan U.M., Luger K., Tulin A.V., Zaret K.S. 2009. Nucleosome-binding affinity as a primary determinant of the nuclear mobility of the pioneer transcription factor FoxA. *Genes Dev.* **23**, 804–809.
115. Kolesov G., Wunderlich Z., Laikova O.N., Gelfand M.S., Mirny L.A. 2007. How gene order is influenced by the biophysics of transcription regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104**, 13948–13953.
116. Adams C.C., Workman J.L. 1995. Binding of disparate transcriptional activators to nucleosomal DNA is inherently cooperative. *Mol. Cell. Biol.* **15**, 1405–1421.
117. Polach K.J., Widom J. 1996. A model for the cooperative binding of eukaryotic regulatory proteins to nucleosomal target sites. *J. Mol. Biol.* **258**, 800–812.

118. Schones D.E., Cui K., Cuddapah S., Roh T.Y., Barski A., Wang Z., Wei G., Zhao K. 2008. Dynamic regulation of nucleosome positioning in the human genome. *Cell*. **132**, 887–898.
119. Kaplan N., Moore I.K., Fondufe-Mittendorf Y., Gossett A.J., Tillo D., Field Y., LeProust E.M., Hughes T.R., Lieb J.D., Widom J., Segal E. 2009. The DNA-encoded nucleosome organization of a eukaryotic genome. *Nature*. **458**, 362–366.
120. Weiner A., Hughes A., Yassour M., Rando O.J., Friedman N. 2010. High-resolution nucleosome mapping reveals transcription-dependent promoter packaging. *Genome Res.* **20**, 90–100.
121. Teif V.B. 2010. Predicting gene-regulation functions: lessons from temperate bacteriophages. *Biophys. J.* **98**, 1247–1256.
122. Wippo C.J., Israel L., Watanabe S., Hochheimer A., Peterson C.L., Korber P. 2011. The RSC chromatin remodelling enzyme has a unique role in directing the accurate positioning of nucleosomes. *EMBO J.* **30**, 1277–1288.
123. Lantermann A.B., Straub T., Stralfors A., Yuan G.C., Ekwall K., Korber P. 2010. *Schizosaccharomyces pombe* genome-wide nucleosome mapping reveals positioning mechanisms distinct from those of *Saccharomyces cerevisiae*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **17**, 251–257.
124. Weintraub H. 1978. The nucleosome repeat length increases during erythropoiesis in the chick. *Nucl. Acids Res.* **5**, 1179–1188.
125. Berkowitz E.M., Sanborn A.C., Vaughan D.W. 1983. Chromatin structure in neuronal and neuroglial cell nuclei as a function of age. *J. Neurochem.* **41**, 516–523.
126. Schiessel H., Widom J., Bruinsma R.F., Gelbart W.M. 2001. Polymer reptation and nucleosome repositioning. *Phys. Rev. Lett.* **86**, 4414–4417.
127. Tirosh I., Sigal N., Barkai N. 2010. Widespread remodeling of mid-coding sequence nucleosomes by Isw1. *Genome Biol.* **11**, R49.
128. Stein A., Takasuka T.E., Collings C.K. 2009. Are nucleosome positions *in vivo* primarily determined by histone-DNA sequence preferences? *Nucl. Acids Res.* **38**, 709–719.
129. Kaplan N., Moore I., Fondufe-Mittendorf Y., Gossett A.J., Tillo D., Field Y., Hughes T.R., Lieb J.D., Widom J., Segal E. 2010. Nucleosome sequence preferences influence *in vivo* nucleosome organization. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **17**, 918–920; author reply 920–922.
130. Pugh B.F. 2010. A preoccupied position on nucleosomes. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **17**, 923.
131. Wang X., Bryant G.O., Floer M., Spagna D., Ptashne M. 2011. An effect of DNA sequence on nucleosome occupancy and removal. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **18**, 507–509.
132. Fan X., Moqtaderi Z., Jin Y., Zhang Y., Liu X.S., Struhl K. 2010. Nucleosome depletion at yeast terminators is not intrinsic and can occur by a transcriptional mechanism linked to 3'-end formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **107**, 17945–17950.
133. Grokhovsky S.L., Il'icheva I.A., Nechipurenko D.Y., Golovkin M.V., Panchenko L.A., Polozov R.V., Nechipurenko Y.D. 2011. Sequence-specific ultrasonic cleavage of DNA. *Biophys J.* **100**, 117–125.
134. Mrazek J. 2010. Comparative analysis of sequence periodicity among prokaryotic genomes points to differences in nucleoid structure and a relationship to gene expression. *J. Bacteriol.* **192**, 3763–3772.
135. Ohlsson R., Bartkuhn M., Renkawitz R. 2010. CTCF shapes chromatin by multiple mechanisms: the impact of 20 years of CTCF research on understanding the workings of chromatin. *Chromosoma*. **119**, 351–360.
136. Jenuwein T., Allis C.D. 2001. Translating the histone code. *Science*. **293**, 1074–1080.
137. Teif V.B., Rippe K. 2011. Nucleosome mediated crosstalk between transcription factors at eukaryotic enhancers. *Phys. Biol.* **8**, 04400.
138. Zhang Z., Wippo C.J., Wal M., Ward E., Korber P., Pugh B.F. 2011. A packing mechanism for nucleosome organization reconstituted across a eukaryotic genome. *Science*. **332**, 977–980.