

УДК 578.24+577.2

РОЛЬ ИЗМЕНЕНИЙ В СТРУКТУРЕ И ДИНАМИКЕ ХРОМАТИНА ПРИ COVID-19

© 2024 А. Е. Бигильдеев¹, В. И. Алексеев², А. К. Грибкова², Г. С. Тимохин³,
Г. А. Комарова⁴, А. К. Шайтан^{2, 3, *}

¹Национальный медицинский исследовательский центр гематологии, Москва, 125167 Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119234 Россия

³Высшая школа экономики, Международная лаборатория биоинформатики, факультет компьютерных наук,
Москва, 109028 Россия

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, 119234 Россия

*e-mail: shaytan_ak@mail.bio.msu.ru

Поступила в редакцию 06.06.2023 г.

После доработки 10.08.2023 г.

Принята к публикации 16.08.2023 г.

Пандемия COVID-19 стала серьезным вызовом для систем здравоохранения и экономики многих государств, а понимание молекулярных механизмов патогенеза этого заболевания явилось значительным вызовом для современной науки. В то же время ученым впервые был доступен ряд высокоточных и высокопроизводительных методов анализа молекулярных процессов, включая технологии исследования изменений в хроматине на геномном уровне. В настоящем обзоре обсуждаются различные современные методы, которые применялись или могут быть применены для изучения изменений в структуре и динамике хроматина при инфицировании SARS-CoV-2, излагаются результаты имеющихся на данный момент исследований о роли этих изменений в патогенезе COVID-19 и в заключение рассматриваются известные на сегодняшний день молекулярные механизмы модуляции работы хроматина, возникающие при инфицировании SARS-CoV-2.

Ключевые слова: хроматин, COVID-19, SARS-CoV-2, эпигенетика, гистоны.

DOI: 10.31857/S0016675824010027

С начала пандемии COVID-19 в 2020 г. до июня 2023 г. было задокументировано более 766 миллионов случаев заболевания во всем мире [1], реальных случаев было как минимум в несколько раз больше [2]. Пандемия также стала стимулом для беспрецедентного всестороннего изучения механизмов инфицирования вирусом SARS-CoV-2, последующего развития болезни и ее последствий, в том числе на молекулярном уровне. Значительная часть исследований была посвящена изучению молекулярных механизмов взаимодействия вируса с поверхностью клетки, в том числе взаимодействию S-белка коронавируса с ACE2-рецепторами, участию мембранно-связанной сериновой протеазы TMPRSS2 в разрезании S-белка и последующей интернализации вируса [3]. Данные исследования во многом способствовали быстрому появлению вакцин от коронавирусной инфекции. Не менее важная, но отчасти более сложная, часть научных исследований связана с пониманием молекулярных процессов, происходящих после проникновения

вируса в клетку. В результате этих исследований стало понятно, что коронавирус существенным образом влияет на внутриклеточный метаболизм и сигнальные пути, изменяет внутриклеточный иммунный ответ и экспрессию генов [4]. Так, было показано, что через 1–5 ч после инфицирования до 90% РНК в клетке может составлять вирусная РНК [5]. Вирус может воздействовать на клетки, влияя на проницаемость мембраны для различных ионов, трансляцию белков, блокируя синтез генов, необходимых для функционирования митохондрий, а также воздействуя на различные эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов [5]. Роль эпигенетических механизмов в процессе развития вирусных инфекций становится фактором, значению которого уделяется все больше внимания как с точки зрения понимания механизмов развития инфекций и возникновения иммунного ответа, так и с точки зрения разработки возможных методов лекарственного воздействия [6, 7]. Исторически к эпигенетическим механизмам

регуляции экспрессии в первую очередь относят ДНК-метилирование. Однако эпигенетические механизмы выходят за пределы рассмотрения лишь ДНК-метилирования, они реализуются в хроматине в рамках динамических взаимодействий белков и ДНК, их химических модификаций. К эпигенетическим механизмам регуляции экспрессии, влияющим на структуру и функционирование хроматина, относятся также изменение доступности различных областей хроматина для взаимодействия с факторами транскрипции, пост-трансляционные модификации гистонов, вопросы трехмерной укладки хроматина, активности различных систем поддержания структуры хроматина, включая ремоделлеры хроматина и т.д. Изучение данных механизмов, выходящих за пределы лишь анализа ДНК-метилирования, стало возможным благодаря развитию новых современных методов исследований и является основным фокусом настоящего обзора.

В настоящем обзоре мы вначале обсудим различные современные методы, которые применялись или могут быть применены для изучения изменений в структуре и динамике хроматина при инфицировании SARS-CoV-2, затем будут рассмотрены результаты имеющихся на данный момент исследований о роли этих изменений в

патогенезе COVID-19, в заключение будут изложены известные на сегодняшний день молекулярные механизмы модуляции работы хроматина, возникающие при инфицировании SARS-CoV-2. Обсуждаемые в обзоре вопросы схематично проиллюстрированы на рис. 1.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ В ХРОМАТИНЕ, СВЯЗАННЫХ С COVID-19

Клеточные линии

С появлением SARS-CoV-2 ряд исследований был посвящен проверке восприимчивости широко используемых лабораторных клеточных линий к SARS-CoV-2 [8]. Среди этих линий выделяют несколько человеческих клеточных линий, которые используют для исследования механизмов заражения и репликации SARS-CoV-2. Клетки Calu-3 — клеточная линия аденокарциномы легких человека, выделенная в 1975 г. из плеврального выпота 25-летнего мужчины европеоидной расы [9]. Эта линия перmissive для SARS-CoV-2, она активно использовалась для скрининга потенциальных лекарственных препаратов против этого вируса [10]. Хотя SARS-CoV-2 в первую очередь поражает дыхательную систему, все больше данных свидетельствует

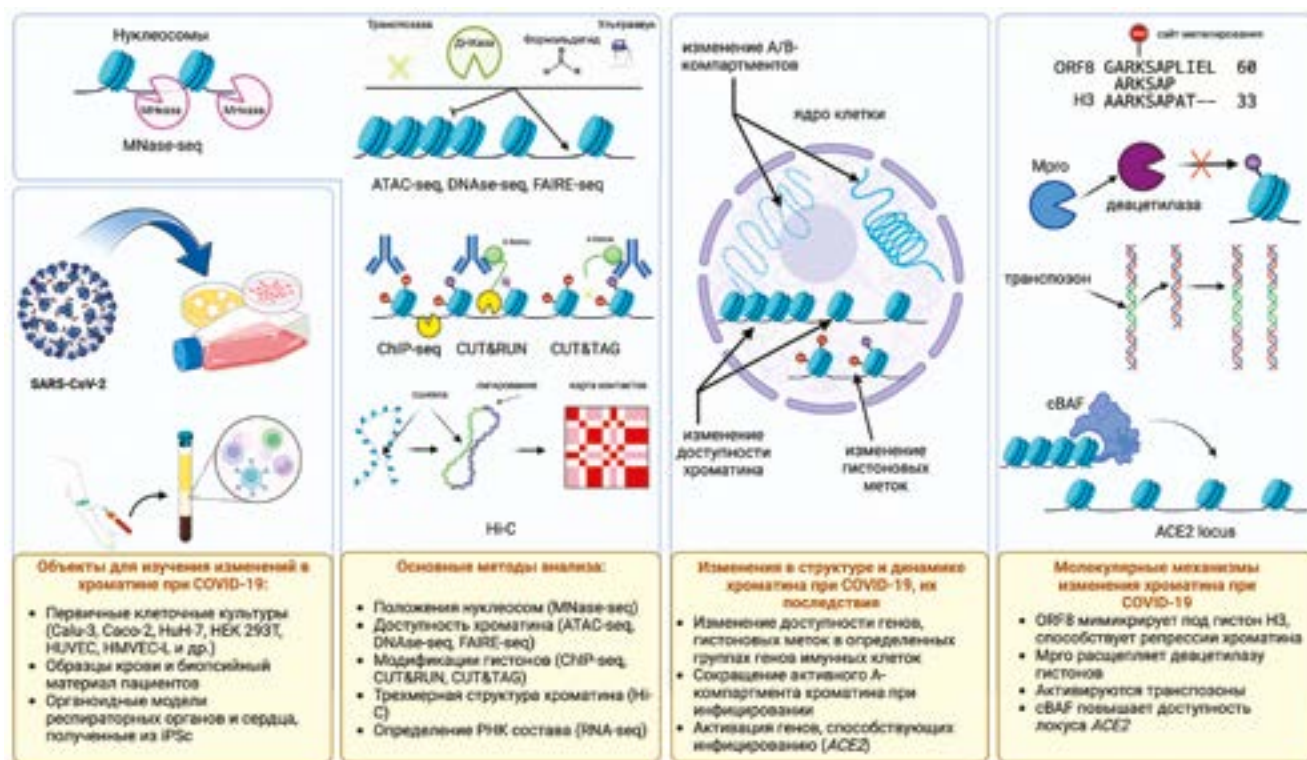


Рис. 1. Структура и динамика хроматина при COVID-19: объекты исследования, виды изменений и их эффекты. Создано с использованием BioRender.com.

о том, что этот вирус может иметь желудочно-кишечные проявления. Геном SARS-CoV-2 ранее был обнаружен в образцах слизистой желудка, прямой кишки и двенадцатиперстной кишки, а также в кале, что позволяет предположить, что пищеварительная система является потенциальным источником передачи вируса [11–13]. В качестве модели для изучения взаимодействия вируса с желудочно-кишечным трактом могут быть использованы клетки линии Сасо-2. Они были получены в 1977 г. из аденокарциномы толстой кишки, взятой у 72-летнего мужчины европеоидной расы, с использованием метода эксплантационной культуры [9] и широко использовались для изучения инфекции сначала SARS-CoV, а теперь SARS-CoV-2 [14, 15]. Эти клетки наряду с клетками Calu-3 стали основными клеточными линиями человека, изучаемыми в исследованиях *in vitro* SARS-CoV-2.

К иным клеточным линиям, используемым для исследований COVID-19, относятся HuH-7 и HEK 293T. Клеточная линия HuH-7 была создана из дифференцированного гепатоцита, полученного из клеточной линии клеток карциномы, первоначально изолированной из опухоли печени 57-летнего японца [16]. Хотя клетки HuH-7 перmissive к SARS-CoV-2, вирусная репликация в этих клетках считается умеренной [8]. Однако изучение SARS-CoV-2 на культуре клеток печеночного происхождения представляет особый интерес, поскольку печень была определена как один из основных органов-мишеней при COVID-19, а частота поражения печени у пациентов с COVID-19 составляет 14–53% [17, 18]. HEK 293T является модификацией линии клеток HEK 293, отличающейся от нее тем, что содержит термочувствительный мутантный Т-антиген вируса SV40, который позволяет эписомальную репликацию трансфицированных плазмид, содержащих начало репликации SV40 [19, 20]. Эта модификация сделала эти клетки особенно популярными для производства рекомбинантных белков и ретровирусов [21]. Клетки HEK 293, из которых были получены клетки HEK 293T, являются эпителиальными клетками почечного происхождения [22]. Клетки HEK 293T представляют ценным инструментом для исследований, оценивающих влияние экспрессии специфических белков на вирусную репликацию, поскольку эти клетки могут быть трансфицированы с высокой эффективностью и могут поддерживать продуктивную репликацию SARS-CoV-2. Одно из исследований, в котором оценивались противовирусные факторы рестрикции на различных

стадиях цикла репликации SARS-CoV-2, проводилось в клетках HEK 293T, трансдуцированных лентивирусами, несущими ген, ранее идентифицированный как потенциальный фактор рестрикции [23].

Существуют и другие клеточные линии, которые сами по себе не являются перmissive для инфицирования SARS-Cov-2, но генетически модифицируются для того, чтобы их заражение стало возможным или более эффективным. К таким линиям относятся, например, A549, HeLa [24, 25].

Первичные клеточные культуры

Недостатками описанных выше моделей является то, что все они — опухолевые клетки, которые не встречаются в норме в организме человека. Они могут служить удобными экспериментальными моделями, но не подходят для широкомасштабных популяционных исследований модификации хроматина при COVID-19. Для этих целей подходят первичные клетки, выделенные из различных органов и тканей людей, или первичные культуры клеток. Первичная культура клеток создается из растущих клеток, выделенных из ткани организма после ее механического или ферментативного разрушения [26]. Хотя эти клетки имеют короткий срок жизни, основным преимуществом первичных культур является сохранение генотипических и фенотипических характеристик клеток. Следовательно, они могут более точно, чем клеточные линии, отражать *in vitro* те процессы, которые происходят в дыхательных путях инфицированного человека. Например, первичные клеточные культуры использовались для изучения транскрипционного профиля клеток, инфицированных SARS-CoV-2. Особенно тщательно была исследована экспрессия цитокинов с целью лучшего понимания иммунной фазы и цитокинового шторма при COVID-19 [27, 28]. В силу того, что SARS-CoV-2 — респираторный вирус, при изучении процессов, происходящих после инфицирования, большое внимание было уделено эпителиальным клеткам дыхательных путей. Трахеобронхиальные эпителиальные клетки являются одной из первых мишеней для респираторных вирусов человека и могут культивироваться в воздушно-жидкостном интерфейсе (ВЖИ), где апикальная сторона клеточного слоя подвергается воздействию воздуха, а базолатеральная сторона погружена в среду. Трахеобронхиальные клетки, культивируемые таким образом, образуют псевдостратифицированный

эпителиальный слой, который морфологически и функционально напоминает верхние проводящие дыхательные пути человека [29, 30]. После дифференцировки эти культуры содержат множество различных типов клеток, таких как базальные, реснитчатые и бокаловидные клетки. Они также вырабатывают защитную слизь, как и эпителий *in vivo* [31, 32]. Такие первичные культуры клеток эпителия дыхательных путей человека (human airway epithelium, HAE) получают из первичных бронхиальных эпителиальных клеток, выделенных из дыхательных путей доноров легких человека или пациентов, перенесших трансплантацию легких, и широко используются для изучения биологии респираторного эпителия [33]. Первичные бронхиальные эпителиальные клетки собираются с внутренней выстилки дыхательных путей и культивируются на пористых основаниях, первоначально погруженных в жидкую среду. После того, как клетки вырастают и образуют плотный монослой, среда удаляется с апикальной стороны, создавая культуру с интерфейсом воздух–жидкость. Затем первичные клетки размножаются и дифференцируются. Зрелые дифференцированные культуры HAE могут поддерживаться до двух месяцев и хорошо подходят для размножения широкого спектра возбудителей респираторных заболеваний человека [34]. Подобные культуры могут быть получены и из других отделов легких и в целом дыхательной системы человека [35]. Так, например, культуры альвеолярного эпителия, выращенные в условиях ВЖИ, также могут быть использованы для изучения взаимодействия вируса и клеток хозяина и особенно применимы, когда вирусная инфекция вызывает пневмонию и повреждение альвеол [36].

Первичные культуры HAE были использованы для выделения и обнаружения SARS-CoV-2 сразу после его появления в Ухане, Китай. Образцы бронхоальвеолярного лаважа от трех пациентов с неизвестной пневмонией были инокулированы в первичную культуру HAE [37]. Вирус был обнаружен с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и молекулярных методов для выявления генома коронавируса. Кроме того, культура HAE демонстрировала цитопатический эффект через 96 ч после инфицирования SARS-CoV-2, что было удобно для отбора инфицированных клеток [37].

В первичных назальных эпителиальных клетках человека (HNECs), выделенных из назальных биопсий нижней носовой раковины

здоровых доноров, подвергшихся операции по устранению искривления носовой перегородки, и эпителиальных клетках бронхов человека (HBECS) была продемонстрирована значительная экспрессия ACE2 и TMPRSS2 [28, 38]. Первичные эпителиальные клетки дыхательных путей трахеи человека (HtAECs) и эпителиальные клетки малых дыхательных путей человека (HsAECs), также растущие при ВЖИ, показали себя как SARS-CoV-2 перmissive клетки и показали устойчивое высвобождение вируса через апикальную сторону в течение более 14 дней после инфицирования [39]. Оба типа культур было предложено использовать для скрининга лекарственных препаратов в противовирусных испытаниях [39].

Первичные клетки, выделенные из дыхательных путей человека, и их культуры важны для понимания патофизиологических механизмов инфекции SARS-CoV-2, и именно на них получен большой объем информации. Их общим недостатком является то, что уровень экспрессии оцениваемых молекул, к которым относятся рецепторы для SARS-CoV-2, зависит от типа, функции и расположения эпителиальных клеток дыхательных путей. Они также различаются у разных хозяев в зависимости от возраста, пола и сопутствующих заболеваний [40].

Хотя первичные клетки, выделенные из дыхательных путей человека, и их культуры получили широкое распространение в исследованиях SARS-CoV-2, другие первичные культуры, такие как первичные эпителиальные клетки почек человека [41], первичные эпителиальные клетки глаза [42], человеческие клетки-предшественницы поджелудочной железы [43], также перmissive к SARS-CoV-2.

Многие исследования выявили тромботические и микрососудистые осложнения у умерших от COVID-19 пациентов, предполагая, что сосудистая патология является основной движущей силой тяжелого заболевания [44]. Несмотря на это, долгое время оставалось неясным, может ли SARS-CoV-2 непосредственно инфицировать эндотелий [45]. В недавно опубликованной работе для исследования этого вопроса применяли первичные культуры эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) и эндотелиальные клетки микрососудов человека из легкого (HMVEC-L) [46]. В работе было показано, что первичные эндотелиальные клетки экспрессируют низкие уровни ACE2 и TMPRSS2, и хотя

SARS-CoV-2 может проникать в эндотелиальные клетки при высоком титре вируса, эта инфекция не является продуктивной и вызывает апоптоз зараженных клеток. Однако после прямого или косвенного воздействия вируса в них развивается воспалительный ответ, характеризующийся повышенной секрецией цитокинов и экспрессией молекул адгезии. Это делает HUVEC и HMVEC-L пригодным *in vitro* инструментом для исследования процессов, связанных с реорганизацией хроматина, при инфекции SARS-CoV-2 и другими вирусами.

Органоиды как модель исследования COVID-19

У описанных клеточных моделей есть ряд недостатков. Так, большинство опухолевых клеточных линий человека несут мутации в онкогенах и онкосупрессорах (например, в гене *TP53*), что может влиять на репликацию вирусов [47]. Это вызывает озабоченность по поводу того, как эти линии раковых клеток воспроизводят вирусную биологию SARS-CoV-2 в нормальных, нетрансформированных клетках. Более того, некоторые клеточные линии (например, Huh7.5) имеют мутации в генах, контролирующих врожденный иммунный ответ, что может затруднять понимание противовирусных реакций и вирусного жизненного цикла. С другой стороны, получение первичных клеточных культур, как правило, связано с инвазивными операциями. Следовательно, актуален поиск иных моделей для изучения биологии вирусных инфекций, в частности SARS-CoV-2. Одним из таких подходов является использование органоидов, полученных из плюрипотентных стволовых клеток. Суть подхода заключается в том, что можно взять плюрипотентные стволовые клетки, в том числе эмбриональные стволовые клетки (ESCs) или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSCs), и в определенных культуральных условиях получить органоиды — образования, состоящие из клеток различных зародышевых листков и различной степени зрелости, которые имеют элементы структуры и клеточный состав, напоминающий тот или иной орган [48]. Органоидные модели, полученные из плюрипотентных стволовых клеток человека, оказались мощным инструментом для моделирования инфекции SARS-CoV-2, изучения вирусного тропизма и ответа клеток хозяина, а также использовались для скрининга лекарств [49–53]. Ограничение органоидов, полученных из стволовых клеток, состоит в том, что они в основном содержат клетки не такие зрелые, как ткани взрослого человека. Кроме того, органоиды содержат множество

типов клеток, поэтому для анализа инфекции SARS-CoV-2 в таких органоидах целесообразно применять подходы, основанные на анализе единичных клеток, что требует значительных затрат и высокой квалификации исследователей как при подготовке библиотек, так и при биоинформатической обработке результатов.

Клетки крови как объект исследования COVID-19

С точки зрения анализа состояния хроматина в клетках пациентов с COVID-19 удобнее всего использовать образцы крови. Мононуклеарные клетки периферической крови (МНПК) человека, включая моноциты, В- и Т-лимфоциты [54, 55], перmissive к SARS-CoV-2. Любопытно отметить, что различные клеточные типы, входящие в состав МНПК, способны экспрессировать ACE2, основной мембранный белок-мишень SARS-CoV-2, на минимальном уровне [56, 57], и их инфицирование может происходить альтернативными путями, не затрагивающими эту молекулу [55]. Лейкоциты крови — перспективный объект исследования изменений хроматина при инфицировании человека SARS-CoV-2, поскольку, хотя они и не являются основной мишенью этого вируса, тем не менее могут быть заражены напрямую. Кроме того, изменения, происходящие в лейкоцитах, могут служить маркерами тех изменений, которые происходят в различных отделах организма, поскольку кровь омывает все органы и ткани и содержит иммунные клетки, функцией которых является ответ на инфекцию. Так, например, моноциты — одни из основных продуцентов воспалительных факторов, а В- и Т-лимфоциты — основные клетки адаптивного иммунитета, которые обеспечивают выработку вирус-специфичных антител и осуществляют лизис зараженных клеток соответственно.

Здесь стоит отметить, что в научной литературе встречаются работы, в которых объектами внимания при SARS-CoV-2 выступают различные клеточные популяции периферической крови. Так, например, есть работы, в которых ядра и ДНК выделяют из цельной крови. Для этого проводят осмотический лизис эритроцитов, добавляя к крови гипотонический раствор, после чего образец подвергают центрифугированию, добываясь осаждения клеток, и выделяют ядра или ДНК из всех ядросодержащих клеток крови одним из стандартных методов [58]. При таком способе пробоподготовки в рассмотрение попадают не только зрелые иммунные клетки крови, к которым относят гранулоциты, тучные клет-

ки, моноциты, макрофаги, дендритные клетки, натуральные киллеры и лимфоциты (В-клетки и Т-клетки) [59], но и другие клетки [60], которые могут циркулировать в периферическом русле, такие как кроветворные клетки-предшественницы различной степени созревания [61], включая эритробласты — незрелые эритроциты, содержащие ядро [62], мегакарициты [63], эндотелиальные клетки [64], циркулирующие опухолевые клетки, если образец крови был получен от пациента, страдающего злокачественным новообразованием или лейкозом/лимфомой [65], фиброциты и другие [66, 67]. Список неиммунных клеток, циркулирующих в периферической крови, постоянно пополняется [60], и хотя относительное количество таких клеток невелико, их возможный вклад следует учитывать при проведении экспериментов с цельной кровью, особенно при различных патологических состояниях.

Для различных подходов к изучению хроматина целесообразно учитывать особенности анализа и выбирать соответствующие объекты исследования. Так, например, для ATAC-seq [68] лучше использовать не все ядросодержащие клетки крови, а фракцию МНПК, в которой снижено содержание гранулоцитов, и в частности нейтрофилов. Активированные нейтрофилы могут участвовать в нетозе (NETosis) — процессе, в котором они формируют нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ). НВЛ представляют собой комплексы белков и хроматина, которые могут задерживать патогены [69]. Во время нетоза хроматин набухает, деконденсируется и исторгается из нейтрофила [70]. В результате этого процесса образуются лизированные нейтрофильные клетки с большим количеством внеклеточного открытого хроматина. Наличие в исследуемых биологических образцах значительного количества активированных нейтрофилов может привести к большому количеству специфических для нейтрофилов фрагментов ДНК в конечной библиотеке, высокой доле коротких, защищенных мононуклеосомных фрагментов (хроматин НВЛ очень открыт и эффективно фрагментируется во время обработки ферментами) и к библиотекам с низкими целевыми показателями, поскольку фрагменты ДНК из НВЛ могут поступать из всех областей генома и не будут перекрываться с пиками из других клеток [71]. Для приготовления МНПК сначала из образца цельной крови удаляют эритроциты. Хотя эритроциты можно отделить от мононуклеарных клеток с помощью градиентного разделения по плотности, многие лаборатории предпочитают использовать мето-

ды лизиса посредством осмотического шока для удаления эритроцитов из различных образцов. Лизис происходит гораздо быстрее, чем градиентное разделение, и, как правило, оставляет оставшиеся популяции клеток относительно потревоженными. Кроме того, выход лейкоцитов из крови при лизисе эритроцитов намного выше, чем при градиентном разделении [72]. Далее в центрифужную пробирку помещается раствор с плотностью 1.077 г/мл, а сверху добавляется равный объем фосфатно-солевого буфера с ресуспендированными в нем клетками крови после процедуры лизиса эритроцитов. Образцы центрифугируются при 400 g в течение 30 мин при комнатной температуре. Далее МНПК, находящиеся на границе раздела двух растворов, аккуратно отбираются пастеровской пипеткой в новую пробирку. Этот метод позволяет избавиться или значительно снизить содержание в образце гранулоцитов и эритроцитов [73]. Другим эффективным способом избавления от нежелательных в анализе клеточных популяций может служить негативная селекция нежелательной клеточной субпопуляции или выделение целевых клеток для анализа с помощью FACS или магнитной сепарации [74].

Экспериментальные методы определения изменений в хроматине

В ядре эукариотической клетки ДНК упакована в хроматин, элементарным строительным блоком которого является нуклеосома. Стабильность и компактизация нуклеосом регулируются совместными эффектами последовательности ДНК, вариантами гистонов и их посттрансляционными модификациями, АТФ-зависимыми белками-ремоделлерами нуклеосом и другими белками хроматина. Динамические посттрансляционные модификации гистонов, такие как метилирование, ацетилирование, убиквитинирование, сумоилирование и др., приводят к более или менее компактной структуре хроматина, которая влияет на экспрессию генов. На сегодняшний день в арсенале науки имеется спектр методов, позволяющих исследовать свойства хроматина, такие как позиции отдельных нуклеосом, области компактного или открытого хроматина, регионы ДНК, расположенные стерически рядом друг с другом и образующие функциональные кластеры, области ДНК, находящиеся в комплексе с ДНК-связывающими белками, регионы ДНК, связанные с белками-модификаторами хроматина. Ниже приведены некоторые распространенные методы анализа хроматина, и хотя сложно охватить весь спектр подобных методов,

который гораздо богаче приведенного здесь, многие важные результаты, в том числе в исследовании эффектов вирусных инфекций, получены этими методами.

Метод MNase-seq

Анализ хроматина с помощью микрококковой нуклеазы (МНКазы) является относительно простой процедурой для получения информации о расположении нуклеосом в нити ДНК. Метод основан на том, что ДНК, связанная с белками-гистонами, относительно нечувствительна к воздействию МНКазы. Инкубация ядер или пермеабелизованных клеток МНКазой в присутствии двухвалентных катионов индуцирует одонитевые, а затем и двунитевые разрывы в тех местах ДНК, которые не связаны с белками-гистонами [75]. Фермент также обладает экзонуклеазной активностью, поэтому после появления двунитевых разрывов ДНК расщепляется им до тех пор, пока фермент не достигнет защищенной ДНК, например в нуклеосоме. Обработка хроматиновых субстратов очень высокими концентрациями МНКазы приводит к образованию в основном моонуклеосомной ДНК, в то время как низкие концентрации фермента будут давать один двухцепочечный разрез на каждые 10–50 нуклеосом (в зависимости от точной концентрации). После обработки МНКазой оставшаяся защищенная ДНК может быть идентифицирована с помощью высокопроизводительного секвенирования следующего поколения (NGS), а полученные последовательности могут быть проанализированы с помощью соответствующих биоинформатических инструментов для получения данных о расположении нуклеосом в геноме *in vivo* [76]. У метода есть ряд особенностей. Важно точно определить количество фермента, поскольку слишком высокая активность приведет к полному расщеплению ДНК. Следовательно, необходимо выполнять титрование МНКазы, разделяя образец на несколько аликвот. Еще одна проблема, которую необходимо учитывать, заключается в наличии предпочтений определенных последовательностей ДНК при расщеплении МНКазой [77]. Чтобы преодолеть эту проблему, следует создавать “контрольный образец”, в котором воздействию МНКазы подвергается “голая” геномная ДНК, отделенная от всех белков-гистонов. Данные, полученные от такого образца, используются на этапе биоинформатического анализа для коррекции результатов [76].

Метод DNase-seq

Картирование гиперчувствительных сайтов ДНКазы I исторически является ценным инстру-

ментом для идентификации различных типов регуляторных элементов генов, включая промоторы, энхансеры, сайленсеры, инсуляторы и области контроля локусов. Метод основан на том, что ДНКазы I эффективно фрагментируют участки ДНК, свободные от нуклеосом, в то время как участки ДНК, плотно связанные с белками-гистонами в составе нуклеосомы, и структуры конденсированного хроматина более высокого порядка более устойчивы к ее действию. Таким образом, этот подход позволяет идентифицировать области открытого эухроматина и области неактивного конденсированного хроматина [78]. Традиционный низкопроизводительный метод исследования структуры хроматина по идентификации гиперчувствительных сайтов ДНКазы I использует Саузерн-блот [79], более современный протокол позволяет производить картирование сайтов с помощью методов NGS [80]. Вкратце, клетки интереса подвергают лизису с помощью детергента, из них выделяют ядра, которые затем инкубируют в растворе с оптимальной концентрацией ДНКазы I. После обработки ДНКазой I достраивают концы полученных фрагментов до тупых с помощью ДНК-полимеразы бактериофага T4. Далее лигируют биотинилированные двухцепочечные адаптеры, содержащие последовательности, необходимые для последующих шагов (фрагментирования рестриктазой MmeI и ПЦР-амплификации библиотеки), с помощью ДНК-лигазы бактериофага T4. Избыток свободных адаптеров удаляют, проводя гель-электрофорез и вырезая фрагмент нужной длины. Полученные биотинилированные фрагменты инкубируют с рестриктазой MmeI для получения коротких фрагментов ДНК (адаптер плюс 20 оснований геномной ДНК), которые затем выделяют с помощью микросфер, покрытых стрептавидином. Далее лигируют второй адаптер по липким концам, оставшимся после MmeI, и производят ПЦР-амплификацию библиотеки, после чего библиотеку секвенируют одним из NGS-методов и картируют прочтения на соответствующий референсный геном. Недостатком этого метода является большое количество стартового материала (50 млн клеток), что не позволяет применять его для исследования редких клеточных популяций.

Метод ATAC-seq

Метод ATAC-seq (Assay for Transposase Accessible Chromatin using sequencing), или основанный на секвенировании метод оценки доступных транспозазе областей хроматина, был предложен авторами в 2013 г. [68]. В основе

Метод FAIRE

метода лежит использование гиперактивной прокариотической транспозазы Tn5 [81], нагруженной адаптерами для высокопроизводительного секвенирования ДНК. Из целевых клеток выделяют ядра, а затем инкубируют их с транспозазой. Фермент одновременно разрезает ДНК и присоединяет адаптеры (процесс, который называется “тагментация” [82]). Таким образом, свободные участки ДНК оказываются эффективно фрагментированы и фланкированы сервисными последовательностями адаптеров. Далее происходят ПЦР-амплификация полученных фрагментов, секвенирование полученных библиотек одним из NGS-методов, картирование полученных прочтений на геном. При таком подходе области конденсированного хроматина, ДНК, связанная с гистонами в составе нуклеосом, и ДНК, связанная с факторами транскрипции, будут соответствовать областям с обедненным количеством прочтений. АТАС-seq – быстрый и чувствительный метод для интегративного эпигеномного анализа. Среди его преимуществ можно выделить: возможность анализировать небольшое количество стартового материала (от 500 до 50000 клеток), что позволяет исследовать первичные клетки, не прибегая к их предварительной экспансии и культивированию *in vitro*, которое может исказить картину активных областей хроматина, или исследовать малочисленные клеточные субпопуляции, например, специфические субпопуляции клеток крови или стволовые клетки; быстроту и относительную легкость подготовки библиотек ДНК для дальнейшего секвенирования (все процедуры от момента получения клеток до получения готовой библиотеки занимают 3 ч), что позволяет выполнять серийные измерения состояния хроматина у индивидуальных людей в сжатые временные сроки, например ограниченные клиническим течением того или иного заболевания; многомерность получаемых результатов, поскольку АТАС-seq дает информацию об областях открытого, доступного транспозазе хроматина, положении нуклеосом и областях ДНК, свободных от нуклеосом, областях связывания транскрипционных факторов и других ДНК-связывающих белков. Информацию о доступности хроматина можно получить с помощью АТАС-seq не только по суммарной клеточной популяции, но и по отдельным клеткам. Для этого разработана модификация АТАС-seq, включающая выделение хроматина из каждой клетки (*singl cell* АТАС-seq, *sc*АТАС-seq) [83].

FAIRE (Formaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Elements), или выделение регуляторных элементов с помощью формальдегида, – это альтернативный подход к выявлению свободной от нуклеосом ДНК, гиперчувствительной к действию ДНКазы I и занятой транскрипционными факторами и другими регуляторными белками. Этот метод доказал свою успешность на множестве типов эукариотических клеток и тканей, его можно применять к одноклеточным суспензиям, прикрепленным клеточным культурам и образцам замороженной ткани [84]. Суть метода заключается в том, что клетки или диссоциированные ткани фиксируются на короткое время формальдегидом, лизируются и обрабатываются ультразвуком. Фрагментированный в результате этих воздействий хроматин подвергается экстракции фенолом/хлороформом. В результате этой процедуры ДНК, свободная от нуклеосом, оказывается в водной фазе, а ДНК, связанная с белками-гистонами, оказывается в фенольной фазе, поскольку обработка клеток формальдегидом образует ковалентные связи между молекулами белков и ДНК. Выделенная таким способом “голая” ДНК, обычно составляющая 1–3% генома, очищается и используется для картирования на референсный геном одним из методов, включая NGS-секвенирование. Важно отметить, что ДНК, выделенная этим методом, обогащена регуляторными элементами генов, что является результатом высокой эффективности сшивания формальдегидом гистоновых белков с ДНК, в отличие от более низкой эффективности сшивания специфических для последовательности белков с ДНК. Эта разница частично объясняется зависимостью эффективности реакции от расстояния между молекулами. Формальдегид – это небольшая молекула (CH_2O), и сшивки образуются только между белками и ДНК при их непосредственном контакте. В нуклеосоме существует приблизительно 10–15 взаимодействий гистон–ДНК, которые служат потенциальными местами сшивания [85]. Однако для большинства ДНК-связывающих белков существует гораздо меньше потенциальных мест сшивания. В среднем, сайты связывания таких белков составляют от 5 до 15 п. н. [86], причем лишь некоторые из них расположены достаточно близко к молекуле белка, так, что могут быть сшиты [87]. Кроме того, формальдегид требует наличия ϵ -аминогруппы, как, например, на лизине, для образования сшивки [88, 89]. Приблизительно 10% аминокислотного состава гистонов составляют лизины [90], что гораздо выше, чем в среднем

у белков. Благодаря этим двум факторам нуклеосомы гораздо легче сшиваются с ДНК. Регуляторные элементы, обогащенные методом FAIRE, имеют высокое совпадение с теми, которые выявляются с помощью нуклеазной гиперчувствительности или иммунопреципитации хроматина (ChIP), а вся процедура может быть завершена за три дня [84, 91]. Этот метод обладает рядом преимуществ над традиционными методами DNase-seq, MNase-seq и ATAC-seq. FAIRE позволяет работать с прикрепленными клеточными культурами, фрагментами ткани, в том числе с фиксированными в формалине и заключенными в парафин блоками (FFPE), в то время как традиционные методы требуют выделения ядер из одноклеточной суспензии живых клеток. Кроме того, традиционные методы опираются на работу ферментов, что требует тщательного подбора их активности, а подход FAIRE не подразумевает участия ферментов.

*Иммунопреципитация хроматина (ChIP),
методы CUT&RUN, CUT&TAG*

Методы картирования занятости транскрипционных факторов и картирования посттрансляционных модификаций белков-гистонов в геноме с помощью иммунопреципитации хроматина (Chromatin Immuno Precipitation, ChIP) были разработаны более двадцати лет назад. В ChIP факторы транскрипции, кофакторы или другие интересующие исследователя белки хроматина обогащаются путем иммунопреципитации вместе с ассоциированной с ними ДНК из предварительно обработанного хроматина. Участки геномной ДНК, обогащенные таким образом, первоначально определялись путем гибридизации ДНК на микрочипе (ChIP-chip) [92, 93] или с помощью количественной ПЦР [94], а в последующем — путем секвенирования ДНК методами NGS (ChIP-seq) [95–97]. В настоящее время ChIP-seq широко используется для изучения многих транскрипционных факторов, модификаций гистонов, хроматин-модифицирующих комплексов и других хроматин-ассоциированных белков в самых разных организмах. Широкое распространение этого метода привело к возникновению протоколов, различающихся деталями, поэтому консорциум ENCODE выпустил свое руководство, направленное на стандартизацию методов пробоподготовки и анализа результатов ChIP-seq [98]. При этом, что на сегодняшний день существует много модификаций ChIP-seq, можно выделить два основных типа ChIP, различающихся, прежде всего, исходным препаратом хроматина. В первом

случае используется обратимо сшитый хроматин (XChIP), во втором, нативном ChIP (NChIP), используется нативный хроматин, обработанный путем инкубации с микрококковой нуклеазой. XChIP в основном подходит для картирования ДНК-мишеней транскрипционных факторов или других хроматин-ассоциированных белков [99], но также может применяться и для анализа модификаций белков-гистонов [100]. Агентом для обратимого сшивания может быть формальдегид [99] или ультрафиолетовый свет [101]. Далее сшитый хроматин фрагментируют с помощью ультразвука, получая фрагменты длиной от 300 до 1000 п. н. После этого комплексы белок–ДНК селективно иммунопреципитируют с использованием специфических антител к интересующему белку (белкам). Иммунопреципитированные комплексы затем собирают и промывают для удаления неспецифически связанного хроматина, а белки, связанные с ДНК, удаляют путем обработки протеиназой К. Очищенную ДНК идентифицируют с помощью ПЦР, микрочипов (ChIP-on-chip), молекулярного клонирования и секвенирования по Сэнгеру или прямого высокопроизводительного секвенирования (ChIP-seq). Нативный ChIP в основном подходит для картирования участков ДНК, связанных с белками-гистонами, несущими различные пост-трансляционные модификации. Поскольку ДНК обернута вокруг гистонов, образуя нуклеосомы, они естественным образом связаны между собой. Нативный хроматин расщепляют путем инкубации с микрококковой нуклеазой, которая расщепляет ДНК между нуклеосомами, оставляя нуклеосомы нетронутыми и предоставляя фрагменты ДНК длиной от одной нуклеосомы (147 п. н.) до пяти нуклеосом (735 п. н.). После этого используются методы, аналогичные XChIP, для очистки от клеточного дебриса, иммунопреципитации интересующего белка, удаления белка из иммунопреципитированного комплекса, очистки и анализа связанной с комплексом ДНК.

В последние годы было разработано два новых подхода к профилированию хроматина с использованием иммунопреципитации: CUT&RUN (Cleavage Under Targets and Release Using Nuclease) [102] и CUT&TAG (Cleavage Under Targets and Tagmentation) [103]. Основной принцип CUT&RUN заключается в том, что в отличие от ChIP-seq он не требует фрагментации и солиubilизации хроматина, а проводится *in situ*, что позволяет организовать количественное картирование хроматина в высоком разрешении

и при этом дает возможность провести исследование локального хроматинового окружения. Подобная точность действия обеспечивается использованием направляемой антителом микроразрезывающей нуклеазы: антитело узнает транскрипционный фактор, ассоциированный с антителом посредством А-белка нуклеаза перерезает ДНК по обеим сторонам от фактора, высвобождая его и прикрепленный к нему участок ДНК в супернатант, откуда полученный фрагмент ДНК направляется на парноконцевое секвенирование.

Метод CUT&TAG похож на CUT&RUN тем, что он проводится *in situ*, но привлекает вслед за антителом связанный с А-белком специфический фермент — Tn5-транспозазу (аналогичную той, что используется в методе ATAC-seq), активация которой приводит к генерации фрагментов библиотеки, соответствующих интересующим исследователя сайтам связывания транскрипционного фактора. Таким образом получается, что, в отличие от ChIP-seq и CUT&RUN, этот подход не требует подготовки библиотеки. Недостатком CUT&TAG является узость спектра его действия: на данный момент его протокол оптимизирован только для работы с пост-трансляционными модификациями и метод не выдает достоверных результатов для ассоциированных с хроматином белков.

В практическом плане данные методы отличаются от ChIP-seq тем, что требуют меньше клеток (в то время как ChIP-seq обычно требует более миллиона клеток, для успешного проведения CUT&RUN достаточно 500000, а нормальное количество клеток для CUT&TAG составляет всего 100000) [103, 104], осуществляются быстрее (выполнение всего протокола ChIP-seq обычно занимает около недели, в то время как проведение исследования по CUT&TAG и CUT&RUN длится, как правило, не более двух–трех дней), также эти новые подходы к профилированию хроматина требуют значительно меньшей глубины секвенирования при более высоком отношении сигнал/шум [105, 106].

Методы изучения трехмерной структуры хроматина

Для изучения трехмерной структуры хроматина в отношении ДНК–ДНК взаимодействий, — т. е. для исследования того, какие участки генома, как часто сближаются в пространстве клеточного ядра, был разработан ряд экспериментальных методов. До появления технологий секвенирования нового поколения (NGS) они в основном относились к электронной или опти-

ческой микроскопии [107], однако в 2002 г. был предложен молекулярно-биологический метод, позволявший определять, взаимодействуют ли в пространстве два заданных локуса генома [108]. Основная идея этого подхода заключается в том, что если два участка хроматина находятся достаточно близко друг к другу, то при добавлении формальдегида к образцу произойдет их сшивка, после чего можно будет последовательно обрабатывать образец рестриктазами, чтобы хроматин распался на свободные фрагменты и сшитые формальдегидом пары, а затем лигазой, чтобы сшитые пары превратились в одиночные, гибридные молекулы ДНК. На заключительном этапе с помощью количественной ПЦР можно определить, образовались ли гибридные молекулы из интересующих их пар геномных участков и если да, то в каком объеме. Результаты ПЦР в таком случае позволяют судить о том, существует ли пространственное взаимодействие между двумя локусами (например, между промотором и энхансером) и насколько часто оно происходит. Так как материал для исследования получается из хроматина множества клеток, то результаты анализа носят статистический характер. Данный метод назвали *chromosome conformation capture* (метод захвата конформации хромосомы) или сокращенно — 3С. В последующие годы у него появились различные модификации, в результате чего о 3С стали говорить как о семействе методов. В 2006 г. был представлен метод 4С [109], позволяющий детектировать пространственные взаимодействия не между двумя заданными локусами, как в оригинальном 3С методе, а между одним выбранным участком и всеми остальными в геноме. Улучшение оригинального протокола достигалось за счет включения в него стадии инвертированной ПЦР, а использование ДНК-микрочипов позволяло достигать высокой производительности. В том же году была опубликована работа с описанием технологии 5С [110], которая позволяла определить взаимодействия между всеми участками некоторого региона генома за счет применения мультиплексной ПЦР.

Однако настоящий прорыв в области изучения трехмерной структуры хроматина немикроскопическими методами произошел из-за широкого распространения высокопроизводительного секвенирования — с его помощью удалось создать метод Hi-C [111], позволяющий измерять частоту пространственных взаимодействий между всеми участками генома, благодаря чему стало возможным создание полных карт его трехмерной организации и как следствие — по-

нимание фундаментальных принципов компактизации хроматина. Например, в работе, в которой был представлен метод Hi-C, с его помощью было впервые продемонстрировано присутствие в трехмерной структуре генома таких организационных паттернов, как А/В-компарменты и топологически ассоциированные домены, а кроме того найдены весомерные аргументы в пользу теории “фрактальной глобулы” как модели укладки хроматина.

Протокол Hi-C в общих чертах повторяет предшествующие методы семейства 3C: сначала образец обрабатывается формальдегидом, затем подвергается обработке рестриктазами, после идет этап добавления на сшитые фрагменты биотинированных меток, благодаря чему после этапа лигирования можно отделить полученные гибридные молекулы от остальных фрагментов, не нужных для данного исследования. Завершается процесс секвенированием спаренных концов, обеспечивающим высокую эффективность и производительность метода Hi-C.

Большие объемы сложно организованных данных, генерируемых в экспериментах Hi-C, привели к необходимости разработки алгоритмов и программного обеспечения для их обработки и анализа [112–114], также возникло немало конфликтующих гипотез относительно интерпретации данных Hi-C, что привело к дискуссиям — например, о том, что именно соответствует А/В-компартаментам и топологически ассоциированным доменам на молекулярном уровне [115, 116].

Как и подходы к обработке его результатов, сам метод Hi-C также постоянно модифицируется. Революционность Hi-C заключалась в том, что с его помощью можно было оценивать взаимодействия всех локусов генома между собой, однако минимальный размер этих локусов, который называется разрешением метода Hi-C, был довольно ограничен (в оригинальном методе их наименьший размер составлял одну мегабазу). Это ограничение происходит из-за особенностей используемых рестриктаз (избирательность которых в отношении сайтов рестрикции ограничивает минимальные размеры создаваемых фрагментов) и недостаточной глубины секвенирования [114]. Авторы модификаций протокола Hi-C зачастую стремятся достичь более высокого разрешения путем изменения набора используемых ферментов: либо с помощью выбора эндонуклеаз рестрикции

с сайтом узнавания меньшей длины [117, 118], либо с помощью эндонуклеаз других классов, отличающихся малой специфичностью — например, ДНКазы I [119] или микрококковой нуклеазы [120]. Использование последней позволило достигнуть разрешения сопоставимого с линейными размерами отдельных нуклеосом, что дало возможность изучать компактизацию хроматина на низшем, супрануклеосомном уровне [121, 122]. Фактор глубины секвенирования также успешно регулируется: если в работе 2009 г., в которой метод Hi-C был использован впервые, покрытие составляло до 30 млн прочтений на образец, то уже к 2017 г. этот показатель удалось увеличить до 7.3 млрд чтений на образец [123].

Стоит отметить, что Hi-C является методом, представляющим статистические, усредненные по ансамблю клеток данные о трехмерной архитектуре генома, что ограничивает его потенциал для изучения структуры хроматина и поднимает вопросы о том, что представляют собой выявляемые на контактных картах паттерны (такие как А/В-компарменты и топологически ассоциированные домены): репрезентацию структур и процессов, которые можно обнаружить в отдельных клеточных ядрах, или феномены, возникающие при усреднении данных. Однако так же, как и проблема с ограничением разрешения, этот недостаток устраняется путем создания новых протоколов — в данном случае single-cell Hi-C [124], позволяющих изучать пространственную геномику отдельных клеток и, сопоставляя результаты этого анализа с данными, полученными при проведении Hi-C на множестве клеток, устанавливать, какие из обнаруженных закономерностей организации генома реализуются в конкретных клетках, а какие являются, скорее, усредненными представлениями [125].

ВЛИЯНИЕ COVID-19 НА ПРОФИЛИ ДОСТУПНОСТИ ХРОМАТИНА В ИММУННЫХ КЛЕТКАХ

Большинство исследований иммунного ответа на SARS-CoV-2 сосредоточены на аспектах воспаления [126, 127], однако есть ряд работ, где обсуждаются эпигеномные регуляторные механизмы иммунного ответа клеток хозяина. В данном разделе будут рассмотрены результаты исследований анализа доступности хроматина в популяциях иммунных клеток, полученные методами ATAC-seq и его модификацией для анализа единичных клеток scATAC-seq от пациен-

тов COVID-19 с симптомами различной тяжести (легкими, средними (умеренными), тяжелыми). Так, в работе N.S. Giroux и соавт. были исследованы пациенты с легкой или средней тяжестью симптомов COVID-19 [83], в работе S. Li и соавт. исследовали пациентов со средней и тяжелой симптоматикой COVID-19 [128], в работе M. You и соавт. был сделан акцент на выздоравливающих пациентах [129], а объектом работы Y. Zheng и соавт. были пациенты разных возрастных групп [130]. В качестве биологических образцов во всех работах были использованы МНПК, преимущества которых для данного типа эксперимента уже обсуждались выше.

Индикатором перехода от врожденного иммунитета к приобретенному является сероконверсия, т. е. появление специфических антител в сыворотке крови, медианное время которой в случае COVID-19 составляет 10 дней [131]. В работе N.S. Giroux и соавт. исследовали доступность хроматина на ранних стадиях заболевания до сероконверсии IgG [83]. Было показано, что наибольшие изменения доступности хроматина происходят по большей части в CD14⁺ моноцитах в генах сигнальных путей интерлейкиновой сигнализации, регуляции клеточной дифференцировки и клеточной морфологии. В этой работе также были выявлены 455 дифференциально доступных областей хроматина, которые статистически значимо различались между пациентами с легкими и умеренными симптомами в субпопуляции CD14⁺ моноцитов до сероконверсии. Более того, авторы посредством анализа корреляций между доступностью мишеней транскрипционных факторов (методом scATAC-seq) и экспрессии соответствующих генов (методом scRNA-seq) выявили сигнальные пути, характерные для двух когорт пациентов с легкими и умеренными симптомами соответственно. Как сообщается в работе [83], для образцов пациентов с легким течением характерна активация классических противовирусных сигнальных путей, включающих транскрипционные факторы IRF7, IRF1 и STAT1. В то время как для образцов пациентов с умеренными симптомами характерна активация транскрипционных факторов CEBPB и KLF3 (регулируют поляризацию моноцитов-макрофагов). Как было показано в этом исследовании, эпигенетические изменения доступности хроматина появляются раньше и сохраняются дольше по сравнению с соответствующими транскрипционными изменениями, что делает их возможными биомаркерами для прогнозирования течения заболевания и формирования иммунного ответа.

В работе M. You и соавт. [129] исследовали профили доступности хроматина пациентов с умеренной или тяжелой формой COVID-19 на 4–12-й нед. после выздоровления (10 пациентов). Авторы идентифицировали основные типы иммунных клеток и показали, что у выздоровевших от COVID-19 пациентов увеличилась доля моноцитарных клеток (в частности CD14⁺ и CD16⁺ моноцитов), субпопуляции CD8⁺ Т-клеток (эффекторных и клеток памяти) и уменьшилась доля популяции В-клеток. Для различных стадий дифференцировки отмеченных выше популяций иммунных клеток был проведен детальный анализ цис- и транс регуляторных элементов, под которыми чаще всего подразумевают промоторы и энхансеры, располагающиеся по отношению к регулируемым генам на тех же или других хромосомах соответственно. В частности, было выявлено, что по мере созревания моноцитов (от обученных к зрелым через состояние активированных) увеличивается доступность хроматина в локусах IL1 β и CCL5. Также авторы обнаружили повышенную доступность мотивов факторов транскрипции IRF1, IRF3 и IRF8 в обученных моноцитах CD14⁺ и доступность мотивов для AP-1 и факторов FOS и JUN в моноцитах на стадиях активации и созревания. По результатам анализа различных клеточных состояний в ходе дифференцировки В-клеток было показано, что при COVID-19 они проходят ускоренную программу развития от незрелых В-клеток до антитело-продуцирующих плазматических клеток. Авторы сравнили доступность хроматина для узнавания транскрипционными факторами в субпопуляциях В-клеток и отметили, что образцы выздоравливающих от COVID-19 имеют ряд особенностей, отличающих их от образцов здоровых доноров, например в них: 1) менее доступен хроматин для узнавания субъединицами транскрипционных факторов семейства NF- κ B, включая REL, RELA и RELB, которые участвуют в поддержании и гомеостазе В-клеток зародышевого центра; 2) хроматин наивных, клеток памяти и плазматических В-клеток более доступен в мотивах узнавания факторами транскрипции семейства AP-1, включая FOS и JUN, которые вовлечены в сигнальный путь рецепторов В-клеток и указывают на их дифференцировку и активацию; 3) в наивных В-клетках увеличена доступность хроматина с мотивами узнавания факторами транскрипции SPI1, EBF1, IRF4 и POU2F2, которые важны для выживания В-клеток, дифференцировки и рецепторной сигнальной реакции. Согласно результатам комплексного анализа активности транскрипционных факторов,

который основывался на доступности хроматина в промоторах генов этих факторов и генов их мишеней во время дифференцировки В-клеток, было показано, что активирующие факторы способствовали поддержанию и гомеостазу В-клеток у здоровых доноров и способствовали активации, дифференциации и рекомбинации переключателей подклассов IgG у пациентов, выздоровевших от COVID-19.

В работе М. You и соавт. [129] также был проведен комплексный анализ CD8⁺ Т-клеток, в результате которого были выявлены изменения паттернов доступности цис-регуляторных элементов эффекторных генов по мере дифференцировки Т-клеток. Например, доступность хроматина в локусах GZMB и IFNG в промоторах и дистальных энхансерах постепенно увеличивалась по мере созревания Т-клеток. Для получения комплексной информации о ландшафте хроматина в иммунных клетках авторы [129] разработали метод TCR–FACS–index–ATAC секвенирование (Ti-ATAC-seq), сочетающий секвенирование Т-клеточных рецепторов (scTCR-seq), сортировку клеток с активированной флуоресценцией (FACS) и ATAC-seq. Методом scTCR-seq авторы оценили скорость клональной экспансии в CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетках и заключили, что именно эффекторные CD8⁺ Т-клетки играют ключевую роль в борьбе с патогеном и в долгосрочной иммунной защите. Применение метода Ti-ATAC-seq позволило показать, что хроматин в клонах CD8⁺ Т-клеток, претерпевших клональную экспансию, доступен для транскрипционных факторов TBET и EOMES, по сравнению с неразмноженными клонами. Данные наблюдения согласуются с показанным методом scATAC-seq результатом о важности этих факторов в развитии CD8⁺ Т-клеток (эффекторных и клеток памяти) у выздоравливающих после COVID-19 пациентов. Суммируя, М. You и соавт. посредством детального анализа эпигеномного ландшафта хроматина лиц, переболевших COVID-19, выявили ключевую роль эффекторных CD8⁺ Т-клеток на начальном этапе контроля инфицирования (до клональной экспансии) и в формировании CD8⁺ Т-клеток памяти посредством глобального ремоделирования доступности хроматина.

Другим примечательным исследованием эпигенетического ландшафта хроматина и транскрипционных профилей в иммунных клетках является работа S. Li и соавт. [128]. Авторы провели анализ доступности хроматина в МНПК в

когортах пациентов со средним и тяжелым течением заболевания и здоровых доноров (по три человека в каждой группе), выявили изменения доли доступных цис-регуляторных элементов в популяциях CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток и построили сети цис-регуляторных взаимодействий. В результате было показано, что некоторые локусы (например, *CCL3*) имели схожие сети регуляции в трех когортах сравнения, а другие (например, *RUNX3* в CD4⁺ Т-клетках) имели различающиеся паттерны взаимодействий с цис-регуляторными элементами. В образцах пациентов с тяжелой симптоматикой мотивы транскрипционных факторов TBX21, NFKB1, TP53, STAT1, MAFK и RUNX3 были менее доступны в CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетках по сравнению с образцами пациентов с умеренными симптомами. Дифференциально различающиеся между когортами пациентов локусы доступного хроматина были проанализированы на обогащение сигнальных путей по базам Gene Ontology и KEGG. Li S. и соавт. показали, что в образцах пациентов с COVID-19 обогащены сигнальные пути MAPK и TNF. Ключевым выводом работы служит предположение о том, что активированное и “воспалительное” состояние Т-клеток (особенно CD8⁺ Т-клеток), связанное со снижением функций CD4⁺ Т-клеток у пациентов с тяжелыми симптомами, может быть основным фактором, определяющим патогенез и выздоровление от COVID-19.

В работе Y. Zheng и соавт. основным фокусом исследования был анализ различий в ландшафте хроматина иммунных клеток у пациентов разных возрастов для выявления причин, по которым пожилые люди более восприимчивы к инфекциям и хуже реагируют на вакцины [130]. Авторы сравнивали образцы МНПК молодых (до 45 лет) и пожилых (старше 60-ти) пациентов с COVID-19 и здоровых доноров методами scRNA-seq, scATAC-seq, масс-цитометрией CyTOF и scTCR/BCR-seq (не все когорты были проанализированы всем набором методов). Однако доступность хроматина была измерена только в образцах здоровых молодых и пожилых доноров. Основные результаты исследования следующие: 1) старение перепрограммирует ландшафт иммунных клеток человека в сторону поляризованного и воспалительного состояния; 2) в процессе старения увеличивается экспрессия генов восприимчивости к SARS-CoV-2 (*CD147*, *CD26* и *ANPEP*, которые могут являться альтернативными клеточными рецепторами для SARS-CoV-2 в иммунных клетках крови, где не экспрессируется ACE2); 3) увеличение поляри-

зации иммунных клеток и воспаление в кровеносном русле при старении может быть усилено вирусной инфекцией COVID-19; 4) возрастные дендритные клетки имеют повышенную экспрессию интерферон-стимулированных генов и сниженную способность презентировать антиген; 5) результаты анализа одноклеточных TCR и BCR показывают, что старение связано с уменьшением разнообразия и увеличением клональности эффекторных, цитотоксических и истощенных подмножеств CD8⁺ Т-клеток и подмножества В-клеток, ассоциированных с возрастом; 6) профили доступности хроматина в единичных иммунных клетках показывают, что наибольшие изменения в процессе старения происходят в областях, кодирующих транскрипционные факторы семейства AP-1, которые дополнительно активируются при COVID-19. Авторы работы [130] также установили, что старение увеличивает экспрессию генов, связанных не только со старением, но и с воспалением и восприимчивостью к SARS-CoV-2 в определенных подтипах клеток. COVID-19, в свою очередь, вызывает изменения ландшафта иммунных клеток, сходные с изменениями при старении, и еще больше усиливает вызванную старением поляризацию иммунных клеток и повышение регуляции генов воспаления.

Таким образом, в результате анализа доступности хроматина в единичных клетках вместе с данными других экспериментальных методов (scRNA-seq, масс-цитометрией CyTOF, FACS, scTCR/BCR-seq) стало возможным детальное описание перепрограммирования ландшафта хроматина в популяциях иммунных клеток крови на разных этапах заболевания COVID-19 у пациентов с симптоматикой разной тяжести.

ИЗМЕНЕНИЕ ГИСТОНОВЫХ МОДИФИКАЦИЙ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ SARS-CoV-2

Эпигенетические механизмы, в частности пост-трансляционные модификации (ПТМ) гистонов, позволяют клеткам реагировать на изменения окружающей среды и посредством изменения профилей экспрессии быстро к ним адаптироваться. В ответ на инфицирование патогенами происходит активация иммунной системы, а изменения в программах экспрессии генов осуществляются в том числе посредством изменения ПТМ гистонов, которые можно проанализировать методом ChIP-seq. Первые работы об иммунном ответе на COVID-19 опи-

сывали изменения экспрессии провоспалительных цитокинов и интерлейкинов (IL2, IL7, IL10, GSCF, IP10, MCP1, MIP1A, TNF α и др.) в плазме крови пациентов с тяжелым течением COVID-19 [132], а более ранние иммунологические исследования сообщали об изменении соотношения меток эу- и гетерохроматина в промоторах провоспалительных генов в иммунных клетках [133, 134].

Одной из первых работ, в которой исследовали уровень метилирования гистонов в МНПК пациентов COVID-19, является работа X. Yang и соавт. [135]. В ней различия в общем уровне метилирования гистонов между донорами и пациентами с COVID-19 на примере наиболее изученных меток, контролирующих экспрессию генов, — H3K4me3 (метка активного промотора) и H3K27me3 (метка факультативного гетерохроматина) не были выявлены. Однако в этой работе были выявлены различия метилирования промоторов микроРНК, в частности miR-146a, miR181a-2 и miR-48. Ранее сообщалось, что экспрессия микроРНК (измеренная методом RNA-seq) различается у пациентов с COVID-19 и доноров [136, 137]. Так, результаты двух экспериментальных методов — RNA-seq [136, 137] и ChIP-seq [135] согласуются и демонстрируют снижение уровня экспрессии микроРНК miR-146a и miR181a-2 и увеличение уровня экспрессии miR-48 у пациентов с COVID-19. miR-146a связывается с мРНК гена *IL-6*, что приводит к репрессии трансляции и уменьшению количества белка IL6. Подавление уровня микроРНК miR-146a, отмеченное у пациентов с COVID-19, по всей видимости, приводит к ингибированию пролиферации моноцитов и способствует ускользанию от иммунологического надзора. Более подробно роль микроРНК в процессе инфицирования SARS-CoV-2 и регуляции лекарственных мишеней для терапии COVID-19 обсуждается в работе [137].

Отдельным любопытным вопросом является переносимость респираторного заболевания COVID-19 пациентами-курильщиками. Как было продемонстрировано в мета-анализе [138] на основе 73 исследований, курение значительно ассоциировано с повышенным риском смерти от COVID-19 (объединенный относительный риск смертности от COVID-19 у курильщиков составляет 1.19%). Стоит отметить, что курение провоцирует экспрессию гена *RIOX2* (также известного как *MDIG*) в легких, который в норме там не экспрессируется [139]. Повышенная экс-

прессия гена *RIOX2*, в свою очередь, ассоциирована с меньшей общей выживаемостью при раке легкого [140]. Продукт гена *RIOX2* является гистоновой деметилазой и стирает метильные метки в позиции H3K9me3 — метки конститутивно гетерохроматина. Но, что интересно, в работе Q. Zhang и соавт. [141] было показано, что экспрессия гена *RIOX2*, вызванная курением, способствует, за счет стирания репрессивных меток активации ряда белков, способствующих инфицированию SARS-CoV-2. В частности, к ним относятся белки NRP1 и NRP2, которые способствуют проникновению SARS-CoV-2 в эпителиальные клетки дыхательных путей за счет связывания с С-концевым мотивом субъединицы 1 спайк-белка, катепсины, протеолитически активирующие спайк-белок и другие белки, белки гликозилирования (гликозилирование белков SARS-CoV-2 необходимо для сборки вириона и способствует защите вируса от иммунного ответа хозяина [142]) и др. Авторы работы [141] показали схожий эффект воздействия мышьяка на экспрессию *RIOX2* и предположили, что *RIOX2* определяет тяжесть COVID-19 в ответ на воздействие факторов окружающей среды, а одной из эффективных стратегий для облегчения симптомов и снижения смертности от COVID-19 может быть терапия, направленная на подавление *RIOX2*.

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ УКЛАДКИ ГЕНОМА ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ SARS-CoV-2

Трехмерная структура генома в клетках эукариот является определяющим фактором для его функционирования, влияет на транскрипцию, рекомбинацию и репарацию ДНК [143]. Недавно влияние SARS-CoV-2 на структуру генома инфицируемых клеток было исследовано с помощью метода захвата конформации хромосом Hi-C 3.0 [144]. В результате данных экспериментов была обнаружена массивированная реструктуризация хроматина хозяина [144].

Во-первых, по результатам анализа главных компонент было зафиксировано изменение распределения по геному А- и В-компарментов, в значительной степени перекрывающихся с транскрипционно активным/неактивным хроматином соответственно. Это изменение сводится к тому, что инфекция SARS-CoV-2 повсеместно ослабляет выраженность А-компармента клеток хозяина, вплоть до полного перевода части его в В-компармент, а так-

же усиливает В-компармент. Примерно 30% всего хроматина в геноме заражаемых клеток (культура клеток человеческой легочной аденокарциномы A549) претерпевала изменения по данному направлению. При этом также было показано увеличение доли гетеротипических межкомпарментных взаимодействий А–В (в том числе между разными хромосомами) за счет уменьшения гомотипических взаимодействий А–А. Расширенные исследования, использовавшие подходы вестерн-блот и ChIP-seq, показали, что эти изменения связаны с двумя процессами, происходящими с хроматином, который вне заражения находится в А-компарменте, а при заражении переходит в В-компармент: заметным снижением уровня метки активного хроматина H3K27ac и умеренным увеличением уровня метки гетерохроматина H3K9me3. Таким образом, SARS-CoV-2 нарушает компарментализацию хроматина хозяина, по крайней мере частично, через перепрограммирование модификаций хроматина.

Во-вторых, было показано, что заражение ведет к снижению количества ближних контактов в пределах топологически ассоциированных доменов (ТАД) при отсутствии статистически достоверного снижения уровня контактов за их пределами.

Наконец, в-третьих, замечено, что заражение ведет к увеличению уровня взаимодействий между хромосомами, а также дальних (>28 Мб) взаимодействий внутри хромосом, что также свидетельствует об изменении структуры хроматина в ходе инфекции. Показано, что эти изменения связаны с изменением внутри ТАДов когезиновых комплексов, их образующих.

Вероятно, все данные изменения направлены на противодействие защите хозяина и облегчение распространения по организму. Дело в том, что, как показали исследования ChIP-seq и RNA-seq, эти изменения происходили в областях регуляции генов воспалительного ответа и напрямую связаны с изменениями их транскрипционной активности. В первую очередь, эти изменения связаны с подавлением экспрессии генов интерферонов, участвующих в борьбе клетки с вирусной инфекцией, а также с активацией экспрессии провоспалительных генов, таких как *IFIT1/2/3/5*, *DDX58* и *IL6*. Авторы работы [144] также отмечают, что другие коронавирусы, например, Human Coronavirus OC43, а также другие индукторы иммунного

ответа, по последним данным, не вызывают подобных изменений. Это свидетельствует о том, что наблюдаемые изменения являются уникальными, вызванными инфекцией SARS-CoV-2, и не связаны с врожденной иммунной сигнализацией или вирусной инфекцией как таковой. Знания о данной реструктуризации при заражении важны для понимания эпигенетических изменений в организме хозяина и для облегчения дальнейших исследований последствий вирусных инфекций. Дело в том, что эти знания, а также знания о том, какие белки используются вирусом, позволяют построить механистические модели вирусного патогенеза. В частности, предполагается, что SARS-CoV-2 оказывает следующие воздействия на геном: мимикрирует под гистон H3 и направляет на себя некоторые модификации, которые в норме приводили бы к активации тех или иных генов, что ослабляет А-компарменты (см. следующий раздел), истощает каким-то образом когезиновый комплекс по всему геному, но избирательно только из областей внутри ТАДов. При этом эти изменения перекликаются с дерегуляцией экспрессии генов иммунного ответа. Предполагается, что эта дерегуляция связана с тем, что контакты внутри ТАДов ввиду истощения когезинового комплекса ослабляются и происходит ослабление контактов энхансер–промотор, которые важны для активации генов интерферонов. Активация же генов воспалительного ответа опосредуется, видимо, избирательным внесением модификации H3K4me3 в области промоторов этих генов [145]. Тем не менее механизмы данной избирательности еще только предстоит выяснить. В одной из последующих работ было выяснено, что изменения в архитектуре хроматина играют роль в наступлении и восстановлении anosмии — одного из симптомов ранней стадии инфекции COVID-19 [146]. Дело в том, что при инфицировании вирус в числе прочего поражает обонятельные нейроны-рецепторы, где, как показано при помощи анализа Hi-C в сочетании с оригинальной вычислительной техникой реконструкции хроматинового ансамбля в обонятельных рецепторах, в результате описанных выше изменений структура хроматина модифицируется так, что это вызывает дисфункцию обонятельных рецепторов. Тем не менее для полного понимания изменения укладки хроматина в различных клетках требуются дополнительные исследования, в частности основанные на 3D-реконструкциях с улучшенным разрешением.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ХРОМАТИНА ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ SARS-CoV-2

Молекулярные механизмы, которые стоят за изменениями, описанными в предыдущем разделе, пока что не являются окончательно определенными. Тем не менее в настоящее время наметился определенный прогресс в данной области. В частности, показано, что геном SARS-CoV-2 содержит в своем составе ген белка ORF8, который мимикрирует под критически важную в регуляции транскрипции N-концевую область человеческого гистона H3 [147]. При этом биоинформатический анализ показал, что наличие мимиков гистонов заражаемых клеток — это особенность, отличающая SARS-CoV-2 от других коронавирусов. Во время инфекции ORF8 высоко экспрессируется в клетке-хозяине, причем на более высоких уровнях, чем сам гистон H3. При этом, как показал протеомный анализ, ORF8 связывает ДНК-метилтрансферазу 1 (DNMT1). То, что ORF8 работает, конкурируя с гистонами, доказывается следующими фактами: 1) он имеет ядерную локализацию при трансфекции клеток HEK 293T конструкцией, кодирующей Strep-меченый ORF8, при этом он колокализуется с белками ядерной ламины; 2) он связан с хроматином, так как он диссоциирует от фракции хроматина при ионной силе, аналогичной той, при которой диссоциируют белки ламины и гистоны; 3) биоинформатически выявляемый сайт мимикрии влияет на сродство к хроматину, так как при его делеции константа диссоциации его от хроматина резко повышается; 4) он связывается с геномной ДНК в определенных геномных регионах, особенно в тех, которые связаны с H3K27me3, что доказывается методом иммунопреципитации хроматина ChIP-seq. Кроме того, показано, что ORF8 ассоциируется с ламинем B1, гистонами H3 и HP1α, белком, ассоциированным как с белками ламины, так и с гистонами. Наконец, показано, что ORF8 связывается с гистон-модифицирующими ферментами, которые нацелены на тот мотив в гистоне H3, под который ORF8 мимикрирует. Речь идет, например, про ацетилтрансферазу KAT2A, нацеленную на H3K9. Метод масс-спектрометрии с параллельным мониторингом реакции (LC-PRM-MS) при этом показал, что данный фермент может беспрепятственно модифицировать ORF8 по аналогии с тем, как он модифицирует H3. Наконец, показано, что экспрессия ORF8 ведет к заметному снижению уровня KAT2A в клетке. Эти данные свидетельствуют о том, что ORF8 не только связывается с такими белками, как ацетилтранс-

феразы, но и, вероятно, модифицируется ими подобно гистону H3 и вызывает их деградацию. В совокупности эти результаты показывают, что ORF8 может выступать в качестве мимика гистона на основе своей ассоциации с хроматином и хроматин-модифицирующими ферментами и способности истощать гистоновую ацетилтрансферазу KAT2A. Дальнейшие исследования показали, что экспрессия ORF8 нарушает собственные гистоновые модификации в хроматине. В частности, при помощи масс-спектрометрии, иммунохимии и ряда других подходов показано, что в клетках, трансфицированных геном *ORF8*, наблюдается общее повышение уровня модификаций, связанных с транскрипционной репрессией, и понижение уровня модификаций, связанных с транскрипционной активацией. Так, были повышены уровни метилированных H3K9 и H3K27, а также снижены уровни ацетилированных H3K9 и H3K14. При этом ORF8 с делетированным участком мимикрии не демонстрирует данных особенностей влияния на модификации гистонов. Эти данные показывают, что ORF8 способен нарушать регуляцию модификаций гистонов в многочисленных критических местах, при этом в данном процессе участвует участок мимикрии. Применение метода RNA-seq показало, что эти изменения влияют на паттерны дифференциальной экспрессии в сторону снижения экспрессии исходно высоко экспрессируемых генов. Аналогичные с результатами, полученными при трансфекции гена *ORF8*, данные демонстрируются и при вирусной инфекции вирусом с делецией и без делеции в гене *ORF8* в клетках культуры A549, обогащенных ACE2. Это свидетельствует о том, что именно *ORF8* отвечает за описываемые изменения в ходе вирусной инфекции. Показано также, что ORF8 имеет и другие функции, не связанные с мимикрией гистонов, тем не менее эти функции уже не являются предметом данного обзора. Так или иначе, функциональный ORF8 посредством мимикрии под гистон H3 дестабилизирует внутренние регуляторные пути, связанные с эпигенетическим контролем, и тем самым меняет паттерн модификации гистонов в клетках, что напрямую связано с тяжестью заболевания, в частности — с блокировкой путей защиты клеток от инфекции [147].

Помимо ORF8, как выяснилось, в патогенезе участвует главная протеиназа Mpro, которая расщепляет деацетилазу гистонов и тем самым ведет к снижению экспрессии генов интерферонового ответа через изменение доступности хромати-

на [148]. Тем не менее есть ряд генов, которые очень важны для инфекции, а потому снижение их транскрипционной активности в ходе инфекции недопустимо. Чтобы выявить данные гены, Х.Н. Танг и соавт. перед заражением проводили нокаут ряда генов посредством системы Cas9 с гРНК, нацеленной на каждый из генов, который не репрессировался в ходе инфекции. Работу проводили на органоидных моделях тканей респираторного отдела, воздухопроводящих путей и сердца взрослого человека, полученных из индуцированных плюрипотентных клеток человека, заражаемых вирусом [53]. Показано, что важную роль в вирусной инфекции играют гены *ACE2*, *IFN1*, *CIART*, *FOS*, *JUN*, *EGR1*, *H2AC6* и т.д. Наибольшую устойчивость к вирусу клетки приобретали при нокауте гена *CIART*. Это — регулятор, который в норме выступает как регулятор циркадно-часовой петли обратной связи. Как оказалось, этот ген играет роль и в других вирусных инфекциях. Дело в том, что “выключение” этого гена снижает синтез жирных кислот, а это очень критично для вируса.

Описываемые перестройки, вызванные ORF8 и Mpro, — это не единственные варианты регуляции транскрипционной активности, опосредованные SARS-CoV-2. Так, показано, что вирус способен к модуляции экспрессии генов хозяина через изменение активности транспозонов [149]. Если конкретнее, он изменяет уровень транскриптов ретротранспозонов (например, *HERV* и *LINE-1*) в клетке, причем в случае разных транспозонов — в разные стороны. Это показал анализ данных из клеточных линий и первичных образцов пациентов. Это ведет к тому, что транспозоны активнее встраиваются в гены, вовлеченные в иммунный ответ, и это снижает уровень активности соответствующих белков. Другие вирусы, например MERS-CoV, вирус гриппа А, вирус парагриппа человека типа 3 и пр., также влияют на экспрессию транспозонов, причем иначе, чем SARS-CoV-2. Дифференциальная экспрессия транспозонов является видоспецифичной для вирусов. Механизм регуляции до конца непонятен, но известно, что, согласно данным ChIP-seq, имеет место накопление H3K27Ac перед дифференциально экспрессируемыми в ходе инфекции SARS-CoV-2 транспозонами, а также связывание их с активирующими транс-факторами, включая компоненты сигналинга NF-κB. Индукция ретроэлементов имеет тканевую специфичность, однако однозначно коррелирует с заболеванием. В целом дифференциальная экспрессия транспозонов после вирусных ин-

фекций может дать представление о патогенезе заболевания и уникальных вирусных метках в вирусной диагностике [149]. Помимо транспозонов и генов иммунного ответа были обнаружены и иные регуляторные гены, которые обязательно ингибируются или активируются в ответ на инфекцию через изменение доступности хроматина. В частности, показано, что за счет данных регуляторных событий в клетках повышается уровень экспрессии генов *ACE2* и *TMPRSS2*, которые участвуют напрямую в инфекции [150], через изменение экспрессии их регуляторов, действующих через цис-регуляторные элементы. Знания об этом позволяют разрабатывать новые терапевтические стратегии против инфекции SARS-CoV-2.

Еще один из механизмов, связанных с тяжестью инфекции и завязанных на ремоделировании хроматина, — это механизм, связанный с активностью комплексов mSWI/SNF (SWItch/Sucrose Non-Fermentable), которые осуществляют ремоделирование хроматина млекопитающих, а именно — канонических комплексов BRG1/BRM-ассоциированного фактора (сBAF) [151]. Все комплексы mSWI/SNF содержат АТ-Фазную субъединицу, SMARCA4 или SMARCA2 (они также известны как BRG1 и BRM соответственно), и целый ряд общих и специфических для конкретного комплекса субъединиц, обеспечивающих специфичность регуляции транскрипции. Так, активность SMARCA4 в ряде комплексов в ряде клеток повышает в числе прочего доступность хроматина в локусе *ACE2* и тем самым опосредует восприимчивость к вирусу. Происходит это путем АТФ-зависимой репозиции нуклеосом в определенных частях генома, определяемых дифференцировкой клеток, что делает инициацию транскрипции в этих местах более вероятным процессом. Сами же комплексы mSWI/SNF рекрутируются в энхансеры *ACE2* транс-факторами HNF1A/B. Ингибиторы АТ-Фазы mSWI/SNF подавляют экспрессию ангиотензин-превращающего фермента 2 (*ACE2*) и придают устойчивость к SARS-CoV-2. Иными словами, данный механизм повышения вирулентности SARS-CoV-2, завязанный на хроматине, скорее основан на вероятном заражении клеток с определенными модификациями хроматина. Эти данные определяют потенциальный класс противовирусных препаратов, которые повышают устойчивость к вирусу через временное блокирование экспрессии *ACE2* в клетках человека за счет модуляции работы ремоделлеров хроматина.

Наконец, по-видимому существует еще один механизм, который основан на общеизвестном механизме образования телец Барра — гетерохроматиновых конструкций на базе одной из двух X-хромосом у женщин — в каждой клетке. Известно, что тяжелая форма COVID-19 возникает при прочих равных условиях чаще у мужчин, чем у женщин. Одно из объяснений может заключаться в том, что на X-хромосоме находится ген *TLR7*, опосредующий интерфероновые ответы, помогающие в борьбе с вирусом. У мужчин по сравнению с женщинами чаще наблюдается фенотипически проявляющая себя дерегуляция данного гена, что является предпосылкой к развитию тяжелой формы COVID-19. Связано это с тем, что нарушения в этом гене у мужчин более критичны, так как у них существует одна копия X-хромосомы и нет механизма дозовой компенсации экспрессии X-сцепленных генов, а у женщин копий X-хромосомы две и механизм дозовой компенсации экспрессии X-сцепленных генов, выражающийся в образовании телец Барра, есть [152].

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ГИСТОНЫ

В качестве еще одного молекулярного механизма патогенеза COVID-19 отметим роль гистонов вне клеточного ядра. Одной из стратегий врожденного иммунитета является формирование внеклеточных ловушек, которые формируются иммунными клетками моноцитами/макрофагами и нейтрофилами. Эти клетки выбрасывают во внеклеточное окружение ДНК, гистоны, некоторые белки и ферменты (например, эластаза нейтрофилов), которые образуют трехмерную паутинообразную сеть, задерживающую патогены [153]. Большую часть белков (порядка 70%) НВЛ составляют внеклеточные гистоны, которые оказывают цитотоксическое действие через разрушение мембраны, повышение внутриклеточного кальция, активацию Toll-подобных рецепторов, инфламмосомы и системы комплемента. В ряде исследований сообщалось о нахождении НВЛ в образцах пациентов с COVID-19 [154] (в том числе с тяжелой формой [155, 156]). В мета-обзоре [157] было отмечено, что повышенная концентрация гистонов в крови наблюдается у пациентов с неблагоприятными клиническими исходами. W. Hong и соавт. с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса показали, что гистоны H3 и H4, входящие в состав НВЛ, могут связываться избирательно с субъединицей 2 спайк-белка (S) и это усиливает инфекционность SARS-CoV-2,

что нетипично по сравнению с иными вирусными инфекциями. Судя по всему, гистон образует мостик между сиаловой кислотой на клетках хозяина и спайк-белком SARS-CoV-2, что способствует слиянию мембран и инфицированию вирусом [158]. Существуют данные, которые свидетельствуют о том, что вирус может в некоторых случаях специально провоцировать нетоз путем повышения цитруллинированного гистона H3 в нейтрофилах — инициатора образования НВЛ, тем самым утяжеляя ход инфекции. Считается, что это связано с активацией PAD4, собственного фермента нейтрофилов, который отвечает за образование цитруллинированной модификации H3. Тем не менее пока что не ясно, опосредуется ли активация PAD4 непосредственно инфекцией нейтрофилов SARS-CoV-2 или же он связан с “цитокиновым штормом”, который при инфекции также может происходить [159].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Понимание молекулярных механизмов патогенеза COVID-19 явилось значительным вызовом для современной науки. Однако впервые у ученых были в распоряжении столь продвинутые методы исследования из областей структурной биологии, геномики, молекулярной и клеточной биологии, а также доступ к большому количеству образцов. В настоящем обзоре на примере изучения COVID-19 и вируса SARS-CoV-2 продемонстрированы возможности современного анализа структуры и динамики хроматина и роль изменений в хроматине в патогенезе этого заболевания. Изменения в структуре хроматина происходят как в иммунных клетках, которые активируются в ответ на инфекцию, так и в инфицируемых клетках. В инфицируемых клетках изменения в структуре хроматина не только опосредуют клеточный ответ на инфекцию, но и вызываются и модулируются самим вирусом с помощью ряда белков, кодируемых вирусом. Хотя на сегодняшний момент полностью не поняты все механизмы взаимодействия вирусов с эпигенетической машиной клеток, дальнейшие исследования в данном направлении будут способствовать пониманию патогенеза заболевания и совершенствованию методик лечения.

Работа поддержана в рамках научной темы Министерства науки и высшего образования Российской Федерации “Полногеномный эпигенетический анализ как основа разработки генетических технологий профилактики и терапии ковида” (FFRW-2023-0007), регистрационный

номер 123120500032-9, а также Российским Научным Фондом (грант номер 19-74-30003, в части анализа молекулярных механизмов модуляции работы хроматина), грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2021-1062 (в части методов изучения трехмерной структуры хроматина). А.К. Грибкова благодарит за поддержку Некоммерческий Фонд развития науки и образования “Интеллект”.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard [Electronic resource]. URL: <https://covid19.who.int> (accessed: 01.06.2023)
2. Cases, data, and surveillance [Electronic resource] // Centers for Disease Control and Prevention. 2020. URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/burden.html> (accessed: 01.06.2023)
3. Jackson C.B., Farzan M., Chen B. et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2022. V. 23. № 1. P. 3–20. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x>
4. Jamison D.A., Anand Narayanan S., Trovão N.S. et al. A comprehensive SARS-CoV-2 and COVID-19 review, Part 1: Intracellular overdrive for SARS-CoV-2 infection // Eur. J. Hum. Genet. 2022. V. 30. № 8. P. 889–898. <https://doi.org/10.1038/s41431-022-01108-8>
5. Singh K.K., Chaubey G., Chen J.Y. et al. Decoding SARS-CoV-2 hijacking of host mitochondria in COVID-19 pathogenesis // Am. J. Physiol.-Cell Physiol. 2020. V. 319. № 2. P. C258–C267. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00224.2020>
6. Tsai K., Cullen B.R. Epigenetic and epitranscriptomic regulation of viral replication: 10 // Nat. Rev. Microbiol. Nature Publ. Group, 2020. V. 18. № 10. P. 559–570. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0382-3>
7. Zhang Q., Cao X. Epigenetic regulation of the innate immune response to infection: 7 // Nat. Rev. Immunol. Nature Publ. Group, 2019. V. 19. № 7. P. 417–432. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0151-6>
8. Chu H., Chan J.F.-W., Yuen T.T.-T. et al. Comparative tropism, replication kinetics, and cell damage profiling of SARS-CoV-2 and SARS-CoV with implications

- for clinical manifestations, transmissibility, and laboratory studies of COVID-19: An observational study // *Lancet Microbe*. 2020. V. 1. № 1. P. e14–e23. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30004-5](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30004-5)
9. Fogh J., Fogh J.M., Orfeo T. One hundred and twenty-seven cultured human tumor cell lines producing tumors in nude mice // *J. Natl. Cancer Inst.* 1977. V. 59. № 1. P. 221–226. <https://doi.org/10.1093/jnci/59.1.221>
 10. Coimbra L.D., Borin A., Fontoura M. et al. Identification of compounds with antiviral activity against SARS-CoV-2 in the MMV pathogen box using a phenotypic high-throughput screening assay // *Front. Virol.* 2022. V. 2: 854363.
 11. Arslan M., Xu B., Gamal El-Din M. Transmission of SARS-CoV-2 via fecal-oral and aerosols-borne routes: environmental dynamics and implications for wastewater management in underprivileged societies // *Sci. Total Environ.* 2020. V. 743. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140709>
 12. Kipkorir V., Cheruiyot I., Ngure B. et al. Prolonged SARS-CoV-2 RNA detection in anal/rectal swabs and stool specimens in COVID-19 patients after negative conversion in nasopharyngeal RT-PCR test // *J. Med. Virol.* 2020. V. 92. № 11. P. 2328–2331. <https://doi.org/10.1002/jmv.26007>
 13. Zhang H., Kang Z., Gong H. et al. Digestive system is a potential route of COVID-19: An analysis of single-cell coexpression pattern of key proteins in viral entry process // *Gut*. 2020. V. 69. № 6. P. 1010–1018. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-320953>
 14. Cinatl J., Hoever G., Morgenstern B. et al. Infection of cultured intestinal epithelial cells with severe acute respiratory syndrome coronavirus // *Cell. Mol. Life Sci.* 2004. V. 61. № 16. P. 2100–2112. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4222-9>
 15. Bojkova D., Klann K., Koch B. et al. Proteomics of SARS-CoV-2-infected host cells reveals therapy targets // *Nature*. 2020. V. 583. № 7816. P. 469–472. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2332-7>
 16. Nakabayashi H., Taketa K., Miyano K. et al. Growth of human hepatoma cells lines with differentiated functions in chemically defined medium // *Cancer Res.* 1982. V. 42. № 9. P. 3858–3863
 17. Zhou F., Xia J., Yuan H.-X. et al. Liver injury in COVID-19: Known and unknown // *World J. Clin. Cases*. 2021. V. 9. № 19. P. 4980–4989. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v9.i19.4980>
 18. Wanner N., Andrieux G., Badia-i-Mompel P. et al. Molecular consequences of SARS-CoV-2 liver tropism: 3 // *Nat. Metab.* *Nature Publ. Group*, 2022. V. 4. № 3. P. 310–319. <https://doi.org/10.1038/s42255-022-00552-6>
 19. Rio D.C., Clark S.G., Tjian R. A mammalian host-vector system that regulates expression and amplification of transfected genes by temperature induction // *Science*. 1985. V. 227. № 4682. P. 23–28. <https://doi.org/10.1126/science.2981116>
 20. DuBridge R.B., Tang P., Hsia H.C. et al. Analysis of mutation in human cells by using an Epstein-Barr virus shuttle system // *Mol. Cell. Biol.* 1987. V. 7. № 1. P. 379–387. <https://doi.org/10.1128/mcb.7.1.379-387.1987>
 21. Pear W.S., Nolan G.P., Scott M.L. et al. Production of high-titer helper-free retroviruses by transient transfection // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1993. V. 90. № 18. P. 8392–8396. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.18.8392>
 22. Graham F.L., Smiley J., Russell W.C. et al. Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5 // *J. Gen. Virol.* 1977. V. 36. № 1. P. 59–74. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-36-1-59>
 23. Martin-Sancho L., Lewinski M.K., Pache L. et al. Functional landscape of SARS-CoV-2 cellular restriction // *Mol. Cell*. 2021. V. 81. № 12. P. 2656–2668.e8. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.04.008>
 24. Weston S., Coleman C.M., Haupt R. et al. Broad anti-coronavirus activity of Food and Drug Administration-approved drugs against SARS-CoV-2 in vitro and SARS-CoV in vivo // *J. Virol.* 2020. V. 94. № 21. <https://doi.org/10.1128/JVI.01218-20>
 25. Xie X., Muruato A.E., Zhang X. et al. A nanoluciferase SARS-CoV-2 for rapid neutralization testing and screening of anti-infective drugs for COVID-19 // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. № 1. P. 5214. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19055-7>
 26. Lednický J.A., Wyatt D.E., Lednický J.A. et al. The art of animal cell culture for virus isolation // *Biomedical Tissue Culture*. IntechOpen, 2012. <https://doi.org/10.5772/51215>
 27. Blanco-Melo D., Nilsson-Payant B.E., Liu W.-C. et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19 // *Cell*. 2020. V. 181. № 5. P. 1036–1045.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.026>
 28. Gamage A.M., Tan K.S., Chan W.O.Y. et al. Infection of human Nasal Epithelial Cells with SARS-CoV-2 and a 382-nt deletion isolate lacking ORF8 reveals similar viral kinetics and host transcriptional profiles // *PLoS Pathog. Publ. Library Science*. 2020. V. 16. № 12. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009130>
 29. de Jong P.M., van Sterkenburg M.A., Kempenaar J.A. et al. Serial culturing of human bronchial epithelial cells derived from biopsies // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.* 1993. V. 29A. № 5. P. 379–387. <https://doi.org/10.1007/BF02633985>
 30. de Jong P.M., van Sterkenburg M.A., Hesselink S.C. et al. Ciliogenesis in human bronchial epithelial cells cultured at the air-liquid interface // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1994. V. 10. № 3. P. 271–277. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.10.3.8117445>
 31. Crystal R.G., Randell S.H., Engelhardt J.F. et al. Airway epithelial cells: Current concepts and challenges //

- Proc. Am. Thorac. Soc. 2008. V. 5. № 7. P. 772–777. <https://doi.org/10.1513/pats.200805-041HR>
32. *Jonsdottir H.R., Dijkman R.* Coronaviruses and the human airway: A universal system for virus-host interaction studies // *Virol. J.* 2016. V. 13. № 1. P. 24. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0479-5>
 33. *Fulcher M.L., Gabriel S., Burns K.A. et al.* Well-differentiated human airway epithelial cell cultures // *Methods Mol. Med.* 2005. V. 107. P. 183–206. <https://doi.org/10.1385/1-59259-861-7:183>
 34. *S Banach B., Orenstein J.M., Fox L.M. et al.* Human airway epithelial cell culture to identify new respiratory viruses: coronavirus NL63 as a model // *J. Virol. Methods.* 2009. V. 156. № 1–2. P. 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.10.022>
 35. *de Araújo-Souza P.S., Hanschke S.C.H., Viola J.P.B.* Epigenetic control of interferon-gamma expression in CD8 T cells // *J. Immunol. Res.* 2015. V. 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/849573>
 36. *Qian Z., Travanty E.A., Oko L. et al.* Innate immune response of human alveolar type II cells infected with severe acute respiratory syndrome-coronavirus // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2013. V. 48. № 6. P. 742–748. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-0339OC>
 37. *Zhu N., Zhang D., Wang W. et al.* A Novel Coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 382. № 8. P. 727–733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>
 38. *Lukassen S., Chua R.L., Trefzer T. et al.* SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells // *EMBO J.* 2020. V. 39. № 10. <https://doi.org/10.15252/embj.20105114>
 39. *Do T.N.D., Donckers K., Vangeel L. et al.* A robust SARS-CoV-2 replication model in primary human epithelial cells at the air liquid interface to assess antiviral agents // *Antiviral Res.* 2021. V. 192. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2021.105122>
 40. *Ryu G., Shin H.-W.* SARS-CoV-2 infection of airway epithelial cells // *Immune Netw.* 2021. V. 21. № 1. <https://doi.org/10.4110/in.2021.21.e3>
 41. *Kohli A., Sauerhering L., Fehling S.K. et al.* Proteomic landscape of SARS-CoV-2- and MERS-CoV-infected primary human renal epithelial cells // *Life Sci. Alliance.* 2022. V. 5. № 5. <https://doi.org/10.26508/lsa.202201371>
 42. *Eriksen A.Z., Møller R., Makovoz B. et al.* SARS-CoV-2 infects human adult donor eyes and hESC-derived ocular epithelium // *Cell Stem Cell.* 2021. V. 28. № 7. P. 1205–1220.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.04.028>
 43. *Szlachcic W.J., Dabrowska A., Milewska A. et al.* SARS-CoV-2 infects an in vitro model of the human developing pancreas through endocytosis // *iScience.* 2022. V. 25. № 7. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104594>
 44. *Ackermann M., Verleden S.E., Kuehnle M. et al.* Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19 // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 383. № 2. P. 120–128. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2015432>
 45. *Fosse J.H., Haraldsen G., Falk K. et al.* Endothelial cells in emerging viral infections // *Front. Cardiovasc. Med.* 2021. V. 8. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.619690>
 46. *Schimmel L., Chew K.Y., Stocks C.J. et al.* Endothelial cells are not productively infected by SARS-CoV-2 // *Clin. Transl. Immunol.* 2021. V. 10. № 10. <https://doi.org/10.1002/cti2.1350>
 47. *Ma-Lauer Y., Carbajo-Lozoya J., Hein M.Y. et al.* p53 down-regulates SARS coronavirus replication and is targeted by the SARS-unique domain and PLpro via E3 ubiquitin ligase RCHY1 // *Proc. Natl Acad. Sci. U S A.* 2016. V. 113. № 35. P. E5192–E5201. <https://doi.org/10.1073/pnas.1603435113>
 48. *McCauley H.A., Wells J.M.* Pluripotent stem cell-derived organoids: Using principles of developmental biology to grow human tissues in a dish // *Dev. Camb. Engl.* 2017. V. 144. № 6. P. 958–962. <https://doi.org/10.1242/dev.140731>
 49. *Duan X., Tang X., Nair M.S. et al.* An airway organoid-based screen identifies a role for the HIF1 α -glycolysis axis in SARS-CoV-2 infection // *Cell Rep.* 2021. V. 37. № 6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109920>
 50. *Han Y., Duan X., Yang L. et al.* Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids // *Nature.* 2021. V. 589. № 7841. P. 270–275. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2901-9>
 51. *Jacob F., Pather S.R., Huang W.-K. et al.* Human pluripotent stem cell-derived neural cells and brain organoids reveal SARS-CoV-2 neurotropism predominates in choroid plexus epithelium // *Cell Stem Cell.* 2020. V. 27. № 6. P. 937–950. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.016>
 52. *Pei R., Feng J., Zhang Y. et al.* Host metabolism dysregulation and cell tropism identification in human airway and alveolar organoids upon SARS-CoV-2 infection // *Protein Cell.* 2021. V. 12. № 9. P. 717–733. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00811-w>
 53. *Tang X., Xue D., Zhang T. et al.* A multi-organoid platform identifies CIART as a key factor for SARS-CoV-2 infection // *Nat. Cell Biol.* 2023. V. 25. № 3. P. 381–389. <https://doi.org/10.1038/s41556-023-01095-y>
 54. *Pontelli M.C., Castro Í.A., Martins R.B. et al.* SARS-CoV-2 productively infects primary human immune system cells in vitro and in COVID-19 patients // *J. Mol. Cell Biol.* 2022. V. 14. № 4. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjac021>
 55. *Shen X.-R., Geng R., Li Q. et al.* ACE2-independent infection of T lymphocytes by

- SARS-CoV-2: 1 // Signal Transduct. Target. Ther. Nature Publ. Group, 2022. V. 7. № 1. P. 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00919-x>
56. Trojanowicz B., Ulrich C., Kohler F. et al. Monocytic angiotensin-converting enzyme 2 relates to atherosclerosis in patients with chronic kidney disease // Nephrol. Dial. Transplant. 2017. V. 32. № 2. P. 287–298. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfw206>
 57. Song X., Hu W., Yu H. et al. Little to no expression of angiotensin-converting enzyme-2 on most human peripheral blood immune cells but highly expressed on tissue macrophages // Cytom. Part J. Int. Soc. Anal. Cytol. 2023. V. 103. № 2. P. 136–145. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.24285>
 58. Guha P., Das A., Dutta S. et al. A rapid and efficient DNA extraction protocol from fresh and frozen human blood samples // J. Clin. Lab. Anal. 2018. V. 32. № 1. <https://doi.org/10.1002/jcla.22181>
 59. Definition of immune cell – NCI Dictionary of cancer terms – NCI [Electronic resource]: nciAppModulePage. 2011. URL: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/immune-cell> (accessed: 01.06.2023)
 60. Schreier S., Triampo W. The Blood circulating rare cell population. What is it and what is it good for? // Cells. Multidisciplinary Digital Publ. Institute, 2020. V. 9, № 4. <https://doi.org/10.3390/cells9040790>
 61. Wright D.E., Wagers A.J., Gulati A.P. et al. Physiological migration of hematopoietic stem and progenitor cells // Science. 2001. V. 294. № 5548. P. 1933–1936. <https://doi.org/10.1126/science.1064081>
 62. Schreier S., Borwornpinyo S., Udomsangpetch R. et al. An update of circulating rare cell types in healthy adult peripheral blood: Findings of immature erythroid precursors // Ann. Transl. Med. 2018. V. 6. № 20. P. 406. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.10.04>
 63. Levine R.F., Eldor A., Shoff P.K. et al. Circulating megakaryocytes: delivery of large numbers of intact, mature megakaryocytes to the lungs // Eur. J. Haematol. 1993. V. 51. № 4. P. 233–246. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.1993.tb00637.x>
 64. Bethel K., Lutgen M.S., Damani S. et al. Fluid phase biopsy for detection and characterization of circulating endothelial cells in myocardial infarction // Phys. Biol. 2014. V. 11. № 1. <https://doi.org/10.1088/1478-3975/11/1/016002>
 65. Воробьев А.И., Бриллиант М.Д., Савченко В.Г. Острые лейкозы // Руководство по гематологии. В 3 томах. Т. 1. М.: ООО “Медико-технологическое предприятие “Ньюдиамед”, 2022. P. 175–241
 66. Suga H., Rennert R.C., Rodrigues M. et al. Tracking the elusive fibrocyte: Identification and characterization of collagen-producing hematopoietic lineage cells during murine wound healing // Stem Cells Dayt. Ohio. 2014. V. 32. № 5. P. 1347–1360. <https://doi.org/10.1002/stem.1648>
 67. Heukels P., van Hulst J. A. C., van Nimwegen M. et al. Fibrocytes are increased in lung and peripheral blood of patients with idiopathic pulmonary fibrosis // Respir. Res. 2018. V. 19. № 1. P. 90. <https://doi.org/10.1186/s12931-018-0798-8>
 68. Buenrostro J.D., Giresi P.G., Zaba L.C. et al. Transposition of native chromatin for multimodal regulatory analysis and personal epigenomics // Nat. Methods. 2013. V. 10. № 12. P. 1213–1218. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2688>
 69. Sollberger G., Tilley D.O., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: the biology of chromatin externalization // Dev. Cell. 2018. V. 44. № 5. P. 542–553. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.01.019>
 70. Neubert E., Meyer D., Rocca F. et al. Chromatin swelling drives neutrophil extracellular trap release: 1 // Nat. Commun. Nature Publ. Group, 2018. V. 9. № 1. P. 3767. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06263-5>
 71. How do granulocytes affect my ATAC (standalone or multiome) data? [Electronic resource] // 10X Genomics. URL: <https://kb.10xgenomics.com/hc/en-us/articles/360046631331-How-do-granulocytes-affect-my-ATAC-standalone-or-Multiome-data-> (accessed: 31.05.2023)
 72. Dagur P.K., McCoy J.P. Collection, storage, and preparation of human blood cells // Curr. Protoc. Cytom. 2015. V. 73. P. 5.1.1–5.1.16. <https://doi.org/10.1002/0471142956.cy0501s73>
 73. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g // Scand. J. Clin. Lab. Investig. Suppl. 1968. V. 97. P. 77–89.
 74. Dainiak M.B., Kumar A., Galaev I.Yu. et al. Methods in cell separations // Cell separation: fundamentals, analytical and preparative methods / ed. Kumar A., Galaev I.Y., Mattiasson B. Berlin; Heidelberg: Springer, 2007. P. 1–18. https://doi.org/10.1007/10_2007_069
 75. Zaret K. Micrococcal nuclease analysis of chromatin structure // Curr. Protoc. Mol. Biol. 2005. Chapter 21. P. Unit 21.1. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb2101s69>
 76. Pajoro A., Muiño J.M., Angenent G.C. et al. Profiling nucleosome occupancy by MNase-seq: Experimental protocol and computational analysis // Methods Mol. Biol. 2018. V. 1675. P. 167–181. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7318-7_11
 77. Chung H.-R., Dunkel I., Heise F. et al. The effect of micrococcal nuclease digestion on nucleosome positioning data // PloS One. 2010. V. 5. № 12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015754>
 78. Boyle A.P., Davis S., Shulha H.P. et al. High-resolution mapping and characterization of open chromatin across

- the genome // *Cell*. 2008. V. 132. № 2. P. 311–322. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.014>
79. Levy A., Noll M. Chromatin fine structure of active and repressed genes // *Nature*. 1981. V. 289, № 5794. P. 198–203. <https://doi.org/10.1038/289198a0>
 80. Song L., Crawford G.E. DNase-seq: A high-resolution technique for mapping active gene regulatory elements across the genome from mammalian cells // *Cold Spring Harb Protoc*. 2010. № 1559-6095 (Electronic). P. pdb.prot5384. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5384>
 81. Goryshin I.Y., Reznikoff W.S. Tn5 in vitro transposition // *J. Biol. Chem*. 1998. V. 273. № 13. P. 7367–7374. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.13.7367>
 82. Adey A., Morrison H.G., Asan et al. Rapid, low-input, low-bias construction of shotgun fragment libraries by high-density in vitro transposition // *Genome Biol*. 2010. V. 11. № 12. P. R119. <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-12-r119>
 83. Giroux N.S., Ding S., McClain M.T. et al. Differential chromatin accessibility in peripheral blood mononuclear cells underlies COVID-19 disease severity prior to seroconversion: 1 // *Sci. Rep. Nature Publ. Group*, 2022. V. 12. № 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15668-8>
 84. Simon J.M., Giresi P.G., Davis I.J. et al. Using formaldehyde-assisted isolation of regulatory elements (FAIRE) to isolate active regulatory DNA // *Nat. Protoc*. 2012. V. 7. № 2. P. 256–267. <https://doi.org/10.1038/nprot.2011.444>
 85. Luger K., Mäder A.W., Richmond R.K. et al. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution // *Nature*. 1997. V. 389. № 6648. P. 251–260. <https://doi.org/10.1038/38444>
 86. Bulyk M.L. Integrative functional genomics // *Genome Biol*. 2004. V. 5. № 7. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-7-331>
 87. Garvie C.W., Wolberger C. Recognition of specific DNA sequences // *Mol. Cell*. 2001. V. 8. № 5. P. 937–946. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(01\)00392-6](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(01)00392-6)
 88. Brutlag D., Schlehuber C., Bonner J. Properties of formaldehyde-treated nucleohistone // *Biochemistry*. 1969. V. 8. № 8. P. 3214–3218. <https://doi.org/10.1021/bi00836a013>
 89. Solomon M.J., Varshavsky A. Formaldehyde-mediated DNA-protein crosslinking: A probe for in vivo chromatin structures. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 1985. V. 82. № 19. P. 6470–6474. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.19.6470>
 90. Daly M.M., Mirsky A.E., Ris H. The amino acid composition and some properties of histones // *J. Gen. Physiol*. 1951. V. 34. № 4. P. 439–450. <https://doi.org/10.1085/jgp.34.4.439>
 91. Giresi P.G., Lieb J.D. Isolation of active regulatory elements from eukaryotic chromatin using FAIRE (Formaldehyde Assisted Isolation of Regulatory Elements) // *Methods*. 2009. V. 48. № 3. P. 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2009.03.003>
 92. Ren B., Robert F., Wyrick J.J. et al. Genome-wide location and function of DNA binding proteins // *Science*. 2000. V. 290. № 5500. P. 2306–2309. <https://doi.org/10.1126/science.290.5500.2306>
 93. Iyer V.R., Horak C.E., Scafe C.S. et al. Genomic binding sites of the yeast cell-cycle transcription factors SBF and MBF // *Nature*. 2001. V. 409. № 6819. P. 533–538. <https://doi.org/10.1038/35054095>
 94. Kim T.H., Dekker J. ChIP-quantitative Polymerase Chain Reaction (ChIP-qPCR) // *Cold Spring Harb. Protoc*. 2018. V. 2018. № 5. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot082628>
 95. Barski A., Cuddapah S., Cui K. et al. High-resolution profiling of histone methylations in the human genome // *Cell*. 2007. V. 129. № 4. P. 823–837. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.05.009>
 96. Johnson D.S., Mortazavi A., Myers R.M. et al. Genome-wide mapping of in vivo protein-DNA interactions // *Science*. 2007. V. 316. № 5830. P. 1497–1502. <https://doi.org/10.1126/science.1141319>
 97. Robertson G., Hirst M., Bainbridge M. et al. Genome-wide profiles of STAT1 DNA association using chromatin immunoprecipitation and massively parallel sequencing // *Nat. Methods*. 2007. V. 4. № 8. P. 651–657. <https://doi.org/10.1038/nmeth1068>
 98. Landt S.G., Marinov G.K., Kundaje A. et al. ChIP-seq guidelines and practices of the ENCODE and modENCODE consortia // *Genome Res*. 2012. V. 22. № 9. P. 1813–1831. <https://doi.org/10.1101/gr.136184.111>
 99. Wells J., Farnham P.J. Characterizing transcription factor binding sites using formaldehyde crosslinking and immunoprecipitation // *Methods*. 2002. V. 26. № 1. P. 48–56. [https://doi.org/10.1016/S1046-2023\(02\)00007-5](https://doi.org/10.1016/S1046-2023(02)00007-5)
 100. Bauer U.-M., Daujat S., Nielsen S.J. et al. Methylation at arginine 17 of histone H3 is linked to gene activation // *EMBO Rep*. 2002. V. 3. № 1. P. 39–44. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kvf013>
 101. Gilmour D.S., Lis J.T. In vivo interactions of RNA polymerase II with genes of *Drosophila melanogaster* // *Mol. Cell. Biol*. Taylor & Francis, 1985. V. 5. № 8. P. 2009–2018. <https://doi.org/10.1128/mcb.5.8.2009-2018.1985>
 102. Skene P.J., Henikoff S. An efficient targeted nuclease strategy for high-resolution mapping of DNA binding sites // *eLife*. 2017. V. 6. <https://doi.org/10.7554/eLife.21856>
 103. Kaya-Okur H.S., Wu S.J., Codomo C.A. et al. CUT&Tag for efficient epigenomic profiling of small samples and single cells: 1 // *Nat. Commun. Nature Publ. Group*. 2019. V. 10. № 1. P. 1930.

- <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09982-5>
104. Skene P.J., Henikoff J.G., Henikoff S. Targeted in situ genome-wide profiling with high efficiency for low cell numbers: 5 // Nat. Protoc. Nature Publ. Group. 2018. V. 13. № 5. P. 1006–1019. <https://doi.org/10.1038/nprot.2018.015>
 105. Hainer S.J., Bošković A., McCannell K.N. et al. Profiling of pluripotency factors in single cells and early embryos // Cell. 2019. V. 177. № 5. P. 1319–1329. e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.03.014>
 106. Kaya-Okur H.S., Janssens D.H., Henikoff J.G. et al. Efficient low-cost chromatin profiling with CUT&Tag // Nat. Protoc. 2020. V. 15. № 10. P. 3264–3283. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0373-x>
 107. Ramani V., Shendure J., Duan Z. Understanding spatial genome organization: Methods and Insights // Genomics Proteomics Bioinformatics. 2016. V. 14. № 1. P. 7–20. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2016.01.002>
 108. Dekker J., Rippe K., Dekker M. et al. Capturing chromosome conformation // Science. 2002. V. 295. № 5558. P. 1306–1311. <https://doi.org/10.1126/science.1067799>
 109. Nuclear organization of active and inactive chromatin domains uncovered by chromosome conformation capture–on-chip (4C) | Nature Genetics [Electronic resource]. 2006. <https://www.nature.com/articles/ng1896>
 110. Dostie J., Richmond T.A., Arnaout R.A. et al. Chromosome Conformation Capture Carbon Copy (5C): A massively parallel solution for mapping interactions between genomic elements // Genome Res. 2006. V. 16. № 10. P. 1299–1309. <https://doi.org/10.1101/gr.5571506>
 111. Lieberman-Aiden E., van Berkum N.L., Williams L. et al. Comprehensive mapping of long range interactions reveals folding principles of the human genome // Science. 2009. V. 326. № 5950. P. 289–293. <https://doi.org/10.1126/science.1181369>
 112. Forcato M., Nicoletti C., Pal K. et al. Comparison of computational methods for Hi-C data analysis // Nat. Methods. 2017. V. 14. № 7. P. 679–685. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4325>
 113. Lajoie B.R., Dekker J., Kaplan N. The Hitchhiker's guide to Hi-C analysis: Practical guidelines // Methods. 2015. V. 72. P. 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.10.031>
 114. Pal K., Forcato M., Ferrari F. Hi-C analysis: From data generation to integration // Biophys. Rev. 2019. V. 11. № 1. P. 67–78. <https://doi.org/10.1007/s12551-018-0489-1>
 115. Sanborn A.L., Rao S.S.P., Huang S.-C. et al. Chromatin extrusion explains key features of loop and domain formation in wild-type and engineered genomes // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2015. V. 112. № 47. P. E6456–6465. <https://doi.org/10.1073/pnas.1518552112>
 116. Ulianov S.V., Khrameeva E.E., Gavrilov A.A. et al. Active chromatin and transcription play a key role in chromosome partitioning into topologically associating domains // Genome Res. 2016. V. 26. № 1. P. 70–84. <https://doi.org/10.1101/gr.196006.115>
 117. Sexton T., Yaffe E., Kenigsberg E. et al. Three-dimensional folding and functional organization principles of the Drosophila genome // Cell. 2012. V. 148. № 3. P. 458–472. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.010>
 118. Rao S.S.P., Huntley M.H., Durand N.C. et al. A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping // Cell. 2014. V. 159. № 7. P. 1665–1680. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.021>
 119. Ramani V., Cusanovich D.A., Hause R.J. et al. Mapping 3D genome architecture through in situ DNase Hi-C // Nat. Protoc. 2016. V. 11. № 11. P. 2104–2121. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.126>
 120. Hsieh T.-H.S., Weiner A., Lajoie B. et al. Mapping nucleosome resolution chromosome folding in yeast by Micro-C // Cell. 2015. V. 162. № 1. P. 108–119. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.048>
 121. Krietenstein N., Rando O.J. Mammalian micro-C-XL // Methods Mol. Biol. 2022. V. 2458. P. 321–332. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2140-0_17
 122. Hsieh T.-H.S., Cattoglio C., Slobodyanyuk E. et al. Resolving the 3D landscape of transcription-linked mammalian chromatin folding // Mol. Cell. 2020. V. 78. № 3. P. 539–553. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.03.002>
 123. Bonev B., Cohen N.M., Szabo Q. et al. Multiscale 3D genome rewiring during mouse neural development // Cell. 2017. V. 171. № 3. P. 557–572. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.043>
 124. Lando D., Stevens T.J., Basu S. et al. Calculation of 3D genome structures for comparison of chromosome conformation capture experiments with microscopy: An evaluation of single-cell Hi-C protocols // Nucleus. 2018. V. 9. № 1. P. 190–201. <https://doi.org/10.1080/19491034.2018.1438799>
 125. Ma X., Ezer D., Adryan B. et al. Canonical and single-cell Hi-C reveal distinct chromatin interaction sub-networks of mammalian transcription factors // Genome Biol. 2018. V. 19. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1558-2>
 126. Liao M., Liu Y., Yuan J. et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19 // Nat. Med. 2020. V. 26. № 6. P. 842–844. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0901-9>
 127. Vabret N., Britton G.J., Gruber C. et al. Immunology of COVID-19: Current state of the science // Immunity. 2020. V. 52. № 6. P. 910–941. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.05.002>
 128. Li S., Wu B., Ling Y. et al. Epigenetic landscapes

- of single-cell chromatin accessibility and transcriptomic immune profiles of T Cells in COVID-19 patients // *Front. Immunol.* 2021. V. 12.
129. You M., Chen L., Zhang D. *et al.* Single-cell epigenomic landscape of peripheral immune cells reveals establishment of trained immunity in individuals convalescing from COVID-19: 6 // *Nat. Cell Biol.* Nature Publ. Group. 2021. V. 23. № 6. P. 620–630. <https://doi.org/10.1038/s41556-021-00690-1>
 130. Zheng Y., Liu X., Le W. *et al.* A human circulating immune cell landscape in aging and COVID-19 // *Protein Cell.* 2020. V. 11. № 10. P. 740–770. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00762-2>
 131. Yadav A.K., Ghosh S., Kotwal A. *et al.* Seroconversion among COVID-19 patients admitted in a dedicated COVID hospital: A longitudinal prospective study of 1000 patients // *Med. J. Armed Forces India.* 2021. V. 77. № Suppl 2. P. S379–S384. <https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2021.06.007>
 132. Huang C., Wang Y., Li X. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China // *The Lancet.* Elsevier. 2020. V. 395. № 10223. P. 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
 133. Hu L., Yu Y., Huang H. *et al.* Epigenetic regulation of interleukin 6 by histone acetylation in macrophages and its role in paraquat-induced pulmonary fibrosis // *Front. Immunol.* 2017. V. 7. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00696>
 134. Russ B.E., Olshansky M., Smallwood H.S. *et al.* Mapping histone methylation dynamics during virus-specific CD8⁺ T cell differentiation in response to infection // *Immunity.* 2014. V. 41. № 5. P. 853–865. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.11.001>
 135. Yang X., Rutkovsky A.C., Zhou J. *et al.* Characterization of altered gene expression and histone methylation in peripheral blood mononuclear cells regulating inflammation in COVID-19 patients // *J. Immunol.* 2022. V. 208. № 8. P. 1968–1977. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2101099>
 136. Tang H., Gao Y., Li Z. *et al.* The noncoding and coding transcriptional landscape of the peripheral immune response in patients with COVID-19 // *Clin. Transl. Med.* 2020. V. 10. № 6. P. e200. <https://doi.org/10.1002/ctm2.200>
 137. Zhang S., Amahong K., Sun X. *et al.* The miRNA: A small but powerful RNA for COVID-19 // *Brief. Bioinform.* 2021. V. 22. № 2. P. 1137–1149. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab062>
 138. Hou H., Li Y., Zhang P. *et al.* Smoking is independently associated with an increased risk for COVID-19 mortality: A systematic review and meta-analysis based on adjusted effect estimates // *Nicotine Tob. Res.* 2021. V. 23. № 11. P. 1947–1951. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntab112>
 139. Zhang Q., Thakur C., Fu Y. *et al.* Mdig promotes oncogenic gene expression through antagonizing repressive histone methylation markers // *Theranostics.* Ivyspring Intern. Publ. 2020. V. 10. № 2. P. 602–614. <https://doi.org/10.7150/thno.36220>
 140. Shi J., Thakur C., Zhao Y. *et al.* Pathological and prognostic indications of the mdig gene in human Lung Cancer // *Cell. Physiol. Biochem.* 2021. V. 55. № S2. P. 13–28
 141. Zhang Q., Wadgaonkar P., Xu L. *et al.* Environmentally-induced mdig contributes to the severity of COVID-19 through fostering expression of SARS-CoV-2 receptor NRPs and glycan metabolism // *Theranostics.* Ivyspring Intern. Publ. 2021. V. 11. № 16. P. 7970–7983. <https://doi.org/10.7150/thno.62138>
 142. Watanabe Y., Allen J.D., Wrapp D. *et al.* Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike // *Science.* 2020. V. 369. № 6501. P. 330–333. <https://doi.org/10.1126/science.abb9983>
 143. Dekker J., Marti-Renom M.A., Mirny L.A. Exploring the three-dimensional organization of genomes: interpreting chromatin interaction data // *Nat. Rev. Genet.* 2013. V. 14. № 6. P. 390–403. <https://doi.org/10.1038/nrg3454>
 144. Wang R., Lee J.-H., Kim J. *et al.* SARS-CoV-2 restructures host chromatin architecture: 4 // *Nat. Microbiol.* Nature Publ. Group. 2023. V. 8. № 4. P. 679–694. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01344-8>
 145. Carvalho T., Krammer F., Iwasaki A. The first 12 months of COVID-19: A timeline of immunological insights: 4 // *Nat. Rev. Immunol.* Nature Publ. Group. 2021. V. 21. № 4. P. 245–256. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00522-1>
 146. Tan Z.W., Toong P.J., Guarnera E. *et al.* Disrupted chromatin architecture in olfactory sensory neurons: Looking for the link from COVID-19 infection to anosmia: 1 // *Sci. Rep.* Nature Publ. Group. 2023. V. 13. № 1. P. 5906. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32896-8>
 147. Kee J., Thudium S., Renner D.M. *et al.* SARS-CoV-2 disrupts host epigenetic regulation via histone mimicry: 7931 // *Nature.* Nature Publ. Group. 2022. V. 610. № 7931. P. 381–388. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05282-z>
 148. Song L., Wang D., Abbas G. *et al.* The main protease of SARS-CoV-2 cleaves histone deacetylases and DCP1A, attenuating the immune defense of the interferon-stimulated genes // *J. Biol. Chem.* Elsevier. 2023. V. 299. № 3. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.102990>
 149. Marston J.L., Greenig M., Singh M. *et al.* SARS-CoV-2 infection mediates differential expression of human endogenous retroviruses and long interspersed nuclear elements // *JCI Insight.* 2021. V. 6. № 24.

- <https://doi.org/10.1172/jci.insight.147170>
150. Wang A., Chiou J., Poirion O.B. et al. Single-cell multiomic profiling of human lungs reveals cell-type-specific and age-dynamic control of SARS-CoV2 host genes // *eLife*. 2020. V. 9. <https://doi.org/10.7554/eLife.62522>
 151. Wei J., Patil A., Collings C.K. et al. Pharmacological disruption of mSWI/SNF complex activity restricts SARS-CoV-2 infection: 3 // *Nat. Genet. Nature Publ. Group*. 2023. V. 55. № 3. P. 471–483. <https://doi.org/10.1038/s41588-023-01307-z>
 152. Van Der Made C.I., Simons A., Schuurs-Hoeijmakers J. et al. Presence of genetic variants among young men with severe COVID-19 // *JAMA*. 2020. V. 324. P. 663. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.13719>
 153. Conceição-Silva F., Reis C.S.M., De Luca P.M. et al. The immune system throws its traps: Cells and their extracellular traps in disease and protection: 8 // *Cells. Multidisciplinary Digital Publ. Institute*. 2021. V. 10. № 8. <https://doi.org/10.3390/cells10081891>
 154. Radermecker C., Detrembleur N., Guiot J. et al. Neutrophil extracellular traps infiltrate the lung airway, interstitial, and vascular compartments in severe COVID-19 // *J. Exp. Med*. 2020. V. 217. № 12. <https://doi.org/10.1084/jem.20201012>
 155. Middleton E.A., He X.-Y., Denorme F. et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome // *Blood*. 2020. V. 136. № 10. P. 1169–1179. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007008>
 156. Zuo Y., Yalavarthi S., Shi H. et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19 // *JCI Insight*. 2020. V. 5. № 11. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.138999>
 157. Ligi D., Giglio R.V., Henry B.M. et al. What is the impact of circulating histones in COVID-19: a systematic review // *Clin. Chem. Lab. Med. CCLM*. 2022. V. 60. № 10. P. 1506–1517. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-0574>
 158. Hong W., Yang J., Zou J. et al. Histones released by NETosis enhance the infectivity of SARS-CoV-2 by bridging the spike protein subunit 2 and sialic acid on host cells: 5 // *Cell. Mol. Immunol. Nature Publ. Group*. 2022. V. 19. № 5. P. 577–587. <https://doi.org/10.1038/s41423-022-00845-6>
 159. Leppkes M., Knopf J., Naschberger E. et al. Vascular occlusion by neutrophil extracellular traps in COVID-19. // *EBioMedicine*, 2020. V. 58. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102925>

The Role of Changes in Structure and Dynamics of Chromatin Due to COVID-19

© 2024 A. E. Bigildeev¹, V. I. Alekseev², A. K. Gribkova², G. S. Timokhin³,
G. A. Komarova⁴, A. K. Shaytan^{2, 3, *}

¹National Medical Research Center for Hematology, Moscow, 125167 Russia

²Department of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

³Laboratory of Bioinformatics, Faculty of Computer Science, National Research University Higher School of Economics, Moscow, 109028 Russia

⁴Department of Physics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

*e-mail: shaytan_ak@mail.bio.msu.ru

The COVID-19 pandemic has become a serious challenge for the healthcare system and the economy of many states, and understanding the molecular mechanisms of the pathogenesis of this disease has become a significant challenge for modern science. At the same time, for the first time, a number of high-precision and high-throughput methods for analyzing molecular processes were available to scientists, including technologies for studying changes in chromatin at the genomic level. In this review, we discuss various modern methods that have been used or can be used to study changes in the structure and dynamics of chromatin during infection with SARS-CoV-2, present the results of currently available studies on the role of these changes in the pathogenesis of COVID-19, and in conclusion we review the currently known molecular mechanisms of chromatin modulation that occur during infection with SARS-CoV-2.

Keywords: chromatin, COVID-19, SARS-CoV-2, epigenetics, histones.