



Механизмы позиционной специфичности пионерного транскрипционного фактора Sox2 при связывании с нуклеосомой

Романова Т. А., 6 курс ФББ МГУ

Научные руководители:

д.ф.-м.н. Шайтан Алексей Константинович

д.х.н. Головин Андрей Викторович

Нуклеосома

гистон H3
гистон H4
гистон H2A
гистон H2B
ДНК

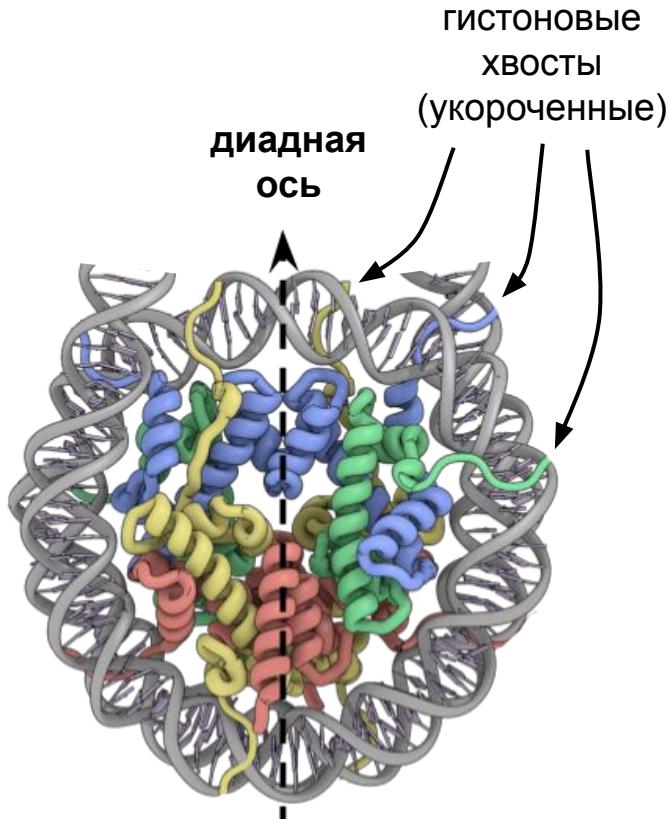
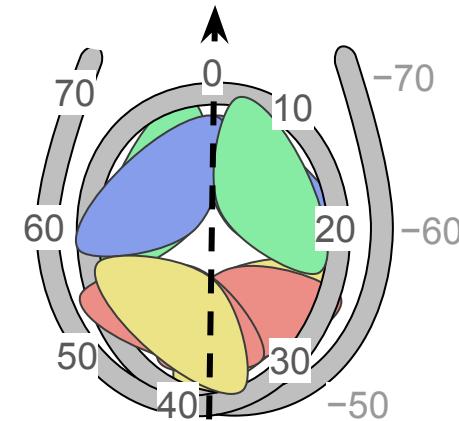


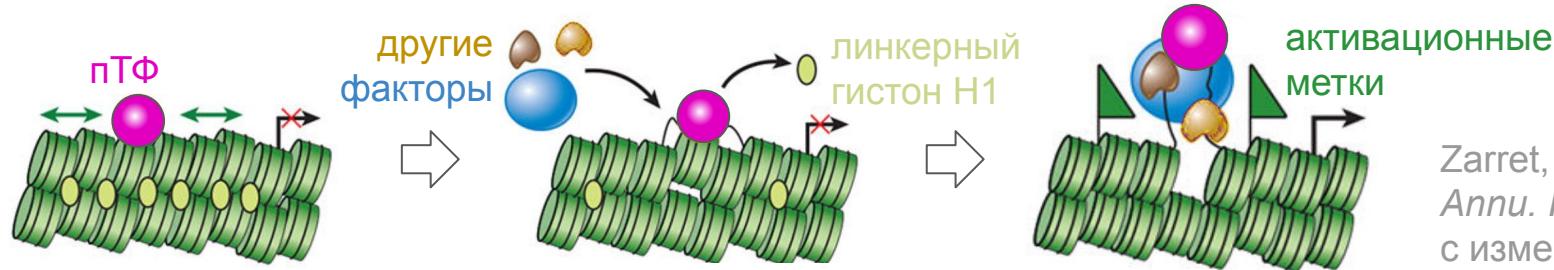
Схема строения коровой нуклеосомной частицы



Нумерация нуклеосомной ДНК относительно диадной пары нуклеотидов

Пионерные транскрипционные факторы (пТФ)

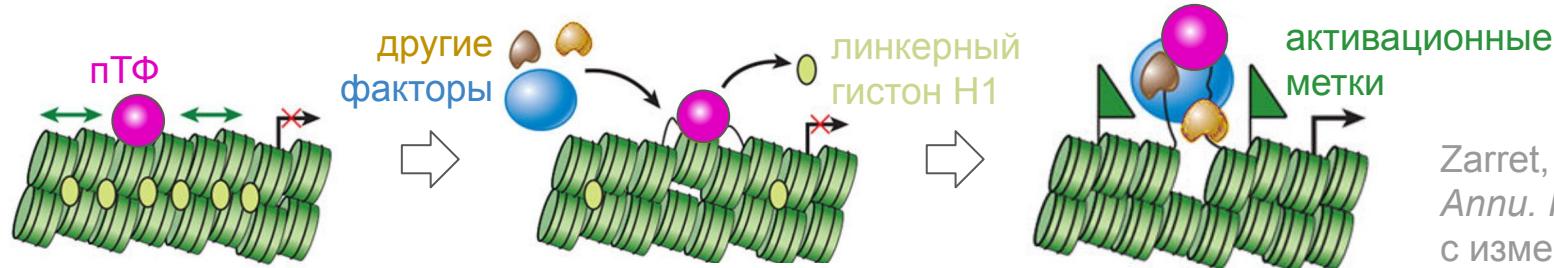
- пТФ связываются с нуклеосомами и вызывают открытие хроматина



Zarret, 2020,
Annu. Rev. Genet.
с изменениями

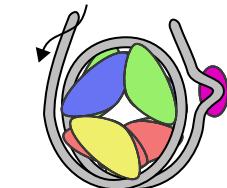
Пионерные транскрипционные факторы (пТФ)

- пТФ связываются с нуклеосомами и вызывают открывание хроматина

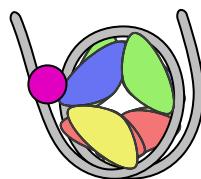


Zarret, 2020,
Annu. Rev. Genet.
с изменениями

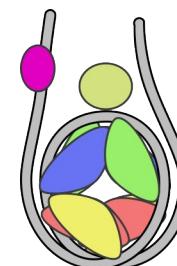
- пТФ влияют на структуру и динамику нуклеосом



Скольжение
ДНК



Откручивание
ДНК



Взаимодействие/
конкуренция с гистонами

пТФ
H3
H4
H2A
H2B
H1
ДНК

SOX2

- Пионерный транскрипционный фактор
- Один из факторов Яманаки
- Изгибает ДНК
- Противоречивая информация о предпочтаемых нуклеосомных положениях

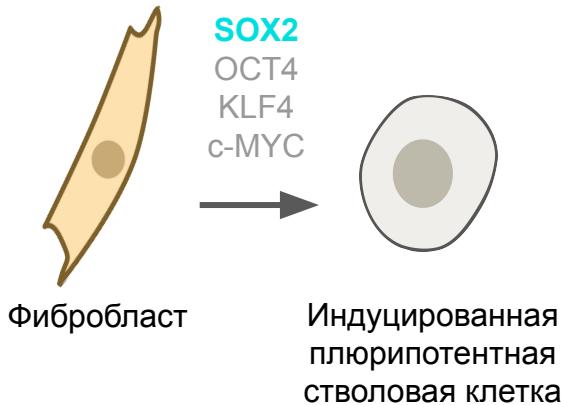
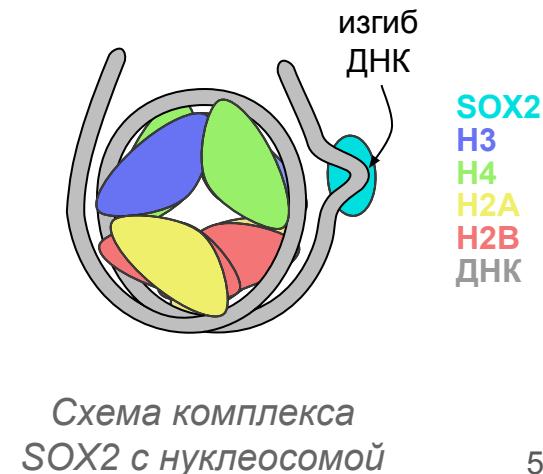


Схема работы факторов Яманаки



Цель

Проанализировать комплексы SOX2-нуклеосома с различным положением SOX2 при помощи методов молекулярной динамики:

- определить влияние SOX2 на структуру и динамику нуклеосомы;
- выделить факторы, определяющие различие эффективности связывания SOX2 на различных позициях;
- определить их значимость для выполнения SOX2 своей пионерной функции.

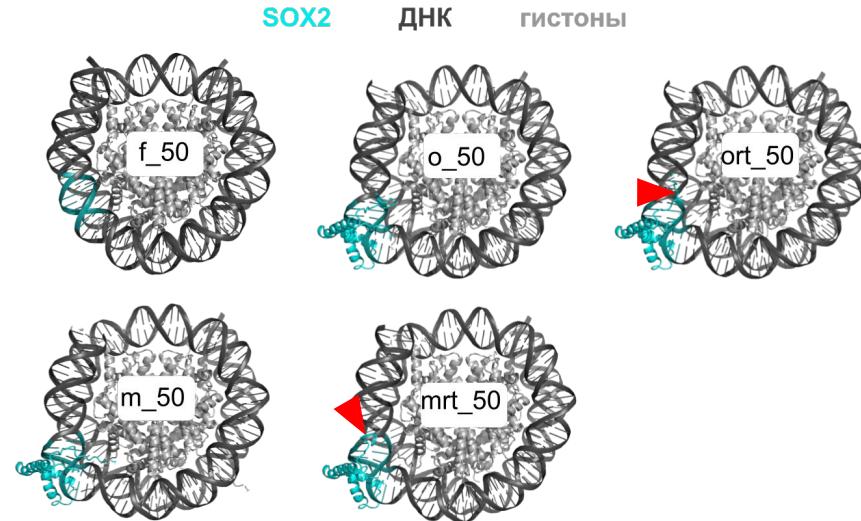
Задачи

- Получить траектории молекулярной динамики для ранее полученных комплексов SOX2-нуклеосома с различным положением сайта связывания SOX2, построенных в предыдущей работе, комплексов SOX2-нуклеосома на основе экспериментальных структур, а также свободных нуклеосом;
- Проанализировать полученные траектории комплексов SOX2-нуклеосома:
 - Охарактеризовать особенности комплексов SOX2-нуклеосома в сравнении со свободной нуклеосомой, выделив параметры для количественного описания этих особенностей;
 - Сравнить комплексы SOX2-нуклеосома по данным параметрам, определив сходство и различие комплексов SOX2-нуклеосома для различных положений сайта связывания SOX2;
- На основе полученных данных сделать вывод о причинах предпочтительного связывания SOX2 с теми или иными нуклеосомными позициями и об их значении для роли SOX2 как пионерного транскрипционного фактора.

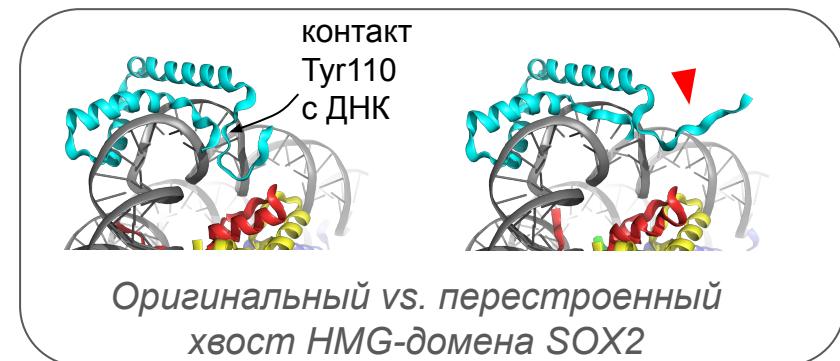
Материалы и методы

9 систем, 5 положений сайта SOX2:

- 50
 - **f** (free) — мотив без белка
 - **o** (original) — на основе экспериментальной структуры
 - **m** (model) — построен «вставкой» изгиба ДНК в свободную нуклеосому
 - **ort, mrt** (o/m + reconstructed tail, ►) — с перестроенным хвостом ДНК-связывающего HMG-домена SOX2



Использованные в работе системы (позиция 50)

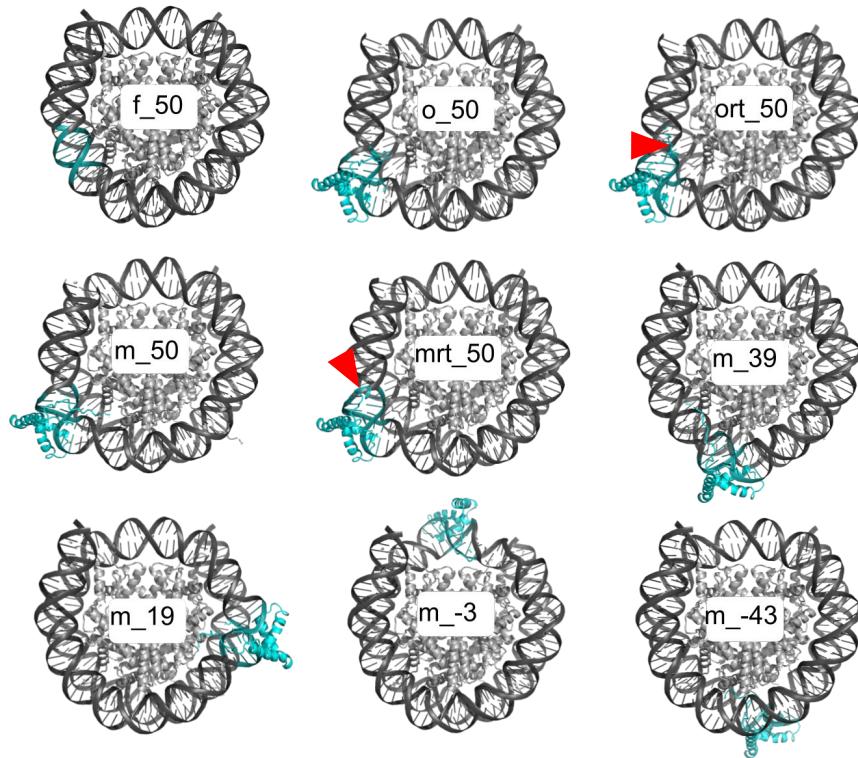


Материалы и методы

9 систем, 5 положений сайта SOX2:

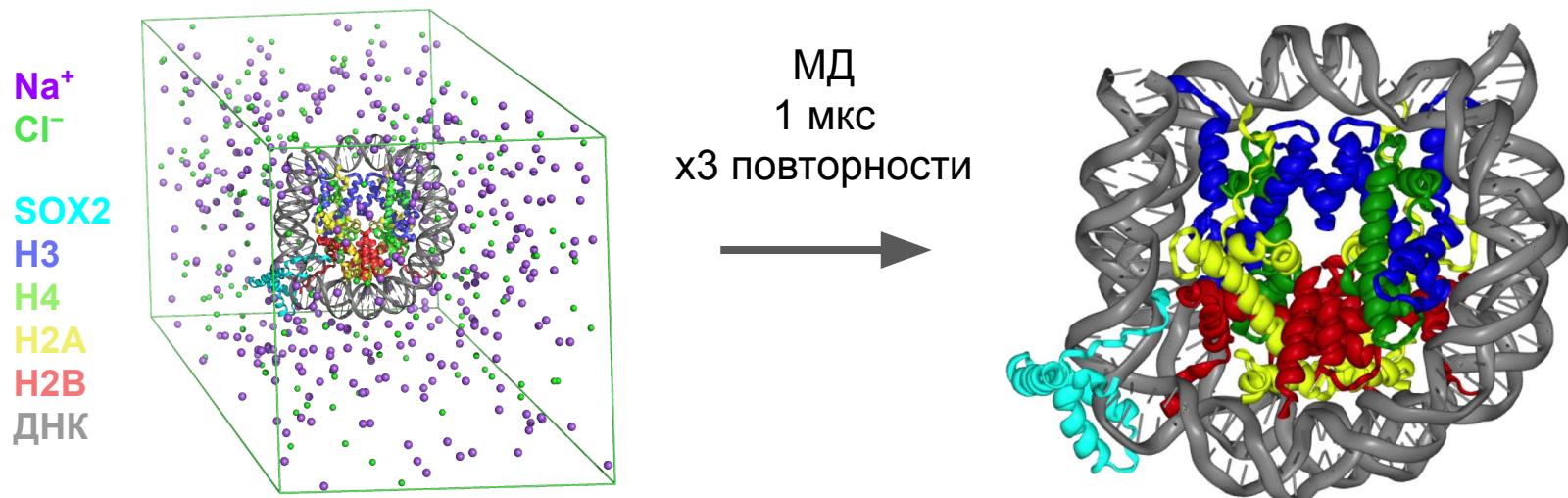
- 50
 - **f** (free) — мотив без белка
 - **o** (original) — на основе экспериментальной структуры
 - **m** (model) — построен «вставкой» изгиба ДНК в свободную нуклеосому
 - **ort, mrt** (o/m + reconstructed tail, ▶) — с перестроенным хвостом ДНК-связывающего HMG-домена SOX2

 - 39
 - 19
 - -3
 - -43
- } только **m**



Использованные в работе системы

Материалы и методы

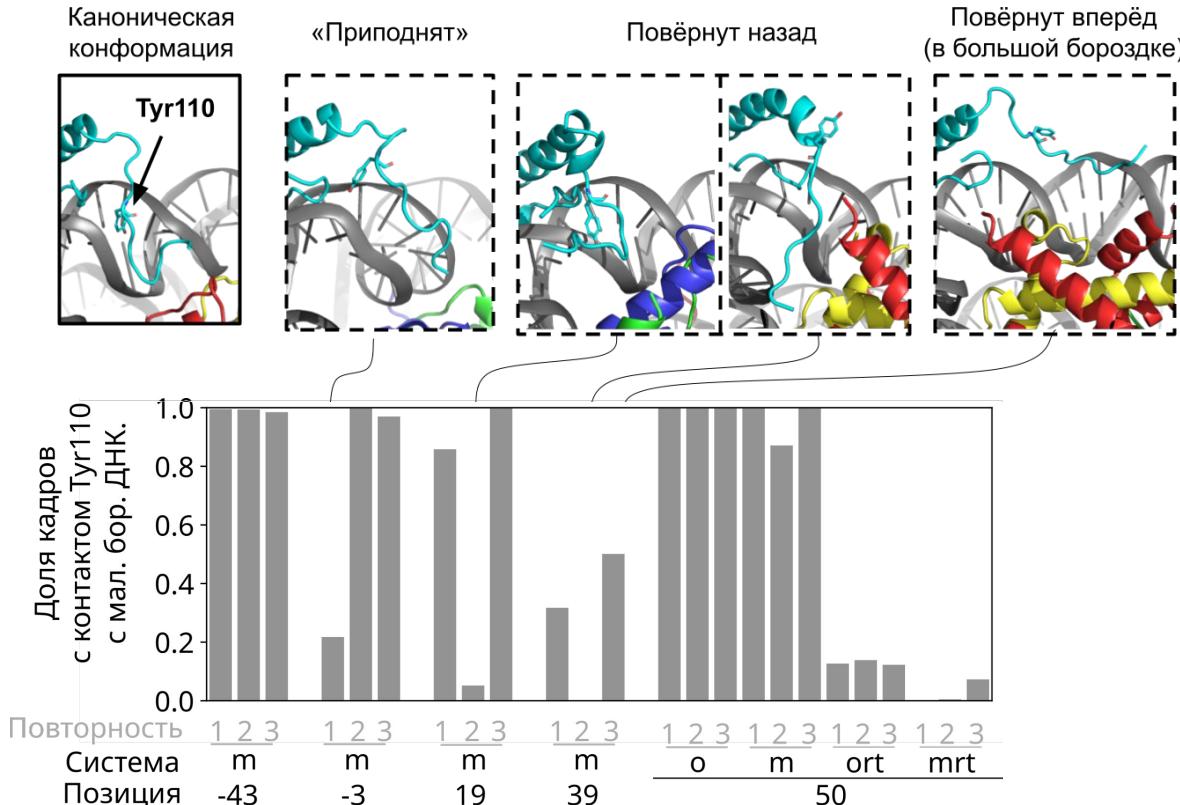


Пример подготовленной
системы в симуляционной
ячейке

Пример полученной МД
траектории

Хвост HMG-домена SOX2

- Не находит каноническую конформацию на позиции 50, когда не стартует с неё, но сохраняет, когда стартует с неё.
 - Теряет каноническую конформацию на позиции 39, плюс, отчасти, 19 и -3
 - На некоторых позициях образует контакты с гистонами (особенно, позиции 19)

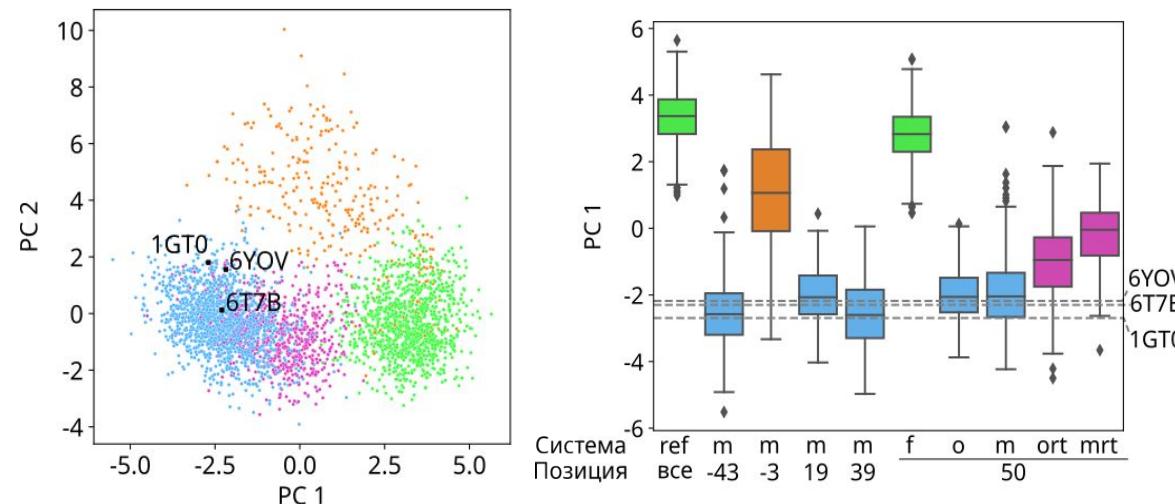


Конформации хвоста HMG-домена SOX2.
Сверху: альтернативные конформации,
снизу: сохранение канонической конформации.

Специфическая геометрия ДНК

- На позиции –3 теряется специфическая геометрия ДНК в области мотива SOX2 и некоторые сиквенс-специфические контакты SOX2-ДНК
- Потеря канонической конформации хвоста HMG-домена нарушает геометрию ДНК на позиции 50, но не на прочих

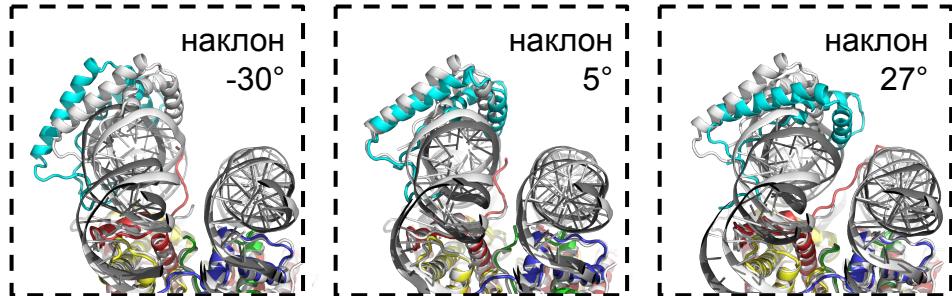
Свободная нуклеосома
Комплекс, позиции -43, 19, 39, 50
Комплекс, позиция -3
Комплекс, позиция 50, перестроенный хвост HMG домена



Особенности геометрии ДНК в области сайта связывания SOX2 (анализ методом главных компонент). Слева: проекция кадров МД на две первые главные компоненты, справа: распределение значений первой главной компоненты в МД

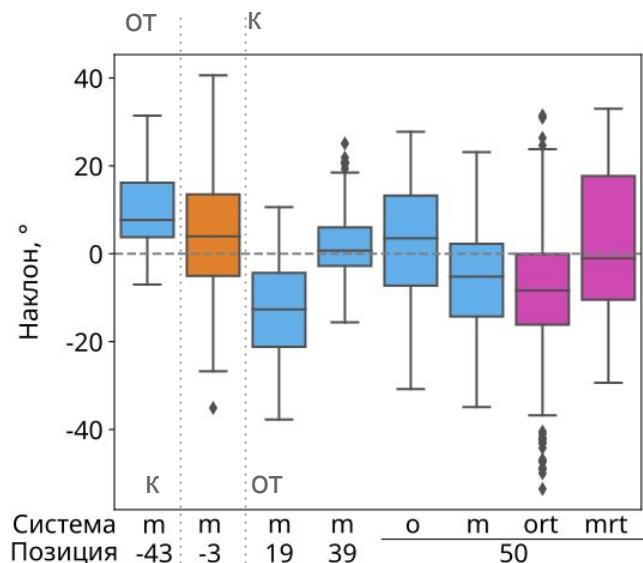
Наклон изгиба ДНК

- SOX2-индуцированный изгиб ДНК склонен отклоняться от соседнего витка ДНК



Кадры МД, иллюстрирующие разные значения наклона на позиции 50

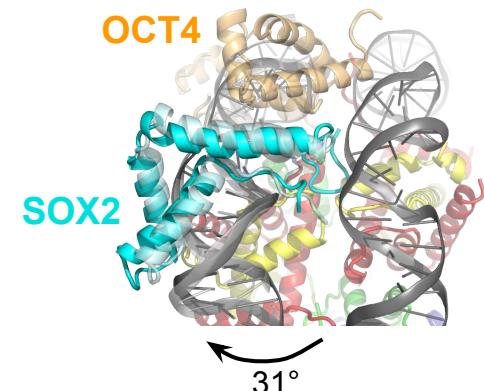
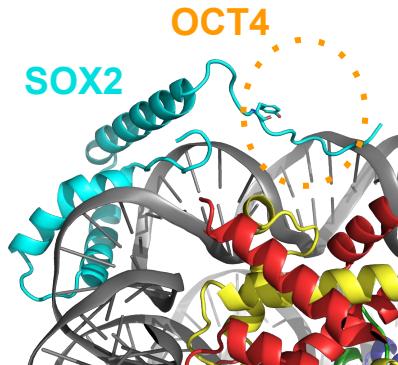
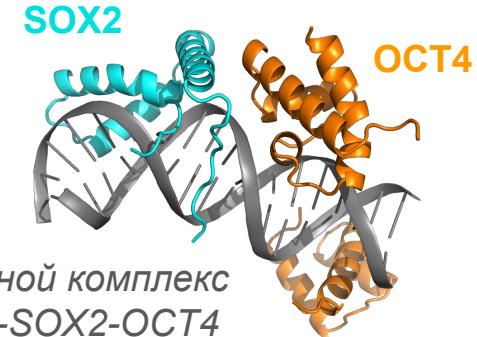
- Комплекс, позиции -43, 19, 39, 50
- Комплекс, позиция -3
- Комплекс, позиция 50, перестроенный хвост HMG домена



Распределение значений наклона в МД

Взаимодействие SOX2 с OCT4

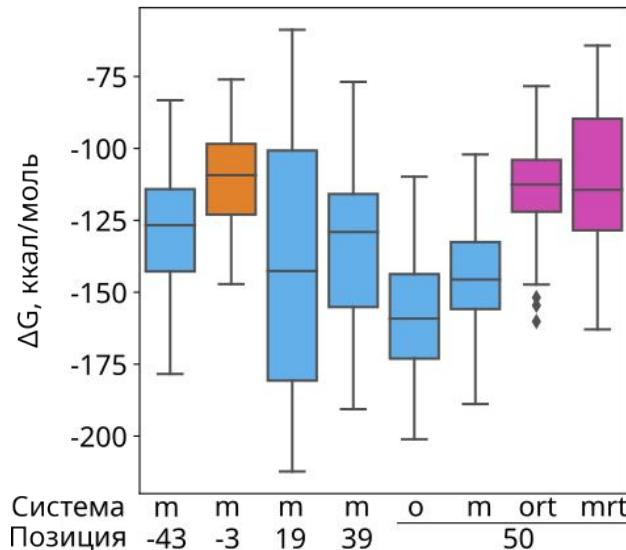
- Неканоническая конформация хвоста HMG домена может мешать связыванию OCT4
- Наклон изгиба ДНК может влиять на связывание OCT4
 - помогает на позиции -43
 - мешает на позициях 50, 19



ΔG связывания SOX2-нуклеосома

- Комплексы с нарушением специфической геометрии ДНК и сиквенс-специфических контактов SOX2-нуклеосома имеют менее отрицательное ΔG
- Наиболее отрицательное ΔG наблюдается на позиции 50

■ Комплекс, позиции -43, 19, 39, 50
■ Комплекс, позиция -3
■ Комплекс, позиция 50,
перестроенный хвост HMG домена



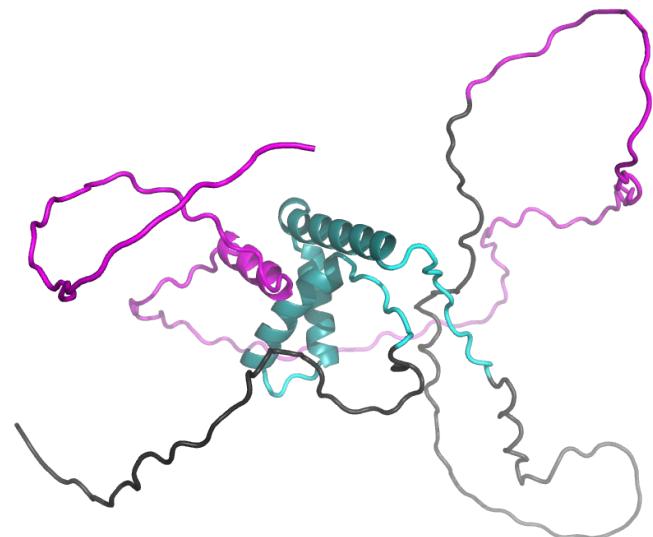
Свободная энергия связывания SOX2-нуклеосома согласно MM-PBSA

Выводы

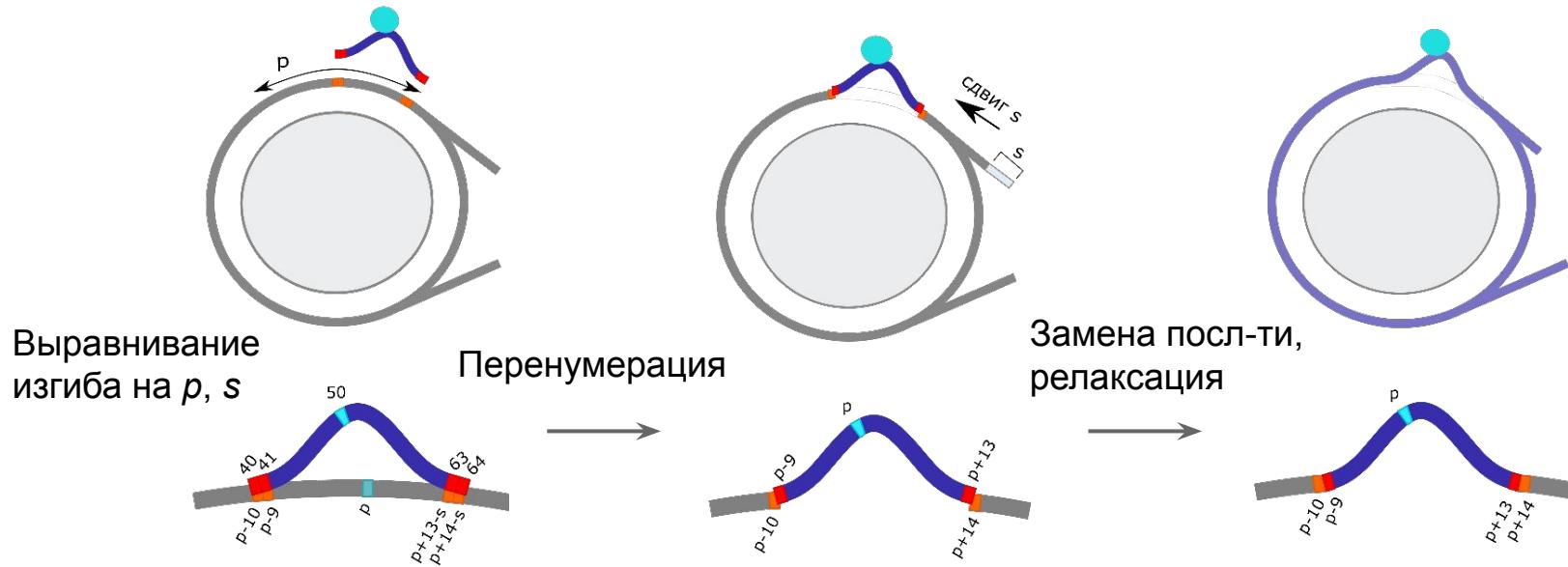
- Получены траектории молекулярной динамики для комплексов SOX2-нуклеосома с сайтом связывания SOX2 в пяти различных нуклеосомных положениях (50, 39, 19, -3, -43); всего 24 траектории длительностью 1 мкс.
- Для полученных траекторий описаны контакты SOX2 с нуклеосомной ДНК и с гистонами, геометрия нуклеосомной ДНК, оценена свободная энергия связывания SOX2-нуклеосома. Показано наличие в комплексах SOX2-нуклеосома особой динамической моды, заключающейся в наклоне индуцированного SOX2 изгиба ДНК относительно второго витка нуклеосомной ДНК.
- Определены различия между комплексами SOX2-нуклеосома на рассмотренных позициях, в частности, потеря специфических контактов SOX2-нуклеосома и особой геометрии ДНК в комплексе с SOX2 вблизи диады (позиция -3); потеря канонической конформации С-концевого участка HMG-домена SOX2 для некоторых комплексов (полная потеря в комплексе с SOX2 на позиции 39, частичная потеря в комплексе с SOX2 на позиции 19 и вблизи диады); стабильный контакт С-концевого участка HMG-домена SOX2 с гистоном H3 в комплексе на позиции 19.
- Оценено влияние данных различий на способность SOX2 к кооперативному взаимодействию с пионерным транскрипционным фактором OCT4 на различных нуклеосомных позициях

Дополнительные слайды

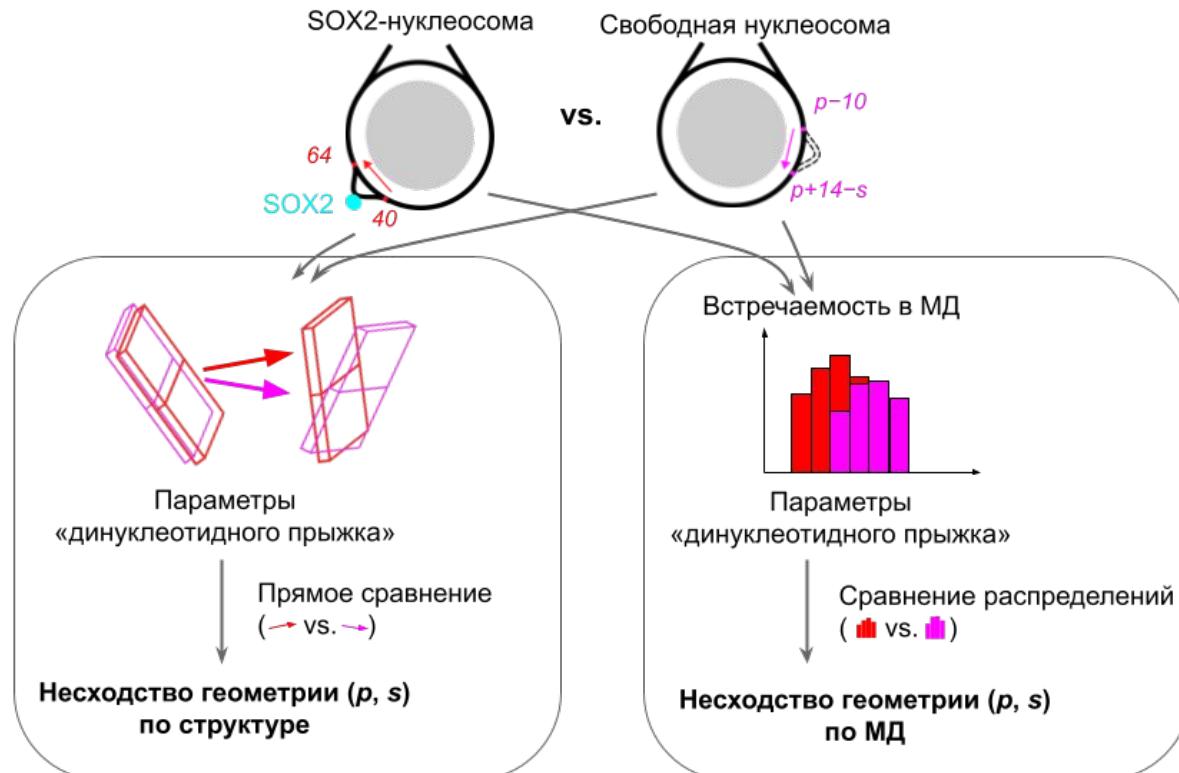
Доменная архитектура SOX2



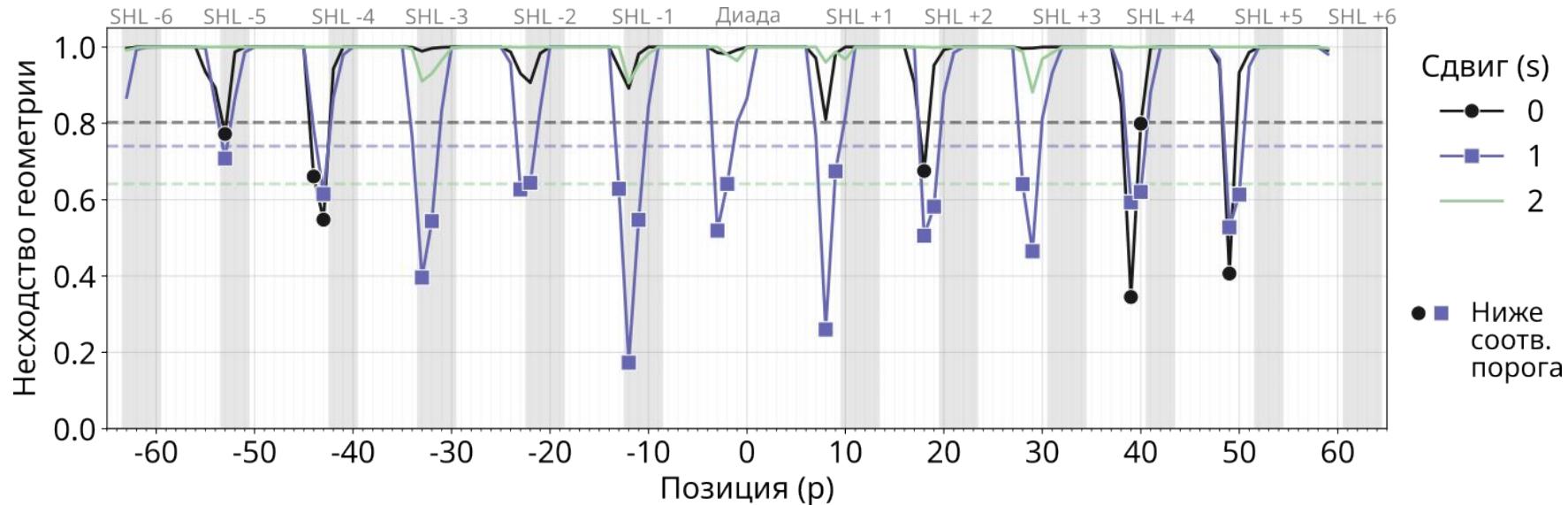
Построение комплексов SOX2-нуклеосома



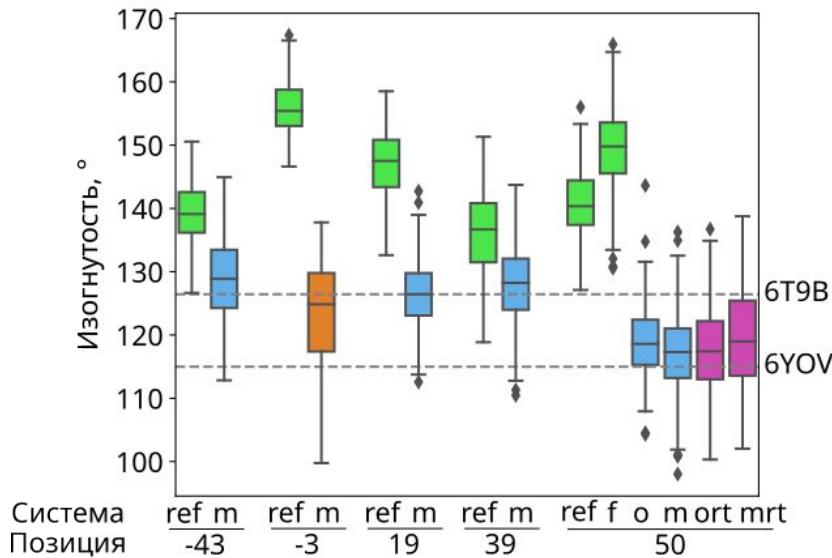
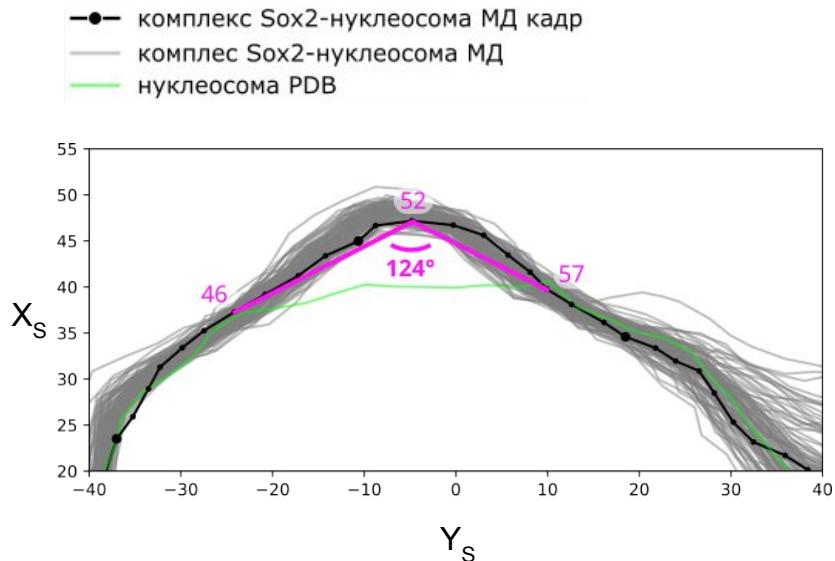
Поиск подходящих позиций: метод



Поиск подходящих позиций: результат



Общая изогнутость ДНК



Смещения вдоль оси Z

