

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

УДК 577.1 - 577.21 - 577.113

DOI 10.59598/ME-2305-6053-2025-117-4-39-47

Т. М. Салиев^{1*}, П. Б. Сингх²**БЕЛОК HP1 КАК КЛЮЧЕВОЙ РЕГУЛЯТОР МИКРОФАЗНОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ГЕТЕРОХРОМАТИНА**

¹НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С. Асфендиярова» (030000, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Толе Би, 94, 050000; e-mail: info@kaznmu.kz)

²Школа Медицины, Назарбаев Университет (010000, Республика Казахстан, г. Астана, пр-т Кабанбай Батыра, 53; e-mail: nu@nu.edu.kz)

***Тимур Муйдинович Салиев** – НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С. Асфендиярова»; 030000, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Толе Би, 94, 050000; e-mail: tim.saliev@gmail.com

Белки семейства HP1 (Heterochromatin Protein 1) играют ключевую роль в организации трехмерной структуры генома, участвуя в стабилизации гетерохроматина и формировании пространственных компартментов ядра. В течение длительного времени считалось, что HP1 реализует свои функции посредством механизмов жидкостного фазового разделения (LLPS), однако последние данные указывают на более релевантную роль микрофазного разделения, ведущего к образованию нанодоменов гетерохроматина.

В обзоре представлены современные представления о механизмах компартиментализации хроматина при участии HP1, в том числе его связывание с H3K9me2/3-модифицированными нуклеосомами, способность к димеризации и формированию устойчивых межнуклеосомных взаимодействий. Особое внимание уделено нанодоменам гетерохроматина как структурным единицам микрофазного разделения, их инициации белками ATRX, PAX3/9 и ADNP, а также термодинамическим параметрам, регулирующим их размер и стабильность. Обсуждаются различия между моделями микрофазного разделения и коллапсированной глобулы, роль HP1 в эмбриональном развитии и клеточной дифференцировке, а также участие гистона H1 и других факторов в поддержании В-компартиментов. Представленные данные подчеркивают значимость HP1 в формировании эпигенетического ландшафта ядра и открывают перспективы для дальнейших биофизических и биомедицинских исследований в области регуляции геномной архитектуры.

Ключевые слова: гетерохроматин; HP1; Hi-C; H3K9me3; фазовое разделение

ВВЕДЕНИЕ

Цитологически различимый конститутивный гетерохроматин, локализованный преимущественно в центромерных и теломерных областях хромосом, представляет собой один из крупнейших специализированных компартментов хроматина в ядре эукариотической клетки [1]. Однако, помимо этих классических гетерохроматиновых регионов, вдоль плеч хромосом выявляются более мелкие, но функционально значимые структуры – гетерохроматиноподобные домены (ГПД, >0.1 Мб) и гетерохроматиноподобные комплексы (ГПК, <0.1 Мб) [2]. Эти образования обнаруживаются у различных таксонов эукариот — от дрожжей до человека, причем их количество и размеры значительно увеличиваются у млекопитающих, что может свидетельствовать об их усложненной регуляторной функции [3].

В клетках человека число ГПД варьирует от 163 до 859, а ГПК – от 18 853 до 32 292 в зависимости от типа клеток. Среди крупнейших ГПД особого внимания заслуживают участки, содержащие гены семейства KRAB-ZNF, расположенные на хромосоме 19 [3]. Анализ трехмерной организации ядра с использованием методов

Hi-C показал, что контакты между этими ГПД формируют специфический гетерохроматиновый субкомпартимент В4-типа, что указывает на их роль в пространственной организации ядерного хроматина.

Как конститутивный гетерохроматин, так и ГПД/ГПК характеризуются обогащением модифицированного гистона H3K9me2/3 (ди/триметилированного лизина 9 гистона H3) и взаимодействуют с белками семейства HP1. Белки HP1 связываются с H3K9me2/3 через свой хромомен (ХД), а их способность к димеризации посредством хромо-теневого домена (ХТД, chromo-shadow domain) позволяет формировать многовалентные взаимодействия между нуклеосомами, стабилизируя компактизированное состояние гетерохроматина [3].

Одним из ключевых вопросов современной эпигенетики является механизм пространственного разделения хроматина на функционально и цитологически различные домены – гетерохроматин и эухроматин, а также на компартменты В-типа (гетерохроматиновые) и А-типа (эухроматиновые), наблюдаемые в Hi-C экспериментах (табл. 1). Исследования последних лет показали,

что формирование таких структур может быть обусловлено физико-химическими принципами фазового разделения [4]

Однако последние данные указывают на то, что механизм разделения фаз по типу жидкость – жидкость (РФЖЖ), в котором участвует HP1, вряд ли играет ведущую роль в формировании и стабилизации конститутивного гетерохроматина [5]. Вместо этого, белки HP1, вероятно, опосредуют процессы микрофазного разделения, ведущего к выделению ГПД и ГПК, которые и формируют гетерохроматиновые компартменты В-типа. Это открытие не только уточняет представления о роли HP1 в организации хроматина, но и предполагает существование более сложных механизмов, управляющих компартментализацией ядра.

Структура гетерохроматина

Прицентромерный конститутивный гетерохроматин играет ключевую роль в поддержании стабильности генома, обеспечивая правильное функционирование центромер и расхождение хромосом в митозе. В интерфазе прицентромерные гетерохроматиновые регионы разных хромосом объединяются, формируя плотные структуры размером 0,1-1,0 мкм, известные как хромоцентры [6]. Ранее предполагалось, что белки семейства HP1 индуцируют фазовое разделение по типу жидкость – жидкость (РФЖЖ), образуя динамичные капли, которые изолируют хромоцентры от окружающего эухроматина. Согласно этой модели, HP1-зависимые капли должны были избирательно пропускать или задерживать молекулы на основе их химических свойств [7].

Однако исследования *in vivo*, особенно на клетках млекопитающих, поставили под сомне-

ние значимость РФЖЖ в организации конститутивного гетерохроматина. Согласно модели фазового разделения (табл. 2), белок HP1 α должен быть критическим регулятором этого процесса, тогда как HP1 β и HP1 γ не способны самостоятельно инициировать образование капель при аналогичных условиях [8]. Тем не менее, мыши, полностью лишённые HP1 α , остаются жизнеспособными и фертильными, а микроскопический анализ не выявляет значительных нарушений структуры хромоцентров.

Более того, отсутствие HP1 α в первую очередь влияет на регуляцию специфических генов. Например, в клетках TH2 наблюдается депрессия генов, характерных для TH1, что указывает на функции HP1 α за пределами конститутивного гетерохроматина [3]. Кроме того, HP1 α не демонстрирует свойств стабильного фазового разделения в ядре, как это делают другие белки с обширными внутренне неупорядоченными областями, а если капли и образуются, они остаются крайне нестабильными.

Исследования биофизических свойств хромоцентров подтвердили, что их размер, плотность и доступность не зависят от белков HP1 [3]. Это согласуется с результатами, полученными в эксперименте, где из эмбриональных клеток печени мышей были удалены гены, кодирующие все три изоформы HP1 (HP1 α , HP1 β и HP1 γ) [9]. Утрата этих белков привела к перераспределению хромоцентров ближе к ядерной периферии и изменению некоторых эпигенетических меток, но их общая структура, размеры и способность восстанавливаться после митоза остались неизменными. Таким образом, представляется маловероятным, что конститутивный гетерохроматин

Таблица 1 – Функциональные роли белка HP1 в клетке

Функция	Механизм реализации	Биологическое значение	Связанные белки и эпигенетические метки
Компартментализация гетерохроматина	Связывание с H3K9me2/3 и димеризация HP1	Образование В-компартментов, пространственная организация хроматина	H3K9me3, SUV39H1, SETDB1, KAP1
Транскрипционная репрессия	Рекрутирование гистон- и ДНК-метилтрансфераз, взаимодействие с ко-репрессорами	Подавление мобильных элементов, регуляция экспрессии генов	DNMT1, HDAC1/2, TRIM28 (KAP1)
Организация 3D-структуры ядра	Взаимодействие с ядерной ламиной и TADs, компактизация гетерохроматина	Поддержание стабильности ядерной архитектуры	Lamin B, LBR, CTCF, Cohesin
Регуляция репликации	Обеспечение поздней репликации гетерохроматина	Защита от нестабильности генома и мутаций	ORC1, MCM2-7, ATRX
Участие в репарации ДНК	Рекрутирование факторов репарации к поврежденным участкам	Восстановление двуцепочечных разрывов ДНК	BRCA1, 53BP1, RAD51

формируется и поддерживается механизмом РФЖЖ, управляемым HP1.

Вместо этого конститутивный гетерохроматин демонстрирует свойства коллапсированной полимерной глобулы, способной к резкому переходу из декомпактизованного состояния в уплотненное без промежуточных стадий [10]. Формирование и стабильность такой глобулы, вероятно, определяются взаимодействиями между однотипными повторяющимися последовательностями ДНК, межнуклеосомными контактами и белками, образующими поперечные связи внутри хроматина [11].

HP1, несмотря на отсутствие решающей роли в организации конститутивного гетерохроматина, может способствовать стабилизации его структуры, действуя как своеобразный мост между нуклеосомами, обогащенными H3K9me3, и обеспечивая связи между хроматиновыми волокнами. Однако удаление HP1 не препятствует формированию хромоцентров, что ставит под сомнение его значимость в архитектуре гетерохроматина. Напротив, исследования на модели мыши предполагают, что динамически обновляемый пул HP1 в гетерохроматине может служить депо для этих белков, которые затем выполняют свои основные функции за его пределами [12].

В дальнейшем мы рассмотрим, как HP1 участвует в формировании В-компарментов, представленных гетерохроматиноподобными доменами и комплексами, расположенными вне конститутивного гетерохроматина.

Микрофазное разделение ГПД/К и организация эмбрионального генома

Белок HP1 α , гомолог HP1 β у млекопитающих, играет ключевую роль в организации гетерохроматиновых доменов В-типа у дрозофилы, взаимодействуя с участками, обогащенными H3K9me3. Это подтверждено в экспериментах с нокдауном материнской мРНК HP1 α , загруженной в яйцеклетку, что привело к снижению кон-

тактов между В-компартаментами на 20%, а также к ослаблению сегрегации А- и В-компарментов во время активации зиготического генома (АЗГ), хотя явного переключения типов компарментов не наблюдалось [13, 14]. Эти эффекты объясняются снижением уровня HP1 α в плечах хромосом, где он формирует тысячи небольших доменов размером в несколько сотен пар нуклеотидов.

Снижение компарментализации В-тип при дефиците HP1 α можно объяснить через модель блочного кополимера, где чередование гетерохроматина и эухроматина создает структуру, способную к самосборке. Если HP1 α действительно способствует специфическим межхроматиновым взаимодействиям в В-компартаментах, то его недостаток нарушает их стабильность. Однако этот механизм действует только на ранних этапах развития: в дифференцированных клетках нокдаун HP1 α уже не влияет на компарментализацию В-типа, что свидетельствует о смене регуляторных механизмов в ходе развития.

Аналогичная перестройка хроматина наблюдается у млекопитающих. Во время АЗГ у мышей конститутивный гетерохроматин, маркированный HP1, перемещается из перинуклеоларной области в зону формирования хромоцентров. Исследования с использованием Liquid Hi-C показали, что HP1 α / β -ассоциированные участки обладают более стабильными взаимодействиями, чем домены Polycomb-Group (Pc-G), которые, несмотря на свою роль в эпигенетической регуляции, демонстрируют такую же нестабильность, как эухроматиновые регионы [15].

Помимо роли в компарментализации, HP1 участвует в регулировании репликации хроматина. Поздно реплицирующиеся участки, обогащенные HP1 α / β , формируют более устойчивые хроматиновые домены, тогда как ранняя репликация связана с большей динамичностью хрома-

Таблица 2 – Сравнение моделей фазового разделения хроматина

Модель	Основной механизм	Доказательства	Проблемы
Разделение жидкость – жидкость (РФЖЖ)	Динамическое образование капельнообразных структур HP1	Исследования in vitro, флуоресцентная микроскопия	Отсутствие стабильных HP1-капель in vivo, нестабильность фазового состояния
Микрофазное разделение	Образование нанодоменов HP1, поддерживающих сегрегацию гетерохроматина	Данные Hi-C, STORM-микроскопия, биофизические исследования	Не до конца изучены механизмы нуклеации и роста нанодоменов
Коллапсированная глобула	Энергетически выгодное уплотнение гетерохроматина в стабильное состояние	Наблюдается в конститутивном гетерохроматине, модели компактной упаковки ДНК	Не объясняет динамические свойства гетерохроматина

тина. Интересно, что нарушение времени репликации приводит к изменению уровня H3K9me3, что, в свою очередь, коррелирует с изменением частоты взаимодействий В-типа [16].

Остается открытым вопрос о том, на каком уровне структурной организации формируются ГПД/К – на уровне отдельных нуклеосом или на уровне хроматиновых волокон, стабилизируемых гистоном H1. У млекопитающих установлено взаимодействие HP1 с K26H1.4 (H1e), что подчеркивает возможную роль H1 в компактизации гетерохроматина. Однако эксперименты с индуцируемой делецией H1 в клетках мышей показывают, что утрата H1c, H1d и H1e не оказывает значительного влияния на локализацию HP1 и уровень H3K9me3. В CD8+ Т-клетках и В-клетках герминативных центров при отсутствии H1 наблюдается декомпактизация отдельных регионов В-типа, но большинство компартментов остается неизменным [17].

Эти данные указывают на то, что H1 играет вспомогательную роль в поддержании В-компартментов, в большей степени влияя на участки, регулируемые Рс-G. Более того, фенотипическая схожесть мутантов по H1 и EZH2 (метилтрансферазы H3K27) подтверждает связь H1 с Polycomb-зависимой регуляцией хроматина.

В эволюционном и онтогенетическом контексте роль HP1 и H1 меняется. На стадии эпибласта мыши количество H3K9me3 резко увеличивается, достигая максимума в филотипическую стадию, после чего начинается его утрата в тканеспецифических генах, сопровождаемая активацией регуляторных элементов Polycomb [18]. Таким образом, HP1 и Рс-G координируют структурную организацию генома в раннем развитии, тогда как в дифференцированных клетках ведущая роль в стабилизации В-компартментов переходит к гистону H1.

Эти результаты подчеркивают динамическую природу компартментализации хроматина, где HP1 и H1 выполняют разные функции в зависимости от контекста – от раннего эмбриогенеза до зрелых клеток.

Нанодомены HP1 и ГПД/К

Эксперименты с использованием метода Liquid Hi-C показали, что компартментализация остается стабильной, когда размер фрагментов хроматина превышает 10 – 25 тысяч пар нуклеотидов [15]. Опираясь на теорию блочных кополимеров в рамках модели, предполагающей, что ядерный хроматин представляет собой «расплав полимеров», параметр Флори-Хаггинса (χ) был оценен как $0,036 \pm 0,013$ на нуклеосому. Знак и величина χ определяют степень несовместимости между нуклеосомами типов А и В и в конечном итоге являющейся движущей силой микрофазного разделения. Небольшое, но положительное значение параметра Флори – Хаггинса указывает на то, что гетерохроматин В-типа имеет тенденцию к спонтанному микрофазному отделению от эухроматина А-типа [19].

Альтернативный подход к оценке параметра χ , предполагающий, что фибриллы нуклеосом представляют собой не расплав полимера, а концентрированный раствор в нуклеоплазме, отходит от классического представления о том, что повторяющейся единицей полимера является мономер. Вместо этого повторяющейся единицей в ГПД/К (гетерохроматин В-типа) является кластер, состоящий из 2–10 нуклеосом, содержащих H3K9me2/3 и соединенных между собой белками HP1 [20]. Это представление получило поддержку в недавнем исследовании, которое выявило тысячи подобных кластеров нуклеосом, содержащих H3K9me2/3 в эмбриональных стволовых клетках мышей [21]. Такие кластеры, названные нанодоменами гетерохроматина (НГ), состоят из 3-10 нуклеосом, соединенных друг с другом белками HP1.

Сайты нуклеации и размеры НГ могут определяться как термодинамическими параметрами, так и последовательностями ДНК. Две категории НГ, которые иницируются белками PAX3/9 (85 645 НГ размером 0.9-2.0 тысяч пар нуклеотидов) и ADNP (4673 НГ размером около 1.1 тысяч пар нуклеотидов) строго определяются последовательностями ДНК. Третья категория НГ (13113 НГ размером около 0.7 тысяч пар нуклеотидов) обнаружена в L1 элементах и иницируется белком ATRX, но размер этих НГ в значительной степени определяется термодинамическими параметрами упаковки нуклеосом. Эта третья категория НГ похожа на кластеры нуклеосом, соединенных между собой белками HP1, которые формируются вдоль крупных гетерохроматиноподобных доменов KRAB-ZNF, и иницируются сборкой небольшого (~1.5 тысяч пар нуклеотидов) гетерохроматиноподобного комплекса, содержащего ATRX.33 (табл. 3).

Распространение гетерохроматина в строны от этого комплекса, приводящее в итоге к формированию крупного гетерохроматиноподобного домена, осуществляется с помощью H3K9-специфичной гистон-метилтрансферазы (HMTase) и белка HP1, который связывается с новыми нуклеосомами, помеченными H3K9me3 [22]. Размер кластеров, обогащенных H3K9me3 и связанных с HP1, определяется термодинамически суммой свободных энергий разнонаправленных процессов: энергии взаимодействия (связь хромодоменов димеров HP1 с H3K9me3) и упругой энергии (сопротивление линкерной ДНК к изгибу, скручиванию и растяжению, а также стерические ограничения нуклеосом и линкерной ДНК). Контакты между ГПД KRAB-ZNF создают гетерохроматиновый субкомпартмент В4, который наблюдается на картах Hi-C. Вероятно, в геноме существует значительно большее число НГ.32

Дополнительные исследования покажут, могут ли НГ участвовать в микрофазном разделении ГПД/К и могут ли внутри- и межхромосомные взаимодействия между микрофазно-разде-

Таблица 3 – Типы нанодоменов HP1 в клетках млекопитающих

Тип нанодомена	Размер (нуклеосом)	Белки-инициаторы	Локализация в геноме	Функции
ATRX-ассоциированные	3-10	ATRX	L1-регион мобильных элементов	Подавление транспозонов, стабилизация гетерохроматина
PAX3/9-ассоциированные	10-20	PAX3/9	Энхансеры и промоторы генов развития	Регуляция тканеспецифичной экспрессии
ADNP-ассоциированные	5-15	ADNP	Нейрональные специфичные регионы	Поддержание транскрипционной репрессии в нервной системе
KRAB-ZNF-ассоциированные	5-30	KAP1, SETDB1	ГПД на хромосоме 19	Контроль мобильных элементов, репрессия ретровирусов

ленными доменами/комплексами приводить к образованию коллапсирующих глобул, как это предполагается в случае конститутивного гетерохроматина. Разработка этой области продвигается быстрыми темпами, и мы полагаем, что понимание физико-химических механизмов, управляющих микрофазным разделением и сегрегацией ГПД/К, даст значительное представление о биофизике трехмерной организации генома и ее динамике в процессе эмбрионального развития.

Эксперименты с использованием метода Liquid Hi-C показали, что компартментализация хроматина остается стабильной при размере фрагментов более 10-25 тысяч пар нуклеотидов [15]. В рамках модели, рассматривающей ядерный хроматин как «расплав полимеров», параметр Флори – Хаггинса (χ) был оценен как $0,036 \pm 0,013$ на нуклеосому. Это значение указывает на небольшую, но значимую несовместимость между нуклеосомами А- и В-типа, что приводит к спонтанному микрофазному разделению гетерохроматина В-типа от эухроматина А-типа. Однако альтернативная модель рассматривает хроматин не как расплавленный полимер, а как концентрированный раствор, где повторяющейся единицей организации ГПД/К является не одиночная нуклеосома, а кластер из 2-10 нуклеосом, связанных белками HP1 и содержащих H3K9me2/3. Это представление получило подтверждение в недавнем исследовании, где были идентифицированы нанодомены гетерохроматина (НГ) в эмбриональных стволовых клетках мышей. Такие структуры представляют собой локализованные скопления из 3-10 нуклеосом, объединенных белками HP1, что формирует стабильные участки гетерохроматина.

Сайты нуклеации и размеры нанодоменов зависят как от термодинамических параметров, так и от последовательности ДНК. Различают

несколько категорий НГ, отличающихся механизмами формирования. Например, нанодомены, инициируемые белками PAX3/9, достигают 0.9-2.0 тысяч пар нуклеотидов и строго определяются последовательностями ДНК.

Другой класс представлен ADNP-ассоциированными НГ размером около 1.1 тысяч пар нуклеотидов, также имеющими ДНК-зависимую организацию. Третья категория обнаружена в L1-элементах и формируется под контролем белка ATRX, при этом их размеры в большей степени регулируются физико-химическими свойствами нуклеосомной упаковки. Этот класс НГ напоминает кластеры, организованные в гетерохроматиноподобных доменах семейства KRAB-ZNF, которые формируются путем начальной сборки небольшого (~1.5 тысяч пар нуклеотидов) гетерохроматинового комплекса с участием ATRX [3]. В дальнейшем происходит распространение гетерохроматина благодаря активности H3K9-специфичной гистон-метилтрансферазы и стабилизирующей роли HP1, который связывает вновь метилированные нуклеосомы, формируя долговременные эпигенетические структуры (табл. 4).

Размер и стабильность нанодоменов определяются балансом разнонаправленных энергетических процессов. Важную роль играет взаимодействие HP1 с H3K9me3, обеспечивающее сцепление нуклеосом в рамках нанодоменов, в то время как упругая энергия линкерной ДНК, сопротивляющейся изгибу и скручиванию, а также стерические ограничения нуклеосом ограничивают их размер. Эти физико-химические факторы создают упорядоченные гетерохроматиновые субкомпарменты, такие как В4-домены семейства KRAB-ZNF, которые можно наблюдать в картах Hi-C.

Дальнейшие исследования должны определить, участвуют ли нанодомены в микрофаз-

Таблица 4 – Микрофазное разделение vs. коллапсированная глобула: различия в организации гетерохроматина

Свойство	Микрофазное разделение	Коллапсированная глобула
Движущая сила	Нанодомены HP1, взаимодействия между H3K9me3-модифицированными нуклеосомами	Уплотнение за счет ДНК-ДНК и нуклеосомных взаимодействий
Динамика	Обратимые взаимодействия, быстрая реорганизация	Стабильная конденсация, медленные изменения
Участие белков HP1	Формирование нанодоменов и поддержка сегрегации	Вспомогательная роль в стабилизации гетерохроматина
Роль в клеточном цикле	Динамическое перестроение в ответ на клеточные сигналы	Сохранение уплотненного состояния в интерфазе
Подтверждение экспериментами	Hi-C, FRAP-анализ, сверхразрешающая микроскопия	Электронная микроскопия, биофизические исследования

ном разделении гетерохроматиноподобных доменов и комплексов, а также могут ли межхромосомные контакты между этими структурами приводить к формированию коллапсирующих глобул, аналогичных тем, что наблюдаются в конститутивном гетерохроматине. Глубокое понимание механизмов, управляющих этими процессами, позволит уточнить не только организацию трехмерной архитектуры генома, но и ее динамику в ходе эмбрионального развития и клеточной дифференцировки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование белка HP1 позволило пересмотреть классические представления о механизмах пространственной организации гетерохроматина. Вместо предполагавшегося ранее механизма фазового разделения жидкость – жидкость (РФЖЖ), текущие данные указывают на то, что HP1 играет ведущую роль в микрофазном разделении, что обуславливает формирование устойчивых нанодоменов хроматина, регулирующих его компартментализацию. Эти структуры оказывают влияние на экспрессию генов, пространственную сегрегацию эухроматина и гетерохроматина, а также на наследуемость эпигенетической информации в процессе деления клеток.

Несмотря на значительный прогресс в изучении HP1, остается ряд нерешенных вопросов. В частности, не до конца изучены механизмы, управляющие динамикой нанодоменов HP1 в различных клеточных контекстах, а также влияние посттрансляционных модификаций HP1 на его функцию. Кроме того, остается неясным, как HP1 взаимодействует с другими белками, участвующими в поддержании эпигенетической стабильности, такими как комплексы Polycomb и белки, регулирующие архитектуру ядерного матрикса.

Дальнейшие исследования в этой области позволят глубже понять биофизические механиз-

мы компартментализации хроматина, а также дадут возможность разрабатывать новые подходы к регуляции активности генома. Это особенно актуально для медицины, поскольку дисфункции в процессах гетерохроматиновой организации связаны с различными заболеваниями, включая нейродегенеративные расстройства, онкологические патологии и наследственные эпигенетические нарушения. Совершенствование методов исследования, таких как суперразрешающая микроскопия, Hi-C, CUT&RUN и жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрией, позволит значительно расширить наше понимание механизмов действия HP1 и его влияния на хроматиновую динамику. В перспективе углубленный анализ работы HP1 и его влияния на микрофазное разделение гетерохроматина может привести к созданию новых терапевтических стратегий, направленных на коррекцию нарушений в организации хроматина, что сделает возможным более точное вмешательство в процессы регуляции генома в медицинских и биотехнологических приложениях.

Вклад авторов

Т. М. Салиев – идея, концепция, дизайн.
П. Б. Сингх – сбор и обработка материала.
Т. М. Салиев, П. Б. Сингх – написание текста, редактирование.

Конфликт интересов:

Конфликт интересов не заявлен.

Финансирование:

Статья подготовлена при поддержке программно-целевого финансирования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № BR24992900). «Увеличение продолжительности здоровой жизни: использование новых технологий и машинного обучения для контроля обращения старения в старых клетках».

ЛИТЕРАТУРА

1. Messina G., Celauro E., Marsano R.M., Prozzillo Y., Dimitri P. Epigenetic Silencing of P-Element Reporter Genes Induced by Transcriptionally Active Domains of Constitutive Heterochromatin in *Drosophila melanogaster*. *Genes (Basel)*. 2022; 14 (1): 12. <https://doi.org/10.3390/genes14010012>
2. Singh P.B., Belyakin S.N., Laktionov P.P. Biology and Physics of Heterochromatin-Like Domains/Complexes. *Cells*. 2020; 9 (8): 1881. <https://doi.org/10.3390/cells9081881>
3. Singh P.B., Newman A.G. On the relations of phase separation and Hi-C maps to epigenetics. *R. Soc. Open Sci.* 2020; 7 (2):191976. <https://doi.org/10.1098/rsos.191976>
4. Grewal S.I.S. The molecular basis of heterochromatin assembly and epigenetic inheritance. *Mol Cell*. 2023; 83 (11): 1767-1785. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.04.020>
5. Keenen M.M., Brown D., Brennan L.D., Renger R., Khoo H., Carlson C.R., Huang B., Grill S.W., Narlikar G.J., Redding S. HP1 proteins compact DNA into mechanically and positionally stable phase separated domains. *Elife*. 2021; 10: e64563. <https://doi.org/10.7554/eLife.64563>
6. Packiaraj J., Thakur J. DNA satellite and chromatin organization at mouse centromeres and pericentromeres. *Genome Biol*. 2024; 25 (1): 52. <https://doi.org/10.1186/s13059-024-03184-z>
7. Phan T.M., Kim Y.C., Debelouchina G.T., Mittal J. Interplay between charge distribution and DNA in shaping HP1 paralog phase separation and localization. *Elife*. 2024; 12: RP90820. <https://doi.org/10.7554/eLife.90820>
8. Qin W., Stengl A., Ugur E., Leidescher S., Ryan J., Cardoso M.C., Leonhardt H. HP1 β carries an acidic linker domain and requires H3K9me3 for phase separation. *Nucleus*. 2021; 12 (1): 44-57. <https://doi.org/10.1080/19491034.2021.1889858>
9. González J., Bosch-Presegué L., Marazuela-Duque A., Guitart-Solanes A., Espinosa-Alcantud M., Fernandez A.F., Brown J.P., Ausió J., Vazquez B.N., Singh P.B., Fraga M.F., Vaquero A. A complex interplay between H2A.Z and HP1 isoforms regulates pericentric heterochromatin. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2023; 11: 1293122. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1293122>
10. Di Stefano M., Nützmann H.W., Marti-Renom M.A., Jost D. Polymer modelling unveils the roles of heterochromatin and nucleolar organizing regions in shaping 3D genome organization in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res*. 2021; 49 (4): 1840-1858. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1275>
11. Erdel F., Rippe K. Formation of Chromatin Subcompartments by Phase Separation. *Biophys J*. 2018; 114 (10): 2262-2270. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.03.011>
12. Singh P.B., Newman A.G. HP1-Driven Micro-Phase Separation of Heterochromatin-Like Domains/Complexes. *Epigenet Insights*. 2022; 15: 25168657221109766. <https://doi.org/10.1177/25168657221109766>
13. Schoelz J.M., Riddle N.C. Functions of HP1 proteins in transcriptional regulation. *Epigenetics Chromatin*. 2022; 15 (1): 14. <https://doi.org/10.1186/s13072-022-00453-8>
14. Zenk F., Zhan Y., Kos P., Löser E., Atinbayeva N., Schächtle M., Tiana G., Giorgetti L., Iovino N. HP1 drives de novo 3D genome reorganization in early *Drosophila* embryos. *Nature*. 2021; 593 (7858): 289-293. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03460-z>
15. Belaghzal H., Borrmann T., Stephens A.D., Lafontaine D.L., Venev S.V., Weng Z., Marko J.F., Dekker J. Liquid chromatin Hi-C characterizes compartment-dependent chromatin interaction dynamics. *Nat. Genet.* 2021; 53 (3): 367-378. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00784-4>
16. Ahmad H., Chetlangia N., Prasanth S.G. Chromatin's Influence on Pre-Replication Complex Assembly and Function. *Biology (Basel)*. 2024; 13 (3): 152. <https://doi.org/10.3390/biology13030152>
17. Yusufova N., Kloetgen A., Teater M., Osunsade A., Camarillo J.M., Chin C.R., Doane A.S., Venters B.J., Portillo-Ledesma S., Conway J., Phillip J.M., Elemento O., Scott D.W., Béguelin W., Licht J.D., Kelleher N.L., Staudt L.M., Skoultschi A.I., Keogh M.C., Apostolou E., Mason C.E., Imielinski M., Schlick T., David Y., Tsirogas A., Allis C.D., Soshnev A.A., Cesarman E., Melnick A.M. Histone H1 loss drives lymphoma by disrupting 3D chromatin architecture. *Nature*. 2021; 589 (7841): 299-305. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-3017-y>
18. Doyle E.J., Morey L., Conway E. Know when to fold 'em: Polycomb complexes in oncogenic 3D genome regulation. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2022; 10: 986319. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.986319>
19. Singh P.B., Belyakin S.N., Laktionov P.P. Biology and Physics of Heterochromatin-Like Domains/Complexes. *Cells*. 2020; 9 (8):1881. <https://doi.org/10.3390/cells9081881>
20. Thorn G.J., Clarkson C.T., Rademacher A. DNA sequence-dependent formation of heterochromatin nanodomains. *Nat. Commun.* 2022; 13: 1861. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29360-y>
21. Falk M., Feodorova Y., Naumova N., Imakaev M., Lajoie B.R., Leonhardt H., Joffe B., Dekker J., Fudenberg G., Solovoi I., Mirny L.A. Heterochromatin drives compartmentalization of inverted and conventional nuclei. *Nature*. 2019; 570 (7761): 395-399. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1275-3>
22. Shao Z., Lu J., Khudaverdyan N. Multilayered heterochromatin interaction as a switch for DIM2-mediated DNA methylation. *Nat. Commun.* 2024; 15: 6815. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-51246-4>

ТРАНСЛИТЕРАЦИЯ

1. Messina G., Celauro E., Marsano R.M., Prozzillo Y., Dimitri P. Epigenetic Silencing of P-Element Reporter Genes Induced by Transcriptionally Active Domains of Constitutive Heterochromatin in *Drosophila melanogaster*. *Genes (Basel)*. 2022;

- 14 (1): 12. <https://doi.org/10.3390/genes14010012>
2. Singh P.B., Belyakin S.N., Laktionov P.P. Biology and Physics of Heterochromatin-Like Domains/Complexes. *Cells*. 2020; 9 (8): 1881. <https://doi.org/10.3390/cells9081881>
3. Singh P.B., Newman A.G. On the relations of phase separation and Hi-C maps to epigenetics. *R. Soc. Open Sci.* 2020; 7 (2):191976. <https://doi.org/10.1098/rsos.191976>
4. Grewal S.I.S. The molecular basis of heterochromatin assembly and epigenetic inheritance. *Mol. Cell*. 2023; 83 (11): 1767-1785. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.04.020>
5. Keenen M.M., Brown D., Brennan L.D., Renger R., Khoo H., Carlson C.R., Huang B., Grill S.W., Narlikar G.J., Redding S. HP1 proteins compact DNA into mechanically and positionally stable phase separated domains. *Elife*. 2021; 10: e64563. <https://doi.org/10.7554/eLife.64563>
6. Packiaraj J., Thakur J. DNA satellite and chromatin organization at mouse centromeres and pericentromeres. *Genome Biol.* 2024; 25 (1): 52. <https://doi.org/10.1186/s13059-024-03184-z>
7. Phan T.M., Kim Y.C., Debelouchina G.T., Mittal J. Interplay between charge distribution and DNA in shaping HP1 paralog phase separation and localization. *Elife*. 2024; 12: RP90820. <https://doi.org/10.7554/eLife.90820>
8. Qin W., Stengl A., Ugur E., Leidescher S., Ryan J., Cardoso M.C., Leonhardt H. HP1 β carries an acidic linker domain and requires H3K9me3 for phase separation. *Nucleus*. 2021; 12 (1): 44-57. <https://doi.org/10.1080/19491034.2021.1889858>
9. González J., Bosch-Presegué L., Marazuela-Duque A., Guitart-Solanes A., Espinosa-Alcantud M., Fernandez A.F., Brown J.P., Ausió J., Vazquez B.N., Singh P.B., Fraga M.F., Vaquero A. A complex interplay between H2A.Z and HP1 isoforms regulates pericentric heterochromatin. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2023; 11: 1293122. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1293122>
10. Di Stefano M., Nützmann H.W., Marti-Renom M.A., Jost D. Polymer modelling unveils the roles of heterochromatin and nucleolar organizing regions in shaping 3D genome organization in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res.* 2021; 49 (4): 1840-1858. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1275>
11. Erdel F., Rippe K. Formation of Chromatin Subcompartments by Phase Separation. *Biophys J.* 2018; 114 (10): 2262-2270. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.03.011>
12. Singh P.B., Newman A.G. HP1-Driven Micro-Phase Separation of Heterochromatin-Like Domains/Complexes. *Epigenet Insights*. 2022; 15: 25168657221109766. <https://doi.org/10.1177/25168657221109766>
13. Schoelz J.M., Riddle N.C. Functions of HP1 proteins in transcriptional regulation. *Epigenet-ics Chromatin*. 2022; 15 (1): 14. <https://doi.org/10.1186/s13072-022-00453-8>
14. Zenk F., Zhan Y., Kos P., Löser E., Atinbayeva N., Schächtle M., Tiana G., Giorgetti L., Iovino N. HP1 drives de novo 3D genome reorganization in early *Drosophila* embryos. *Nature*. 2021; 593 (7858): 289-293. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03460-z>
15. Belaghzal H., Borrmann T., Stephens A.D., Lafontaine D.L., Venev S.V., Weng Z., Marko J.F., Dekker J. Liquid chromatin Hi-C characterizes compartment-dependent chromatin interaction dynamics. *Nat. Genet.* 2021; 53 (3): 367-378. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00784-4>
16. Ahmad H., Chetlangia N., Prasanth S.G. Chromatin's Influence on Pre-Replication Complex Assembly and Function. *Biology (Basel)*. 2024; 13 (3): 152. <https://doi.org/10.3390/biology13030152>
17. Yusufova N., Kloetgen A., Teater M., Osunsade A., Camarillo J.M., Chin C.R., Doane A.S., Venters B.J., Portillo-Ledesma S., Conway J., Phillip J.M., Elemento O., Scott D.W., Béguelin W., Licht J.D., Kelleher N.L., Staudt L.M., Skoultschi A.I., Keogh M.C., Apostolou E., Mason C.E., Imielinski M., Schlick T., David Y., Tsigos A., Allis C.D., Soshnev A.A., Cesarman E., Melnick A.M. Histone H1 loss drives lymphoma by disrupting 3D chromatin architecture. *Nature*. 2021; 589 (7841): 299-305. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-3017-y>
18. Doyle E.J., Morey L., Conway E. Know when to fold 'em: Polycomb complexes in oncogenic 3D genome regulation. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2022; 10: 986319. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.986319>
19. Singh P.B., Belyakin S.N., Laktionov P.P. Biology and Physics of Heterochromatin-Like Domains/Complexes. *Cells*. 2020; 9 (8):1881. <https://doi.org/10.3390/cells9081881>
20. Thorn G.J., Clarkson C.T., Rademacher A. DNA sequence-dependent formation of heterochromatin nanodomains. *Nat. Commun.* 2022; 13: 1861. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29360-y>
21. Falk M., Feodorova Y., Naumova N., Imakaev M., Lajoie B.R., Leonhardt H., Joffe B., Dekker J., Fudenberg G., Solovei I., Mirny L.A. Heterochromatin drives compartmentalization of inverted and conventional nuclei. *Nature*. 2019; 570 (7761): 395-399. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1275-3>
22. Shao Z., Lu J., Khudaverdyan N. Multi-layered heterochromatin interaction as a switch for DIM2-mediated DNA methylation. *Nat. Commun.* 2024; 15: 6815. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-51246-4>

Поступила 14.02.2025

Направлена на доработку 23.03.2025

Принята 22.09.2025

Опубликована online 30.12.2025

T. M. Saliev^{1*}, P. B. Singh²

HP1 PROTEIN AS A KEY REGULATOR OF MICROPHASE SEPARATION OF HETEROCHROMATIN

¹Asfendiyarov Kazakh National Medical University NC JSC (050000, Republic of Kazakhstan, Almaty c., Tole Bi str., 94; e-mail: info@kaznmu.kz)

²School of Medicine, Nazarbayev University (010000, Republic of Kazakhstan, Astana c., Kabanbai Batyr ave., 53; e-mail: nu@nu.edu.kz)

***Timur Muidinovich Saliev** – Asfendiyarov Kazakh National Medical University NC JSC; 050000, Republic of Kazakhstan, Almaty c., Tole Bi str., 94; e-mail: tim.saliev@gmail.com

Proteins of the HP1 family (Heterochromatin Protein 1) play a key role in the organization of the three-dimensional structure of the genome, participating in the stabilization of heterochromatin and the formation of spatial compartments of the nucleus. For a long time, it was believed that HP1 realizes its functions through the mechanisms of liquid-phase separation (LLPS), but recent data indicate a more relevant role of microphase separation leading to the formation of heterochromatin nanodomains.

The review presents current concepts of the mechanisms of chromatin compartmentalization with the participation of HP1, including its binding to H3K9me2/3-modified nucleosomes, the ability to dimerize and form stable internucleosomal interactions. Particular attention is paid to heterochromatin nanodomains as structural units of microphase separation, their initiation by ATRX, PAX3/9 and ADNP proteins, as well as the thermodynamic parameters regulating their size and stability. The differences between the microphase separation and collapsed globule models, the role of HP1 in embryonic development and cell differentiation, and the involvement of histone H1 and other factors in the maintenance of B-compartments are discussed. The presented data highlight the importance of HP1 in shaping the nuclear epigenetic landscape and open up prospects for further biophysical and biomedical research in the field of regulation of genomic architecture.

Key words: heterochromatin; HP1; Hi-C; H3K9me3; phase separation

T. M. Салиев^{1*}, П. Б. Сингх²

ГЕТЕРОХРОМАТИНДІҢ МИКРОФАЗАЛЫҚ БӨЛУІНІҢ НЕГІЗГІ РЕТТЕУІ РЕТІНДЕГІ HP1 ПРОТЕИНИ

¹«С. Д. Асфендияров атындағы қазақ ұлттық медицина университеті» КеАҚ (050000, Қазақстан Республикасы, Алматы қ., Төле Би к-сі, 94; e-mail: info@kaznmu.kz)

²Медицина мектебі, Назарбаев Университеті (010000, Қазақстан Республикасы, Астана қ., Қабанбай батыр даңғ., 53; e-mail: nu@nu.edu.kz)

***Тимур Муйдинович Салиев** – «С. Д. Асфендияров атындағы қазақ ұлттық медицина университеті» КеАҚ; 050000, Қазақстан Республикасы, Алматы қ., Төле Би к-сі, 94; e-mail: tim.saliev@gmail.com

HP1 тұқымдасының белоктары (гетерохроматин Ақуыз 1) гетерохроматинді тұрақтандыруға және ядроның кеңістіктік бөлімдерін құруға қатыса отырып, геномның үш өлшемді құрылымын ұйымдастыруда шешуші рөл атқарады. Ұзақ уақыт бойы HP1 өз функцияларын сұйық фазалық бөлу (LLPS) механизмдері арқылы жүзеге асырады деп есептелді, бірақ соңғы деректер гетерохроматин нанодомендерінің пайда болуына әкелетін микрофазалық бөлудің маңыздырақ рөлін көрсетеді.

Шолуда H3K9me2/3-модификацияланған нуклеосомалармен байланысуын, димеризациялану және тұрақты нуклеосомалық өзара әрекеттесулерді қалыптастыру мүмкіндігін қоса алғанда, HP1 қатысуымен хроматинді компартментизациялау механизмдерінің қазіргі тұжырымдамалары ұсынылған. Микрофазалық бөлінудің құрылымдық бірліктері ретінде гетерохроматин нанодомендеріне, олардың ATRX, PAX3/9 және ADNP ақуыздарымен инициациясына, сондай-ақ олардың мөлшері мен тұрақтылығын реттейтін термодинамикалық параметрлерге ерекше назар аударылады. Микрофазалық бөліну мен құлаған глобул модельдері арасындағы айырмашылықтар, HP1-нің эмбриондық дамудағы және жасуша дифференциациясындағы рөлі, H1 гистонының қатысуы және B-бөлімшелерін ұстаудағы басқа факторлар талқыланады. Ұсынылған деректер ядролық эпигенетикалық ландшафты қалыптастырудағы HP1 маңыздылығын көрсетеді және геномдық архитектураны реттеу саласындағы одан әрі биофизикалық және биомедициналық зерттеулер үшін перспективаларды ашады.

Кілт сөздер: гетерохроматин; HP1; Hi-C; H3K9me3; фазаларды бөлу