

TOPOLOGÍA GENÓMICA, TRANSCRIPCIÓN Y REPLICACIÓN, TRES PROCESOS FUNCIONALMENTE ENTRELAZADOS*

Karina Jácome-López & Mayra Furlan-Magaril**

Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

**Autor de correspondencia correo E: mfurlan@ifc.unam.mx

RESUMEN

Con la finalidad de entender cómo se relaciona la topología del genoma con la transcripción, en esta revisión analizaremos las evidencias que sugieren a la organización tridimensional del genoma como regulador de la transcripción y datos que sugieren a la transcripción como el proceso regulador de la organización del genoma. Por otro lado, resulta interesante entender cómo la maquinaria de replicación del DNA se enfrenta a esta organización tridimensional, por lo que abordaremos también evidencias recientes de cómo la estructura tridimensional del genoma puede ser relevante durante el proceso de replicación y las implicaciones de este proceso en la topología genómica.

PALABRAS

CLAVE:

Cromatina, organización 3D del genoma, TADs, transcripción, replicación.

ABSTRACT

In order to understand how genome topology relates to transcription, in this review we will analyze the evidence that suggests the tridimensional organization of genome as a regulator of transcription and data that suggest transcription as the process shaping genome organization. On the other hand, it is interesting to understand how the DNA replication machinery confronts this three dimensional organization, so we will also address recent evidence of how the three dimensional structure of the genome can be relevant during DNA replication and the implications of this process on genomic topology.

KEY WORDS:

Chromatin, Genome 3D Organization, TADs, Transcription, Replication.

1. ESTRUCTURACIÓN 3D DEL GENOMA

El genoma está organizado en cromosomas que durante la interfase del ciclo celular se distribuyen en territorios cromosómicos, ocupando espacios particulares en el núcleo (1). Los cromosomas se dividen en regiones de cromatina abierta y en regiones de cromatina cerrada que se encuentran segregadas en el núcleo celular, también llamados compartimentos A y B, respectivamente (2). A su vez, los compartimentos de cromatina se encuentran estructurados en Dominios Topológicamente Asociados (TADs, por sus siglas en inglés) cuya función reside en aislar a los elementos de una región del genoma en particular de elementos en otros TADs (como genes, elementos regulatorios y secuencias repetidas). Al interior de cada dominio se fomentan interacciones promotor-potenciador,

entre otras, por lo que se ha propuesto que estas estructuras contribuyen a la regulación de la transcripción (Fig. 1) (3-5). Los TADs, están delimitados por regiones fronteras que funcionan como aisladores o "insulators". Las fronteras entre TADs se contactan a través de proteínas entre las cuales se encuentran CTCF, cohesina, Mediador y RNA Pol II, son ricas en genes de expresión constitutiva y en las marcas de histonas características de cromatina abierta (6, 7). CTCF es una proteína de unión a DNA con 11 dedos de zinc que tiene funciones diversas, entre ellas, participa en la estructuración tridimensional del genoma ya que se encuentra enriquecido en las fronteras entre dominios. También es importante en la formación de asas de cromatina entre promotores y potenciadores (15). La cohesina es un complejo multiproteico en forma de anillo que mantiene a

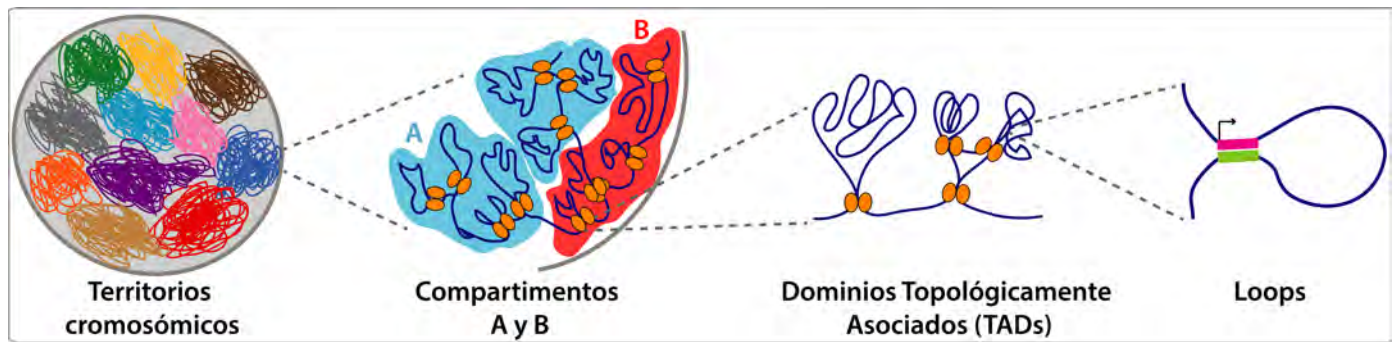


Figura 1. Niveles de organización de la cromatina. El genoma se organiza en distintos niveles de estructuración que comienzan con los territorios cromosómicos, donde cada cromosoma ocupa un espacio particular en el núcleo celular. Posteriormente, en la escala de decenas de Mb están los compartimentos, que corresponden a regiones de cromatina abierta (compartimentos A o eucromatina) y cerrada (compartimentos B o heterocromatina), cada compartimento alberga a los dominios topológicamente asociados (TADs) donde se fomenta la formación de loops de cromatina, por ejemplo entre una región promotora y un enhancer.

las cromátidas hermanas juntas desde la replicación del DNA hasta la división celular (16). En la cromatina colocaliza con zonas donde se une CTCF, ayudando en el establecimiento de asas de cromatina (17). Mediador es un complejo multiproteico que facilita la unión entre factores de transcripción y de la RNA pol II en elementos promotores (18).

Grupos de genes al interior de un TAD tienden a tener niveles de expresión semejantes en comparación con genes ubicados en otros TADs y la abrogación de fronteras entre TADs altera la correcta conformación de los dominios adyacentes lo cual conlleva en ciertos casos a la desregulación de la expresión génica (8, 9). En resumen los Dominios Topológicamente Asociados representan una unidad estructural muy relevante para que ocurra la expresión en espacio y tiempo adecuado, ya que restringen y fomentan que elementos regulatorios distales como potenciadores, interactúen y actúen en un promotor particular. No obstante, existen evidencias que sugieren que es la transcripción el proceso que determina la estructura tridimensional del genoma (10–14) y al día de hoy desconocemos si la topología del genoma es una consecuencia de la transcripción, o si es la topología quien acota y regula la expresión de genes en cada tipo celular de manera independiente de la transcripción.

2. EVIDENCIAS SOBRE LA REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN MEDIADA POR LA ORGANIZACIÓN 3D DEL GENOMA

2.1 Los TADs como reguladores de la transcripción

Los dominios topológicamente asociados, a los cuales nos referiremos como dominios, son uni-

dades estructurales que contribuyen al control espacio-temporal de los genes, ya que aíslan las interacciones entre regiones del genoma, por lo que las interacciones intra-dominios tienen una alta frecuencia mientras que las interacciones inter-dominios son menos frecuentes. Diversos reportes han demostrado la importancia de estas estructuras para que ocurra una expresión de genes correcta, en procesos de desarrollo y diferenciación. En cáncer por el contrario, se ha observado que existen alteraciones en la estructuración de dominios que conducen a la desregulación de la expresión génica. En algunos casos la desregulación se produce dada la interacción anormal entre un elemento potenciador y un promotor.

Una de las evidencias más contundentes de la importancia de los dominios en la regulación transcripcional durante el desarrollo, surge con el estudio de alteraciones genéticas en humanos, donde las fronteras entre dominios que contienen a genes importantes para el desarrollo de las extremidades están alteradas y esto conduce a una desregulación de los contactos promotor-potenciador, que conlleva a malformaciones de los dígitos tanto en humanos como en ratón (5, 9) (Fig. 2). Esta región, se organiza en tres dominios, el primer dominio aísla a los genes *WNT6* e *IHH* (dominio 1), el segundo dominio contiene al gen *EPHA4* y un potenciador (dominio 2), mientras que el tercer dominio contiene al gen *PAX3* (dominio 3). En el contexto del desarrollo normal de las extremidades anteriores, el potenciador en el dominio 2 actúa sobre el promotor de *EPHA* promoviendo su expresión en el primordio de la extremidad en desarrollo.

La duplicación de la frontera entre el dominio 1 y 2, que incluye al gen *IHH* y al potenciador, tiene

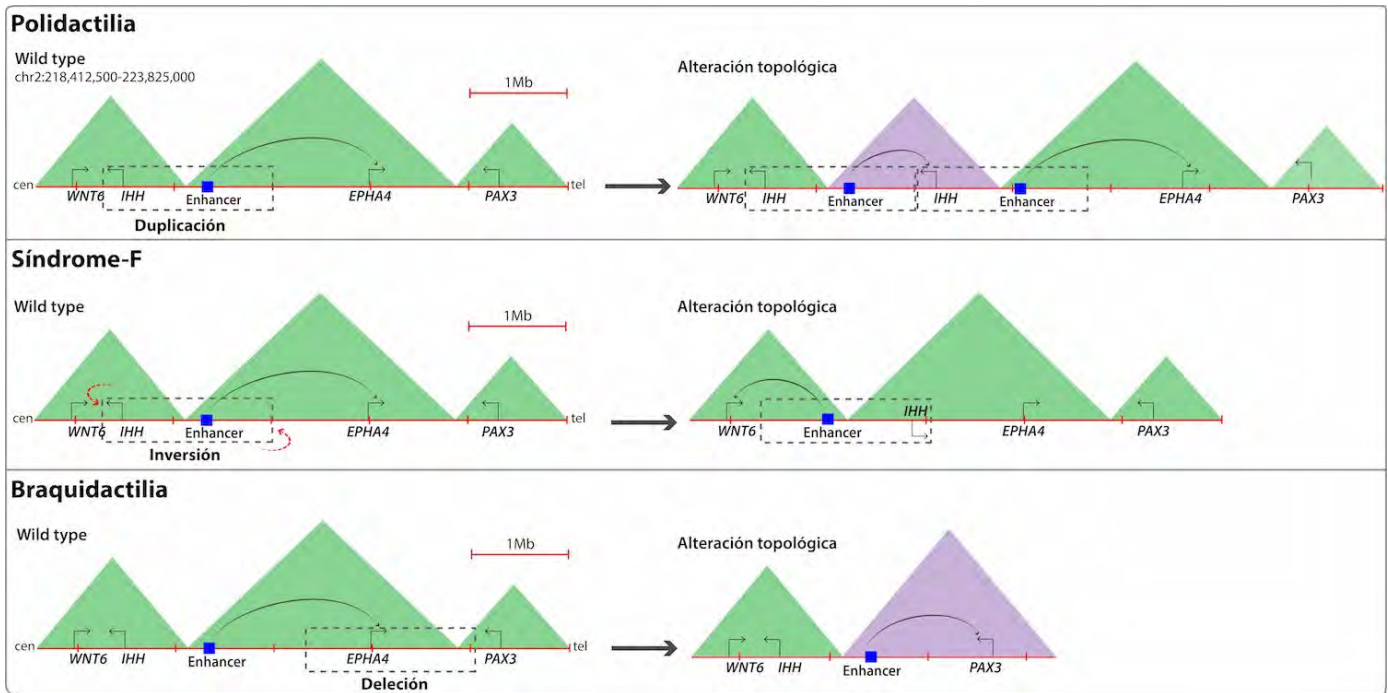


Figura 2. Perturbaciones en las fronteras de TADs. Se muestra una región genómica en donde alteraciones de la posición relativa de las fronteras entre dominios conduce a malformaciones en las extremidades. Esta región se organiza en tres dominios mostrados como triángulos verdes (condición wild type). El dominio 1 contiene a los genes *WNT6* e *IHH*, el segundo dominio contiene un elemento potenciador y al gen *EPHA4* y el tercer dominio contiene al gen *PAX3*. En la imagen superior se muestra la alteración que conduce al fenotipo polidactilia, donde la duplicación de la frontera entre el dominio 1 y 2, produce la generación de un nuevo dominio (triángulo morado) en donde el potenciador activa a *IHH* de manera anormal. En la imagen intermedia se representa la inversión de la frontera, en donde el gen *IHH* cambia su ubicación del dominio 1 al 2 y el potenciador cambia del dominio 2 al 1 activando al gen *WNT6*. Finalmente, en la imagen inferior se esquematiza la pérdida de frontera entre los dominios 2 y 3 haciendo que el potenciador active al gen *PAX3*, normalmente ubicado en el dominio 3 y aislado del potenciador. En esta alteración, al deletar esta frontera, se reduce la región a dos dominios, donde el potenciador y el gen *PAX3* ahora se ubican al interior del mismo dominio (dominio morado).

como consecuencia la generación de un nuevo dominio en donde el potenciador actúa sobre *IHH*, provocando el fenotipo de polidactilia (Fig. 2, arriba) (5, 9). Al invertir la frontera entre el dominio 1 y 2, incluyendo a la secuencia que contiene al gen *IHH* y al potenciador, ocurre un cambio de localización del potenciador, del dominio 2 al dominio 1, provocando que el gen *WNT6* se exprese. Esta alteración se refleja fenotípicamente como el Síndrome-F (fusión de dedos) (Fig. 2, en medio). Una tercera alteración estructural, consiste en la eliminación de la frontera entre el dominio 2 y 3. En consecuencia, el gen *PAX3* es activado por el potenciador de manera anormal, lo que conduce al fenotipo de braquidactilia (acortamiento de dedos) (Fig. 2, abajo).

Este tipo de alteraciones en las fronteras entre dominios se ha reportado en otras patologías, como el síndrome Liebenberg, displasia mesomélica y síndrome de cooks, en donde la afectación en

las fronteras desregula la expresión de los genes *PITX1*, *ID4*, *KCNJ2*, respectivamente (19–23). También en leucemia y glioma hay reportes de perturbaciones en las fronteras de dominios, que ocasionan la acción de potenciadores sobre genes (i.e *TAL1*, *LMO2*, *PDGFRA*) que de manera normal se encuentran en dominios distintos y esto conlleva a la transformación celular (24, 25).

En conjunto, estas evidencias muestran que los dominios son importantes para aislar las interacciones promotor-potenciador, evitando que un potenciador contacte a un gen de otro dominio. Además de lo anterior, otra función relevante de los dominios es que permiten que dos regiones del genoma que se encuentran separados por cientos de kilobases formen interacciones, un ejemplo de este fenómeno es el promotor del gen *Shh* y el potenciador ZRS (26). Estos elementos están separados por aproximadamente 850kb pero se localizan en el mismo dominio, por lo que se

contactan eficientemente. La interacción de *Shh* con este potenciador es fundamental durante el desarrollo de las extremidades en todos los metazoarios incluyendo al humano (26).

Además de aislar a las interacciones, se ha propuesto que los dominios controlan la extensión de estados de cromatina en el genoma (10). Como es el caso de los clusters *Hox*, estos genes se distribuyen en dos dominios y la frontera es un elemento fundamental para que se dé la expresión correcta de estos genes durante el desarrollo. Por ejemplo, el cluster *HoxA* está organizado en dos dominios, uno que alberga a los genes *HoxA1* a *HoxA6*, y otro que tiene a los genes *HoxA7* a *HoxA13*. Durante la diferenciación de Células Troncales Embrionarias (ESC por sus siglas en inglés) a motoneuronas se expresan los genes *HoxA1* a *HoxA6*, por el contrario los genes *HoxA7* a *HoxA13* permanecen silenciados (27). Estos cambios en la expresión de genes, coinciden con un cambio de la marca de histona H3K27me3 (marca de cromatina cerrada) a H3K4me3 (marca de promotores activos) y de enriquecimiento de RNA pol II, únicamente en el dominio que contiene a los genes *HoxA1-HoxA6*. La frontera entre estos dominios tiene motivos de unión para CTCF, cuando se deletan estos motivos, la marca H3K4me3 se extiende hacia el dominio *HoxA7-HoxA13* provocando su expresión (27).

Con estas evidencias queda demostrado que CTCF es importante como barrera de la extensión de H3K4me3, sin embargo la extensión no ocurre en todo el dominio y transcripcionalmente solo activa a los genes *HoxA7*, *HoxA9*, *HoxA10* (27). Esto sugiere que existen otros mecanismos que ayudan a delimitar las zonas de eucromatina y heterocromatina.

2.2 Proteínas estructurales, su papel en la regulación de la transcripción y en la organización del genoma

Las proteínas estructurales, tienen un papel directo en la organización del genoma. De éstas, CTCF y el complejo cohesina son las proteínas más estudiadas. Con base en la función de estos factores proteicos, se ha propuesto el modelo de extrusión de asas de cromatina para explicar cómo se forman los TADs (28).

Cómo se mencionó anteriormente, CTCF es una proteína con dedos de zinc de función versátil. Se ha demostrado que CTCF puede tener un papel como factor de transcripción, también como proteína mediadora de interacciones promotor-potenciador, y también juega un papel relevante en la formación de fronteras entre dominios (4, 29). Para determinar la relevancia de CTCF en la estructuración de dominios, se ha degradado a la

proteína CTCF en ESC de ratón y en células HeLa. El resultado de estos experimentos muestra que los dominios pierden estructura y ocurren cambios en los niveles de transcripción de genes (30,31). Particularmente en ESC de ratón, la degradación de CTCF por 1 a 4 días conlleva a la desregulación de la transcripción de genes encontrando desde 370 hasta 4,996 genes diferencialmente expresados al día 1 y 4 respectivamente (30). De estos genes, la mayoría de los genes que están sub expresados tienen un motivo de unión a CTCF en el sitio de inicio a la transcripción, por el contrario los genes que se sobre expresan no tienen sitio de unión a CTCF pero se encuentran en dominios cuya frontera los separa de potenciadores activos (30). Estos datos sugieren que en el caso de los genes sub expresados, CTCF podría regular la expresión de genes al evitar la oclusión por nucleosomas en el sitio de inicio a la transcripción o evitando la metilación del DNA en el promotor, asimismo estas evidencias sugieren que CTCF es un elemento importante en el establecimiento de fronteras entre dominios delimitando la acción de los potenciadores. Sin embargo, con los datos experimentales que se han desarrollado hasta el momento, desconocemos cuántos genes se desregulan directamente por los cambios en la estructura en dominios, cuántos genes se desregulan porque CTCF tiene un papel como factor de transcripción y por último desconocemos qué genes se desregulan de manera indirecta. En este sentido, llama la atención que la degradación de CTCF no altera la disposición de los compartimentos, es decir que las zonas de eucromatina y heterocromatina se mantienen, sugiriendo que CTCF no es una proteína que participe como aislador o barrera de compartimentos. Sin embargo es posible que CTCF participe en el aislamiento de estados cromatínicos en conjunto con otros factores proteicos desconocidos.

CTCF tiene dominios de unión a RNA, que al mutarse disminuyen la capacidad de CTCF para unirse a la cromatina, produciendo un incremento de interacciones intra-dominio y desregulación de la expresión de una proporción de genes. Estos datos, indican que los RNAs que se unen a CTCF contribuyen a la regulación de la topología genómica y a la transcripción (32). En conjunto, estos elementos implican un nivel mayor de complejidad que existe en el núcleo celular para regular la topología y la expresión de genes.

Como se mencionó, CTCF y el anillo de cohesina colocalizan en la cromatina y estructuran la base de algunos loops y fronteras (33, 34). Al eliminar la subunidad de cohesina Rad21, los dominios desaparecen, sin embargo a nivel transcripcional solo el 14% de genes muestran cambios en su expresión. El

60% de los genes se sobre expresa, sugiriendo que el papel principal de la cohesina como estructurador de dominios es el bloqueo de la interacción entre promotores y potenciadores que están en distintos dominios (35). Efectos similares se han observado al eliminar a la proteína Nipbl, cuya función es depositar al complejo cohesina en la cromatina, en hepatocitos de ratón, y también deletando la subunidad Scc1 del complejo cohesina en células HeLa (31, 36). Sin embargo, existen evidencias de que la cohesina puede mediar interacciones entre promotores y potenciadores durante procesos de diferenciación terminal (37). Por lo cual probablemente la cohesina tenga distintas funciones tanto como formador de dominios y como mediador de interacciones entre promotores y elementos de regulación.

Si bien CTCF y cohesina son proteínas que estructuran a los dominios, en ausencia de estas proteínas, un porcentaje pequeño de dominios no se afectan, por lo que deben existir otros componentes moleculares involucrados en la organización del genoma en dominios, que aún no se han descrito. Aunque algunos estudios demuestran que la alteración de las fronteras provoca la desestructuración de los dominios y cambios en la expresión de genes, no se ha analizado si es la transcripción en las fronteras o al interior de los dominios, lo que fomenta la organización genómica.

3. EVIDENCIAS SOBRE LA REGULACIÓN DE LA ORGANIZACIÓN 3D DEL GENOMA POR LA TRANSCRIPCIÓN

Las fronteras son elementos fundamentales para el establecimiento de los dominios y en ellas existen elementos genómicos que sugieren una alta actividad transcripcional (6). Inicialmente esta característica se describió en fronteras de ratón y humano. Actualmente diversos estudios muestran que las fronteras en otros organismos también tienen transcripción activa. En este sentido se ha propuesto que la transcripción puede modular a la organización del genoma en dominios y que es un mecanismo conservado evolutivamente.

3.1 La transcripción establece a los dominios en procariontes

En la bacteria *Caulobacter crescentus* el 74% de las fronteras de los dominios muestran alta actividad transcripcional y al inhibir la elongación de la transcripción con rifampicina, las fronteras se desestabilizan. Sin embargo, este dato no asegura que la transcripción regule de manera directa la estructura de los dominios. Para demostrar que la transcripción es fundamental en el establecimiento

de fronteras, el grupo de Michael T. Laub insertó un gen con alta actividad transcripcional que se localiza en una frontera, el gen *rsaA*, a una región de baja actividad transcripcional al interior de un dominio. El resultado obtenido es la formación de una frontera en *Caulobacter crescentus* (38, 39).

En *Bacillus subtilis* el 60% de las fronteras muestran alta expresión de genes e interesantemente el 30% de las fronteras corresponden a elementos de DNA adquiridos por transferencia horizontal, con bajos niveles de dinucleótidos GC en comparación con el resto del genoma y ocupados por el activador transcripcional Rok (40). Esto coincide con datos de otros organismos en donde no hay elementos que sugieran una alta actividad transcripcional pero que tienen otras características, aún no descritas, que contribuyen en la estructuración del genoma. En ambas especies de bacterias, la transcripción es relevante para el establecimiento de las fronteras de dominios, pero se sigue desconociendo si este mecanismo es suficiente para dirigir la formación de dominios en otros organismos procariontes.

3.2 La transcripción establece a los dominios en eucariontes

La presencia de dominios también se ha reportado en otros organismos eucariontes además de los mamíferos, como son *S.cerevisiae*, *S. pombe*, *C. elegans*, *A. thaliana*, *Oryza sativa* y *Drosophila*. En todos ellos las fronteras de los dominios muestran marcas de histonas activas y una alta actividad transcripcional. Con excepción de *Drosophila*, estos organismos no tienen una proteína homóloga a CTCF por lo que se ha propuesto que es la transcripción y no proteínas estructurales, quien dirige a la organización del genoma (11-14).

3.2.1 *Drosophila*

Las fronteras que se han estudiado con mayor detalle en organismos diferentes a mamíferos, son las de *Drosophila*. Las proteínas que están presentes en estas fronteras son RNA pol II, ISWI, BEAF-32, CP190, las marcas de histonas H3K27ac, H3K4me1, H3K4me3, H3K36me3, H4K16ac y genes constitutivos (41). Los genes que se encuentran en las fronteras de dominios en *Drosophila*, tienen niveles de transcripción más altos que los genes localizados al interior de los dominios (41).

En cuanto a CTCF, existen evidencias en la literatura donde se reporta que en líneas celulares embrionarias de *Drosophila*, CTCF está enriquecido en fronteras (42) y otras en las que este no parece ser el caso (41). Un estudio del año 2019, reporta que el enriquecimiento de CTCF en las fronteras de células embrionarias no es significativo, pero al diferenciar las células a linajes neurales, estas

células diferenciadas si tienen enriquecimiento de CTCF en las fronteras (43). Otro estudio en células embrionarias S2R+, muestra que la frontera del gen *Notch*, está enriquecida en CTCF, y al eliminar los sitios de unión por CRISPR se desestructura el dominio (44).

Para explorar si la transcripción o la proteína estructural CTCF, es quien organiza a los dominios, se necesitaría realizar un experimento en donde se inhiba la transcripción localmente para determinar si esto es suficiente para desestabilizar a un dominio. Por otro lado, se podría abatir a CTCF en células embrionarias para evaluar si existe o no un cambio en la organización de los dominios dado que CTCF no parece enriquecido en las fronteras de este tipo celular. Si ahora estas células se diferencian a células neurales, dónde CTCF sí está enriquecido en las fronteras, esperaríamos encontrar alteraciones de los dominios y quizá deficiencia en la diferenciación. Estos escenarios, sugieren que la organización del genoma y su relación con la transcripción es altamente compleja, y que dependiendo del tipo celular o estadio del desarrollo pudiera influir más la transcripción o más la contribución de proteínas estructurales en la organización del genoma, o bien, pueden ser procesos interdependientes. Asimismo, esta relación podría ser locus específico, es decir que en las fronteras existan mecanismos heterogéneos que regulen la expresión o la estructura, lo cual explicaría la relevancia de CTCF en la frontera del gen *Notch*, donde CTCF estructura al dominio pero contradice las evidencias que señalan que CTCF no está enriquecido en fronteras.

Un fenómeno que se ha explorado en *Drosophila* para tratar de entender cómo la transcripción y la estructura 3D del genoma se relacionan, es el estímulo de células embrionarias a choque de calor. Cuando se exponen las células embrionarias Kc167, por 20 minutos a un choque de calor, ocurre un cambio de expresión transcripcional en donde los genes que se estaban expresando pierden la unión de la RNA pol II y se silencian rápidamente, y solo los genes de respuesta a estrés térmico como los factores de choque de calor (Heat Shock Factors, HSF), se expresan de manera abundante (45). Esto va acompañado por una disminución de proteínas estructurales en las fronteras entre los dominios, de tal forma que los contactos inter-dominio aumentan. También, las marcas de cromatina activa disminuyen y se gana H3K27me3, que denota cromatina silenciada por el complejo Polycomb (45). Dado que el choque de calor produce que la mayoría de los genes se silencien transcripcionalmente y las fronteras de los dominios pierden estructura, se podría sugerir que

la transcripción es el modulador de la organización del genoma. Para probar esta hipótesis, se incubó a las células con triptolide, un inhibidor del inicio de la transcripción que disminuye el enriquecimiento de la RNA pol II en promotores, el resultado mostró un aumento de las interacciones inter-dominios y desestabilización de las fronteras, efectos que son similares a los que causa el choque de calor. Con estas evidencias los autores de este trabajo sugieren que es la transcripción quien modula a la organización del genoma (45). Sin embargo, estos experimentos no descartan la posibilidad de que al inhibir la transcripción de todo el genoma, se pierda algún RNA que codifique a una proteína, o bien un RNA no codificante, importantes en la estructuración del genoma. Tampoco se descarta que sea la Pol II la que confiera estructura al genoma y no la transcripción *per se*, por lo que la pregunta se mantiene vigente.

En otros trabajos también se ha inhibido la transcripción para tratar de determinar si este proceso modula la organización 3D del genoma. Sometiendo a células embrionarias de *Drosophila* a triptolide, como en el trabajo de Li et al. 2015 (45), se determinó que las interacciones entre los compartimentos A-B y B-B aumentan, y disminuyen las interacciones entre A-A, reflejado en una ganancia de interacciones de larga distancia y disminución de las interacciones de corta distancia (11). Asimismo el tratamiento con flavopiridol, un inhibidor de la elongación de la transcripción, que no afecta la unión de la RNA pol II a los promotores, produce que los contactos al interior de estructuras llamadas mini-dominios disminuyan, estas estructuras son interacciones mediadas por la RNA pol II activa, cohesina y condensina II, que se forman entre el sitio de inicio de transcripción con el sitio de terminación de la transcripción de un gen que se está elongando (46).

La elongación de la transcripción puede tener un efecto en la modulación de la organización del genoma a nivel de los mini-dominios, por lo tanto, desconocemos si la elongación de la transcripción influye en la estructura de los dominios topológicamente asociados.

3.2.2 Mamíferos

En diversas líneas celulares de ratón y humano se ha caracterizado que las fronteras de los dominios están enriquecidas en varios elementos que incluyen transcripción activa, marcas de histonas de cromatina accesible, genes constitutivos, ZNF143, YY1, RNA pol II, cohesinas y CTCF (6,7). Muchos estudios en mamíferos muestran que la delección, inversión o duplicación de una frontera entre dominios impactan en la expresión de genes, como se

describió en la sección “Los TADs como reguladores de la transcripción”.

En mamíferos no hay una demostración experimental donde se evidencie de manera directa que es la transcripción el proceso que dirige a la topología del genoma, aunque diversos estudios han inhibido la transcripción de manera general para evaluar si ocurren cambios en la topología (32, 47). Un estudio que quiso demostrar este fenómeno, utilizó un modelo de diferenciación de ESC de ratón a células neurales. En este estudio se encontraron tres tipos de fronteras en ambos tipos celulares; fronteras con CTCF-cohesina, fronteras sin CTCF y fronteras que no tienen características de transcripción activa (47). La mayoría de los dominios están conservados entre ambos tipos celulares. Al explorar las características de las fronteras de los dominios que son específicos de cada tipo celular se encontró que exhiben una alta actividad transcripcional, sugiriendo que la transcripción conduce a la formación de dominios. Para demostrar lo anterior, se dirigió una dCas9-RNA pol II a tres genes transcripcionalmente inactivos en ESC de ratón con la hipótesis de que la transcripción de estos genes fomentará el establecimiento de una frontera. Con este sistema los genes se expresan de 10 a 20 veces más respecto al control, sin embargo, no se observó la formación de nuevas fronteras (47). Este experimento muestra que la transcripción *per se*, en mamíferos, no es suficiente para la estructuración del genoma. Un aspecto importante a considerar es que la sobreexpresión de los genes a los que se dirigió la dCas9-RNA pol II no causa la diferenciación celular, por lo que quizá algún elemento expresado durante este proceso, sea necesario para el establecimiento de los dominios. Asimismo, sería interesante conocer el conjunto de proteínas de una frontera específica de células neurales y compararlas con las proteínas que se localizan en esa región pero en ESC de ratón, para saber qué proteínas son importantes en la formación de una frontera en un tipo celular y en otro, así como los factores compartidos entre ambos. Recordemos que en *Caulobacter crescentus* la transcripción sí dirige el establecimiento de una frontera, entonces la interdependencia entre la organización 3D del genoma y la transcripción en mamíferos, parece ser más compleja que en procariontes, y a la fecha no es claro si es la transcripción quien dirige la topología o si es la topología quien dirige a la transcripción. Por las evidencias que hasta ahora se han descrito, parece que hay elementos que sí tienen un papel global en la organización del genoma, como CTCF y cohesina, pero también hay evidencias en regiones específicas del genoma donde la delección de estos

elementos no afecta a las fronteras de dominios, así como fronteras que no tienen estos elementos proteicos ni características de transcripción activa (6, 30, 47, 48).

4. RELACIÓN ENTRE LA ORGANIZACIÓN 3D DEL GENOMA Y LA TRANSCRIPCIÓN EN EL CIGOTO

Un modelo muy interesante que se ha usado para entender cómo surge la organización del genoma y su relación con la transcripción, es el cigoto. El genoma cigótico se forma de dos tipos celulares haploides con características particulares y transcripcionalmente inactivos (49, 50). La fusión de estos genomas implica que en un punto particular del desarrollo se deberán establecer las estructuras tridimensionales del nuevo genoma. Existen reportes en ratón, *Drosophila* y en pez cebra, que describen la organización del genoma en TADs y compartimentos durante diversas etapas del desarrollo embrionario temprano y su relación con la transcripción. El objetivo de esta sección es describir cómo surge la topología del genoma en cada uno de estos organismos, examinar si la transcripción tiene o no un papel importante en esta estructuración y finalmente detectar las diferencias que existen entre organismos.

El cigoto en ratón se forma con un genoma paterno transcripcionalmente silenciado y empaquetado en protaminas, con solo el 2% de su genoma ocupado por proteínas histonas. Curiosamente, aunque no hay transcripción en el genoma paterno, éste se organiza en dominios y compartimentos, incluso algunas regiones muestran enriquecimiento de CTCF y cohesina (49, 51, 52). También, existen genes inactivos transcripcionalmente que se encuentran altamente enriquecidos en RNA pol II y presentan interacciones intra-génicas. En este escenario la RNA pol II podría tener una función estructural sin necesidad de la actividad transcripcional (46, 52).

La organización del genoma materno de ratón, se ha explorado en ovocitos maduros, revelando que el genoma en estas células carece de dominios y compartimentos (50, 53, 54). Cuando ocurre la fertilización, los genomas parentales se encuentran espacialmente segregados y su organización es diferente hasta la etapa de 8 células, donde los dominios y compartimentos se establecen (53, 54). Un aspecto que llama la atención es que, aunque el establecimiento de los compartimentos es gradual, en el genoma paterno se detectan con mayor eficiencia desde etapas tempranas del desarrollo, en comparación con el genoma materno. Dado que en las células germinales, el

genoma paterno exhibe dominios y en el materno están ausentes, se ha sugerido que después de la fertilización el genoma materno forma los compartimentos *de novo*, mientras que en el genoma paterno los compartimentos se podrían establecer por herencia, es decir que los compartimentos se forman con base en la estructura establecida en los espermatozoides (54). Comparando los compartimentos de embriones con los compartimentos del genoma paterno, se logran identificar regiones que se reorganizan. Principalmente regiones que cambian del compartimento B al compartimento A, estas regiones contienen genes que codifican a factores de pluripotencia. También hay genes que cambian del compartimento A al B, como el gen *Hook1*, que tiene una función en la producción de espermatozoides (50). Las fronteras entre los dominios de espermatozoides y embriones, muestran un enriquecimiento de marcas de histonas de cromatina activa, CTCF y cohesina (50).

La activación genómica del cigoto es un proceso biológico que ocurre durante la embriogénesis temprana, por medio del cual se activa por primera vez la transcripción. Para determinar si este evento está relacionado con el establecimiento de los compartimentos y dominios, se han realizado experimentos en los que embriones de dos células, son incubados con α -amanitina, un inhibidor que la RNA pol II que impide la unión al DNA. En este contexto, las estructuras del genoma no se ven afectadas, por lo que la transcripción no es un factor que parezca determinante en la organización 3D del genoma (50, 53).

Al igual que en otros modelos, se ha sugerido en *Drosophila*, que el principal conductor de la organización del genoma es la transcripción. Esta hipótesis se basa en que los dominios se detectan en etapas posteriores a la activación del genoma, y coinciden con un enriquecimiento gradual de la RNA pol II en las fronteras (55). En *Drosophila*, al incubar embriones con los inhibidores de la transcripción α -amanitina y con triptolide, se siguen detectando los dominios, sugiriendo al igual que en los embriones de ratón, que el establecimiento de los dominios ocurre por un proceso independiente a la transcripción (55). Sin embargo, los dominios de los embriones tratados con los inhibidores de la transcripción, ganan contactos inter-dominios mientras que los contactos intra-dominio disminuyen. Los autores de este trabajo sugieren que si bien la transcripción no es un proceso elemental en la estructuración de los dominios, si contribuye a limitar a los contactos al interior de cada dominio (55). Una proteína que muestra enriquecimiento en las fronteras de los embriones de mosca, en una etapa del desarrollo donde los dominios comienzan

a formarse es el factor de transcripción Zelda. En embriones con abatimiento de esta proteína, se observa que las fronteras desaparecen, por lo que este factor puede ser relevante para el establecimiento de la topología genómica de *Drosophila*, sin embargo, no todas las fronteras requieren de Zelda para establecerse (55).

En pez cebra, el genoma de los cigotos que aún no han pasado por la activación genómica, se organiza en compartimentos y dominios, las fronteras de los dominios están enriquecidas con CTCF, genes constitutivos y marcas de histonas de cromatina accesible.

De forma interesante, cuando ocurre la activación genómica del cigoto, la topología del genoma se pierde dramáticamente, y se establecen nuevamente de manera gradual conforme avanza el desarrollo (56).

Estas evidencias de diferentes tipos de organismos, en el establecimiento de las estructuras topológicas, nos sugieren que la transcripción tiene una relación compleja con la organización 3D del genoma y que ésta puede tener una función más o menos relevante dependiendo de la especie en estudio. A la fecha no podemos asegurar que la transcripción sea el proceso suficiente y necesario que dirige a la organización del genoma durante el desarrollo del cigoto en todas las especies y seguramente actúa junto con otros elementos que contribuyen a estructurar el genoma, como es el caso de la proteína Zelda en *Drosophila*. Por otro lado, varias evidencias sugieren que existen particularidades dependiendo del locus evaluado, con lo cual, las reglas generales que determinan la organización 3D del genoma todavía se desconocen.

5. RELACIÓN ENTRE LA ORGANIZACIÓN 3D DEL GENOMA Y LA REPLICACIÓN

En ratón, se han realizado experimentos para estudiar la conformación tridimensional del genoma en embriones sometidos al tratamiento con el inhibidor de la replicación afidicolina. A diferencia de lo observado con los inhibidores de la transcripción, que no afectan del todo la estructura del genoma, el bloqueo de la replicación conduce a la pérdida de dominios, sugiriendo que este proceso contribuye en el establecimiento de estas estructuras genómicas. Se ha propuesto que esto puede deberse a que las proteínas estructurales que se unen al DNA, acceden con facilidad a la cromatina durante el proceso de replicación y probablemente en los embriones de dos células, la replicación facilite el reemplazo de variantes de histonas o modificaciones de histonas activas, lo cual podría ser relevante para establecer a los dominios y compartimentos (50).

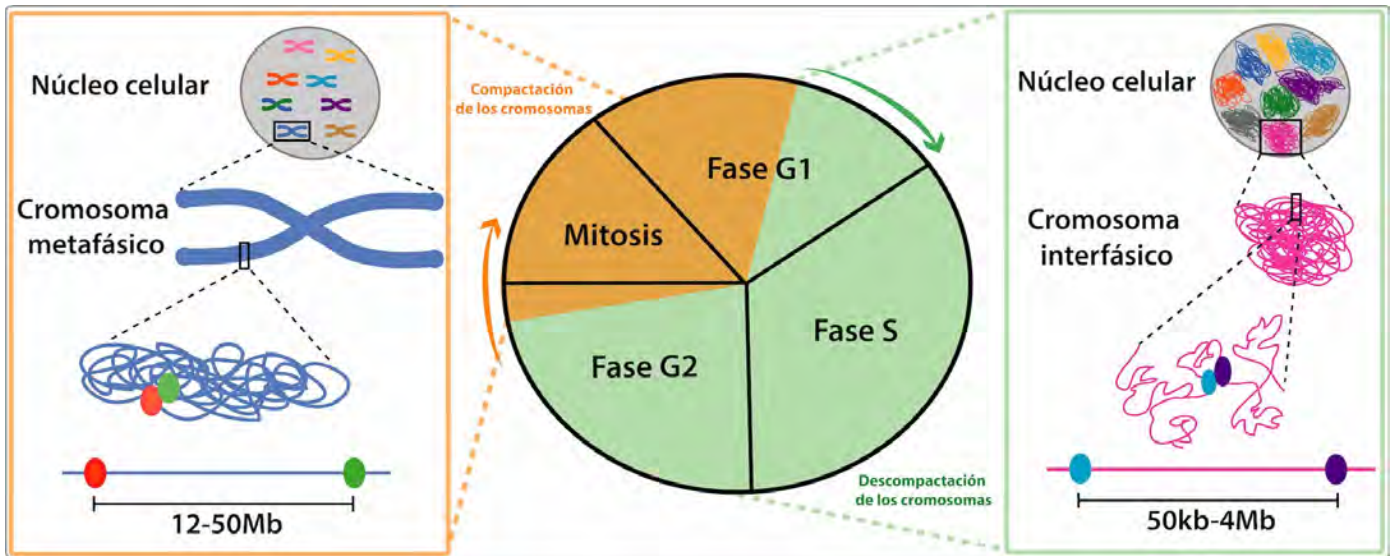


Figura 3. Dinámica de la estructura 3D del genoma durante el ciclo celular. Durante las fases del ciclo celular, ocurren cambios en las distancias de los contactos entre regiones del genoma. Después de la mitosis los cromosomas se descompactan en la fase G1, dando lugar al establecimiento de los compartimentos, dominios e interacciones entre promotores y elementos regulatorios. Estas estructuras se mantienen desde una etapa de la fase G1 hasta G2 (región verde del ciclo celular), los contactos entre regiones pueden ir desde los 50kb hasta 4Mb aproximadamente (representados con el círculo azul y morado en un cromosoma interfásico). Los compartimentos y dominios se desestructuran por completo en la mitosis (región naranja del ciclo celular), dado que el cromosoma metafásico representa el nivel más alto de compactación del genoma, se fomentan interacciones de largo alcance, de 12-50Mb aproximadamente (representados con el círculo rojo y verde en un cromosoma metafásico).

Durante la replicación existen dominios genómicos que se replican tempranamente y otros que lo hacen de manera más tardía. Estos dominios con distintos momentos de replicación corresponden a dominios topológicamente asociados y son unidades estables durante la síntesis del DNA. Los dominios que se replican de manera temprana se localizan en compartimentos tipo A, mientras que los dominios de replicación tardía se encuentran en compartimentos B (57). Durante la etapa de mitosis éstos se desestructuran y se re-establecen en la fase G1 temprana del ciclo celular, permitiendo que los contactos entre genes y elementos de regulación vuelvan a formarse, dando inicio a los procesos de transcripción y silenciamiento de genes (Fig. 3). Respecto a los compartimentos, en contraste a los TADs, la compartimentalización es débil durante la fase G1 y aumenta hacia el inicio de la fase S, teniendo su máxima organización en la fase G2, justo antes de una completa pérdida de compartimentos en la mitosis (58).

Para tratar de entender cómo la replicación puede regular la topología del genoma, se ha explorado al dominio Dppa2/4. Las fronteras del dominio Dppa2/4 en mESC tienen enriquecimiento de CTCF y al deletar las fronteras de este dominio no se afecta el proceso de replicación. Contrariamente si se eli-

minan secuencias al interior del dominio, las cuales están enriquecidas con factores de transcripción y marcas de cromatina que incluyen a P300, H3K27ac, H3K4m1, H3K4m3, Med1, and OCT4, SOX2 y NANOG, se observa que el dominio cambia del compartimento A al B, las fronteras se desestabilizan y se pierde la transcripción del dominio. Este tipo de elementos tipo potenciadores se han nombrado ERCes (*Early Replication Control Element*) (59). Esto sugiere que hay regiones dentro de los dominios que contribuyen a la organización del genoma, la replicación y la transcripción, sin embargo estas características no se encuentran en todos los dominios del genoma, por lo que no podemos concluir que los ERCes regulen la replicación, la transcripción y la topología en todo el genoma.

A pesar de la información que se tiene hasta ahora sobre la relación entre los dominios con la replicación, no es claro cómo los dominios vuelven a formarse después de la mitosis, además desconocemos qué elementos son necesarios y suficientes para el restablecimiento de la topología genómica.


6. CONCLUSIONES

Los dominios topológicos son unidades estructurales que contribuyen a la regulación de la transcripción

y dependiendo de su tipo de cromatina, pueden replicarse de forma temprana o tardía. Estos dominios están conservados en un porcentaje alto entre tipos celulares, y hay dominios específicos en cada tipo celular. A la fecha no hay evidencias que sustenten que la transcripción o la replicación sean estrictamente necesarios para conformar a la topología del genoma y viceversa. Conocemos factores como CTCF, cohesina, marcas de histonas activas y elementos de replicación temprana que fomentan tanto la transcripción como la estructuración del genoma y el momento de la replicación. Sin embargo, aún desconocemos qué elementos son esenciales para coordinar estos procesos. A pesar de que se han descrito diversos elementos en las fronteras de los dominios, existen fronteras que no tienen enriquecimiento de CTCF y/o cohesina y fronteras que presentan niveles bajos o nulos de transcripción. Estas regiones con característi-

cas particulares no se han explorado, por lo que desconocemos qué otros elementos pueden estar fomentado la organización del genoma en dominios y cómo esto se relaciona con la transcripción y la replicación. Por las evidencias experimentales que se tienen hasta ahora, todo indica a que la topología, la transcripción y la replicación son procesos interdependientes y que existen particularidades dependiendo de la especie en estudio. Esto indica que al día de hoy, todavía desconocemos a todos los factores necesarios y suficientes que estructuran al genoma en tres dimensiones.

Agradecimientos

Karina Jácome-López es becaria de CONACyT (CVU 631104). Agradecemos al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT IN207319). 

REFERENCIAS

1. Cremer T, Cremer C. (2001) Chromosome Territories, Nuclear Architecture and Gene Regulation in Mammalian Cells. *Nat Rev Genet* 2:292-301.
2. Lieberman-aiden E, Berkum NL Van, Williams L, Imakaev M, Ragoczy T, Telling A, et al. (2009) Comprehensive Mapping of Long-Range Interactions Reveals Folding Principles of the Human Genome. *Science* 326:289-293.
3. Dixon JR, Gorkin DU, Ren B. (2016) Chromatin Domains: The Unit of Chromosome Organization. *Mol Cell* 62:668-680.
4. Bonev Boyan, Cavalli Giacomo (2016) Organization and function of the 3D genome. *Nat Rev Genet* 17:661-678.
5. Lupiáñez DG, Spielmann M, Mundlos S. (2016) Breaking TADs: How Alterations of Chromatin Domains Result in Disease. *Trends Genet* 32:225-237.
6. Dixon JR, Selvaraj S, Yue F, Kim A, Li Y, Shen Y, et al. (2012) Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions. *Nature* 485:376-380.
7. Hong S, Kim D. (2017) Computational characterization of chromatin domain boundary-associated genomic elements. *Nucleic Acids Res* 45:10403-10414.
8. Nora EP, Lajoie BR, Schulz EG, Giorgetti L, Okamoto I, Servant N, et al. (2012) Spatial partitioning of the regulatory landscape of the X-inactivation centre. *Nature* 485:381-385.
9. Lupiáñez DG, Kraft K, Heinrich V, Krawitz P, Brancati F, Klopocki E, et al. (2015) Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions. *Cell* 161:1012-1025.
10. van Steensel B, Furlong EEM (2019) The role of transcription in shaping the spatial organization of the genome. *Nat Rev Mol Cell Biol* 20:327-337.
11. Rowley MJ, Nichols MH, Lyu X, Ando-Kuri M, Rivera ISM, Hermetz K, et al. (2017) Evolutionarily Conserved Principles Predict 3D Chromatin Organization. *Mol Cell* 67(5):837-852.e7.
12. Crane E, Bian Q, Mccord RP, Lajoie BR, Wheeler BS, Ralston EJ, et al. (2015) Condensin-driven remodelling of X chromosome topology during dosage compensation. *Nature* 523(7559):240-4.
13. Wang G, Becker C, Weigel D, Zaidem M, Wang C, Liu C. (2017) Genome-wide analysis of chromatin packing in *Arabidopsis thaliana* at single-gene resolution. *Genome Res*. 26:1057-1068.
14. Liu C, Cheng Y-J, Wang J-W, Weigel D. (2017) Prominent topologically associated domains differentiate global chromatin packing in rice from *Arabidopsis*. *Nat Plants* 3:742-748.
15. Ong C, Corces VG. (2014) CTCF : an architectural protein bridging genome topology and function. *Nat Publ Gr* 15(4):234-46.

16. Merckenschlager M, Nora EP. (2016) CTCF and Cohesin in Genome Folding and Transcriptional Gene Regulation. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 17(1):17-43.
17. Hansen AS, Pustova I, Cattoglio C, Tjian R, Darzacq X. (2017) CTCF and cohesin regulate chromatin loop stability with distinct dynamics. *Elife* 6:1-10.
18. Whyte WA, Orlando DA, Hnisz D, Abraham BJ, Lin CY, Kagey MH, et al. (2013) Master transcription factors and mediator establish super-enhancers at key cell identity genes. *Cell* 153(2):307-19.
19. Kragestein BK, Spielmann M, Paliou C, Heinrich V, Schöpflin R, Esposito A, et al. (2018) Dynamic 3D chromatin architecture contributes to enhancer specificity and limb morphogenesis. *Nat Genet* 50(10):1463-73.
20. Spielmann M, Brancati F, Krawitz PM, Robinson PN, Ibrahim DM, Franke M, et al. (2012) Homeotic arm-to-leg transformation associated with genomic rearrangements at the PITX1 locus. *Am J Hum Genet* 91(4):629-35.
21. Flottmann R, Wagner J, Kobus K, Curry CJ, Savarirayan R, Nishimura G, et al. (2015) Microdeletions on 6p22.3 are associated with mesomelic dysplasia Savarirayan type. *J Med Genet* 52(7):476-83.
22. Franke M, Ibrahim DM, Andrey G, Schwarzer W, Heinrich V, Schöpflin R, et al. (2016) Formation of new chromatin domains determines pathogenicity of genomic duplications. *Nature* 538:265-269.
23. Despang A, Schöpflin R, Franke M, Ali S, Jerkovic I, Paliou C, et al. Functional dissection of the Sox9-Kcnj2 locus identifies nonessential and instructive roles of TAD rchitecture. (2019) *Nat Genet* 51(August):566562.
24. Flavahan WA, Drier Y, Liau BB, Gillespie SM, Venteicher AS, Stemmer-Rachamimov AO, et al. (2016) Insulator dysfunction and oncogene activation in IDH mutant gliomas. *Nature* 529:110-114.
25. Reddy J, Porteus MH, Fan ZPZP, Goldmann J, Weintraub AS, Lajoie BR, et al. (2016) Activation of proto-oncogenes by disruption of chromosome neighborhoods. *Science* 351:1454-1458.
26. Simmons O, Pan L, Remeseiro S, Aktas T, Klein F, Huber W, et al. (2016) The Shh Topological Domain Facilitates the Action of Remote Enhancers by Reducing the Effects of Genomic Distances. *Dev Cell* 39:529-543.
27. Narendra V, Rocha PP, An D, Raviram R, Skok JA, Mazzoni EO, et al. (2015) CTCF establishes discrete functional chromatin domains at the Hox clusters during differentiation. *Science* 347:1017-1021.
28. Fudenberg G, Imakaev M, Lu C, Goloborodko A, Abdennur N, Mirny LA. (2016) Formation of Chromosomal Domains by Loop Extrusion. *Cell Rep* 15(9):2038-49.
29. Nakahashi H, Kwon K-RK, Resch W, Vian L, Dose M, Stavreva D, et al. (2013) A genome-wide map of CTCF multivalency redefines the CTCF code. *Cell Rep* 3:1678-1689.
30. Nora EP, Goloborodko A, Valton AL, Gibcus J, Uebersohn A, Abdennur N, et al. (2017) Targeted degradation of CTCF decouples local insulation of chromosome domains from higher-order genomic compartmentalization. *Cell* 169:930-944.
31. Wutz G, Várnai C, Nagasaka K, Cisneros DA, Stocsits RR, Tang W, et al. (2017) Topologically associating domains and chromatin loops depend on cohesin and are regulated by CTCF, WAPL, and PDS5 proteins. *EMBO J.* 36:3573-3599.
32. Saldaña-Meyer R, Rodriguez-Hernaez J, Escobar T, Nishana M, Jácome-López K, Nora EP, et al. (2019) RNA Interactions Are Essential for CTCF-Mediated Genome Organization. *Mol Cell* 76:1-11.
33. Wendt KS, Yoshida K, Itoh T, Bando M, Koch B, Schirghuber E, et al. (2008) Cohesin mediates transcriptional insulation by CCCTC-binding factor. *Nature* 451:796-801.
34. Rao SSP, Huntley MH, Durand NC, Stamenova EK, Bochkov ID, Robinson JT, et al. (2014) A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping. *Cell* 159:1665-1680.
35. Rao SSP, Huang SC, Glenn St Hilaire B, Engreitz JM, Perez EM, Kieffer-Kwon KR, et al. (2017) Cohesin Loss Eliminates All Loop Domains. *Cell* 171:305-320.
36. Schwarzer W, Abdennur N, Goloborodko A, Pekowska A, Fudenberg G, Loe-Mie Y, et al. (2017) Two independent modes of chromatin organization revealed by cohesin removal. *Nature* 551:51-56.
37. Rubin AJ, Barajas BC, Furlan-Magaril M, Lopez-Pajares V, Mumbach MR, Howard I, et al. (2017) Lineage-specific dynamic and pre-established enhancer-promoter contacts cooperate in terminal differentiation. *Nat Genet* 49(10):1522-8.
38. Le TBK, Imakaev M V., Mirny LA, Laub MT (2013) High-resolution mapping of the spatial organization of a bacterial chromosome. *Science* 342:731-734.

39. Le TB, Laub MT (2016) Transcription rate and transcript length drive formation of chromosomal interaction domain boundaries. *EMBO J.* 35:1582-1595.
40. Marbouty M, Le Gall A, Cattoni DI, Cournac A, Koh A, Fiche JB, et al. (2015) Condensin- and Replication-Mediated Bacterial Chromosome Folding and Origin Condensation Revealed by Hi-C and Super-resolution Imaging. *Mol Cell* 59:588-602.
41. Ulianov S, Razin S, Shevelyov Y. (2016) Active chromatin and transcription play a key role in chromosome partitioning into TADs. *Genome Res* 1:70-84.
42. Sexton T, Yaffe E, Kenigsberg E, Bantignies F, Leblanc B, Hoichman M, et al. (2012) Three-dimensional folding and functional organization principles of the *Drosophila* genome. *Cell* 148:458-472.
43. Chathoth KT, Zabet NR. (2019) Chromatin architecture reorganisation during neuronal cell differentiation in *Drosophila* genome. *Genome Res* 29:613-625.
44. Arzate-Mejía RG, Cerecedo-Castillo AJ, Guerrero G, et al. (2019) In situ dissection of domain boundaries affect genome topology and gene transcription in *Drosophila*. *bioRxiv* September 19, 2019.
45. Li L, Lyu X, Hou C, Takenaka N, Nguyen HQ, Ong CT, et al. (2015) Widespread Rearrangement of 3D Chromatin Organization Underlies Polycomb-Mediated Stress-Induced Silencing. *Mol Cell* 58:216-231.
46. Rowley MJ, Lyu X, Rana V, Ando-Kuri M, Karns R, Bosco G, et al. (2019) Condensin II Counteracts Cohesin and RNA Polymerase II in the Establishment of 3D Chromatin Organization. *Cell Rep* 26:2890-2903.
47. Bonev B, Mendelson Cohen N, Szabo Q, Fritsch L, Papadopoulos GL, Lubling Y, et al. (2017) Multiscale 3D Genome Rewiring during Mouse Neural Development. *Cell* 171:557-572.
48. Barutcu AR, Maass PG, Lewandowski JP, Weiner CL, Rinn JL. (2018) A TAD boundary is preserved upon deletion of the CTCF-rich *Firre* locus. *Nat Commun* 9:1-11.
49. Carone BR, Hung JH, Hainer SJ, Chou M Te, Carone DM, Weng Z, et al. (2014) High-resolution mapping of chromatin packaging in mouse embryonic stem cells and sperm. *Dev Cell* 30:11-22.
50. Ke Y, Xu Y, Chen X, Feng S, Liu Z, Sun Y, et al. (2017) 3D Chromatin Structures of Mature Gametes and Structural Reprogramming during Mammalian Embryogenesis. *Cell* 170:367-381.
51. Battulin N, Fishman VS, Mazur AM, Pomaznoy M, Khabarova AA, Afonnikov DA, et al. (2015) Comparison of the three-dimensional organization of sperm and fibroblast genomes using the Hi-C approach. *Genome Biol* 16:77.
52. Jung YH, Sauria MEG, Lyu X, Cheema MS, Ausio J, Taylor J, et al. (2017) Chromatin States in Mouse Sperm Correlate with Embryonic and Adult Regulatory Landscapes. *Cell Rep* 18:1366-1382.
53. Du Z, Zheng H, Huang B, Ma R, Wu J, Zhang X, et al. (2017) Allelic reprogramming of 3D chromatin architecture during early mammalian development. *Nature* 547:232-235.
54. Flyamer IM, Gassler J, Imakaev M, Ulyanov S V, Abdennur N, Razin S V., et al. (2017) Single-cell Hi-C reveals unique chromatin reorganization at oocyte-to-zygote transition. *Nat Publ Gr* 544:1-17.
55. Hug CB, Grimaldi AG, Kruse K, Vaquerizas JM. (2017) Chromatin Architecture Emerges during Zygotic Genome Activation Independent of Transcription. *Cell* 169:216-228.
56. Kaaij LJT, van der Weide RH, Ketting RF, de Wit E. (2018) Systemic Loss and Gain of Chromatin Architecture throughout Zebrafish Development. *Cell Rep.* 24:1-10.
57. Pope BD, Ryba T, Dileep V, Yue F, Wu W, Denas O, et al. (2014) Topologically associating domains are stable units of replication-timing regulation. *Nature* 515:402-405.
58. Nagano T, Lubling Y, Várnai C, Dudley C, Leung W, Baran Y, et al. (2017) Cell-cycle dynamics of chromosomal organization at single-cell resolution. *Nature* 547:61-67.
59. Sima J, Chakraborty A, Dileep V, Fraser P, Ay F, Gilbert DM, et al. (2019) Identifying cis Elements for Spatiotemporal Control of Mammalian DNA Replication Article Identifying cis Elements for Spatiotemporal Control of Mammalian DNA Replication. *Cell* 176:816-830.