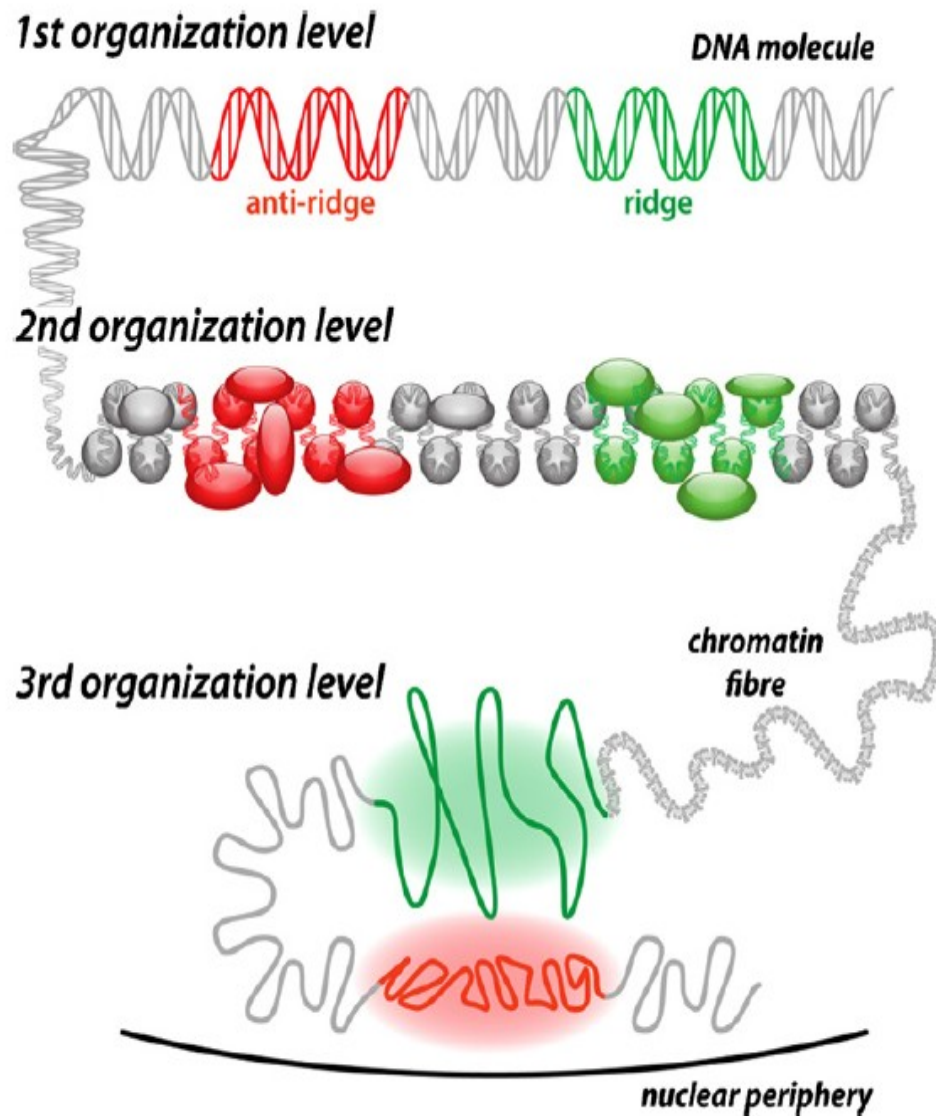


Фрактальные свойства распределения хроматина и точек репликации ДНК в клетках высших организмов

Петербургский Институт Ядерной Физики НИЦ КИ

Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет

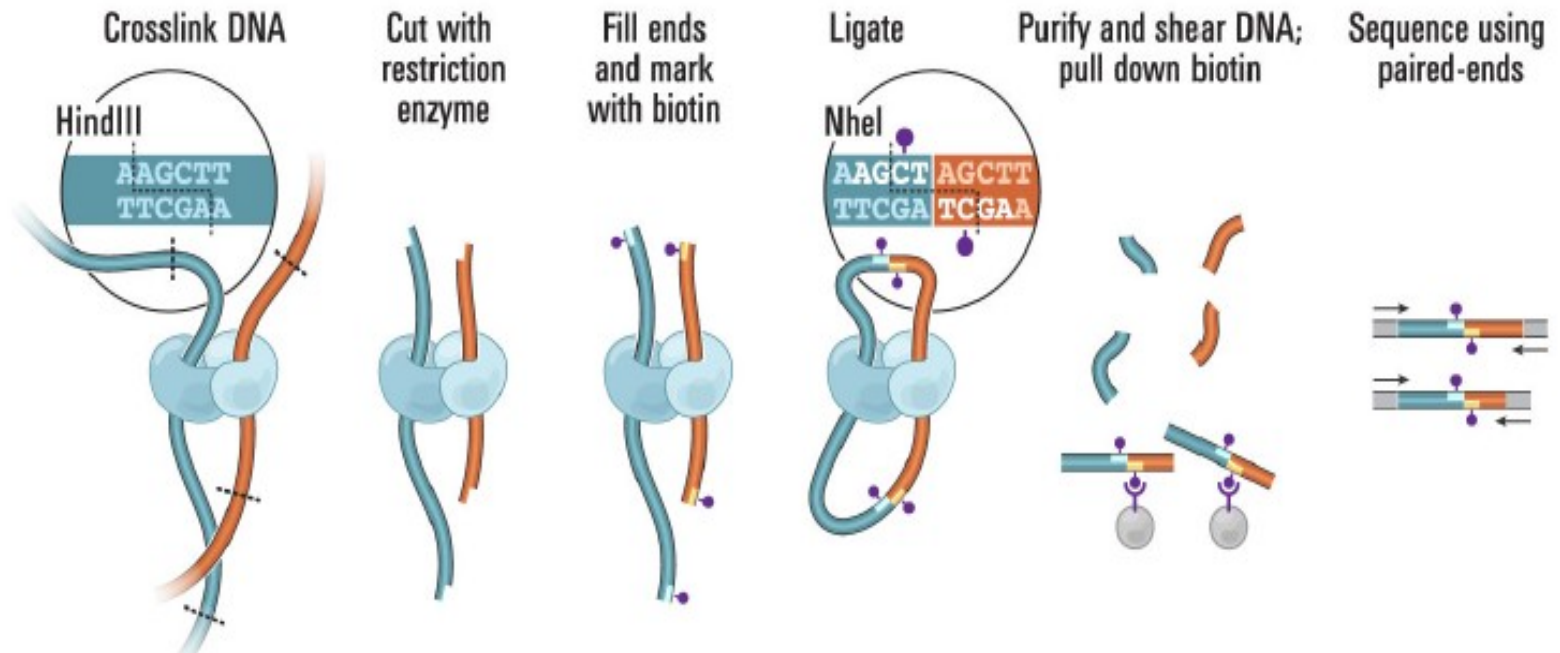
Санкт-Петербург, 2014



- Нуклеосомная структура определена рентгеноструктурно
- 30 нм фибриллы описаны *in vitro*, но не обнаружены *in vivo*
- 3D организация хроматина, изучаются топологические параметры, фрактальная модель

Данные, указывающие на фрактальную модель:

1) метод определения хромосомных взаимодействий Hi-C, 3C

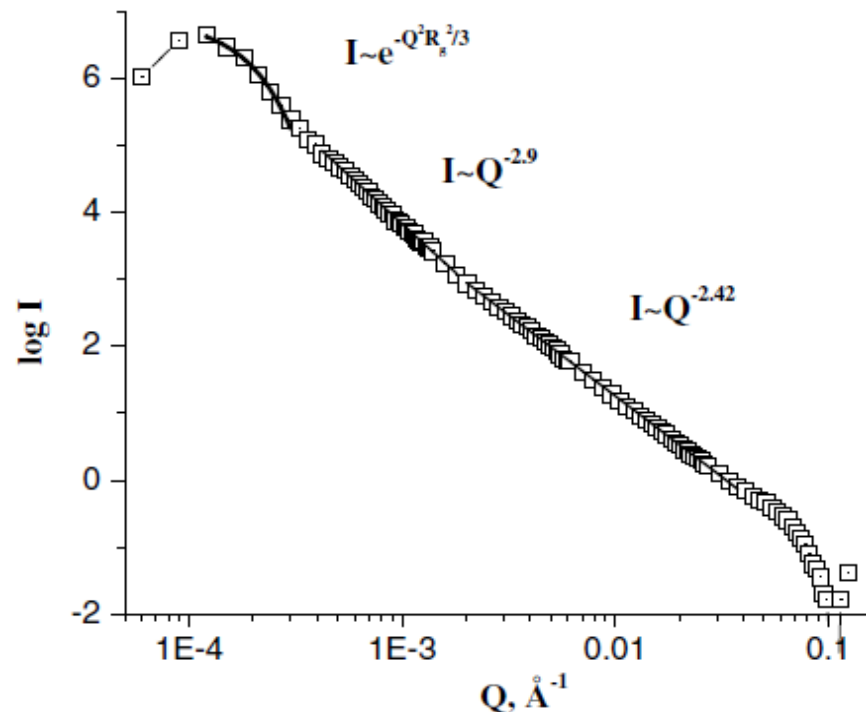


(Lieberman-Aiden E. et al., 2009)

Данные, указывающие на фрактальную модель:

1) метод определения хромосомных взаимодействий Ni-C, 3C

2) нейтронное рассеяние на ядрах куриных эритроцитов

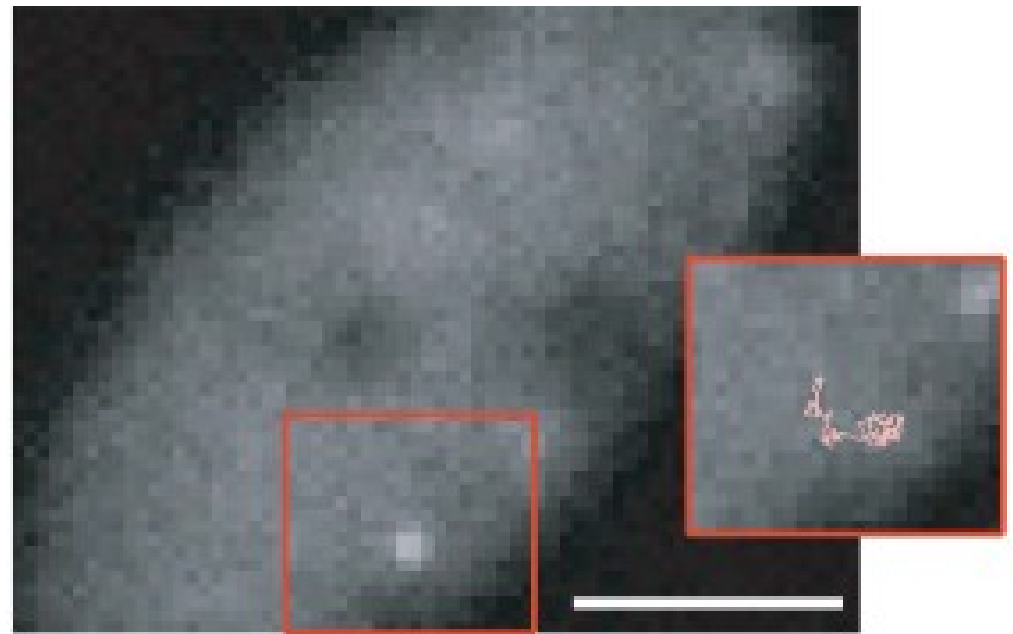


(Lebedev D.V. et al., 2005)

Данные, указывающие на фрактальную модель:

- 1) метод определения хромосомных взаимодействий Hi-C, 3C
- 2) нейтронное рассеяние на ядрах куриных эритроцитов
- 3) данные диффузии частиц в хроматине

(Bancaud A. et al., 2009)



Диффузия:

$\gamma = 1$ — нормальная диффузия

фрактальное окружение - $\gamma \neq 1$

$$\langle r^2 \rangle \sim D_\gamma t^\gamma$$

Размерность 2.6 и 2.2 нуклеоплазмы
в эухроматине и гетерохроматине

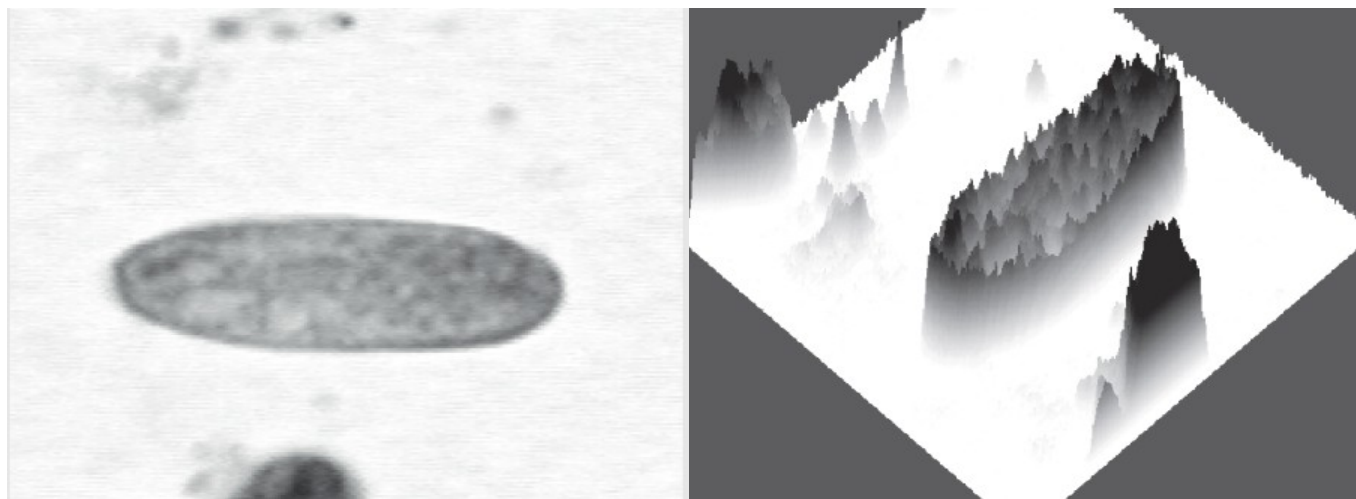
(Bancaud A. et al., 2012)

<i>метод</i>	<i>размерность</i>	<i>масштаб</i>	<i>работа</i>
МУРН	2.2	0.015-0.4 мкм	Lebedev D.V. et al., 2005
МУРН	3.2	0.4-1.5 мкм	Lebedev D.V. et al., 2005
Hi-C	3	0.4-3 мкм	Lieberman-Aiden E. et al., 2009
Диффузия- нуклеоплазма эухроматина	2.6	0.02-0.2 мкм	Bancaud A. et al., 2009
Диффузия- нуклеоплазма гетерохроматина	2.2	0.02-0.1 мкм	Bancaud A. et al., 2009

В клиническом диагнозе применяют фрактальный анализ для классификации раковых клеток

При развитии различных неоплазий размерность увеличивается в течении канцерогенеза

Возможность прогноза



(Metze K., 2013)

Задачей работы являлось определение фрактальных свойств распределения плотности хроматина методом МУРН,

а также центров репликации ДНК методом конфокальной микроскопии.

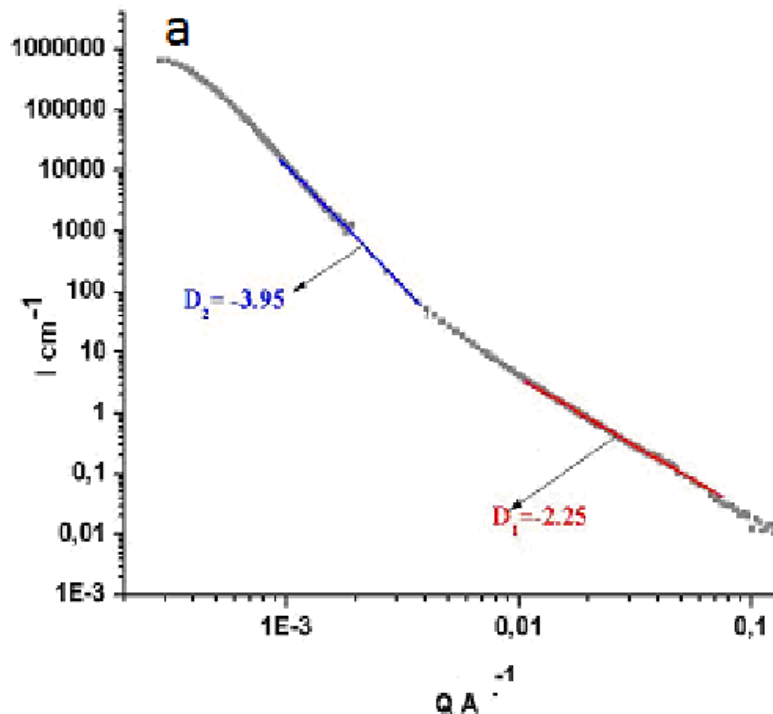
Методы:

- Визуализация точек репликации:
- BrdU—меченные антитела
- PCNA – GFP, *in vivo*
- Фрактальность распределения плотности хроматина:
- Прямое наблюдение размерности d — степенной закон:

$$I \sim Q^{-D}$$

$d = 6$ — показатель степени (D), в случае поверхностного фрактала

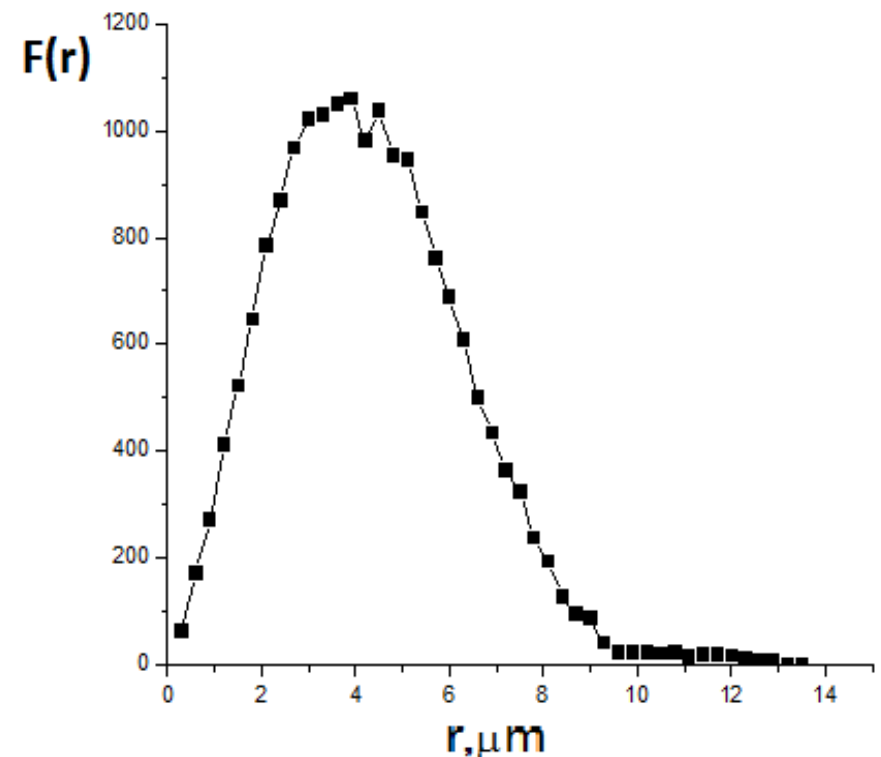
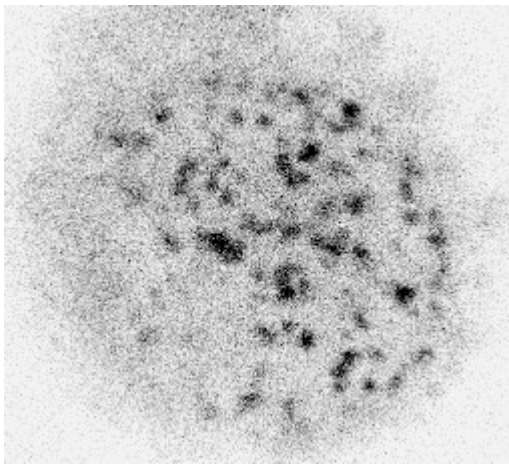
- Масштабирование функции распределения точек репликации



Методы:

По трёхмерному распределению центров репликации строилась функция парных расстояний (автокорреляционная функция) (Юнг И.А., Лебедев Д.В., 2013)

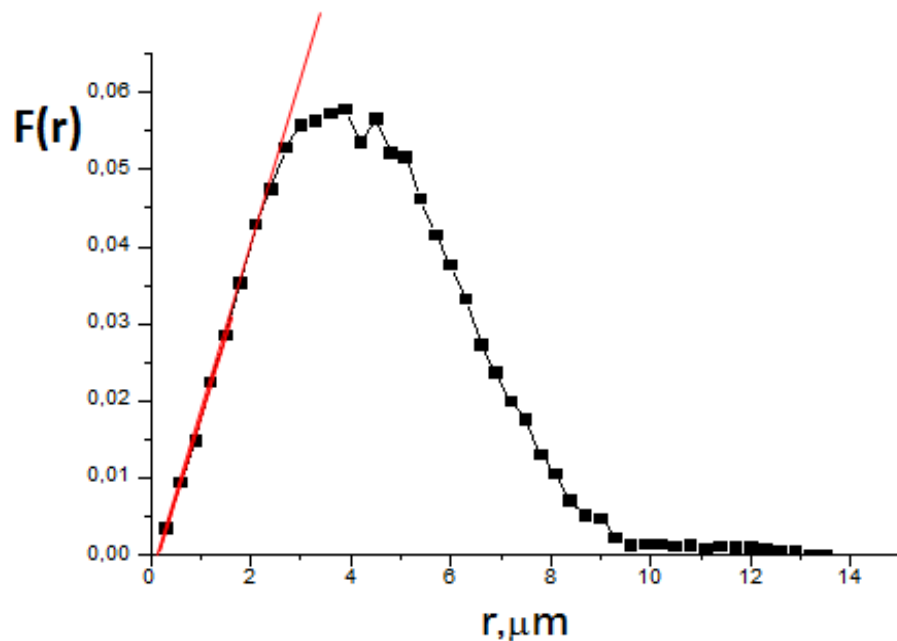
$F(r)$ -количество пар точек, расположенных на расстоянии r друг от друга



1) распределение с размерностью 2

Если точки распределены в трёхмерном пространстве, то начальный участок $F(r)$ квадратичен

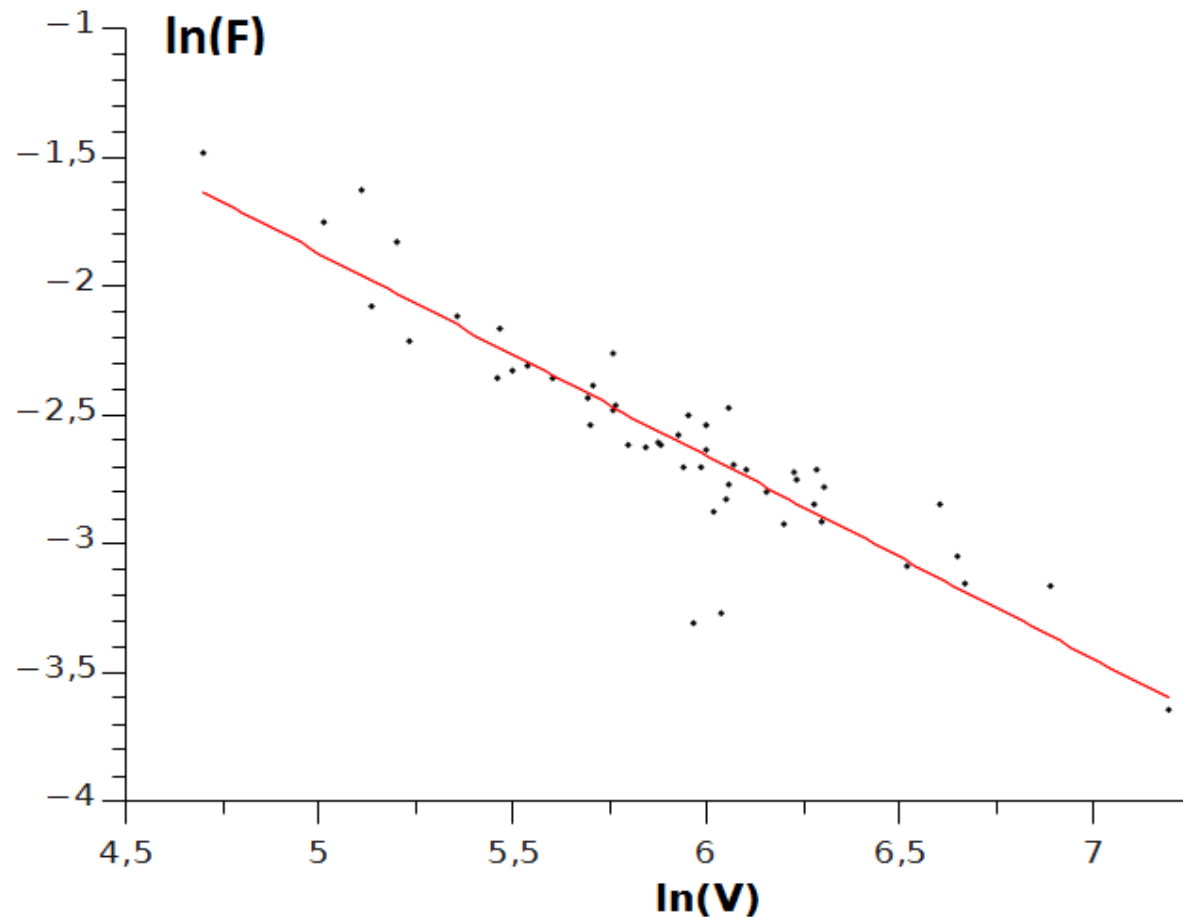
$$F(r_i) \approx \frac{d}{N} \mu r_i^{d-1} \Delta r$$



- Было замечено, что $F(r)$ линейна (Юнг И.А., Лебедев Д.В., 2013)
- Объект с размерностью 2, в том числе и фрактальный

2) зависимость наклона начального участка от объёма ядер

- Популяция ядер
- При определенных условиях наклон соответствует размерности на масштабах ядра d_2 (Юнг И.А., Лебедев Д.В., 2013)



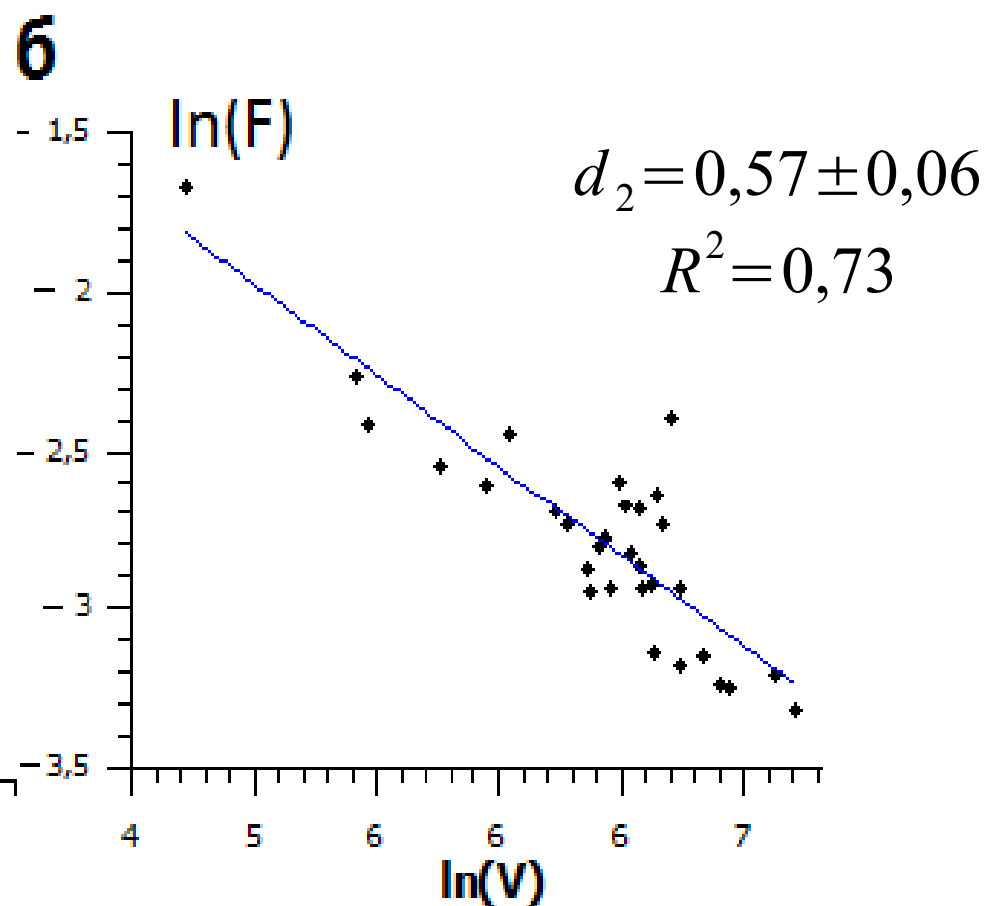
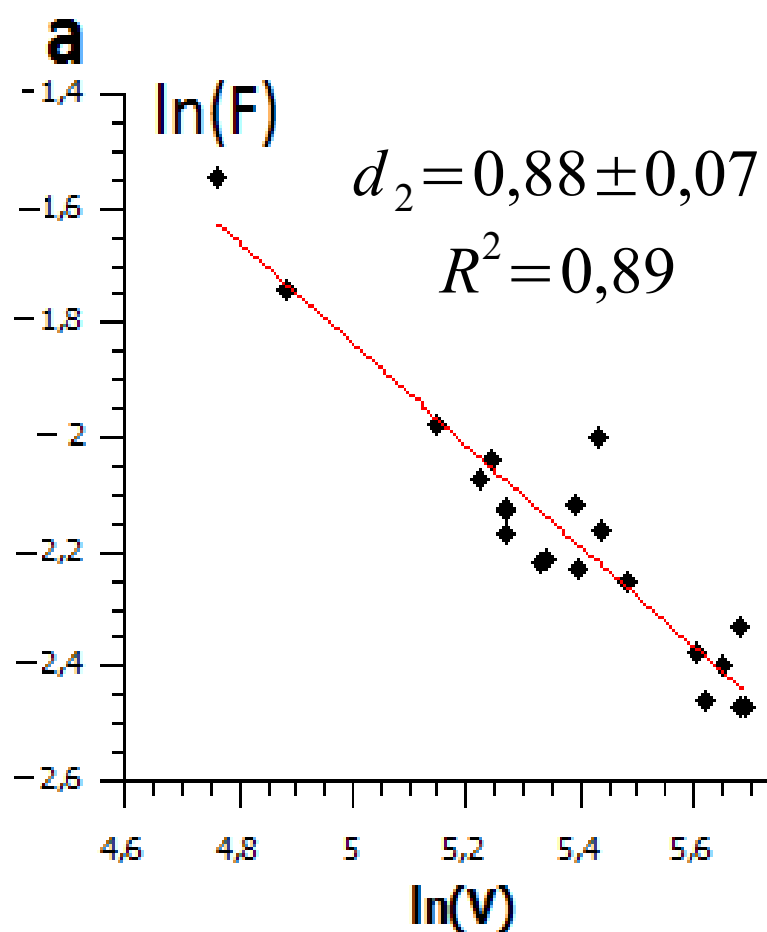
$$F(r) \sim \frac{r^{d_1-1}}{V^{\frac{d_2}{3}}}$$

Результаты:

- 1) наблюдались различия в распределении белка PCNA и центров репликации, меченых BrdU
- 2) опираясь на описанные методы получены фрактальные характеристики распределения точек репликации ДНК
- 3) получены фрактальные свойства распределения хроматина методом МУРН в клетках HeLa и глиомы человека

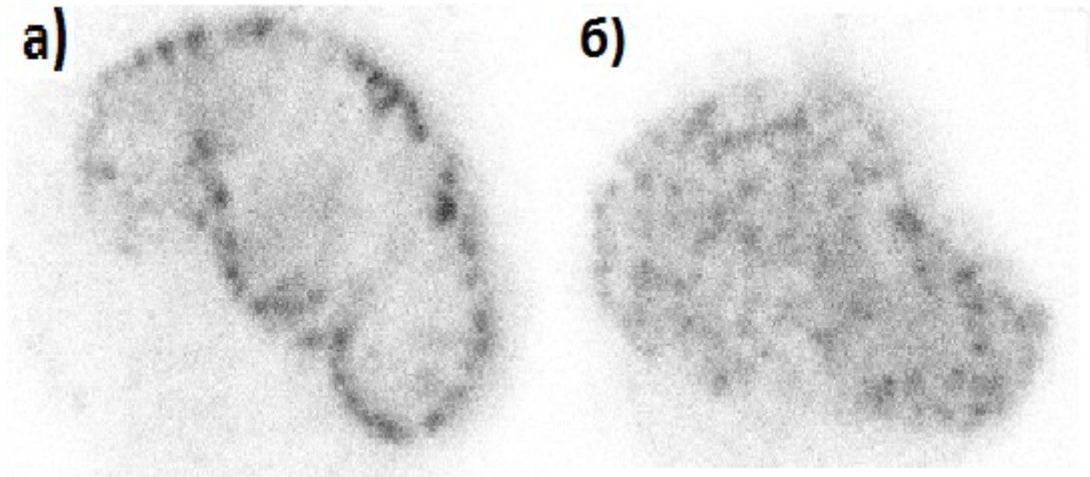
Результаты:

1) наблюдались различия в распределении белка PCNA (б) и центров репликации, меченых BrdU (a)

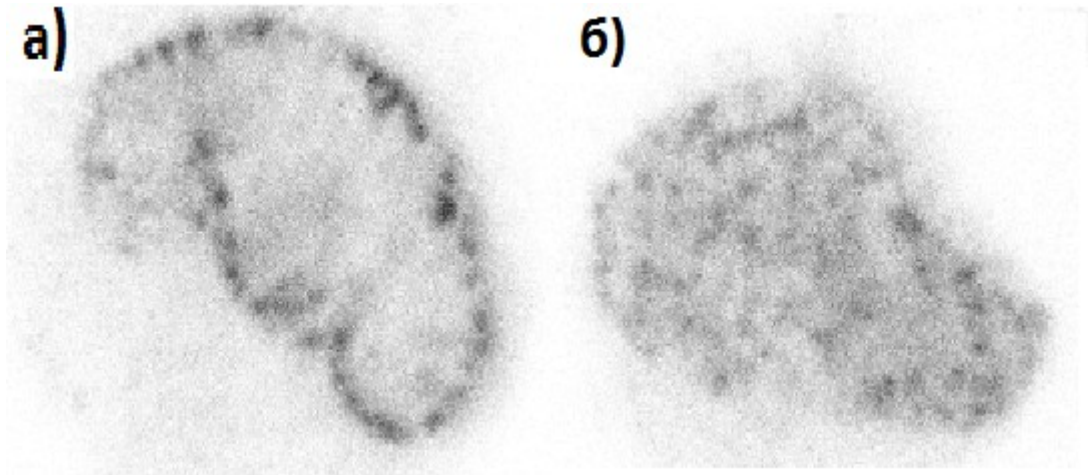


*2) опираясь на описанные методы получены
фрактальные свойства распределения точек
репликации ДНК*

<i>Клетки</i>	<i>$d/3$</i>	<i>d</i>	<i>R^2</i>
HeLa	0,78 +/- 0,05	2,34 +/- 0,15	0,83
глиома	0,87 +/-0,09	2,61 +/- 0,27	0,98
фибробласты	0,76 +/- 0,11	2,28 +/- 0,33	0,74
карцинома	0,88 +/-0,07	2,64 +/- 0,21	0,89
карцинома -PCNA	0,57+/-0,06	1,68 +/- 0,18	0,73

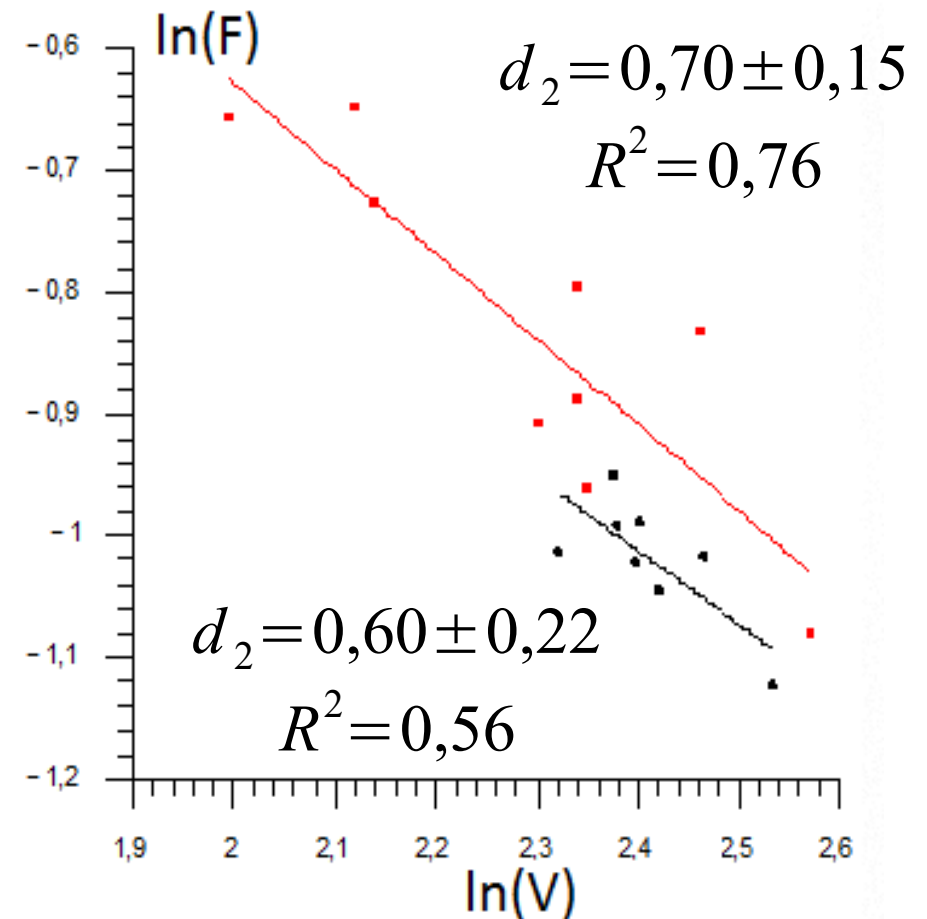


Ядра фибробластов. (а)
поздние и (б) ранние
центры репликации



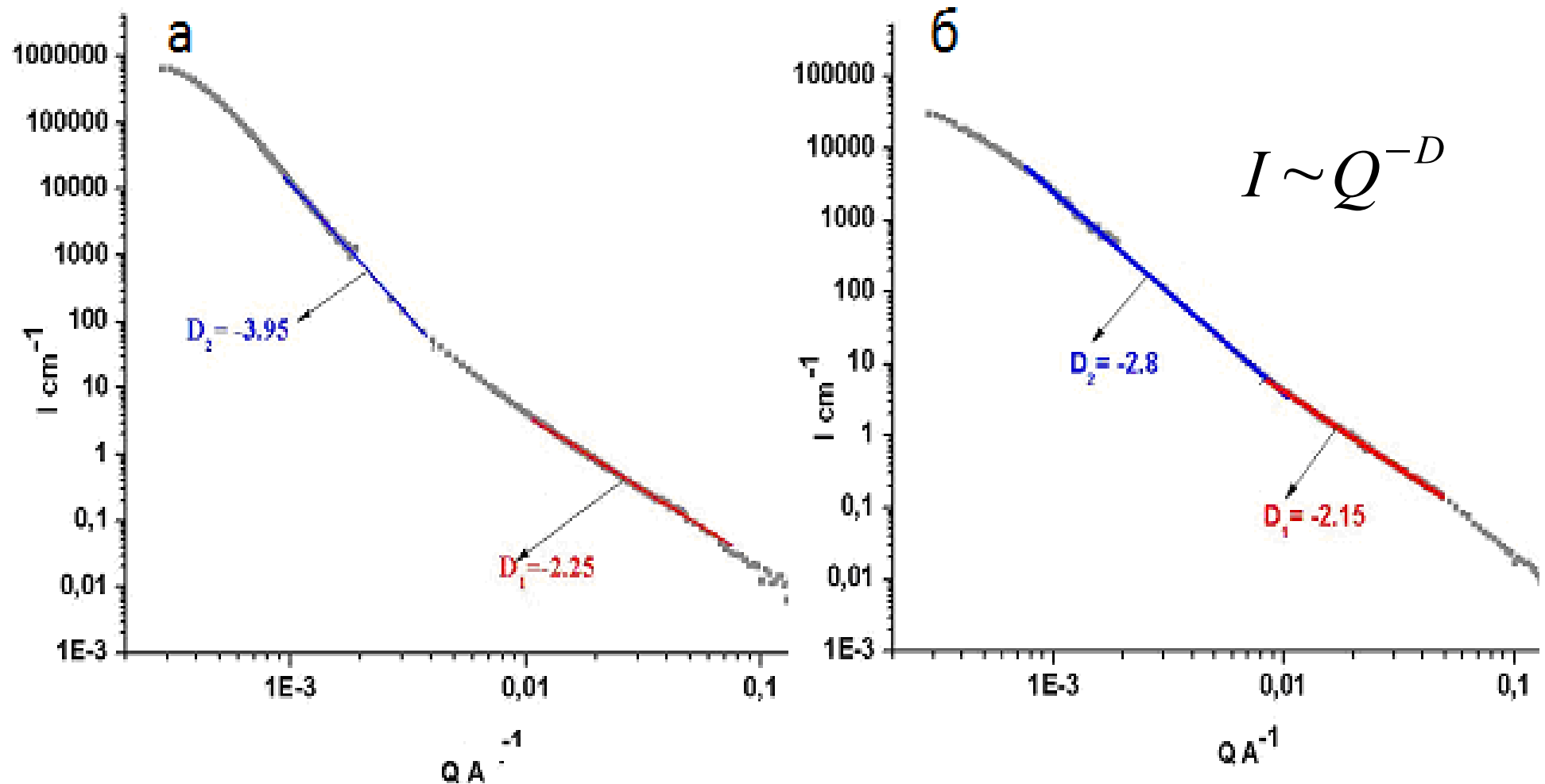
Ядра фибробластов. (а) поздние и (б) ранние центры репликации

Поздние (черный) и ранние (красный) центры репликации дают размерность, близкую к 2



3) получены фрактальные свойства распределения хроматина методом МУРН в клетках HeLa (а) и глиомы человека (б)

Прямое наблюдение размерности f — степенной закон



Выводы:

1) Распределение центров репликации в клетках HeLa, фибробластов, карциномы печени и глиомы имеет свойства фрактала с размерностью на масштабах, близких к размеру ядра, между 2 и 3.

2) Методом МУРН было показано, что распределение плотности хроматина в клетках HeLa и глиомы человека фрактально.

3) Фрактальные характеристики распределений центров репликации в клетках HeLa и глиомы хорошо соотносятся с данными измерения МУРН для распределения плотности хроматина в ядрах этих клеток.

Выводы:

1) Распределение центров репликации в клетках HeLa, фибробластов, карциномы печени и глиомы имеет свойства фрактала с размерностью на масштабах, близких к размеру ядра, между 2 и 3.

2) Методом МУРН было показано, что распределение плотности хроматина в клетках HeLa и глиомы человека фрактально.

3) Фрактальные характеристики распределений центров репликации в клетках HeLa и глиомы хорошо соотносятся с данными измерения МУРН для распределения плотности хроматина в ядрах этих клеток.

Выводы:

- 1) Распределение центров репликации в клетках HeLa, фибробластов, карциномы печени и глиомы имеет свойства фрактала с размерностью на масштабах, близких к размеру ядра, между 2 и 3.
- 2) Методом МУРН было показано, что распределение плотности хроматина в клетках HeLa и глиомы человека фрактально.
- 3) Фрактальные характеристики распределений центров репликации в клетках HeLa и глиомы хорошо соотносятся с данными измерения МУРН для распределения плотности хроматина в ядрах этих клеток.

Я благодарю научного руководителя Лебедева Д.В. и руководителя лаборатории Исаева-Иванова В.В за руководство работой, а также Филатова М.В. и Пантину Р.А. за предоставление материала для работы