

LOKALIZACJA CHROMOSOMÓW W JĄDRZE KOMÓRKOWYM I JEJ ZMIANY ZWIĄZANE Z TRANSKRYPCJĄ I USZKODZENIAMI DNA

LOCATION OF CHROMOSOMES IN CELL NUCLEUS AND THEIR
RELOCATION CONNECTED WITH TRANSCRIPTION AND DNA DAMAGE

Alina BŁASZCZYK

Pracownia Cytogenetyki, Katedra Genetyki Ogólnej, Biologii Molekularnej
i Biotechnologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki

Streszczenie: W interfazowym jądrze komórkowym chromosomy zajmują określone miejsce zwane terytorium chromosomowym. Umieszczenie poszczególnych chromosomów w jądrze zależy od fazy cyklu komórkowego, wielkości chromosomu oraz liczby genów aktywnie transkrybowanych. Całe chromosomy, jak również specyficzne geny mogą zmieniać swoją pozycję podczas różnicowania komórki, na skutek zmiany jej statusu proliferacyjnego, zmian w poziomie transkrypcji genów czy w wyniku działania czynników genotoksycznych lub zmian chorobowych. Wzajemne rozlokowanie chromosomów w jądrze jest istotnym czynnikiem epigenetycznym, od którego zależy prawidłowe funkcjonowanie genomu. W pracy przedstawiono najważniejsze czynniki wpływające na rozmieszczenie terytoriów chromosomowych w jądrze komórkowym a także znaczenie ich względnej lokalizacji dla zachodzenia translokacji chromosomowych.

Słowa kluczowe: terytorium chromosomowe, przestrzenna organizacja jądra, lokalizacja genów, translokacja

Summary: In the interphase cell nucleus, chromosomes occupy a specific site called chromosome territory. The location of individual chromosomes in the nucleus depends on the cell cycle phase, the chromosome size and the density of the actively transcribed genes. All chromosomes as well as specific genes may relocate during cell differentiation or as a result of changes in cell proliferative status, altered gene transcription, exposure to genotoxic factors and disease. The relative position of chromosomes in the nucleus is an important epigenetic factor which determines proper functioning of genome. The paper presents the most significant factors influencing the distribution of chromosomal territories in the cell nucleus as well as the importance of their relative location for the formation of chromosomal translocations.

Key words: chromosome territory, nuclear spatial organization, gene positioning, translocation

WSTĘP

W jądrach komórek eukariotycznych genomowy DNA wchodzi w interakcję z białkami histonowymi tworząc włókno nukleosomowe o średnicy 10 nm. Kolejnymi poziomami organizacji materiału genetycznego są włókna solenoidowe o średnicy 30 nm oraz fibryle chromatyny interfazowej osiągające średnicę 240-300 nm [1, 11, 39]. Fizyczna, odrębna natura każdego chromosomu jest wyraźnie widoczna na etapie metafazy podziału komórkowego, w trakcie którego chromosomy są silnie skondensowane i widoczne jako odrębne jednostki, składające się z dwóch chromatyd zawierających identyczne cząsteczki DNA. Badania z zastosowaniem metody hybrydyzacji *in situ* wykorzystującej fluorochromy do uwidaczniania chromosomów (FISH) pokazały, że chromosomy, zarówno homologiczne jak i niehomologiczne, są od siebie fizycznie oddzielone także w trakcie interfazy i zajmują określony, dobrze zdefiniowany, obszar przestrzeni jądrowej zwany terytorium chromosomowym (CT), przy czym fibryle chromatynowe sąsiadujących ze sobą terytoriów mogą się w pewnym stopniu przeplatać [9]. Terytoria chromosomowe mają przeważnie kształt sferyczny i średnicę od 2 do 4 μM [8, 46]. Chromosomy interfazowe są nieprzypadkowo rozmieszczone w jądrze, co świadczy o tym, że po podziale komórki musi następować taka reorganizacja genomu, która prowadzi do umiejscowienia terytorium każdego chromosomu w odpowiednim kompartmentcie jądra komórkowego. Położenie chromosomów w jądrze interfazowym zależy od typu komórki i jest ustalane we wczesnej fazie G1 cyklu komórkowego, utrzymywane przed i w trakcie replikacji DNA a także w fazie G2 interfazy [14, 42]. Istotne zmiany pozycji chromosomów w jądrze komórkowym zdarzają się rzadko i mogą być spowodowane różnicowaniem komórki, zmianami w intensywności podziałów komórkowych, zmianami w poziomie transkrypcji genów zlokalizowanych na danym chromosomie, działaniem czynników środowiskowych czy chorobowych [24, 27, 37, 54].

ROZMIESZCZENIE CHROMOSOMÓW W PRZESTRZENI JĄDROWEJ

Najbardziej powszechną teorią opisującą położenie chromosomów w jądrze komórkowym jest teoria radialna mówiąca o tym, że chromosomy zajmują stałe miejsce w przestrzeni jądrowej i mogą być umiejscowione albo bliżej centrum jądra albo bardziej peryferyjnie w pobliżu wewnętrznej błony jądra komórkowego [34]. Nieprzypadkowe radialne położenie poszczególnych chromosomów powoduje powstawanie preferencyjnych ich zgrupowań lub preferencyjną lokalizację względem wybranych struktur jądra – dotyczy to na przykład zgrupowania chromosomów

zawierających rDNA (akrocentryczne chromosomy 13-15 oraz 21-22) w pobliżu jąderka [29]. Takie fizyczne interakcje materiału genetycznego poszczególnych chromosomów mają znaczenie dla wielu funkcji komórkowych. Według teorii radialnej położenie terytorium danego chromosomu jest uzależnione od liczby zawartych w nim genów. Im więcej genów aktywnych transkrypcyjnie zawiera dany chromosom tym jego umiejscowienie w jądrze komórkowym jest bliższe centralnej części jądra. Skierowanie materiału genetycznego bogatego w geny aktywne w kierunku centrum jądra komórkowego dotyczy nie tylko całego chromosomu ale także regionów subchromosomalnych. Taką lokalizację chromosomów w jądrach interfazowych pokazały analizy położenia chromosomów 18 i 19 w różnych typach komórek człowieka [10, 36]. Chromosomy 18 i 19 były bardzo dogodnym obiektem do tego typu badań, ponieważ są one zbliżonej długości (zawierają odpowiednio, 77 Mpz i 63 Mpz DNA [11], co stanowi ok. 2,5% i 2,1% fizycznej długości genomu), jednakże różnią się istotnie liczbą obecnych w nich aktywnych genów [15, 37]. Chromosom 19 zawiera znacznie więcej euchromatyny niż chromosom 18, który jest bardziej heterochromatyczny. W chromosomie 19 w przeciwieństwie do chromosomu 18 występuje duże zagęszczenie wysp CpG i powtórzeń rodziny Alu a jego DNA ulega replikacji we wczesnej fazie S cyklu komórkowego, podczas gdy w przypadku chromosomu 18 ma to miejsce w późnej fazie S. Badania Croft i wsp. [10] pokazały, że w 95% analizowanych fibroblastów terytoria chromosomów 18 położone były w rejonach peryferyjnych jądra interfazowego, podczas gdy chromosom 19 w tych rejonach jądra komórkowego wykrywano tylko w 20% komórek. Skorelowane z gęstością genów położenie chromosomów w jądrach potwierdzone zostało dla wszystkich chromosomów proliferujących komórek limfoblastoidalnych [4], podczas gdy w fibroblastach człowieka taki rozkład chromosomów obserwowano zarówno w komórkach proliferujących jak i nie proliferujących [24, 37] (tabela 1).

Liczba genów aktywnych obecnych w chromosomie determinuje nie tylko jego lokalizację w jądrze interfazowym ale także wielkość terytorium chromosomowego. Obserwowano istotną różnicę w wielkości obszaru terytorium chromosomowego przy porównaniu terytoriów chromosomów 18 i 19 [10]. Chromosom 18 (zawierający nieco dłuższą cząsteczkę DNA niż chromosom 19) na preparatach metafazowych (C-metafazy) zajmuje o ok. 10% więcej powierzchni niż chromosom 19. Jednakże badania z zastosowaniem metody FISH w ujęciu dwuwymiarowym (2D) wykazały, że chromosom 19 z większą liczbą transkrybowanych genów zajmuje większy obszar przestrzeni jądrowej (9,2% obszaru jądra limfocytów, 6,8% jądra limfoblastów) niż chromosom 18 (odpowiednio, 5,7% i 5,3%). Podobne różnice obserwowano w limfoblastach utrwalonych przestrzennie trójwymiarowo (3D), w których sygnały fluorescencyjne dla chromosomu 19 i 18 odpowiadały odpowiednio, 5,0% i 3,4% obszaru jądra. Różnice w wielkości obszaru jądrowego zajmowanego przez chromosomy zawierające podobną ilość materiału genetycznego

wynikają z innej aktywności transkrypcyjnej genów obecnych w poszczególnych chromosomach. Potwierdzeniem znaczenia obecności genów aktywnych w chromosomach dla wielkości jego terytorium w jądrze były także badania z zastosowaniem aktynowycyny D, nieodwracalnego inhibitora polimerazy RNA I i II, które pokazały, że w komórkach traktowanych tym inhibitorem terytorium chromosomu 19 jest znacznie mniejsze w porównaniu do terytorium tego chromosomu obserwowanego w komórkach nie poddanych działaniu inhibitora [10]. Objętość terytorium chromosomowego nie jest więc proporcjonalna do ilości zawartego w nim DNA ale wyraźnie zależy od liczby genów aktywnych transkrypcyjnie.

TABELA 1. Położenie chromosomów w jądrach fibroblastów człowieka [37]

TABLE 1. Chromosome location in nuclei of human fibroblasts [37]

Chromosom	Liczba genów przypadająca na 1 Mpz	Wielkość chromosomu (Mpz)	Położenie chromosomu w jądrze		
			centrum	pośrodkie	peryferium
1	11,28	245		x	
2	7,68	243			x
3	7,40	199			x
4	6,09	192			x
5	7,08	181			x
6	8,94	170			x
7	9,33	158			x
8	7,65	145			x
9	8,94	134			x
10	8,10	135		x	
11	13,84	134			x
12	11,69	133			x
13	5,30	114			x
14	12,12	105		x	
15	10,68	100		x	
16	13,51	90		x	
17	18,49	81	x		
18	6,84	77			x
19	25,38	63	x		
20	14,34	63	x		
21	7,49	46	x		
22	4,97	49	x		
X	9,21	152			x
Y	6,31	51	x		

Intensywne badania nad lokalizacją terytoriów chromosomowych prowadzone w ostatnich latach dowodzą jednak, że przestrzenna organizacja ludzkiego genomu nie zawsze jest w pełni stała i utrwalona. Wyniki badań wskazują, że chromatyna, która jest bogata w geny aktywne zajmuje zwykle centralną pozy-

cję w jądrze interfazowym ale lokalizacja chromosomów w przestrzeni jądrowej niektórych zróżnicowanych, nie proliferujących komórek (np. limfocytów spoczynkowych, komórek starzejących się) może być także uzależniona od wielkości chromosomów. Badania nad rozlokowaniem terytoriów chromosomowych w fibroblastach człowieka pokazały, że większość dużych chromosomów zlokalizowana jest w części peryferyjnej jądra komórkowego a chromosomy mniejsze umiejscawiają się w jego centrum (tabela 1) [37]. Podobne położenie chromosomów obserwowano w badaniach z wykorzystaniem mysich zróżnicowanych fibroblastów (komórki NIH3T3) i niezróżnicowanych, zarodkowych komórek macierzystych (komórki ES, ang. *Embryonal Stem cells*) [32]. Stwierdzono, że w komórkach zróżnicowanych radialna pozycja każdego chromosomu nie była zależna od gęstości genów ale od jego wielkości. Według autorów badań radialna organizacja chromosomów może ewoluować podczas różnicowania komórki. W komórkach niezróżnicowanych obserwuje się przypadkową organizację terytoriów chromosomowych w przestrzeni jądrowej, a w trakcie różnicowania komórki następują zmiany w ich lokalizacji, aby w dojrzałych, zróżnicowanych komórkach chromosomy małe osiągały swoją pozycję w centralnym obszarze jądra a chromosomy duże w części peryferyjnej [32].

TERYTORIA CHROMOSOMOWE A EKSPRESJA GENÓW

LOKALIZACJA I EKSPRESJA GENÓW AKTYWNYCH W OBREBIE TERYTORIUM CHROMOSOMOWEGO

Przestrzenna organizacja genomu ma znaczenie funkcjonalne, na co wskazuje przede wszystkim fakt, że euchromatynowe regiony bogate w geny są przestrzennie oddzielone od regionów heterochromatynowych ubogich w geny [41]. Taki rozdział dotyczy nie tylko całych chromosomów (np. wspomnianych wyżej chromosomów 18 i 19 człowieka), ale także chromatyny w obrębie jednego chromosomu. Ponadto, przestrzenna organizacja genomu może ulegać zmianom w zależności od profilu ekspresji genów w danej komórce, polegającym na przemieszczaniu się terytoriów chromosomowych w inne rejony jądra komórkowego [19, 35, 44]. Organizacja genomu może być różna w różnych typach komórek i tkanek oraz może zmieniać się np. podczas różnicowania komórki.

Według jednego z pierwszych modeli organizacji terytoriów chromosomowych w jądrze interfazowym (model interchromosomalnej domeny, ICD) terytoria chromosomowe rozdzielone są przestrzenią międzychromosomalną, w której nagromadzone są czynniki transkrypcyjne [6]. Dostęp genów ulegających transkrypcji do tych czynników jest możliwy wtedy, gdy geny takie są rozmieszczono-

ne na powierzchni terytoriów chromosomowych lub gdy fibryle chromatynowe zawierające geny wypętlają się z obszaru terytorium do przestrzeni międzyterytorialnej. Według modelu ICD geny nieaktywne nie ulegające w danym momencie ekspresji są lokowane w głębi przestrzeni zajmowanej przez terytorium chromosomowe a wewnętrzna przestrzeń terytorium chromosomowego nie jest penetrowana przez białkowe czynniki transkrypcyjne, dzięki czemu wolna jest od aktywności transkrypcyjnej [50]. Badania wykazały jednak, że proces transkrypcji może także zachodzić w głębi terytorium chromosomowego w regionach zdekondensowanej chromatyny [51]. Jest to zgodne z innym modelem organizacji jądra interfazowego, modelem interchromatynowego kompartmentu (IC), według którego aktywne geny mogą być obecne nie tylko na powierzchni terytorium chromosomowego ale także w subdomenach chromatynowych danego terytorium oddzielonych od siebie interchromatynowymi kanałami, do których mogą docierać czynniki transkrypcyjne [6]. Oszacowanie liczby genów przypadających na jednostkę objętości terytorium chromosomowego pokazuje, że geny są podobnie rozmieszczone w przestrzeni jądrowej niezależnie od gęstości genów wzdłuż fibryli chromatynowej i jest to zgodne z obserwacją pokazującą jednolite rozmieszczenie miejsc transkrypcyjnych obserwowanych w nukleoplazmie komórek HeLA [7]. Takie rozmieszczenie miejsc transkrypcyjnych potwierdza możliwość zachodzenia transkrypcji genów w głębi terytorium chromosomowego i pokazuje, że ekspresja genów nie zawsze musi być powiązana ze zmianą jego pozycji w jądrze komórkowym [40, 47].

Wiadomo jednak, iż geny aktywne mogą wywędrowywać z obszaru terytorium chromosomowego na dużych pętlach fibryli chromatynowych i mogą być obserwowane w bardzo dużej odległości od terytorium swojego chromosomu. Klasycznym przykładem jest gen zgodności tkankowej, *MHC*, który zlokalizowany jest na krótkim ramieniu chromosomu 6 (6p21). Wypętlanie się fibryli chromatynowej niosącej gen *MHC* było obserwowane w komórkach β -limfoblastoidalnych i w fibroblastach traktowanych interferonem- γ w celu indukcji ekspresji genu [50]. Świadczy to o tym, że ekspresja wielu genów może być regulowana przez czynniki transkrypcyjne, których lokalizacja jest znacznie oddalona od terytoriów danego chromosomu i że jedna grupa czynników transkrypcyjnych może regulować aktywność wielu genów pochodzących z różnych chromosomów. Zmiana lokalizacji genów w obszarze jądra interfazowego może mieć miejsce w tym samym czasie, co ich aktywacja lub dezaktywacja (w przypadku przemieszczania się genów w pobliże rejonów heterochromatynowych) [49], ale obserwowano również zmianę pozycji genów w jądrze dopiero jakiś czas po aktywacji ekspresji lub dużo wcześniej [18]. Przykładem takich genów są geny β -globinowe myszy, które podczas różnicowania komórek erytroidalnych są aktywowane przed ich przemieszczeniem się w bardziej centralne obszary jądra komórkowego, a sama zmiana lokalizacji pozwala zwiększyć poziom ich transkrypcji zapoczątkowanej wcześniej [43]. Wyniki niektórych badań wskazują jednak, że zmiany radialnej pozycji nie zawsze korelują z prze-

mieszczaniem się genów w mniej lub bardziej aktywne transkrypcyjnie środowisko, a większe znaczenie niż radialna pozycja ma dla ekspresji niektórych genów bliskość ciałek jądrowych. Obserwowano, iż zmiana w ekspresji genów jest często powiązana ze zmianami zachodzącymi w jądrowych subkompartymencie, takich jak blaszka jądrowa (lamina), jąderko, heterochromatyna, ciało Cajala i in. [3, 26, 48]. Stwierdzono również, że w przypadku niektórych genów, np. genu *MASH1* kodującego białko mające znaczenie dla rozwoju neuronów, po aktywacji w trakcie różnicowania komórek następuje zmiana jego lokalizacji bardziej w kierunku centrum jądra, przy czym nie jest ona ograniczona tylko do tego genu ulegającego ekspresji, ale zmianie lokalizacji podlegają także sąsiadujące geny, których transkrypcja jest wyciszona [50]. Ponadto niektóre aktywne geny, których przykładem jest gen *BCL2*, mogą zmieniać swoją lokalizację jądrową bez modulowania poziomu transkrypcji [34]. Wydaje się więc, że tylko niektóre geny wymagają zmiany lokalizacji dla aktywacji ekspresji i te geny zmieniając swoje położenie mogą powodować pociągnięcie za sobą również genów sąsiednich, w przypadku których zmiana położenia nie powoduje ich uaktywnienia [34].

WZAJEMNY KONTAKT MIĘDZY TERYTORIAMI RÓŻNYCH CHROMOSOMÓW

Wymienione wyżej modele organizacji chromosomów w jądrze interfazowym nie wyjaśniały wysokiej częstości kompleksowych aberracji chromosomowych oraz tego że chromatyna jest strukturą dynamiczną, która może podlegać przemieszczeniom podobnym do ruchów dyfuzyjnych [5]. Badania z wykorzystaniem metody krio-FISH łączącej metodę FISH z kriokonserwacją badanych komórek pozwoliły na stwierdzenie, że terytoria chromosomowe w pewnym stopniu przenikają się wzajemnie [7] i w tych obszarach wzajemnego przenikania się terytoriów chromosomowych zachodzą procesy transkrypcji. Według modelu interchromosomalnej sieci (ICN) terytoria chromosomowe nie są oddzielone specjalnym kompartmentem ale fibryle chromatynowe jednego chromosomu mogą przeplatać się wzajemnie z fibrylami chromatynowymi innych chromosomów, przy czym stopień przenikania się terytoriów sąsiadujących chromosomów wiąże się z ekspresją genów zlokalizowanych w tych obszarach [6]. Stwierdzono, że w stymulowanych do podziałów komórkowych limfocytach krwi obwodowej ok. 20% przestrzeni jądrowej zawiera fibryle chromatynowe obecne w obszarach wzajemnego przenikania się terytoriów chromosomowych, a ok. 40% objętości każdego chromosomu wchodzi w interakcje z materiałem genetycznym innych chromosomów [7]. Badanie stopnia przenikania się terytoriów chromosomowych wybranych 10 par chromosomów w jądrach limfocytów poddanych działaniu α -amanityny hamującej transkrypcję zależną od polimerazy RNA II pokazało, że zahamowanie transkrypcji spowodowało znacznie

zmniejszenie stopnia przenikania się terytoriów w przypadku jednej pary chromosomów oraz zwiększenie tego przenikania w przypadku trzech par chromosomów. Wang i wsp. [48] również po zastosowaniu α -amanityny podobnie obserwowali zmniejszenie się stopnia przenikania się terytoriów chromosomów 11 i 15 w komórkach fibroblastów NIH3T3. Takie zahamowanie transkrypcji prowadzące do zmiany stopnia przenikania się terytoriów chromosomowych sugeruje, że proces transkrypcji jest konieczny dla powstania dużych obszarów zawierających fibryle chromosomowe dwóch różnych chromosomów [48]. Zmiany wielkości obszarów przenikania się terytoriów chromosomowych wskazują na to, że mają w nich miejsce zależne od transkrypcji interakcje między terytoriami różnych chromosomów, które są na tyle silne, że mogą wpływać na konformację chromosomów.

Porównanie zmian w organizacji chromosomów w niezróżnicowanych komórkach ES i w zróżnicowanych fibroblastach NIH3T3 [32] pokazało, że stopień przenikania się terytoriów chromosomowych jest znacznie większy w przypadku komórek zróżnicowanych, co może być związane ze wspólną regulacją procesu transkrypcji wielu genów. Geny i sekwencje regulatorowe mogą lokalizować się w swoim sąsiedztwie, aby dochodziło do wewnątrz- i międzychromosomowych interakcji, dzięki czemu geny zlokalizowane na chromosomach zarówno homologicznych jak i niehomologicznych mogą wykorzystywać wspólne czynniki transkrypcyjne wymagane dla ekspresji genów. Wzrost stopnia przenikania się terytoriów chromosomowych jest skorelowany z dużą aktywnością transkrypcyjną w zróżnicowanych komórkach NIH3T3 [32], co wskazuje na to, że przenikanie się chromatyny sąsiadujących chromosomów ma podłoże funkcjonalne. Miejsca przenikania się terytoriów chromosomowych są miejscami, gdzie obserwowane jest gromadzenie czynników białkowych (tzw. „fabryka transkrypcyjna”) biorących udział w procesie transkrypcji [7]. W jądrach zróżnicowanych mysich fibroblastów NIH3T3 w rejonach przeplatania się fibryli chromatynowych pary chromosomów 10 i 14 stwierdzono istotny wzrost ilości aktywowanej polimerazy RNA II oraz czynnika transkrypcyjnego SRF (czynnik odpowiedzi na surowicę krwi, białko mające funkcje kontrolowania cyklu komórkowego i różnicowania komórki), którego aktywność skierowana jest w kierunku wielu genów zlokalizowanych w tych dwóch chromosomach [32].

PRZEMIESZCZANIE SIĘ TERYTORIÓW CHROMOSOMOWYCH W RÓŻNYCH STANACH FUNKCJONALNYCH KOMÓRKI

Chromosomy w jądrze zajmują preferencyjną radialną pozycję w jądrze komórkowym, przy czym lokalizacja danego chromosomu nie jest rygorystycznie utrzymywana we wszystkich komórkach danej populacji. Ponadto położenie

terytorium chromosomowego jak i genów może być charakteryzowane nie tylko względem centralnej i peryferyjnej części jądra, ale także względem innych chromosomów czy genów. W różnych stanach funkcjonalnych komórki, w których ma miejsce aktywacja funkcji genów lub jej wyłączenie zmieniają się także odległości między poszczególnymi genami i terytoriami chromosomowymi. Takie zmiany lokalizacji terytoriów chromosomowych obserwuje się na przykład w momencie zmiany statusu proliferacyjnego komórki [3]. Swoje położenie mogą zmieniać wybrane chromosomy, podczas gdy inne pozostają tam gdzie były wcześniej. Badania z wykorzystaniem limfocytów człowieka indukowanych do podziałów komórkowych za pomocą phytohemaglutyniny (PHA) wykazały istotne różnice w przestrzennej organizacji terytoriów chromosomowych między komórkami będącymi na różnych etapach cyklu komórkowego [24]. W limfocytach spoczynkowych większość terytoriów chromosomowych zajmowało w jądrach nieprzypadkową radialną pozycję niezależnie od tego czy preparaty analizowane pochodziły z materiału komórkowego osób płci żeńskiej czy męskiej. Chromosomy z taką lokalizacją stanowiły, odpowiednio, 91,30% i 91,67% wszystkich analizowanych terytoriów chromosomowych. Stymulacja limfocytów do podziałów komórkowych spowodowała, że w jądrach obserwowano bardziej przypadkowe rozmieszczenie chromosomów, a nieprzypadkowa lokalizacja dotyczyła mniejszej liczby analizowanych terytoriów chromosomowych, odpowiednio, 69,56% i 58,33%. Stwierdzono, że odległość między terytoriami chromosomów homologicznych w aktywowanych limfocytach zwiększyła się w porównaniu do limfocytów nie aktywowanych w 74% analizowanych przypadków (17 homologów), a tylko w przypadku 6 odległość była mniejsza. Wyniki dotyczące analizowanych par chromosomów niehomologicznych pokazały, że w 58% przypadków odległość między terytoriami chromosomowymi była mniejsza, a w 42% przypadków większa w komórkach poddanych działaniu PHA w porównaniu z komórkami spoczynkowymi [24]. Największy wzrost odległości zauważono w przypadku par terytoriów chromosomowych 17-22, 8-7 i X-Y. Obserwowane różnice w odległościach między terytoriami chromosomowymi jąder limfocytów spoczynkowych i aktywowanych za pomocą PHA wiązano ze wzrostem objętości jądra i zmianą kondensacji chromatyny w proliferujących komórkach, co mogło być spowodowane zmianą profilu transkrypcyjnego. Rezultatem aktywacji transkrypcyjnej następującej w wyniku stymulacji komórek do podziałów mitotycznych jest zmiana sąsiedztwa chromatyny zarówno w obrębie jednego chromosomu jak chromatyny różnych chromosomów. Według autorów badań zwiększenie odległości między terytoriami chromosomowymi w jądrach komórkowych limfocytów poddanych działaniu PHA może być również mechanizmem obronnym przed powstawaniem strukturalnych aberracji (np. translokacji) powstających w wyniku wzrostu liczby uszkodzeń DNA, który ma miejsce w wyniku działania mitogenu [24].

LOKALIZACJA TERYTORIÓW CHROMOSOMOWYCH A USZKODZENIA DNA I ABERRACJE CHROMOSOMOWE

Bliska lokalizacja terytoriów chromosomalnych i ich przenikanie się sprzyja powstawaniu aberracji chromosomowych [13]. Aberracje są wynikiem nie naprawionych prawidłowo i w krótkim czasie od ich wystąpienia złamań podwójnej nici DNA czego konsekwencją może być błędne połączenie ze sobą złamanych końców pochodzących z dwóch różnych chromosomów. Chromosomalna rekombinacja jest ważnym genetycznym mechanizmem obserwowanym w wielu procesach patologicznych zachodzących w komórkach, w tym transformacji nowotworowej [13, 38, 53]. Miejsca złamań chromosomów mogą być zlokalizowane w obrębie ważnych dla prawidłowego funkcjonowania komórki genów, prowadzić do zmiany poziomu ich ekspresji, mogą także spowodować powstanie tzw. genów fuzyjnych [30, 53]. Geny fuzyjne, które są aktywowane w wyniku rekombinacji i powodują transformację nowotworową komórki mogą powstawać albo na skutek wewnątrzchromosomalnej inwersji albo na skutek translokacji, w wyniku której dochodzi do wymiany materiału genetycznego między dwoma lub większą liczbą chromosomów. Okazuje się, że rekombinacja między chromosomami, które zlokalizowane są blisko siebie w przestrzeni jądrowej zachodzi znacznie częściej niż między chromosomami, których terytoria oddalone są od siebie [28]. Przy powstawaniu aberracji duże znaczenie ma stopień przenikania się terytoriów różnych chromosomów. Według modelu interchromosomalnej sieci (ICN) złamania podwójnej nici DNA, które mają miejsce w obszarach przeplatania się nici chromatynowych dwóch różnych chromosomów mogą z dużym prawdopodobieństwem prowadzić do międzychromosomalnych rearanżacji materiału genetycznego, takich jak np. translokacje wzajemne, podczas gdy złamania nici DNA zachodzące w bardziej centralnej części terytorium chromosomalnego będą prowadziły raczej do rearanżacji wewnątrzchromosomalnych. Wyniki badań wskazują, że bliskość terytoriów chromosomalnych związana jest z większą częstością translokacji chromosomowych w porównaniu z chromosomami, które są od siebie oddalone w przestrzeni jądrowej [28, 45].

Kunwar i wsp. [28] analizowali względne pozycje par genów *BCR-ABL*, *PML-RARA*, *AML-ETO* biorących udział w translokacjach obserwowanych u pacjentów chorych na białaczkę: odpowiednio, między chromosomami 9 i 22 $t(9;22)$, 15 i 17 $t(15;17)$ oraz 8 i 21 $t(8;21)$. Geny biorące udział w translokacjach były zlokalizowane w bliskiej odległości w przestrzeni jądrowej w 88,7% komórek w przypadku pary genów *BCR-ABL*, w 91,3% komórek w przypadku genów *PML-RARA* oraz w 76,5% komórek w przypadku pary genów *AML-ETO*. Analiza radialnej lokalizacji badanych par genów wykazała także, że ich położenie względem centrum czy peryferium jądra jest raczej przypadkowe – nie przyjmują one preferencyjnej radialnej pozycji. Z drugiej strony, Sathitruangsak i wsp. [45]

analizując położenie chromosomów w prawidłowych limfocytach, w komórkach osób z gammapatią monoklonalną o niezidentyfikowanym znaczeniu (MGUS), która może przekształcać się w szpiczaka mnogiego, oraz w komórkach osób chorych na szpiczaka mnogiego pokazali, że wszystkie analizowane pary terytoriów chromosomowych (18-19, 9-22, 4-14, 14-16, 11-14) były rozmieszczone w jądrach interfazowych w sposób nieprzypadkowy. W komórkach szpiczaka częstymi translokacjami są translokacje między chromosomami 11 i 14, 4 i 14 oraz 14 i 16. Terytoria tych par chromosomów były zlokalizowane w obszarze jądra blisko siebie i zawierały obszary, w których fibryle chromatynowe przeplatały się wzajemnie. Największą odległość między terytoriami chromosomowymi obserwowano dla pary chromosomów 18 i 19 (między którymi rzadko dochodzi do rekombinacji), co było zgodne z wcześniejszymi ustaleniami, że chromosomy te nie sąsiadują ze sobą w przestrzeni jądrowej [10]. Sathitruangsak i wsp. [45] stwierdzili, że stopień przenikania się terytoriów chromosomowych był najmniejszy w przypadku pary chromosomów 18 i 19 i znacznie większy w przypadku pozostałych par chromosomów, których aberracje obserwuje się w komórkach nowotworowych. Wyniki badań dostarczyły dowodów na to, że odległości między terytoriami chromosomów są skorelowane ze stopniem ich przenikania się wzajemnego i zachodzącymi między nimi interakcjami [45].

Ze względu na to, że organizacja jądra jest jednak stochastyczna to chromosomy nie zawsze zajmują ich preferowane miejsce w obszarze jądra. Mimo, że chromosomy 18 i 19 człowieka są oddalone od siebie w przestrzeni jądrowej, to jednak czasami obserwuje się translokacje między tymi chromosomami [22]. Przykładem częściej obserwowanej translokacji między chromosomami człowieka oddalonymi od siebie jest translokacja między chromosomem 11 a 22, $t(11;22)(q23;q11)$. Chromosom 22 jest chromosomem zlokalizowanym najbardziej centralnie w jądrze komórek człowieka, podczas gdy chromosom 11 lokalizowany jest w części peryferyjnej jądra [37]. Po translokacji pochodny chromosom 11 przesunięty był w kierunku centralnej części jądra, co spowodowane było obecnością materiału genetycznego pochodzącego z chromosomu 22. Podobnie pochodny chromosom 22 oddalił się nieco od centrum jądra komórkowego. Zmieniona lokalizacja jądrowa pochodnych chromosomów połączona była z rozległą deregulacją ekspresji genów, która dotyczyła nie tylko tych genów, w których były punkty złamań, ale także pozostałych genów na tych chromosomach. Co więcej, po zajściu takiej translokacji i zmianie lokalizacji chromosomów pochodnych obserwowano również zmianę ekspresji genów obecnych na innych chromosomach, co połączone było również ze zmianą lokalizacji tych chromosomów w przestrzeni jądrowej, np. chromosomu 17, który mimo posiadania dużej liczby genów aktywnych skierowany został w rejony bardziej peryferyjne [2, 20, 21, 33]. Znaczenie zmiany lokalizacji chromosomów 11 i 22 po translokacji nie jest jeszcze dobrze poznane, ponieważ nosiciele takiej translokacji wykazują prawidłowy fenotyp, możli-

we jest jednak, że nosicielstwo tej translokacji zwiększa ryzyko zachorowania na choroby nowotworowe [2].

Aberracje chromosomowe powstają w wyniku pojawienia się w tym samym czasie i przestrzeni podwójnych pęknięć DNA, które mogą być spowodowane działaniem czynników genotoksycznych [12]. Powstanie uszkodzeń DNA prowadzi zwykle do dekondensacji chromatyny wokół miejsc z uszkodzeniami, co pozwala na uruchomienie i dostęp do nich maszynerii naprawczej i zmniejsza ryzyko błędnej naprawy przez rekombinację homologiczną [8]. Dekondensacja chromatyny może być związana ze zmianą położenia w jądrze całego chromosomu lub tej jego części, w której pojawiły się uszkodzenia DNA.

Glukhov i wsp. [16] obserwowali wywędrowywanie z obszaru terytorium chromosomu 11 człowieka fibryli chromatynowych ze złamanym fragmentem genu *MLL*. Gen ten ulega częstym pęknięciom, co prowadzi do złamań i translokacji. Tego typu aberracje, w które zaangażowany jest gen *MLL* obserwuje się często we wtórnych białaczkach u chorych leczonych wcześniej lekami alkilującymi, inhibitorami topoizomerazy II lub poddanych radioterapii. Fragmenty genu, które powstają w wyniku dwuniciowego pęknięcia DNA mogą ulegać fuzji z różnymi innymi genami. Autorzy badań poddawali komórki limfoidalne (komórki Jurkat) działaniu etopozydu, który jest inhibitorem topoizomerazy II, enzymu niezbędnego w procesie replikacji DNA i jego naprawy. W cyklu katalitycznym topoizomerazy II dochodzi do generowania podwójnego pęknięcia DNA a zastosowanie inhibitorów działania tego enzymu prowadzi do sytuacji, w której enzym nie jest w stanie przeprowadzić procesu religacji w celu odtworzenia ciągłości nici DNA [17]. Zastosowanie etopozydu działa więc genotoksycznie i prowadzi do powstania pęknięć DNA w obrębie genu *MLL*, które nie są od razu naprawiane i stają się partnerem do translokacji. Większość wszystkich rearanżacji chromosomowych z udziałem genu *MLL* inicjowanych jest w obrębie odcinka o długości 8.3 kZ, który jest regionem zawierającym preferencyjne miejsce cięcia dla topoizomerazy II. Wyniki Glukhova i wsp. [16] analizujących położenie uszkodzonego genu *MLL*, pokazały że jego złamana część 3' po zastosowaniu inhibitora topoizomerazy II była często lokalizowana poza chromosomem 11 i także w dalekiej odległości od końca 5' genu, który zwykle pozostawał w obrębie terytorium chromosomowego. W hodowlach kontrolnych, w których komórki nie były traktowane inhibitorem topoizomerazy II geny *MLL* pozostawały na ogół w obszarze terytorium chromosomowego, wywędrowywanie tego allelu poza jego obszar obserwowano jedynie w ok. 0,5% analizowanych przypadków. Bezpośrednio po ekspozycji komórek na etopozyd obserwowano niewielki, ale istotny statystycznie wzrost częstości wywędrowywania tego allelu poza terytorium chromosomu 11 (ok. 1% przypadków badanych), natomiast w przypadku komórek potraktowanych czynnikiem genotoksycznym i hodowanych dodatkowo przez 1 godzinę w warunkach kontrolnych częstość sygnałów fluorescencyjnych poza terytorium chromosomowym była jeszcze wyższa i wyno-

siła 9%. Glukhov i wsp. [16] badali również zachowanie innych genów zlokalizowanych na chromosomie 11, np. genu kodującego cyklinę D1 (*CCND1*), który jest konstytutywnie transkrybowany w komórkach i nie jest partnerem dla translokacji indukowanych przez etopozyd. Stwierdzono że 1,7% alleli było zlokalizowane poza terytorium chromosomowym w jądrach kontrolnych komórek limfoidalnych i gen ten nie zmieniał swojej pozycji ani bezpośrednio po działaniu etopozydu, ani po 1-godzinnej postinkubacji, co pokazuje, że w gen *MLL* posiada miejsca złamań, które są preferencyjnymi miejscami cięcia dla topoizomerazy II w warunkach, gdy komórki traktowane są inhibitorami tego enzymu. Wydaje się więc, że strukturalna organizacja genu *MLL* (obecność preferencyjnego miejsca cięcia czy interakcji dla topoizomerazy II) i jego przestrzenne umiejscowienie w obrębie terytorium chromosomu 11, pozwalające na przemieszczenie się poza jego obszar przyczynia się do częstego zaangażowania tego genu w translokacje związane z narażeniem komórek na działanie inhibitorów topoizomerazy II. Autorzy badań sugerują ponadto, że zwiększona mobilność złamanych końców genu nie jest bezpośrednią konsekwencją uszkodzenia DNA, ale związana jest raczej z organizowaniem się kompleksów białkowych biorących udział w naprawie DNA [16].

Badanie topologii chromosomów człowieka w jądrach limfocytów uzyskanych z krwi obwodowej 6 zdrowych dawców przez Ioannou i wsp. [23] pokazało, że uszkodzenia DNA indukowane przez czynniki genotoksyczne prowadzą do zmiany lokalizacji nie tylko genów ale także całych chromosomów w jądrze badanych komórek. W limfocytach kontrolnych hodowanych *in vitro* przez 72 h obserwowano powtarzalny wzór organizacji chromosomów w limfocytach wszystkich badanych osób. Radialne nieprzypadkowe położenie obserwowano w przypadku chromosomów 1, 8, 10, 12, 14 – 17, 19-22, podczas gdy chromosomy 5, 7, 11, 13 i chromosom Y były rozmieszczone w jądrach w sposób przypadkowy. Dla pozostałych siedmiu chromosomów (2-4, 6, 9, 18, X) obserwowano międzyosobnicze różnicowanie co do nieprzypadkowej lub losowej ich lokalizacji w jądrze [23]. Powtarzalność położenia chromosomów w jądrach komórek pochodzących od różnych dawców sugeruje, że badanie organizacji terytoriów chromosomalnych, przynajmniej dla niektórych chromosomów może stać się elementem baterii testów na genotoksyczność, co pozwoliłoby oceniać stan jądra komórkowego i monitorować poziom uszkodzeń DNA i aktywność systemów naprawy DNA [23]. Autorzy badań poddali limfocyty działaniu czynników genotoksycznych, takich jak nadtlenek wodoru (H_2O_2) oraz promieniowanie UVB, co spowodowało indukcję aberracji chromosomowych, głównie typu złamań chromatydowych i chromosomowych, przy czym większą liczbę aberracji chromosomowych obserwowano po działaniu H_2O_2 , natomiast większe różnicowanie jeśli chodzi o rodzaje aberracji widoczne było po działaniu promieniowania. Analiza lokalizacji terytoriów chromosomowych po zadziałaniu czynników mutagennych pokazała również powtarzalną w limfocytach wszystkich dawców zmianę pozycji terytoriów niektórych chromosomów. Staty-

stycznie istotne zmiany lokalizacji terytoriów chromosomowych obserwowano w przypadku chromosomów 4, 8, 10, 12, 17, 19 i X zarówno po działaniu H_2O_2 jak i promieniowania UVB, podczas gdy chromosomy 6, 7, i 14 zmieniały swoje położenie tylko po działaniu H_2O_2 , a chromosomy 15 i 22 po działaniu promieniowania. Badania wykazały również, iż niektóre chromosomy są bardziej wrażliwe i częściej ulegają przemieszczeniom w jądrze komórkowym niż inne chromosomy, np. chromosomy 6, 8 i 10 w przypadku poddania limfocytów działaniu H_2O_2 [23]. Podobne analizy przeprowadzono z wykorzystaniem fibroblastów, które poddawano działaniu cisplatyny oraz H_2O_2 [37]. Stwierdzono, że po działaniu czynników uszkadzających DNA kilka chromosomów zmieniło swoje położenie w większości analizowanych jąder komórkowych: chromosomy 17, 19 i 20 przemieściły się z centralnych obszarów jądra na ich peryferia a chromosomy 12 i 15 w kierunku środkowej części jądra. W badaniach immunochemicznych połączonych z FISH wykazano również, że w obszarach terytoriów chromosomów, które zawierają dużą liczbę genów aktywnych, które uległy przemieszczeniom po zaindukowaniu uszkodzeń DNA następuje wzrost liczby sygnałów wskazujących na obecność fosforylowanego histonu H2AX [37], będącego markerem dwuniciowych uszkodzeń DNA [25, 37]. Stwierdzono również, że położenie chromosomów, które przemieściły się w jądrach fibroblastów po działaniu czynników genotoksycznych powraca do stanu takiego jaki jest obserwowany w komórkach kontrolnych po zakończeniu procesu naprawy DNA, przy czym uwarunkowane jest to przejściem komórek przez podział mitotyczny [37]. Wyniki te sugerują, że relokalizacja chromosomów po uszkodzeniu DNA może być jednym z ważnych elementów szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA (DDR) i jest konieczna dla naprawy uszkodzeń przez systemy naprawy DNA a topologia chromosomów jest istotna dla integralności genomu.

PODSUMOWANIE

Badanie radialnej organizacji chromosomów w jądrze komórkowym może być wykorzystane jako znaczące badanie i ważne narzędzie w diagnostyce klinicznej. Powtarzalne różnice w przestrzennym rozlokowaniu terytoriów chromosomowych i genów w jądrze komórkowym obserwowane w komórkach nowotworowych w porównaniu z komórkami prawidłowymi mogą stać się podstawą do opracowania testów diagnostycznych i prognostycznych. Wyniki badań wskazują, że niektóre geny i chromosomy zlokalizowane są w innych miejscach jąder komórek nowotworowych w porównaniu z komórkami prawidłowymi [31, 52]. Leshner i wsp. [31] zidentyfikowali trzy geny (*FLII*, *MMP9*, *MMP2*), których lokalizacja w jądrze komórek raka prostaty jest zmieniona w porównaniu z lokalizacją obserwowaną w komórkach prawidłowych. W jądrach interfazowych komórek raka piersi zaobserwowano dodatkowo zmianę lokalizacji 8 innych genów (*AKT1*, *CSF1R*, *ERBB2*, *FOL2*, *HES5*,

HSP90AA1, *MYC*, *TGFB3*) w porównaniu z komórkami prawidłowymi [35]. Okazuje się że dwa z wymienionych wyżej genów (*FLII* i *MMP9*) mają zmienioną pozycję w jądrach zarówno komórek raka prostaty jak i raka piersi. Zmiana ta jest specyficzna dla komórek nowotworowych, co sugeruje, że lokalizacja tych dwóch genów może stać się potencjalnym biomarkerem w diagnostyce chorób nowotworowych.

LITERATURA

- [1] ANTONIN W, NEUMANN H. Chromosome condensation and decondensation during mitosis. *Curr Opin Cell Biol* 2016; **40**: 15-22.
- [2] BICKMORE WA. The spatial organization of the human genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2013; **14**: 67-84.
- [3] BOURNE G, MOIR C, BIKKUL U, AHMED MH, KILL IR, ESKIW CH, TOSI S, BRIDGER JM. Interphase chromosome behavior in normal and diseased cells. In Yurow YB, Vorsanova SG and Iourov IY eds. *Human Interphase Chromosomes*, Springer International Publishing, 2013; 9-33.
- [4] BOYLE S, GILCHRIST S, BRIDGER JM, MAHY NL, ELLIS JA, BICKMORE WA. The spatial organization of human chromosomes within the nuclei of normal and emerin-mutant cells. *Hum Mol Genet* 2001; **10**: 211-219.
- [5] BRANCO MR, BRANCO T, RAMIREZ F, POMBO A. Changes in chromosome organization during PHA-activation of resting human lymphocytes measured by cryo-FISH. *Chromosome Res* 2018; **16**: 413-426.
- [6] BRANCO MR, POMBO A. Chromosome organization: new facts, new models. *Trends Cell Biol* 2007; **17**: 127-134.
- [7] BRANCO MR, POMBO A. Intermingling of chromosome territories in interphase suggests role in translocations and transcription-dependent associations. *PLoS Biol* 2006; **4**: e138.
- [8] CAVALLI G, MISTELI T. Functional implications of genome topology. *Nat Struct Mol Biol* 2013; **20**: 290-299.
- [9] CREMER T, CREMER C, LICHTER P. Recollections of a scientific journey published in human genetics: from chromosome territories to interphase cytogenetics and comparative genome hybridization. *Hum Genet* 2014; **133**: 403-416.
- [10] CROFT JA, BRIDGER JM, BOYLE S, PERRY P, TEAGUE P, BICKMORE WA. Differences in the localization and morphology of chromosomes in the human nucleus. *J Cell Biol* 1999; **145**: 1119-1131.
- [11] DABAN JR. Stacked thin layers of metaphase chromatin explain the geometry of chromosome rearrangements and banding. *Sci Rep* 2015; **5**: 14891.
- [12] DURANTE M, BEDFORD JS, CHEN DJ, CONRAD S, CORNFORTH MN, NATARAJAN AT, VAN GENT DC, OBE G. From DNA damage to chromosome aberrations: Joining the break. *Mutat Res* 2013; **756**: 5-13.
- [13] FOSTER HA, ESTRADA-GIRONA G, THEMIS M, GARIMBERTI E, HILL MA, BRIDGER JM, ANDERSON RM. Relative proximity of chromosome territories influences chromosome exchange partners in radiation-induced chromosome rearrangements in primary human bronchial epithelial cells. *Mutat Res* 2013; **756**: 66-77.
- [14] FRITZ AJ, STOJKOVIC B, DING H, XU J, BHATTACHARYA S, BEREZNEY R. Cell type specific alterations in interchromosomal networks across the cell cycle. *PLOS Computat Biol* 2014; **10**: e1003857.
- [15] GANAI N, SENGUPTA S, MENON GI. Chromosome positioning from activity-based segregation. *Nucleic Acids Res* 2014; **42**: 4145-4159.
- [16] GLUKHOV SI, RUBTSOV MA, ALEXEYEVSKIY DA, ALEXEEVSKI AV, RAZIN SV, IAROVAIA OV. The broken MLL gene is frequently located outside the inherent chromosome territory in human lymphoid cells treated with DNA topoisomerase II poison etoposide. *PLoS One* 2013; **8**: e75871.
- [17] GOFTAR MK, RAYENI NA, RASOULI S. Topoisomerase inhibitors and types of them. *Int J Adv Biol Biomed Res* 2014; **2**: 2431-2436.

- [18] GRAND RS, PICHUGINA T, GEHLEN LR, JONES MB, TSAI P, ALLISON JR, MARTIENSSSEN R, O'SULLIVAN JM. Chromosome conformation maps in fission yeast reveal cell cycle dependent sub nuclear structure. *Nucleic Acids Res* 2014; **42**: 12588-12599.
- [19] HAKIM O, SUNG MH, NAKAYAMADA S, VOSS TC, BAEK S, HAGER GL. Spatial congregation of STAT binding directs selective nuclear architecture during T-cell functional differentiation. *Genome Res* 2013; **23**: 462-472.
- [20] HAREWOOD L, FRASER P. The impact of chromosomal rearrangements on regulation of gene expression. *Hum Mol Genet* 2014; **23**: R76-82.
- [21] HAREWOOD L, SCHÜTZ F, BOYLE S, PERRY P, DELORENZI M, BICKMORE WA, REYMOND A. The effect of translocation-induced nuclear reorganization on gene expression. *Genome Res* 2010; **20**: 554-564.
- [22] HUSSEIN IR, MAGBOOLI A, HUWAIT E, CHAUDHARY A, BADER R, GARI M, ASHGAN F, ALQUAITI M, ABUZENADAH A, ALQAHTANI M. Genome wide array-CGH and qPCR analysis for the identification of genome defects in Williams' syndrome patients in Saudi Arabia. *Mol Cytogenet* 2016; **9**: 65.
- [23] IOANNOU D, KANDUKURI L, QUADRI A, BECERRA V, SIMPSON JL, TEMPEST HG. Spatial positioning of all 24 chromosomes in the lymphocytes of six subjects: evidence of reproducible positioning and spatial repositioning following DNA damage with hydrogen peroxide and ultraviolet B. *PLoS One* 2015; **10**: e0118886.
- [24] IOANNOU D, KANDUKURI L, SIMPSON JL, TEMPEST HG. Chromosome territory repositioning induced by PHA-activation of lymphocytes: A 2D and 3D appraisal. *Mol Cytogenet* 2015; **8**: 47.
- [25] JEZKOVA L, FALK M, FALKOVA I, DAVIDKOVA M, BACIKOVA A, STEFANCIKOVA L, VACHELOVA J, MICHAELIDESOVA A, LUKASOVA E, BOREYKO A, KRASAVIN E, KOZUBEK S. Function of chromatin structure and dynamics in DNA damage, repair and misrepair: gamma-rays and protons in action. *Appl Radiat Isot* 2014; **83(Pt B)**: 128-136.
- [26] KIND J, PAGIE L, DE VRIES SS, NAHIDIAZAR L, DEY SS, BIENKO M, ZHAN Y, LAJOIE B., DE GRAAF CA, AMENDOLA M, FUDENBERG G, IMAKAEV M, MIRNY LA, JALINK K, DEKKER J, VAN OUDENAARDEN A, VAN STEENSEL B. Genome-wide maps of nuclear lamina interactions in single human cells. *Cell* 2015; **163**: 134-147.
- [27] KULASHRESHTHA M, MEHTA IS, KUMAR P, RAO BJ. Chromosome territory relocation during DNA repair requires nuclear myosin 1 recruitment to chromatin mediated by γ -H2AX signaling. *Nucleic Acid Res* 2016; **44**: 8272-8291.
- [28] KUNWAR F, TANDEL K, BAKSHI SR. Recurrent chromosomal translocations: is proximity a rule? *Ind J Exp Biol* 2017; **55**: 15-20.
- [29] KUPRIYANOVA NS, NETCHVOLODOV KK, SADOVA AA, CHEREPANOVA MD, RYSKOV AP. Non-canonical ribosomal DNA segments in the human genome, and nucleoli functioning. *Gene* 2015; **572**: 237-242.
- [30] LEE Y, PARK S, LEE, S-H, LEE H. Characterization of genetic aberrations in a single case of metastatic thymic adenocarcinoma. *BMC Cancer* 2017; **17**: 330.
- [31] LESHNER M, DEVINE M, ROLOFF GW, TRUE LD, MISTELI T, MEABURN KJ. Locus-specific gene repositioning in prostate cancer. *Mol Biol Cell* 2016; **27**: 236-246.
- [32] MAHARANA S, IYER KV, JAIN N, NAGARAJAN M, WANG Y, SHIVASHANKAR GV. Chromosome intermingling-the physical basis of chromosome organization in differentiated cells. *Nucleic Acids Res* 2016; **44**: 5148-5160.
- [33] MARTIN LD, HARIZANOVA J, MAI S, BELCH AR, PILARSKI LM. FGFR3 preferentially colocalizes with IGH in the interphase nucleus of multiple myeloma patient B-cells when FGFR3 is located outside of CT4. *Genes Chromosomes Cancer* 2016; **55**: 962-974.
- [34] MEABURN KJ. Spatial genome organization and its emerging role as a potential diagnosis tool. *Front Genet* 2016; **7**: 134.
- [35] MEABURN KJ, AGUNLOYE O, DEVINE M, LESHNER M, ROLOFF GW, TRUE LD, MISTELI T. Tissue-of-origin-specific gene repositioning in breast and prostate cancer. *Histochem Cell Biol* 2016; **145**: 433-446.
- [36] MEHTA I, CHAKRABORTY S, RAO BJ. IMACULAT – an open access package for the quantitative analysis of chromosome localization in the nucleus. *PLoS One* 2013; **8**: e61386.
- [37] MEHTA IS, KULASHRESHTHA M, CHAKRABORTY S, KOLTHUR-SEETHARAM U, RAO BJ. Chromosome territories reposition during DNA damage-repair response. *Genome Biol* 2013; **14**: R135.

- [38] MITELMAN F. A short history of chromosome rearrangements and gene fusions in cancer. In JD Rowley, MM Le Beau and TH Rabbitts eds *Chromosomal Translocations and Genome Rearrangements in Cancer*. Springer International Publishing, 2015; 3-11.
- [39] OZER G, LUQUE A, SCHLICK T. The chromatin fiber: multiscale problems and approaches. *Curr Opin Struct Biol* 2015; **31**: 124-139.
- [40] PAZ N, FELIPE-BLANCO I, ROYO F, ZABALA A, GUERRA-MERINO I, GARCÍA-ORAD Á, ZUGAZA JL, PARADA LA. Expression of the DYRK1A gene correlates with its 3D positioning in the interphase nucleus of Down syndrome cells. *Chromosome Res* 2015; **23**: 285-298.
- [41] PICHUGINA T, SUGAWARA T, KAYKOV A, SCHIERDING W, MASUDA K, UEWAKI J, GRAND RS, ALLISON JR, MARTIENSSEN RA, NURSE P, UENO M, O'SULLIVAN JM. A diffusion model for the coordination of DNA replication in *Schizosaccharomyces pombe*. *Sci Rep* 2016; **6**: 18757.
- [42] POMBO A, DILLON N. Three-dimensional genome architecture: players and mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015; **16**: 245-257.
- [43] RAGOCZY T, BENDER MA, TELLING A, BYRON R, GROUDINE M. The locus control region is required for association of the murine beta-globin locus with engaged transcription factories during erythroid maturation. *Genes Dev* 2016; **20**: 1447-1457.
- [44] RAO SS, HUNTLEY MH, DURAND NC, STAMENOVA EK, BOCHKOV ID, ROBINSON JT, SANBORN AL, MACHOL I, OMER AD, LANDER ES, AIDEN EL. A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping. *Cell* 2014; **159**: 1665-1680.
- [45] SATHITRUANGSAK C, RIGHOLT CH, KLEWES L, TUNG CHANG D, KOTB R, MAI S. Distinct and shared three-dimensional chromosome organization patterns in lymphocytes, monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma. *Int J Cancer* 2017; **140**: 400-410.
- [46] SEHGAL N, FRITZ AJ, MORRIS K, TORRES I, CHEN Z, XU J, BEREZNEY R. Gene density and chromosome territory shape. *Chromosoma* 2014; **123**: 499-513.
- [47] SHACHAR S, VOSS TC, PEGORARO G, SCIASCIA N, MISTELI T. Identification of Gene Positioning Factors Using High-Throughput Imaging Mapping. *Cell* 2015; **162**: 911-923.
- [48] WANG Y, NAGARAJAN M, UHLER C, SHIVASHANKAR GV. Orientation and repositioning of chromosomes correlate with cell geometry-dependent gene expression. *Mol Biol Cell* 2017; **28**: 1997-2009.
- [49] WIJCHERS PJ, GEEVEN G, EYRES M, BERGSMAN AJ, JANSSEN M, VERSTEGEN M, ZHU Y, SCHELL Y, VERMEULEN C, DE WIT E, DE LAAT W. Characterization and dynamics of pericentromere-associated domains in mice. *Genome Res* 2015; **25**: 958-969.
- [50] WILLIAMS RR. Transcription and the territory: the ins and outs of gene positioning. *Trends Genet* 2003; **19**: 298-302.
- [51] VERSCHURE PJ, VAN DER KRAAN I, ENSERINK JM, MONÉ MJ, MANDERS EM, VAN DRIEL R. Large-scale chromatin organization and the localization of proteins involved in gene expression in human cells. *J Histochem Cytochem* 2002; **50**: 1303-1312.
- [52] ZEITZ MJ, AY F, HEIDMANN JD, LERNER PL, NOBLE WS, STEELMAN BN, HOFFMAN AR. Genomic interaction profiles in breast cancer reveal altered chromatin architecture. *PLoS One* 2013; **8**: e73974.
- [53] ZHENG J. Oncogenic chromosomal translocations and human cancer. *Oncol Rep* 2013; **30**: 2011-2019.
- [54] ZIDOVSKA A, WEITZ DA, MITCHISON TJ. Micron-scale coherence in interphase chromatin dynamics. *Proc Natl Acad Sci* 2013; **110**: 15555-15560.

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano: 28.08.2017

Przyjęto: 20.09.2017

Alina Błaszczyk:

ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

tel.: 42 635 44 26

fax: 42 535 44 23

e-mail: alina.blaszczyk@biol.uni.lodz.pl

