

Received: 2006.02.13  
Accepted: 2006.05.18  
Published: 2006.06.30

## Topologia chromosomów w jądrze komórkowym. Diploidalna komórka somatyczna. Część 1

### Topology of chromosomes in somatic cells. Part 1

Marta Żegała, Ewa Wiland, Maciej Kurpisz

Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

#### Streszczenie

Jądro komórkowe stanowi wysoce skompartmentalizowaną strukturę, w której chromosomy zajmują określone miejsce w stadium interfazy, zwane terytoriami chromosomowymi (CT). Terytoria chromosomowe razem z przestrzeniami międzychromosomowymi (IC) oraz macierzą jądrową i nukleoplazmą tworzą wewnątrzjądrową architekturę. Istnieje związek między wewnątrzjądrową architekturą a prawidłowym funkcjonowaniem genomu.

W pracy podsumowano stan wiedzy o topologii chromosomów w jądrach komórek somatycznych. Wiadomo, że wielkość i umiejscowienie terytoriów chromosomowych jest tkankowo swoista, zależy od fazy cyklu komórkowego, wielkości chromosomów oraz liczby genów aktywnie transkrybowanych. Przedstawiono wzajemną zależność pomiędzy aktywnością transkrypcyjną, poziomem organizacji chromatyny a umiejscowieniem domen chromatynowych w obrębie terytorium chromosomowego. Zwrócono uwagę na tendencję do asocjacji regionów heterochromatynowych oraz telomerów i wpływ tego zjawiska na organizację wewnątrzjądrowej architektury. Część przedstawionych wyników badań wskazuje na bezpośredni udział składników macierzy jądrowej i wewnętrznej błony jądrowej w utrzymaniu określonej pozycji przez terytoria chromosomowe. Opisano również rolę struktur ziarnistych (IGC), znajdujących się w macierzy jądrowej, w procesach zachodzących w jądrze komórkowym związanych z topologią chromosomów. Zwrócono uwagę na wpływ procesu różnicowania się różnych typów komórek na lokalizację chromosomów oraz przedstawiono obraz topologii chromosomów u odległych ewolucyjnie gatunków.

Wzajemne umiejscowienie chromosomów stanowi prawdopodobnie jeden z ważnych czynników epigenetycznych wpływających na prawidłowe funkcjonowanie genomu. Wyższe poziomy organizacji chromatyny i jej modyfikacje tworzące unikatowy dla każdego typu komórki wzór (tzw. kod epigenetyczny), odgrywają znaczącą rolę w ekspresji genów i mogą wskazywać na główną rolę przestrzennej organizacji genomu.

#### Słowa kluczowe:

terytorium chromosomu • przestrzeń międzyterytorialna • architektura wewnątrzjądrowa • lokalizacja chromosomów • aktywność transkrypcyjna • fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*

#### Summary

The interphase cell nucleus is a highly compartmentalized structure in which chromosomes are located in separate, defined places called chromosome territories (CTs). Chromosome territories with interchromatin compartments (ICs) and the nuclear matrix determine the nuclear architecture. There is a connection between nuclear architecture and genome function.

The topology of the chromosomes in the nuclei of somatic cells is summarized here. It is known that the size and location of chromosome territories are tissue specific and depend on the cell cyc-

le and the size of the chromosomes and the density of the genes which are actively transcribed. The correlation between transcriptional activity, the level of chromatin structure, and the location of the chromatin domains is outlined. The tendency of the heterochromatin regions and the telomeres to associate and the influence of this on the nuclear architecture is highlighted. Some studies are focused on the indirect role of the elements of the nuclear matrix and the inner-nuclear membrane in maintaining the correct locations of chromosome territories. The role of interchromatin granule clusters (IGCs), which are located in the nuclear matrix and which remain active in nuclear processes connected with chromosome topology, is further described. The influence of cell differentiation on chromosome location is pointed out. The topology of chromosomes in evolutionarily distinct species is also mentioned in this review.

The reciprocal location of the chromosome territories is probably one of the important epigenetic factors influencing correct genome function. The high level of the organization of chromatin and chromatin modifications create the unique epigenetic pattern of a particular cell type. This seems to indicate a critical role of the spatial genomic organization in regulating gene expression.

**Key words:** chromosome territory • interchromatin compartment • nuclear architecture • chromosome location • transcriptional activity • fluorescent hybridization *in situ*

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_60/9421.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/9421.pdf)

**Word count:** 7912

**Tables:** 1

**Figures:** 1

**References:** 75

**Adres autora:** prof. dr Maciej Kurpisz, Instytut Genetyki Człowieka PAN, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań; e-mail: kurpimac@man.poznan.pl

**Wykaz skrótów:** **CT** – terytorium chromosomu (chromosome territory); **ES** – embrionalne komórki macierzyste (embryonic stem cells); **FISH** – fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (fluorescent hybridization *in situ*); **GFP** – białko zielonej fluorescencji (green fluorescent protein); **GISH** – genomowa hybrydyzacja *in situ* (genomic hybridization *in situ*); **HAT** – acetylotransferaza histonowa (histone acetyltransferase); **HDA** – deacetylaza histonowa (histone deacetylase); **HMT** – metylotransferaza histonowa (histone methyl transferase); **HP1** – białko oddziałujące z heterochromatyną (heterochromatin protein 1); **IC/ICD** – przestrzeń międzyterytorialna (interchromatin compartment/interchromosome domain compartment); **IGCs** – struktury ziarniste (interchromatin granule clusters); **MAR** – rejon połączenia DNA z macierzą jądrową (matrix associated region); **NLS** – sygnał lokalizacji jądrowej (nuclear localization signal); **NOR** – obszar jąderkotwórczy (nucleolar organizer region); **OPT** – struktury jądrowe zawierające czynniki transkrypcyjne (Oct1/PTF/transcription); **PML** – ciała białaczki promielocytowej (promyelocytic leukaemia bodies); **SNAPc** – kompleks białkowy aktywujący snRNA (snRNA-activating protein complex); **snRNPs** – małe jądrowe rybonukleoproteiny (small nuclear ribonucleoproteins); **TBP** – białko wiążące TATA (TATA binding protein).

## WSTĘP

W ostatnich latach wprowadzono pojęcie architektury wewnątrzjądrowej, na którą składają się wszystkie elementy budujące jądro komórkowe. Są to: materiał genetyczny w postaci chromatyny, jąderka, błona jądrowa stanowiąca zewnętrzną barierę oddzielającą jądro komórkowe od cytoplazmy, nukleoplazma (karioplazma), macierz jądrowa budująca nukleoskielet, oraz struktury ziarniste, takie jak: struktury SC-35 (splicing compartment), ciała Cajala, ciała PML (promyelocytic leukaemia bodies) i transkrypcyjne struktury jądrowe OPT, stanowiące skupienia białek i kompleksów białkowych, niezbędne w regulacji ekspre-

sji genu. Architektura wewnątrzjądrowa charakteryzuje się określonym sposobem organizacji, a jej poszczególne elementy stanowią strukturalną i funkcjonalną całość. W stadium interfazy, w jądrze diploidalnej komórki somatycznej każdy chromosom zajmuje wyodrębniony fizycznie obszar, tzw. terytorium chromosomowe (CT). Wielkość terytorium chromosomu zależy od rozmiaru chromosomu, ale jest jednocześnie strukturą dynamiczną zmieniającą się wraz z aktywnością genomu. Między terytoriami chromosomowymi znajduje się przestrzeń międzyterytorialna (IC/ICD), umożliwiającą kontakt między sąsiednimi terytoriami chromosomów. Przestrzeń międzyterytorialna zawiera kompleksy białkowe niezbędne m.in. do procesów transkrypcji i skła-



dania RNA, do której wypętlają się domeny zdekondensowanej chromatyny aktywnej transkrypcyjnie. Architekturze wewnątrzjądrowej przypisuje się funkcję nadrzędnego elementu regulującego mechanizmy epigenetyczne, co wpływa na prawidłowe funkcjonowanie genomu.

## RYS HISTORYCZNY

Początki badań nad komórkami sięgają wieków XVII i XVIII, kiedy to van Leeuwenhoek dokonał pierwszej obserwacji komórki stosując pierwowzór mikroskopu. W II połowie XIX w. wynaleziono mikroskop świetlny i potwierdzono istnienie komórki (Hooke), jądra komórkowego (Brown) oraz opisano proces mitozy (von Mohl) [4,21,26,63]. Następnie w 1865 r. Mendel sformułował prawa dziedziczenia, a Fleming zaobserwował istnienie chromosomów [4,26]. Samo pojęcie „chromosom” po raz pierwszy zostało użyte pod koniec XIX w. przez Waldeyera. W tym samym czasie Hertwig i Boveri opisali zjawisko mejozy [4,21,26]. Przełom wieków XIX i XX stanowił okres intensyfikacji badań nad chromosomami. Jako pierwsi Räbl (1895) i Boveri (1909) zaobserwowali, że poszczególne chromosomy zajmują określone miejsce w jądrze komórkowym roślin (Räbl) oraz w jajach glisty *Ascaris* (Boveri) w trakcie podziału komórkowego [21,54,56,63,67,73,75]. Räbl i Boveri przedstawili hipotezę mówiącą o biegunowości jądra interfazowego, tzn. o występowaniu na jednym biegunie centromerów chromosomów, a na przeciwnym telomerów (tzw. konfiguracja Räbla) [21,28,44]. Późniejsze badania potwierdziły konfigurację Räbla w jądrach komórek drożdży i muszki owocowej (*Drosophila*) [63,67,73], ale nie u człowieka [21,54,63]. Natomiast u człowieka chromosomy układają się radialnie, tzn. umiejscawiają się w centrum lub w pobliżu wewnętrznej błony jądra komórkowego [8,21,22,28,67,73]. Wynalezienie wirówek wysokoobrotowych w latach 20. XX w. umożliwiło opracowanie i zastosowanie technik frakcjonowania organelli z rozbitych komórek [21]. W 1934 r. McClintock zidentyfikowała obszary jąderkotwórcze w kukurydzy [63]. Lata 50. stanowiły okres wielkich odkryć – Avery udowodnił, że DNA jest nośnikiem informacji genetycznej, Watson i Crick ustalili strukturę DNA, wynaleziono mikroskop elektronowy i przeprowadzono pierwsze obserwacje struktury chromatyny [21,28]. Opisano przestrzenną organizację chromatyny płciowej, obecnie nazywanej ciałkiem Barra (Barr i Bertram 1949, Klinger 1958) [28]. Na początku lat 70. dzięki rozwojowi mikroskopii elektronowej i powiązaniu jej z technikami biochemicznymi dokonano znaczącego postępu w zrozumieniu sposobu organizacji chromatyny. Analiza ochrony DNA przed nukleazą wykazała nukleosomową strukturę chromatyny, a analizy biochemiczne istnienie histonów [19,21,28,43]. Wkrótce potem przedstawiono model włókna solenoidu o średnicy 30 nm, choć mechanizm jego powstawania do dziś pozostaje niepewny [22,46]. W latach 70. wykazano niszczący wpływ UV na strukturę DNA niektórych fragmentów chromosomów [21,63]. Wprowadzone do badań nad DNA radioaktywne znakowanie wykazało, że organizacja genomu zachodzi w interfazie [21,22]. Przełom lat 70/80 ub.w. wykazał związek aktywności transkrypcyjnej ze stopniem kondensacji chromatyny. Kolejne modyfikacje technik badawczych oraz nowe technologie (przede wszystkim techniki mikroskopowe oraz techniki fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) opracowane w latach 80. ub.w. do wykrywania spe-

cyficznych sekwencji DNA i RNA) umożliwiły wizualizację poszczególnych chromosomów zajmujących w jądrze komórek u człowieka nieprzypadkową (specyficzną) pozycję [3,5,6,7,8,13,20,21,28,36,54,63,67,73,75]. Na początku lat 90. wprowadzono pojęcie terytorium chromosomowego (CT), jako miejsca swoistej lokalizacji chromosomów w strukturze architektury wewnątrzjądrowej, w stadium interfazy [21,22]. Pierwszy komputerowy model terytorium chromosomu opublikowano w roku 1995 [21]. Kierunek prowadzonych badań zmierza do poznania związku architektury wewnątrzjądrowej z prawidłowym funkcjonowaniem genomu. Wydaje się bowiem, że oprócz kodu epigenetycznego, architektura wewnątrzjądrowa odgrywa istotną rolę w regulacji ekspresji genów.

## ORGANIZACJA CHROMATYNY W LUDZKICH KOMÓRKACH DIPLOIDALNYCH

W jądrze ludzkiej komórki diploidalnej, w stadium interfazy wykazuje się kilka poziomów organizacji chromatyny:

- (i) włókno nukleosomowe o średnicy 10 nm,
- (ii) włókno solenoidowe o średnicy 30 nm,
- (iii) chromatynę interfazową o średnicy 240–300 nm oraz
- (iv) chromosom metafazalny o średnicy 800 nm [15,41,46,64,73].

Pierwszym poziomem organizacji chromatyny (i) jest włókno nukleosomowe zbudowane z nukleosomów oraz tzw. łącznikowego DNA znajdującego się między nukleosomami. Nukleosom stanowi podstawową powtarzającą się jednostkę strukturalną chromatyny. Zbudowany jest z rdzenia histonowego, na który nawinięta jest 1,75-krotnie nić B-DNA o długości 146 pz tworząc lewoskrętną superhelisę (tzw. chromatosom). Rdzeń nukleosomu jest zbudowany z 8 zasadowych białek histonowych [(H32 · H42)(H2A · H2B)2] o masie 206–265 kDa, których ładunki dodatnie są zrównoważone przez ujemne ładunki fosforanów nici DNA. Pomędzy nukleosomami znajdują się odcinki nici DNA o długości 10–100 pz, tzw. łącznikowy DNA (linker DNA). Na granicy nukleosom–łącznikowy DNA, histon H1 spina nić DNA wchodzącą i wychodzącą z nukleosomu. Długość łącznikowego DNA jest tkankowo swoista i zależy od dwóch parametrów. Pierwszym parametrem jest nierównomierne rozmieszczenie nukleosomów wzdłuż nici chromatynowej, wynikające z występowania wariantów sekwencyjnych histonów ulegających modyfikacjom potranslacyjnym (głównie fosforylacji i acetylacji) zmieniającym sumaryczny ładunek histonów, co wpływa na oddziaływanie histonów z DNA i innymi białkami [29,34,56,66] oraz wynikające z różnic w sekwencjach DNA nawiniętego na rdzeń nukleosomu. Drugim parametrem jest występowanie różnych wariantów histonu H1 (H1a – H1e, H1o, H1t, H5) [33]. Rozmieszczenie nukleosomów wzdłuż włókna nukleosomowego wpływa na dostępność czynników transkrypcyjnych do sekwencji regulatorowych w DNA, co stanowi jeden z elementów kontroli ekspresji genów [5,13,21,22,23,29,30,34,41,57,66,67,75]. Włókno nukleosomowe zwane jest także włóknem 10 nm ze względu na grubość ~11 nm i charakteryzuje się współczynnikiem upakowania wynoszącym ~6 (współczynnik upakowania określa stosunek długości wyprostowanej cząsteczki DNA do długości struktury, powstałej w wyniku upakowania tej cząsteczki).

Drugim poziomem organizacji chromatyny (ii) jest tzw. włókno solenoidowe powstające na skutek upakowania włókna nukleosomowego 10 nm we włókno o średnicy ~30 nm, o współczynniku upakowania wynoszącym ~40 [39,41,46,63,64,67]. Modelem powszechnie uznanym jest struktura włókna solenoidowego charakteryzująca się cylindrycznym pustym centrum, stanowiącym oś solenoidu, wokół którego ułożone są równolegle nukleosomy [39,41,46,63,64,67]. Nukleosomy we włóknie solenoidowym są stabilizowane przez histon H1 oraz zasadowe N-końcowe części histonów rdzenia nukleosomu. Całość tworzy lewoskrętną helisę. Włókna solenoidowe mogą tworzyć włókienka wyższego rzędu, tj. włókna chromatyny interfazowej o grubości ~240 nm (iii), stanowiące kolejny poziom organizacji chromatyny [46]. Elementem powtarzalnym tworzącym włókna chromatyny interfazowej jest 6 pętli (domen) chromatynowych upakowanych wokół białek macierzy jądrowej tworzących tzw. rozetki o wielkości nawet do 10 Mbp. Pętle (domeny) o wielkości średnio 40–100 kbp umożliwiają interakcje między odległymi regionami chromosomów [39,46]. Pętle połączone są z macierzą jądrową (nuclear matrix) i stanowią jednostki czynnościowe chromatyny, w których procesy transkrypcji i syntezy DNA zachodzą niezależnie od innych pętli [39,41,46,62,63]. Włókna chromatyny interfazowej o średnicy ~240 nm, umożliwiają upakowanie genomu ~1700 razy [46].

Najwyższy poziom upakowania chromatyny (iv) (około 10000–12000 razy) wykazują chromosomy w stadium metafazy o grubości włókna 700–800 nm [39,41,46,56,63,64,67]. W chromosomach metafazalnych wyróżnia się strukturę centromeru, która dzieli chromosom na ramiona p i q, a zakończenia ramion o sekwencji 5'-TTAGGG-3' noszą nazwę telomerów [22,23,46]. Każdy chromosom zawiera cząsteczkę DNA o długości 55–250 Mbp. Nić DNA o długości około 2 m jest upakowana w jądrze komórkowym o średnicy 5–10 µm.

## KONDENSACJA CHROMATYNY

Ze względu na stopień kondensacji wyróżnia się heterochromatynę konstytutywną i fakultatywną oraz euchromatynę [6,9,13,21,22,23,34,41,46,60,67,73].

Heterochromatyna konstytutywna zawiera sekwencje DNA niezawierające genów, tj. sekwencje wielokrotnie powtórzone (minisatelity, mikrosatelity, sekwencje telomero- we i powtórzenia tandemowe) oraz DNA centromerowy. Konstytutywna heterochromatyna charakteryzuje się wysokim stopniem kondensacji, zbliżonym do współczynnika upakowania chromosomu metafazowego [13,21,22,23,29, 34,46,60,63,66,73]. Jej dekondukcja występuje tylko podczas replikacji w późnym okresie fazy S cyklu komórkowego [13,63]. Kondensacja konstytutywnej heterochromatyny wynika z modyfikacji nici DNA, tj. metylacji cytozyny w obrębie wysp CpG oraz potranslacyjnych modyfikacji histonów rdzenia nukleosomu [33,34,66]. Nukleosomy są bardzo ściśle upakowane i stabilizowane poprzez wyspecjalizowane białka niehistonowe, głównie białko HP1 (heterochromatin protein 1 – HP1), które rozpoznaje swoiście metylowaną lizynę 9 histonu H3 (H3K9) [6,45,46]. Metylacja jest przeprowadzana przez obecne w komórce metylotransferazy (histone methyl transferase – HMT) oraz białka z rodziny Su(var) i powoduje, że konstytu-

tywna heterochromatyna jest nieaktywna transkrypcyjnie wskutek zmniejszenia powinowactwa DNA do czynników transkrypcyjnych [29,33,34,66].

Fakultatywna heterochromatyna zawiera geny tkankowo swoiste, tzn. geny ulegające ekspresji w określonych typach komórek na różnych etapach cyklu komórkowego [21,22,29,33,34,63,66]. Często obserwowana jest w okołocentromerowych regionach chromosomu [21-22,52,56,63]. Cechą charakterystyczną fakultatywnej heterochromatyny jest zdolność do rozluźniania struktury i wykazywania aktywności transkrypcyjnej w zależności od typu komórek będących miejscem ekspresji danego genu oraz od fazy cyklu komórkowego [34,66]. DNA występuje w postaci heterochromatyny, kiedy geny wykazują brak aktywności transkrypcyjnej [46,63]. W nieaktywnej heterochromatynie pewne aminokwasy histonów rdzenia nukleosomu są zmetylowane, obecne jest białko HP1 (ale w mniejszych ilościach niż w przypadku konstytutywnej heterochromatyny) [34]. W okresie aktywności transkrypcyjnej chromatyny, reszty lizyn znajdujące się w wewnętrznej części oktameru histonów (głównie histonów H3 i H4, mniej H2A i H2B) ulegają acetylacji za pośrednictwem odwracalnych reakcji katalizowanych przez acetylotransferazy (histone acetyltransferase – HAT) i deacetylazy (histone deacetylase – HDA) [34]. Acetylacja prowadzi do neutralizacji dodatnich ładunków reszt lizynowych, przez co zasadowość histonów obniża się, oddziaływanie z DNA staje się słabsze i skutkuje rozluźnieniem struktury chromatyny. Dzięki temu czynniki transkrypcyjne mają dostęp do DNA [21,22,29,34,41,56].

Euchromatyna jest zbudowana z aktywnie transkrybowanych sekwencji DNA w każdym typie komórek (są to sekwencje zwane housekeeping genes) i stanowi postać chromatyny o najniższym stopniu kondensacji [6,22,23,34,41,46,63,66]. Słaby stopień kondensacji chromatyny jest wynikiem braku metylacji reszt lizyny 9 histonu H3 (H3K9) przy jednoczesnym wysokim poziomie ich acetylacji oraz metylacji reszt lizyny 4 histonu H3 (H3K4) [34,66].

Różnice struktury poszczególnych chromosomów, głównie stosunek liczby par GC do AT, umożliwiły opracowanie technik barwienia prążkowego pozwalających na wizualizację tych różnic [13,41,46,63]. Po takim barwieniu każdy chromosom ma charakterystyczny dla siebie wzór prążkowy, stały dla danego gatunku. Regiony chromosomu bogate w pary AT są widoczne jako ciemne prążki G (G-TG) (barwienie roztworem Giemzy), jasne prążki R (R-BG/R-BA) (reverse) oraz świecące prążki Q (Q-FQ) (barwienie fluorochromem kwinaakryną) [13,21,22]. Wymienione prążki korespondują z fakultatywną heterochromatyną, zawierają mało genów (głównie geny tkankowo swoiste) i replikują w późnym okresie fazy S cyklu komórkowego [13,64,67]. Natomiast regionom euchromatynowym odpowiadają bogate w pary GC i replikujące we wczesnym okresie fazy S jasne prążki G (ciemne prążki R, nieświecące prążki Q) [13,41,63,64]. Podklasę ciemnych prążków R stanowią prążki T zawierające największą liczbę genów. Prążki T obejmują obszary chromosomów o wielkości 100-300 kbp położone w sąsiedztwie telomerów.

Do technik barwienia prążkowego należą także techniki ujawniające swoiste obszary w chromosomie [46]. Są



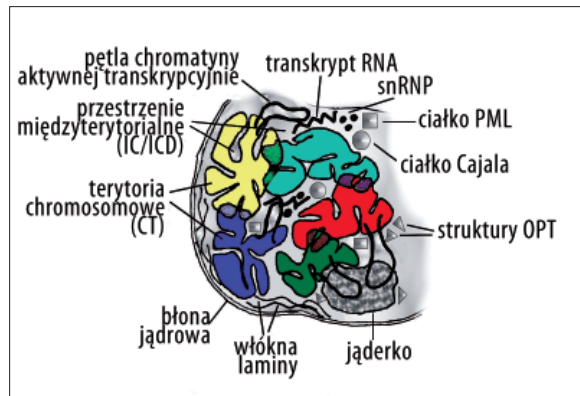
to: prążki C i prążki Ag-NOR [21,22,44-46,63]. Prążki C (C-BG) wykorzystuje się do ujawnienia miejsc na chromosomie, zawierających heterochromatynę konstytutywną [46]. Prążki C ulegają replikacji najpóźniej i są umiejscowione głównie w obrębie centromerów oraz niektórych fragmentach chromosomów (np. region Yq12) [46]. Z kolei prążki Ag-NOR (Ag-I) są uwidoczniane w miejscach występowania aktywnych obszarów jąderkotwórczych (nucleolar organiser region – NOR), tzn. w obszarach satelitów chromosomów akrocentrycznych [16,46,63]. Wybarwienie tych regionów uzyskuje się stosując azotan srebra, który w następstwie chemicznej redukcji do postaci metalicznego srebra wybarwia swoiste białka związane z aktywnym transkrypcyjnie rDNA, dając prążki Ag-I [16].

### ARCHITEKTURA WEWNĄTRZJĄDROWA

W latach 80. ub.w. badania przeprowadzone przez Cremera i wsp. (1982, 1988) wskazywały na zajmowanie przez poszczególne chromosomy określonego obszaru w jądrze komórkowym, w stadium interfazy [21,22,23,63]. Opracowanie technik genomowej hybrydyzacji *in situ* (genomic hybridization *in situ* – GISH) z użyciem izotopów (Manuelidis 1985), nieizotopowych analogów zasad (BrdU, CldU, IdU) oraz fluorochromów (fluorescent hybridization *in situ* – FISH) pozwoliło na uwidocznienie tych obszarów [21,22,63]. Wysunięto przypuszczenie o kompartmentalizacji jądra komórkowego opartej na występowaniu obszarów chromosomowych i wolnych przestrzeni między nimi [21,22]. Co więcej, wykazano występowanie różnic w kształcie i umiejscowieniu poszczególnych obszarów w jądrze komórkowym, w zależności od gatunku organizmu oraz rodzaju komórek. Potwierdzono występowanie konfiguracji Räßla u zbóż, drożdży i *Drosophila*, a zaprzeczono przybieraniu jej przez chromosomy człowieka [21,22,23,63]. W roku 1985 Blobel wysunął hipotezę mówiącą o tym, że przestrzeń zajmowana przez chromosom w jądrze komórkowym pełni podstawową funkcję w prawidłowej ekspresji genomu [50]. W latach 80. XX w. postulowano determinującą rolę rozmiaru chromosomu w topologii chromosomów w jądrze komórkowym. Sugerowano centralną lokalizację małych i peryferyjną dużych chromosomów [21,22,63]. Badania w latach 90. nie potwierdziły, ale też i nie zaprzeczyły tej teorii [50]. Na przełomie lat 80/90 XX wieku Manuelidis wykazała, że każda domena chromatyny zajmuje określoną przestrzeń w jądrze komórkowym i ulega replikacji w ściśle określonym czasie fazy S stadium interfazy [46]. Pod koniec lat 80. i w latach 90. zaobserwowano, że chromosomy mające centromery otoczone ciemnymi prążkami G (późno replikujące) umiejscawiają się w pobliżu wewnętrznej błony jądra komórkowego. Jednak centromery, wokół których obserwuje się jasne prążki G (wcześnie replikujące), umiejscawiają się wokół jąderka lub pozostają rozproszone w nukleoplazmie [3,13,46,63]. Jest to zgodne z obserwowaną tendencją konstytutywnej heterochromatyny do asocjacji z błoną jądrową (tym samym lokalizacji na peryferium jądra komórkowego) i centralnej lokalizacji chromatyny aktywnej o dużej liczbie genów [3,13,21,22,23,44,45,54,63,73].

### TERYTORIUM CHROMOSOMU I MODEL CT-IC

Na początku lat 90. ub.w. zaczęto posługiwać się określeniem „terytorium chromosomu”, do dziś rozumianym jako



Ryc. 1. Schemat modelu terytoriów chromosomowych na przekroju jądra komórkowego ssaków w stadium interfazy; CT – terytorium chromosomu (chromosome territory); IC/ICD – przestrzeń międzyterytorialna (interchromatin compartment/interchromosome domain compartment); snRNP – małe jądrowe rybonukleoproteiny (small nuclear ribonucleoproteins); ciało PML – ciało białaczki promielocytowej (promyelocytic leukemia body); struktury OPT – struktury jądrowe zawierające czynniki transkrypcyjne (Oct1/PTF/transcription)

fizycznie wyodrębniony obszar w jądrze komórek diploidalnych zajmowany przez chromosom, charakteryzujący się określoną lokalizacją [21,22]. Wykazano, że terytoria chromosomów homologicznych nie sąsiadują ze sobą [8]. Przestrzeń między terytoriami chromosomowymi (chromosome territory – CT) nazwano przestrzenią międzyterytorialną (interchromatin compartment – IC = interchromosome domain compartment – ICD), a jej istnienie potwierdzono pod koniec lat 90. [11,12,58]. W roku 1993 Cremer i wsp. zaproponowali model przestrzennej organizacji jądra komórkowego w stadium interfazy, tzw. model CT – IC [21,22]. Model ten zakłada, że na architekturę jądra komórkowego składają się terytoria chromosomów o regularnej, gładkiej powierzchni i przestrzeń międzyterytorialna niewnikająca w głąb terytoriów chromosomowych [21]. Na podstawie badań z użyciem mikroskopu elektronowego o wysokiej rozdzielczości (połowa lat 90.) pierwotny model CT-IC uzupełniono o dane wskazujące na przenikanie przestrzeni międzyterytorialnych IC w głąb terytoriów CT [21,22,55,63]. Obecnie przypuszcza się, że terytorium chromosomu przypomina swym wyglądem gąbkę, poprzecinaną siecią kanalików przestrzeni międzyterytorialnych (IC), do których przenikają wypętlone domeny chromatynowe o wielkości około 100 kbp–1 Mbp [14,21,22,54,72,75]. Świadczy to o dynamicie wzajemnie przenikających się terytoriów chromatynowych i przestrzeni międzyterytorialnych.

Przypuszcza się, że poziom organizacji pętli włókien chromatyny penetrujących kanały międzyterytorialne (IC) nie jest wyższy niż włókno solenoidowe. Pętle chromatyny zawierające hiperacetylowane histony (euchromatyna) wykazują tendencję do skupiania się wokół tzw. struktur ziarnistych SC-35 (splicing compartment – SC, zamienne: speckles) [49,52,61-63]. Struktury SC-35 znajdują się w kanałkach przestrzeni międzyterytorialnych i wchodzą w skład macierzy jądrowej. Zawierają białka i kompleksy niezbędne do transkrypcji, replikacji i składania RNA [21, 28,49,52,55,61,62,63,75]. Liczba struktur ziarnistych SC-35

o średnicy 0,5–3  $\mu\text{m}$  w jądrze komórkowym waha się od 20 do 50 i nie przekracza 5% objętości jądra komórkowego. Sugeruje się, że struktury SC-35 mogą być zaangażowane w dojrzewanie i eksport mRNA [12,49,52,61,62,63]. Rozgałęzienia obszarów międzyterytorialnych na przestrzeni jądra komórkowego rozciągają się od porów jądrowych, przez terytoria chromosomów, aż do postaci coraz mniejszych kanalików penetrujących obszary między domenami chromatyny o wielkości  $\sim 100$  kpz–1 Mpz wypełniającymi się do przestrzeni międzyterytorialnych [21,54,55]. Początkowo przypuszczano, że ze względu na rozmiary kanalików penetrujących terytoria chromosomowe, do wewnętrznych schowanych fragmentów terytorium dotrzeć mogą jedynie pojedyncze białka i małe kompleksy na zasadzie wolnej dyfuzji [21,31]. Natomiast cząsteczki oraz kompleksy o większych rozmiarach zostają unieruchomione i nie przemieszczają się dalej, co zostało poparte badaniami z zastosowaniem mikroiniekcji cząsteczek dekstranu o różnej wielkości połączonych z fluorochromem FITC [21,31]. W 2003 r. wykazano, że w zależności od dynamiki terytoriów chromosomowych i przestrzeni międzyterytorialnych oraz właściwości fizyko-chemicznych większych cząsteczek i kompleksów białkowych możliwy jest pełny dostęp większych kompleksów białkowych do wewnętrznych fragmentów terytoriów chromosomowych [71].

Pozycja terytoriów chromosomowych w jądrze komórkowym jest ustalana podczas mitozy w stadium telofazy po odbudowaniu błony jądrowej i towarzyszy komórce w czasie kolejnego cyklu komórkowego [22,32,59]. Laboratorium Bickmore (2004) wykazało, że lokalizacja chromosomów w komórce potomnej jest zbliżona do lokalizacji w komórce matczynej [69]. Przypuszcza się, że być może istnieje pewien rodzaj pamięci komórkowej związanej ze zmianami informacji epigenetycznej w czasie mitozy i dzięki temu terytoria poszczególnych chromosomów zajmują określone miejsce względem siebie i wobec elementów jądra komórkowego podczas kolejnych podziałów komórkowych [7,69]. Dane z drugiej połowy lat 90. ub.w. sugerują wpływ ruchów chromatyny na topologię chromosomów komórki potomnej [69]. Po wejściu komórki w fazę G1 chromatyna ulega dekondensacji [41,46,64,69]. Rozluźnione włókna chromatynowe są poddawane nieznacznym ruchom dyfuzyjnym [17,47]. Ograniczona możliwość ruchów chromatyny wynika z 4 głównych elementów:

- (i) podwyższonej objętości zdekondensowanej chromatyny w stosunku do objętości jądra komórkowego,
- (ii) asocjacji chromatyny (zarówno nici DNA jak i histonów rdzeniowych) z laminą – elementem składowym wewnętrznej strony błony jądrowej,
- (iii) asocjacji chromatyny z macierzą jądrową oraz
- (iv) skupiania się chromosomów akrocentrycznych (u człowieka są to chromosomy 13, 14, 15, 21 i 22), zawierających geny rRNA (NORy) i tworzenia jąderka [50].

Ponadto przypuszcza się, że oddziaływanie elementów macierzy i błony jądrowej z chromatyną pełni istotną rolę w utrzymywaniu określonej lokalizacji chromosomów potomnych [39,41,45,46,56,62,63,67,69].

#### MACIERZ JĄDROWA A TOPOLOGIA JĄDRA KOMÓRKOWEGO

Macierz jądrowa stanowi szkielet podtrzymujący składniki jądra komórkowego [39,41,46,56,62,63,64,67]. Zbudowana

jest głównie z filamentów o średnicy 3–5 nm, w skład których wchodzi białka strukturalne (laminy A, B, C, matryny, białko jądrowe B23, białka Ag-NOR i inne) oraz struktury ziarniste (interchromatin granule clusters – IGCs: SC-35, ciała Cajala, ciała PML i struktury OPT), zawierające białka niehistonowe [18,28,35,52,60,62,63,73]. Najważniejszym elementem macierzy jądrowej łączącym się z chromatyną są laminy tworzące pośrednie filamenty laminowe [28,52,54]. Rejony połączenia DNA z macierzą jądrową (matrix associated regions – MARs) stanowią odcinki DNA o długości około 250 pz bogate w dinukleotydy AT znajdujące się na pętłach chromatyny [39,41,46,56,62-64,67]. Ciała Cajala są to dynamiczne struktury o wielkości 0,2–2  $\mu\text{m}$  w zależności od typu komórek i fazy cyklu komórkowego [18,62,63]. Oprócz wielu białek (m.in. koilina i fibryllaryna), w skład ciałek Cajala wchodzi również enzymy (telomeraza RNA), czynniki transkrypcyjne (TFIIF, TFIIF), białka ważne w podziałach komórkowych (NPAT, kompleksy cdk2/cykliny E), białka związane ze stresem (p53) oraz białka niezbędne w dojrzewaniu małych jądrowych rybonukleoprotein (small nuclear ribonucleoproteins – snRNP) [18,35,62,63]. Małe jądrowe rybonukleoproteiny stanowią grupę białek ściśle związanych ze składaniem i dojrzewaniem cząsteczek RNA i są umiejscowione w miejscach aktywnej transkrypcji [18,35]. W pobliżu ciałek Cajala występują ciała PML (promyelocytic leukaemia bodies – PML; wcześniej: domeny jądrowe 10 – ND10), będące miejscem gromadzenia się białek biorących udział w regulacji transkrypcji, kontroli apoptozy i odpowiedzi na uszkodzenia DNA oraz pojawienie się wirusów [18,62,63]. W skład struktur OPT wchodzi: czynnik transkrypcyjny swoisty dla promotora Oct1 o średnicy około 1–1,5  $\mu\text{m}$  umiejscowiony w pobliżu jąderka, czynnik transkrypcyjny wiążący PSE (PSE binding transcription factor – PTF), zwany również kompleksem białkowym aktywującym snRNA (snRNA-activating protein complex – SNApC) oraz czynniki transkrypcyjne, takie jak polimeraza II RNA (RNA pol II) i białko wiążące TATA (TATA binding protein – TBP) [62,63]. Obecność struktur ziarnistych prowadzi do wyodrębnienia w jądrze komórkowym miejsc o podwyższonej aktywności transkrypcyjnej. Wszystkie typy struktur ziarnistych (IGC) są umiejscowione w miejscach aktywnej transkrypcji i stanowią integralny element macierzy jądrowej [18,28,52,61,62,63].

Jednym z integralnych białek wewnętrznej błony jądrowej jest emeryna typu II [10]. Mutacje genu emeryny II, zlokalizowanego na chromosomie X, powodują brak emeryny, co wywołuje dystrofię mięśniową Emery-Dreifuss. Badania przeprowadzone w 2001 r., których celem było ukazanie związku lokalizacji chromosomów z brakiem emeryny typu II wykazały, że w przypadku braku tego białka lokalizacja chromosomów nie zmienia się [10]. Wydaje się, że emeryna stanowi jeden z nielicznych przykładów białek niewpływających na lokalizację chromosomów [10]. Wśród czynników biorących udział w utrzymaniu lokalizacji chromosomów, a tym samym wewnątrzjądrowej architektury, postuluje się ścisły udział cząsteczek RNA i snRNA oraz białek snRNP [10,28,35].

Liczne doniesienia wskazują, że w pobliżu błony jądrowej jest umiejscowiona konstytutywna heterochromatyna, która wykazuje zdolność do asocjacji z błoną jądrową, dzięki czemu przy błonie jądrowej nie obserwuje się wolnych



przestrzeni międzyterytorialnych [6,8,12,21,23,58,63]. Liczne badania wykazały, że sekwencja DNA zawiera wiele miejsc wiązania białek odpowiedzialnych za oddziaływanie ze sobą sąsiednich rejonów heterochromatynowych. Przypuszcza się, że dzięki temu konstytutywna heterochromatyna ma tendencję do skupiania się i tworzenia obszarów o wysokim stopniu kondensacji [13,21-23,45,46,63,67]. Również regiony chromosomów zawierające ciemne prążki G, mające strukturę heterochromatyny fakultatywnej, potwierdzają lokalizację heterochromatyny w pobliżu błony jądrowej [13,21,23,46]. W 2001 r. przeprowadzono badania porównujące lokalizację sekwencji  $\alpha$ -satelitarnych znajdujących się w ciemnych prążkach G prawidłowego chromosomu 11 człowieka z lokalizacją długiego ramienia chromosomu 11 pozbawionego większości tych sekwencji na skutek translokacji t(11;14)(q13.3;q32.33) [13]. Wykazano, że peryferyjną lokalizację w pobliżu błony jądrowej przyjmowały prawidłowe chromosomy 11, natomiast w przypadku translokacji t(11;14) nieprawidłowe chromosomy nie asocjowały z heterochromatyną znajdującą się przy błonie jądrowej [13].

Badania z końca lat 90. ub.w. wykazały, że telomery mają tendencję do skupiania się i oddziaływania z macierzą jądrową [3,24,51]. Tendencja telomerów do skupiania się jest zmienna w czasie cyklu komórkowego, a najwyższa w stadium interfazy, co wskazuje na zróżnicowaną dynamikę tego zjawiska [24]. Do asocjacji telomerów dochodzi pomiędzy chromosomami niehomologicznymi, a ilość skupisk nie zależy od liczby powtórzeń TTAGGG malejących w trakcie kolejnych cykli komórkowych [24,51]. Sugeruje się, że asocjacja telomerów jest kolejnym czynnikiem stabilizujących pozycję chromosomów w jądrze komórkowym.

Pomimo wielu doniesień o udziale macierzy jądrowej oraz błony jądrowej w kształtowaniu i stabilizacji architektury wewnątrzjądrowej, nie ma jednoznacznego dowodu potwierdzającego szczegółową rolę tych struktur w organizacji jądra komórkowego.

#### LICZBA GENÓW A TOPOLOGIA CHROMOSOMÓW

Pod koniec lat 90. laboratorium Bickmore poddało analizie lokalizację chromosomów 18 i 19 w ludzkich fibroblastach [23]. Chromosomy 18 i 19 należą do grupy chromosomów małych o zbliżonej wielkości (odpowiednio 86 Mpz i 72 Mpz), przy czym chromosom 18 zawiera mało genów aktywnie transkrybowanych w przeciwieństwie do chromosomu 19 o dużej liczbie aktywnych genów [23,68]. Przeprowadzone doświadczenia wykazały peryferyjną lokalizację chromosomu 18, natomiast chromosom 19 umiejscowił się w centrum jądra komórkowego [23]. Postawiono hipotezę o lokalizacji chromosomów w zależności od liczby genów.

Kolejne doniesienia zdają się potwierdzać tę sugestię. Peryferyjną lokalizację wykazano dla chromosomów 2, 3, 4, 7, 8, 11, 13, 18 o niskiej liczbie genów oraz centralną lokalizację dla chromosomów zawierających dużo genów, tj. dla chromosomów 1, 16, 17, 19 i 22 [10,23,44]. W roku 2003 potwierdzono peryferyjną lokalizację chromosomów 3, 8, 9 i 13 w ludzkich limfocytach znajdujących się w fazie G<sub>0</sub> [3]. Natomiast grupa Cremera zwró-

ciła uwagę na związek lokalizacji wewnątrzjądrowej nie tylko z liczbą genów, ale również z rozmiarami chromosomów [8]. Wykazano, że w limfocytach chromosomy małe, ale bogate w geny umiejscawiają się we wnętrzu jądra komórkowego (chromosomy: 16, 17, 19, 22), natomiast małe chromosomy ubogie w geny przyjmują lokalizację peryferyjną (chromosomy: 13, 18, Y) [8]. Co więcej, duże chromosomy (2, 3, 4) wykazują tendencję do lokalizacji peryferyjnej [8]. Chromosomy 18 i 19 poddano analizie również ze względu na różną zawartość par zasad GC (chromosom 18 – mało, chromosom 19 – dużo) w komórkach o różnym kształcie jądra (fibroblasty i amniocyty – płaskie, elipsoidalne; limfocyty – sferyczne) [8]. Wykazano, że domeny zawierające dużo par GC (euchromatyna) preferują umiejscowienie centralne w jądrze komórkowym, niezależnie od jego kształtu [8]. Co ciekawe, ten sam sposób lokalizacji chromosomów 18 i 19 wykazano u naczelnych, małp Starego Świata i ptaków [2,8,28,68]. Zależność lokalizacji chromosomów od zawartości genów wykazano również u kurczaka mającego 39 par chromosomów [8,28]. Zaobserwowano, że 9 par makrochromosomów ubogich w geny umiejscawia się na peryferium jądra komórek krwi, natomiast 30 par mikrochromosomów o dużej zawartości genów (stanowiących 50% wszystkich genów) preferuje centralną część jądra komórkowego [8,28]. Sugeruje się, że lokalizacja chromosomów w centrum jądra komórkowego sprzyja ochronie genów aktywnie transkrybowanych przed negatywnym wpływem środowiska zewnętrznego [8].

#### AKTYWNOŚĆ TRANSKRYPCYJNA A LOKALIZACJA GENÓW

W miarę postępu badań nad architekturą wewnątrzjądrową zauważono, że proces transkrypcji zachodzi w kanałach przestrzeni międzyterytorialnych [12,28,60]. Podstawę dla tego twierdzenia stanowi tendencja nowo powstałych cząsteczek RNA do gromadzenia się przy powierzchni chromosomów [12]. Sugeruje to, że geny aktywnie transkrybowane znajdują się na powierzchni terytorium chromosomów lub na pętłach włókien chromatynowych penetrujących wolne przestrzenie (IC), w których znajdują się kompleksy czynników niezbędnych do regulacji ekspresji genów [12,21,22,28,40,41,42,44,52,58,59,60,61,62,63,73]. Przykład stanowią regiony chromosomów o dużej liczbie genów aktywnie transkrybowanych we wszystkich typach komórek (ciemne prążki R): 11q13, 11p15, 16p13.3 oraz fragmenty chromosomów 21 i 22 [75]. We wszystkich przypadkach odnotowano lokalizację genów aktywnych na powierzchni terytoriów chromosomowych, nawet po zahamowaniu transkrypcji za pomocą aktynowymocyny D (ActD) [75]. Podobną zależność zaobserwowano w fibroblastach i mioblastach genów dystrofiny,  $\beta$ -miozyny i  $\beta$ -globiny. Przykładami są geny dystrofiny (*DMD*; Xp21.2), hemoglobiny (*HBB*; 11p15.5) i ciężkiego łańcucha  $\beta$ -miozyny mięśnia sercowego (*MYH7*; 14q12), a także genów z nałożonym imprintingiem, tj. insulino-podobnego czynnika wzrostu (*IGF2*; 11p15.5) oraz genu *SNRPN* (15q11.2) [3,75]. Również fragment 1p36.3 zawierający liczne geny i bogaty w pary zasad GC wykazuje tendencję do lokalizacji na peryferium terytorium chromosomu 1 [60]. Regiony chromosomów o bardzo dużej liczbie genów mogą ulegać wypętleniu do przestrzeni międzyterytorialnych. Przykładem jest *locus* głównego układu zgodności tkankowej MHC (major histocompatibility complex – MHC) na chromosomie 6 (6p21.3) u człowie-

Tabela 1. Lokalizacja chromosomów w jądrze ludzkiej komórki somatycznej względem wielkości chromosomów i liczby genów

Chromosom	Grupa	Liczba genów		Lokalizacja			Piśmiennictwo
		mało	dużo	centrum	peryferium	losowa	
1	A		x	x			[3,10,23,44]
2	A	x			x		[3,8,10,23,44]
3	A	x			x		[3,8,10,23,44]
4	B	x			x		[3,8,10,23,44]
5	B					x	[10]
6	C					x	[74]
7	C	x			x		[10,50]
8	C	x			x		[3,50]
9	C				x*	x	[3*,10]
10	C					x	[10]
11	C	x			x		[13,28]
12	C				x*	x	[3*,10,38,74]
13	D	x			x		[8,10,50]
14	D					x	[50]
15	D					x	[50]
16	E		x	x			[8,10,38,50]
17	E		x	x			[8,10,23,44]
18	E	x			x		[8,10,23]
19	F		x	x			[8,10,23,44,68]
20	F		x			x	[8,10]
21	G					x	[10,50]
22	G		x	x*		x	[8*,10,23,44]
X		x			x	x*	[8,10*,25,28,50*,63]
Y		x			x		[8]

\* dotyczy tylko pozycji literaturowej oznaczonej gwiazdką.

ka, umiejscowionego obok zidentyfikowanych 224 loci innych genów (prążki T) [72,75]. Badania przeprowadzone na fibroblastach i limfoblastach B stymulowanych interferonem  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) potwierdziły, że 80% genów MHC klasy II, III i I umiejscawia się na pętli chromatyny penetrującej przestrzeń IC [72]. Podobne obserwacje dotyczą loci kompleksu EDC (epidermal differentiation complex – EDC; 1q21) w keratynocytach, loci genu  $\alpha$ -globiny (16p.13.3) oraz loci genów *ERBB2* (17q21.2) ulegających wypętleńiu podczas nadekspresji w liniach komórek nowotworowych raka piersi [60,75].

Z kolei dla genów tkankowo swoistych bądź o długotrwałym braku aktywności oraz rejonów chromosomów o niewielkiej liczbie genów (ciemne prążki G późno replikujące) wykazano lokalizację we wnętrzu chromosomów z dala od wolnych przestrzeni IC, gdzie chromatyna jest bardziej skondensowana i tym samym dostęp czynników i kompleksów transkrypcyjnych jest ograniczony

[21,28,54,63,73]. Należy jednak zaznaczyć, że nie stanowi to reguły. Wykazano bowiem, że występują także geny aktywne znajdujące się we wnętrzu chromosomów, czego przykładem jest region 11p13 o wielkości około 1 Mbp, zawierający oprócz odcinków międzygenowego DNA o wielkości około 300 kpz, dużą liczbę genów, których ekspresja regulowana jest przez ubikwitynację (*RCN*, *PAXNEB*) lub jest tkankowo swoista (*WT1*, *PAX6*) [45,54]. Gen *RCN* koduje retikulokalbinę 1, która jest białkiem znajdującym się we wnętrzu siateczki wewnątrzplazmatycznej i biorącym udział w regulacji wiązania jonów wapnia. Gen *PAXNEB* koduje białko biorące udział w procesie elongacji i stanowiące homolog elongacyjnego białka 4 u *Saccharomyces cerevisiae*. Gen *WT1* (Wilms tumour) zawiera sekwencję czynnika transkrypcyjnego odgrywającego główną rolę w prawidłowym rozwoju układu moczowo-płciowego. Natomiast gen *PAX6* (paired box gene 6) koduje białko zawierające domeny niezbędne w regulacji transkrypcji genów podczas rozwoju komórek układu nerwowego





oraz oczu. Region 11p13 umiejscawia się wewnątrz terytorium chromosomu 11, a ekspresja genów *RCN* i *PAXNEB* w ludzkich limfoblastach przy jednoczesnym braku aktywności genów *WT1* i *PAX6*, nie powoduje przemieszczenia się tych genów w kierunku powierzchni terytorium chromosomu [45,54]. Sąsiedni region 11p14 badany w mioblastach i fibroblastach zawiera sekwencje nietranskrybowane i umiejscawia się zarówno w centrum, jak i na peryferium terytorium chromosomu 11 [60].

Badania genów *ANT2* (Xq24-q26) i *ANT3* (Xp22.32) wykazały różnice w ich lokalizacji na przestrzeni terytorium chromosomowego w zależności od chromosomu X, na którym się znajdują [25]. Na powierzchni terytorium chromosomu Xa (active) umiejscawiają się geny *ANT2* i *ANT3* aktywne transkrypcyjnie. Podobną lokalizację na powierzchni terytorium chromosomu Xi (inactive) wykazuje gen *ANT3* aktywny transkrypcyjnie również na tym chromosomie [25]. Natomiast we wnętrzu terytorium chromosomu Xi jest zlokalizowany gen *ANT2* nieaktywny transkrypcyjnie [25,28].

Chromosom X jest ciekawym przykładem ze względu na różną wielkość terytoriów chromosomowych w zależności od aktywności transkrypcyjnej [8,25,28,63]. Nieaktywny chromosom Xi umiejscawia się na peryferium jądra komórkowego i tworzy skondensowaną strukturę, tzw. ciało Barra. Jest zbudowany z heterochromatyny charakteryzującej się metylacją wysp CpG, hipocetylacją histonów H3 i H4 oraz obecnością wariantu histonu H2A – makro H2A.1. 85% genów znajdujących się na chromosomie Xi nie wykazuje aktywności transkrypcyjnej [8,25,63]. Aktywny chromosom Xa również umiejscawia się na peryferium jądra komórkowego, przy czym jego terytorium jest większe niż terytorium chromosomu Xi [25,28,63].

#### TOPOLOGIA CHROMOSOMÓW A PROCES RÓŻNICOWANIA KOMÓREK

Badania nad związkiem lokalizacji poszczególnych chromosomów z procesem różnicowania komórek obejmują kilka ostatnich lat. Przekształcaniu komórek totipotencjalnych w różne typy komórek funkcjonalnych tkankowo towarzyszą istotne zmiany w architekturze wewnątrzjądrowej. Zaobserwowano, że w procesie różnicowania lokalizacja poszczególnych terytoriów chromosomowych może ulec całkowitemu przegrupowaniu. Wiadomo, że zarówno organizacja chromatyny, jak i jej modyfikacje – tworzące unikatowy dla danego typu komórki wzór epigenetyczny, wpływają na poziom aktywności transkrypcyjnej. Wiąże się to z ekspresją określonych genów, przy czym część genów nieistotna dla pełnionych przez komórkę funkcji, zostaje wyciszona [3,5,44,48,70].

Analiza aktywności genów *Rag* i *TdT* w różnicujących się limfocytach T i tymocytach wykazała, że wraz z postępowaniem procesu dojrzewania komórek regiony chromatyny zawierające *loci* tych genów przemieszczają się w kierunku heterochromatyny umiejscowionej na peryferium jądra komórkowego i ulegają wyciszeniu [28]. Co więcej, taki sam los dotyczy *loci* genów *CD4* i *CD8*, które są umiejscowione w pobliżu heterochromatyny centromerowej. Można zatem wysunąć wniosek, że dynamiczne przemieszczanie się regionów chromatyny, zawierających geny o różnym poziomie aktywności transkrypcyjnej w stronę

chromatyny o różnym poziomie kondensacji jest jednym z mechanizmów regulujących ekspresję genów w danym typie komórek [1,28].

Kolejne doniesienia wskazują na zmianę lokalizacji chromosomu 11 podczas różnicowania się ludzkich komórek czerwonego szpiku kostnego [28]. Chromosom 11 przesuwa się w stronę peryferium jądra komórkowego, przy czym pozycja domeny chromatynowej zawierającej *loci* genów  $\beta$ -globin pozostaje niezmienną [28]. Foster i wsp. wykazali brak zmiany lokalizacji chromosomów świni podczas adipocyto- i miogenezy [27,28].

W roku 2004 Kuroda i wsp. przeprowadzili badania nad zmianą lokalizacji chromosomów 12 i 16 podczas różnicowania się adipocytów (komórki tłuszczowe) człowieka [38]. Wynik wykazał brak zmian w radialnej lokalizacji terytorium chromosomów, przy czym w dojrzałych adipocytach terytorium chromosomów 12 i 16 powiększyły się i zbliżyły do siebie [38]. Przypuszcza się, że bliskie wzajemne położenie terytoriów tych chromosomów może zwiększać prawdopodobieństwo wystąpienia translokacji t(12;16)(q13.3;p11.2) związanej z wystąpieniem tłuszczako-mięsaka myksoidowego [38]. Nie jest to jedyne doniesienie łączące występowanie translokacji ze zmianą w lokalizacji chromosomów. Parada i Misteli [54] donoszą, że zjawisko to zaobserwowano w następujących zaburzeniach: t(9;22) a fuzja genów *BCR* i *ABL* (tzw. chromosom Filadelfia) – wywołuje przewlekłą białaczkę mieloidalną [37]; t(15;17) a fuzja genów *PML* i *RAR $\alpha$*  – skutkuje pojawieniem się białaczki promielocytowej oraz fuzją genów *RET* i *H4* mających *loci* na chromosomie 10, indukuje rozwój nowotworu tarczycy [37,54]. Można wysunąć wniosek, że prawdopodobieństwo wystąpienia translokacji między sąsiadującymi chromosomami prowadzi do wystąpienia zmian nowotworowych w komórkach somatycznych częściej niż w wypadku chromosomów odległych od siebie [37,38,54].

Interesujące doniesienia dotyczą genu *cLys* na chromosomie 1 kodującego lizozym u kurczaka (*Gallus gallus domesticus*) [65]. Poziom ekspresji genu lizozymu jest najniższy w prekursorowych komórkach granulocytów i makrofagów, przy czym w dojrzałych makrofagach jest on najwyższy. Badania przeprowadzone przez Stadlera i wsp. wykazały przesunięcie zlokalizowanej wewnątrz terytorium chromosomu 1 domeny zawierającej *locus cLys* oraz centromeru chromosomu 1 w stronę powierzchni terytorium chromosomowego [65]. Co więcej, analiza położonych obok siebie genów *cLys* i *cGas41* w proerytroblastach, w których geny te nie ulegają ekspresji, wykazała przesunięcie *loci* obu genów w stronę powierzchni terytorium chromosomu 1. Sugeruje to wpływ (oprócz aktywności transkrypcyjnej) innych czynników na lokalizację genów [28,65].

W roku 2005 laboratorium Bickmore jako pierwsze poddało analizie topologię chromosomów w ludzkich macierzystych komórkach embrionalnych (embryonic stem cells – ES) i wykazało istnienie radialnej lokalizacji chromosomów na tym etapie rozwoju organizmu [7,74]. W komórkach ES chromosom 18 wykazuje tendencję do peryferyjnej lokalizacji, a chromosom 19 umiejscawia się centralnie, co odpowiada topologii w zróżnicowanych komórkach dojrzałego organizmu [23]. W jądrze embrionalnych ko-

mórek macierzystych ES w porównaniu z dojrzałymi komórkami krótkie ramię chromosomu 12 (12p), na którym są umiejscowione geny biorące udział w regulacji procesu różnicowania się komórek macierzystych (*NANOG* – utrzymanie zdolności do pluripotencji, *STELLA* i *GDF3* – regulacja procesu różnicowania się) wykazuje tendencję do bardziej centralnej lokalizacji [74]. Natomiast między komórkami ES i komórkami różnicującymi się w limfocyty nie wykazano różnic w umiejscowieniu ramienia p chromosomu 6 (6p), zawierającego loci genów *OCT4* i *MHC* klasy II. Interesująca wydaje się różnica w lokalizacji centromerów chromosomów [74]. W komórkach zróżnicowanych, centromery preferują peryferium jądra komórkowego oraz okolice jąderka, natomiast w komórkach embrionalnych są umiejscowione w centrum jądra komórkowego. Przypuszczalnie wynika to z różnic w lokalizacji konstytutywnej heterochromatyny, z którą asocjują centromery [7,33,34,45,46]. Umiejscowienie heterochromatyny jest następstwem modyfikacji chromatyny. Zatem różnice lokalizacji centromerów wynikają z różnic we wzorze modyfikacji chromatyny na poziomie komórek embrionalnych, co jest związane z mechanizmami regulacji ekspresji genów w różnicujących się komórkach [34,74].

Grupa Bickmore analizowała ekspresję genów *Hoxb* w embrionalnych komórkach macierzystych u myszy (*Mus musculus*) [14]. Geny *Hoxb* ulegają okresowej ekspresji w zarodkach myszy i odgrywają rolę we wzorze ukierunkowania przód–tył embrionu. Zaobserwowano, że wraz z pojawieniem się aktywności transkrypcyjnej genomu zarodka, na skutek rozluźnienia struktury chromatyny (acetylacja reszt lizyny 9 histonu 3 H3K9 i metylacja reszt lizyny 4 histonu 3 H3K4), domena zawierająca locus *Hoxb* wypętała się do przestrzeni międzyterytorialnych IC i jest aktywnie transkrybowana [14]. Przypuszczano, że właśnie zmiana przestrzennej informacji epigenetycznej jest czynnikiem powodującym wypętlanie się locus *Hoxb* [14]. Jednak po przeprowadzeniu doświadczeń mających na celu wypętlanie locus *Hoxb* za pomocą kwasu retinowego do przestrzeni międzyterytorialnych w komórkach macierzystych jeszcze niezróżnicowanych wykazano, że również sztucznie indukowane wypętlanie chromatyny bez zmian wzoru modyfikacji powoduje aktywację genów locus *Hoxb* [14].

Najbardziej interesujący przykład na przegrupowanie się terytoriów chromosomowych w procesie różnicowania komórek stanowi proces spermatogenezy, w którym z diploidalnych komórek gametogenicznych powstają haploidalne plemniki charakteryzujące się brakiem aktywności genomu [16,27,28,39,74]. Powstaniu plemników towarzyszy reorganizacja struktury chromatyny, dająca strukturę maksymalnie upakowaną z minimalną ilością cytoplazmy. Badania dotyczące spermatogenezy u świń wykazały wyraźną zmianę peryferyjnej lokalizacji chromosomów X i Y w spermatocytach I i II rzędu oraz w spermatydach na lokalizację centralną w dojrzałych plemnikach [27,28]. Niektóre autosomy nie zmieniły swojej lokalizacji, a część przesuwała się w kierunku wewnętrznej błony jądra komórkowego [16,27,28]. Sugeruje się, że charakterystyczna topologia chromosomów w plemnikach (Wiland E. i wsp. „Topologia chromosomów w jądrze komórkowym. Plemnik. Część 2”) wpływa na prawidłowy rozwój zarodka po zapłodnieniu [16,27,39].

## TOPOLOGIA CHROMOSOMÓW A EWOLUCJA

Sposób organizacji jąder komórkowych różnych gatunków roślin i zwierząt, wskazuje, że istnieją uniwersalne zasady organizacji architektury wewnątrzjądrowej nawet dla odległych ewolucyjnie od siebie organizmów. Wiadomo, że ssaki, ptaki i gady wywodzą się od wspólnego przodka, a ich drogi rozeszły się około 350 mln lat temu [28,68]. Oprócz człowieka i roślin do tej pory zanalizowano topologię jądra komórkowego w stadium interfazy u: naczelnych, małp Starego Świata, małp Nowego Świata, myszy, świni, torbaczy i stekowców, ptaków, gadów, mundzaków chińskich i japońskich, pasożytów, owadów, jamochłonów oraz drożdży i bakterii. Zaobserwowano, że w każdym przypadku istnieją mniej lub bardziej wyodrębnione terytoria chromosome (CT) [2,22,28,59,68]. U roślin (w tym u pszenicy, owsa, żyta i jęczmienia), u drożdży i *Drosophila* obserwuje się konfigurację Räßla [19,21,54,63,75]. U jamochłonów (przedstawiciel: *Hydra vulgaris*) mających 15 par chromosomów istnieje określona lokalizacja poszczególnych chromosomów i jest to konfiguracja radialna [2,28]. Może to świadczyć o ukształtowaniu się terytoriów przeszło 600 mln lat temu [2].

Jednak porównując homologiczne pod względem liczby genów oraz rozmiarów chromosomy u człowieka i myszy czy świni, nie wykazano podobieństw w topologii chromosomów. Być może u myszy lokalizacja nieaktywnych genów w sąsiedztwie centromerów jest jednym ze sposobów wyciszania genów [28]. Przypuszcza się, że około 30–40 mln lat temu, podczas ewolucji, ustaliły się różnice w strukturze chromosomów u człowieka i naczelnych wyższego rzędu, przy czym u każdej z tych grup sposób lokalizacji homologicznych chromosomów jest zbliżony [68]. Wykazały to porównawcze badania umiejscowienia chromosomów 18 i 19 w limfocytach człowieka z umiejscowieniem ich homologów u małp Starego i Nowego Świata [23,68]. Dodatkowo potwierdzono hipotezę mówiącą o związku lokalizacji chromosomów w jądrze komórkowym, w zależności od liczby genów oraz ich poziomu aktywności transkrypcyjnej [23,68].

## PODSUMOWANIE

Od czasu rozpoczęcia badań nad jądrem komórkowym stanowiącym zasadnicze organellum komórkowe minęło przeszło 100 lat. Rozwój kolejnych technik badawczych umożliwił poznanie funkcji i znaczenia procesów zachodzących w jądrze komórkowym. Jednak dopiero w ostatnich 20 latach wykazano istnienie kompartmentów wewnątrz jądra komórkowego tworzących architekturę wewnątrzjądrową i istotnym stało się poznanie i zrozumienie zasad rządzących organizacją jądra komórkowego. Dziś wiadomo, że w jądrze komórkowym w stadium interfazy zarówno u roślin jak i zwierząt, znajdują się wyodrębnione terytoria chromosomów (CT), których wielkość i lokalizacja zależy od liczby genów, ich aktywności transkrypcyjnej, wielkości chromosomu oraz fazy cyklu komórkowego i rodzaju komórek. Ponadto coraz więcej dowodów przemawia za istnieniem związku między topologią chromosomów a prawidłowym funkcjonowaniem genomu. Udowadnia się, że architektura wewnątrzjądrowa odgrywa znaczącą rolę w epigenecie i stanowi jeden z elementów regulacji ekspresji genów.



## PIŚMIENNICTWO

- [1] Alcobia I., Dilão R., Parreira L.: Spatial associations of centromeres in the nuclei of hematopoietic cells: evidence for cell-type-specific organizational patterns. *Blood*, 2000; 95: 1608–1615
- [2] Alexandrova O., Solovei I., Cremer T., David C.N.: Replication labeling patterns and chromosome territories typical of mammalian nuclei are conserved in the early metazoan Hydra. *Chromosoma*, 2003; 112: 190–200
- [3] Amrichova J., Lukasova E., Kozubek S., Kozubek M.: Nuclear and territorial topography of chromosome telomeres in human lymphocytes. *Exp. Cell Res.*, 2003; 289: 11–26
- [4] Baltzer F.: Theodor Boveri: The Life of a Great Biologist 1862–1915. <http://www.devbio.com/article.php?ch=7&id=75> (18.05.2006)
- [5] Bartova E., Kozubek S., Jirsova P., Kozubek M., Gajova H., Lukasova E., Skalnikova M., Ganova A., Koutna I., Hausmann M.: Nuclear structure and gene activity in human differentiated cells. *J. Structural Biol.*, 2002; 139: 76–89
- [6] Beil M., Fleischer F., Paschke S., Schmidt V.: Statistical analysis of the three-dimensional structure of centromeric heterochromatin in interphase nuclei. *J. Microscopy*, 2005; 217: 60–68
- [7] Bickmore W.A., Chubb J.R.: Chromosome position: now, where was I? *Curr. Biol.*, 2003; 13: R357–R359
- [8] Bolzer A., Kreth G., Solovei I., Koehler D., Saracoglu K., Fauth C., Muller S., Eils R., Cremer C., Speicher M., Cremer T.: Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes. *PLoS Biology*, 2005; 3: 826–842
- [9] Boutanaev A.M., Mikhaylova L.M., Nurminsky D.I.: The pattern of chromosome folding in interphase is outlined by the linear gene density profile. *Mol. Cell. Biol.*, 2005; 18: 8379–8386
- [10] Boyle S., Gilchrist S., Bridger J.M., Mahy N.L., Ellis J.A., Bickmore W.A.: The spatial organization of human chromosomes within the nuclei of normal and emerin-mutant cells. *Hum. Mol. Genet.*, 2001; 10: 211–219
- [11] Bridger J.M., Herrmann H., Munkel C., Lichter P.: Identification of an interchromosomal compartment by polymerization of nuclear-targeted vimentin. *J. Cell Sci.*, 1998; 111: 1241–1253
- [12] Bridger J.M., Kalla C., Wodrich H., Weitz S., King J.A., Khazaie K., Krausslich H.G., Lichter P.: Nuclear RNAs confined to a reticular compartment between chromosome territories. *Exp. Cell Res.*, 2005; 302: 180–193
- [13] Carvalho C., Pereira H.M., Ferreira J., Pina C., Mendonça D., Rosa A.C., Carmo-Fonseca M.: Chromosomal G-dark bands determine the spatial organization of centromeric heterochromatin in the nucleus. *Mol. Biol. Cell*, 2001; 12: 3563–3572
- [14] Chambeyron S., Bickmore W.A.: Chromatin decondensation and nuclear reorganization of the HoxB locus upon induction of transcription. *Genes Dev.*, 2004; 18: 1119–1130
- [15] Chambeyron S., Bickmore W.A.: Does looping and clustering in the nucleus regulate gene expression? *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2004; 16: 256–262
- [16] Chandley A.C., Speed R.M., Leitch A.R.: Different distributions of homologous chromosomes in adult human Sertoli cells and in lymphocytes signify nuclear differentiation. *J. Cell Sci.*, 1996; 109: 773–776
- [17] Chubb J.R., Boyle S., Perry P., Bickmore W.A.: Chromatin motion is constrained by association with nuclear compartments in human cells. *Curr. Biol.*, 2002; 12: 439–445
- [18] Cioce M., Lamond A.I.: Cajal bodies: a long history of discovery. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 2005; 21: 105–131
- [19] Claussen U.: Chromosomics. *Cytogenet. Genome Res.*, 2005; 111: 101–106
- [20] Cornforth M.N., Greulich-Bode K.M., Loucas B.D., Arsuaga J., Vasquez M., Sachs R.K., Bruckner M., Molls M., Hahnfeldt P., Hlatky L., Brenner D.J.: Chromosomes are predominantly located randomly with respect to each other in interphase human cells. *J. Cell Biol.*, 2002; 159: 237–244
- [21] Cremer T., Cremer C.: Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nat. Rev. Genet.*, 2001; 2: 292–301
- [22] Cremer T., Kupper K., Dietzel S., Fakan S.: Higher order chromatin architecture in the cell nucleus: on the way from structure to function. *Biol. Cell*, 2004; 96: 555–567
- [23] Croft J.A., Bridger J.M., Boyle S., Perry P., Teague P., Bickmore W.A.: Differences in the localization and morphology of chromosomes in the human nucleus. *J. Cell Biol.*, 1999; 145: 1119–1131
- [24] Daniel A., St Heaps L.: Chromosome loops arising from intrachromosomal tethering of telomeres occur at high frequency in G1 (non-cycling) mitotic cells: implications for telomere capture. *Cell Chromosome*, 2004; 3: 3
- [25] Falk M., Lukasova E., Kozubek S., Kozubek M.: Topography of genetic elements of X-chromosome relative to the cell nucleus and to the chromosome X territory determined for human lymphocytes. *Gene*, 2002; 292: 13–24
- [26] Farley J.: The reemergence of sex. Chapter 6 of gametes and spores: ideas about sexual reproduction 1750–1914. <http://www.devbio.com/article.php?ch=7&id=67> (18.05.2006)
- [27] Foster H.A., Abeydeera L.R., Griffin D.K., Bridger J.M.: Non-random chromosome positioning in mammalian sperm nuclei, with migration of the sex chromosomes during late spermatogenesis. *J. Cell Sci.*, 2005; 118: 1811–1820
- [28] Foster H.A., Bridger J.M.: The genome and the nucleus: a marriage made by evolution. *Genome organization and nuclear architecture*. *Chromosoma*, 2005; 114: 212–229
- [29] Fournier C., Goto Y., Ballestar E., Delaval K., Hever A.M., Esteller M., Feil R.: Allele-specific histone lysine methylation marks regulatory regions at imprinted mouse genes. *EMBO J.*, 2002; 21: 6560–6570
- [30] Gasser S.M.: Visualizing chromatin dynamics in interphase nuclei. *Science*, 2002; 296: 1412–1416
- [31] Görisch S.M., Richter K., Scheuermann M.O., Herrmann H., Lichter P.: Diffusion-limited compartmentalization of mammalian cell nuclei assessed by microinjected macromolecules. *Exp. Cell Res.*, 2003; 289: 282–294
- [32] Hagstrom K.A., Meyer B.J.: Condensin and cohesin: more than chromosome compactor and glue. *Nat. Rev. Genet.*, 2003; 4: 520–534
- [33] Janicki S.M., Spector D.L.: Nuclear choreography: interpretations from living cells. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2003; 15: 149–157
- [34] Jenuwein T.: Re-SET-ting heterochromatin by histone methyltransferases. *Trends Cell Biol.*, 2001; 11: 266–273
- [35] Kiss T.: Biogenesis of small nuclear RNPs. *J. Cell Sci.*, 2004; 117: 5949–5951
- [36] Kozubek S., Lukasova E., Jirsova P., Koutna I., Kozubek M., Ganova A., Bartova E., Falk M., Pasekova R.: 3D structure of the human genome: order in randomness. *Chromosoma*, 2002; 111: 321–331
- [37] Kozubek S., Lukasova E., Mareckova A., Skalnikova M., Kozubek M., Bartova E., Krohna V., Krahulcova E., Slotova J.: The topological organization of chromosomes 9 and 22 in cell nuclei has a determinative role in the induction of t(9,22) translocations and in the pathogenesis of t(9,22) leukemias. *Chromosoma*, 1999; 108: 426–435
- [38] Kuroda M., Tanabe H., Yoshida K., Oikawa K., Saito A., Kiyuna T., Mizusawa H., Mukai K.: Alteration of chromosome positioning during adipocyte differentiation. *J. Cell Sci.*, 2004; 117: 5897–5903
- [39] Li E.: Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nat. Rev. Genet.*, 2002; 3: 662–673
- [40] Li Y.J., Fu X.H., Liu D.P., Liang C.C.: Opening the chromatin for transcription. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004; 36: 1411–1423
- [41] Loden M., van Steensel B.: Whole-genome views of chromatin structure. *Chromosome Res.*, 2005; 13: 289–298
- [42] Lukasova E., Kozubek S., Kozubek M., Falk M., Amrichova J.: The 3D structure of human chromosomes in cell nuclei. *Chromosome Res.*, 2002; 10: 535–548
- [43] Maeshima K., Eltsov M., Laemmli U.K.: Chromosome structure: improved immunolabelling for electron microscopy. *Chromosoma*, 2005; 114: 365–375
- [44] Mahy N.L., Perry P.E., Bickmore W.A.: Gene density and transcription influence the localization of chromatin outside of chromosome territories detectable by FISH. *J. Cell Biol.*, 2002; 159: 753–763
- [45] Mahy N.L., Perry P.E., Gilchrist S., Baldock R.A., Bickmore W.A.: Spatial organization of active and inactive genes and noncoding DNA within chromosome territories. *J. Cell Biol.*, 2002; 157: 579–589
- [46] Manuelidis L.: A view of interphase chromosomes. *Science*, 1990; 250: 1533–1540
- [47] Marshall W.F., Straight A., Marko J.F., Swedlow J., Dernburg A., Belmont A., Murray A.W., Agard D.A., Sedat J.W.: Interphase chromosomes undergo constrained diffusional motion in living cells. *Curr. Biol.*, 1997; 7: 930–939

- [48] Miller O.J.: Chromosome changes in cell differentiation. *Genetics*, 1997; 146: 1–8
- [49] Moen P.T. Jr., Johnson C.V., Byron M., Shopland L.S., de la Serna I.L., Imbalzano A.N., Lawrence J.B.: Repositioning of muscle-specific genes relative to the periphery of SC-35 domains during skeletal myogenesis. *Mol. Biol. Cell*, 2004; 15: 197–206
- [50] Nagele R.G., Freeman T., Mc Morrow L., Thomson Z., Kitson-Wind K., Lee H.: Chromosomes exhibit preferential positioning in nuclei of quiescent human cells. *J. Cell Sci.*, 1999; 112: 525–535
- [51] Nagele R.G., Velasco A.Q., Anderson W.J., McMahon D.J., Thomson Z., Fazekas J., Wind K., Lee H.: Telomere associations in interphase nuclei: possible role in maintenance of interphase chromosome topology. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 377–388
- [52] Osborne C.S., Chakalova L., Brown K.E., Carter D., Horton A., Debrand E., Goyenechea B., Mitchell J.A., Lopes S., Reik W., Fraser P.: Active genes dynamically colocalize to shared sites of ongoing transcription. *Nat. Genet.*, 2004; 36: 1065–1071
- [53] Parada L.A., McQueen P.G., Munson P.J., Misteli T.: Conservation of relative chromosome positioning in normal and cancer cells. *Curr. Biol.*, 2002; 12: 1692–1697
- [54] Parada L.A., Misteli T.: Chromosome positioning in the interphase nucleus. *Trends Cell Biol.*, 2002; 12: 425–432
- [55] Politz J.C., Pederson T.: Review: movement of mRNA from transcription site to nuclear pores. *J. Struct. Biol.*, 2000; 129: 252–257
- [56] Qumsiyeh M.B.: Structure and function of the nucleus: anatomy and physiology of chromatin. *Cell. Mol. Life Sci. (CMLS)*, 1999; 55: 1129–1140
- [57] Ragozy T., Telling A., Sawado T., Groudine M., Kosak S.T.: A genetic analysis of chromosome territory looping: diverse roles for distal regulatory elements. *Chromosome Res.*, 2003; 11: 513–525
- [58] Reichenzeller M., Burzclaff A., Lichter P., Herrmann H.: *In vivo* observation of a nuclear channel-like system: evidence for a distinct interchromosomal domain compartment in interphase cells. *J. Struct. Biol.*, 2000; 129: 175–185
- [59] Sadoni N., Langer S., Fauth C., Bernardi G., Cremer T., Turner B.M., Zink D.: Nuclear organization in mammalian genomes: polar chromosome territories build up functionally distinct higher order compartments. *J. Cell Biol.*, 1999; 146: 1211–1226
- [60] Scheuermann M.O., Tajbakhsh J., Kurz A., Saracoglu K., Eils R., Lichter P.: Topology of genes and nontranscribed sequences in human interphase nuclei. *Exp. Cell Res.*, 2004; 301: 266–279
- [61] Shopland L.S., Johnson C.V., Byron M., McNeil J., Lawrence J.B.: Clustering of multiple specific genes and gene-rich R-bands around SC-35 domains: evidence for local euchromatic neighborhoods. *J. Cell Biol.*, 2003; 162: 981–990
- [62] Spector D.L.: Nuclear domains. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 2891–2893
- [63] Spector D.L.: The dynamics of chromosome organization and gene regulation. *Annu. Rev. Biochem.*, 2003; 72: 573–608
- [64] Stack S.M., Anderson L.K.: A model for chromosome structure during the mitotic and meiotic cell cycles. *Chromosome Res.*, 2001; 9: 175–198
- [65] Stadler S., Schnapp V., Mayer R., Stein S., Cremer C., Bonifer C., Cremer T., Dietzel S.: The architecture of chicken chromosome territories changes during differentiation. *BMC Cell Biol.*, 2004; 5: 44
- [66] Strahl B.D., Allis C.D.: The language of covalent histone modifications. *Nature*, 2000; 403: 41–45
- [67] Taddei A., Hediger F., Neumann F.R., Gasser S.M.: The function of nuclear architecture: a genetic approach. *Annu. Rev. Genet.*, 2004; 38: 305–345
- [68] Tanabe H., Muller S., Neusser M., von Hase J., Calcagno E., Cremer M., Solovei I., Cremer C., Cremer T.: Evolutionary conservation of chromosome territory arrangements in cell nuclei from higher primates. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2002; 99: 4424–4429
- [69] Thomson I., Gilchrist S., Bickmore W.A., Chubb J.R.: The radial positioning of chromatin is not inherited through mitosis but is established *de novo* in early G1. *Curr. Biol.*, 2004; 14: 166–172
- [70] Ukekawa R., Maegawa N., Mizutani E., Fujii M., Ayusawa D.: Proteasome inhibitors induce changes in chromatin structure characteristic of senescent human fibroblasts. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2004; 68: 2395–2397
- [71] Verschure P.J., van der Kraan I., Manders E.M., Hoogstraten D., Houtsmuller A.B., van Driel R.: Condensed chromatin domains in the mammalian nucleus are accessible to large macromolecules. *EMBO Rep.*, 2003; 4: 861–866
- [72] Volpi E.V., Chevret E., Jones T., Vatcheva R., Williamson J., Beck S., Campbell R.D., Goldsworthy M., Powis S.H., Ragoussis J., Trowsdale J., Sheer D.: Large-scale chromatin organization of the major histocompatibility complex and other regions of human chromosome 6 and its response to interferon in interphase nuclei. *J. Cell Sci.*, 2000; 113: 1565–1576
- [73] Wegel E., Shaw P.: Gene activation and deactivation related changes in the three-dimensional structure of chromatin. *Chromosoma*, 2005; 114: 331–337
- [74] Wiblin A.E., Cui W., Clark A.J., Bickmore W.A.: Distinctive nuclear organization of centromeres and regions involved in pluripotency in human embryonic stem cells. *J. Cell Sci.*, 2005; 118: 3861–3868
- [75] Williams R.R.E.: Transcription and the territory: the ins and outs of gene positioning. *Trends Genet.*, 2003; 19: 298–302

