

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
“Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова”
кафедра биоинженерии биологического факультета



На правах рукописи

Князева Анастасия Сергеевна

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДИНАМИКИ КАНОНИЧЕСКИХ И Н2А.Ζ-НУКЛЕОСОМ

Выпускная квалификационная работа магистра

Научные руководители:
д-р физ.-мат. наук
Шайтан Алексей Константинович
канд. физ.-мат. наук
Армееев Григорий Алексеевич

Москва — 2021

Оглавление

	Стр.
Введение	4
Цели и задачи	5
Публикации автора по теме диссертации	6
Глава 1. Обзор литературы	7
1.1 Структура хроматина и определение нуклеосомы	7
1.2 Вариантная форма гистона H2A - H2A.Z	9
1.3 Роль вариантов гистона H2A.Z в клетках	10
1.4 Роль гистона H2A.Z в регуляции транскрипции	10
1.5 Участие гистона H2A.Z в репарации двунитевых разрывов	11
1.6 Роль гистона H2A.Z в регуляции распространения гетерохроматина	12
1.7 Последствия нарушения встраивания или экспрессии гистона H2A.Z на уровне организма	12
1.8 Замещение канонического гистона H2A на вариантный гистон H2A.Z в составе нуклеосомы ремоделирующим комплексом SWR1	13
1.9 Узнавание канонического гистона H2A и его вариантной формы H2A.Z белками	15
Глава 2. Материалы и методы	19
2.1 Основы метода молекулярной динамики	19
2.2 Подготовка структур для вычислительного эксперимента	19
2.3 Проведение вычислительного эксперимента	21
2.4 Анализ траекторий	22
Глава 3. Результаты	23
3.1 Моделирование динамики канонических и вариантных нуклеосомных систем	23
3.2 Откручивание ДНК в микросекундном масштабе	24
3.3 Группы ключевых ДНК-гистоновых контактов и барьеры откручивания ДНК	24
3.4 Дефекты кручения ДНК в сайте SHL -5,5	28
3.5 Динамика канонических и вариантных димеров	30

3.6 Динамика центральных спиралей гистонов H2A(Z)	32
3.7 Динамика α C-спиралей гистонов H2A(Z)	36
Глава 4. Обсуждение	40
Заключение	44
Выводы	44
Благодарности	45
Список сокращений и условных обозначений	46
Список литературы	47
Список рисунков	56
Список таблиц	57
Приложение А. Рисунки и таблицы	58

Введение

Наследственная информация в живых организмах о структурах белков и их свойствах хранится в виде генов. “Содержание” генов, согласно центральной догме молекулярной биологии, определяется первичной структурой ДНК (у большинства организмов). Однако способ реализации этой информации очень сильно зависит от взаимодействия молекулы ДНК с белками и от динамических свойств этих взаимодействий. Механизмы контроля реализации наследственной информации изучает эпигенетика.

Наследственный материал клетки хранится в ядре, в виде компактной, сложно организованной и тонко регулируемой структуры - хроматина. Базовой единицей хроматина является нуклеосома - белковый диск с участком ДНК, совершающим два неполных витка вокруг диска. Эти структуры представляют собой динамические комплексы, которые определяют будет ли прочитан этот участок генома и с какой эффективностью. Существует несколько способов модуляции хроматина на этом, базовом уровне, такие как метилирование ДНК, пост-трансляционные модификации белков нуклеосомного диска, изменение состава белков диска. Интригующим вопросом является связь между структурными особенностями белков нуклеосомного диска и особенностями функционирования таких систем с точки зрения динамики ДНК. Работа нашей научной группы по изучению динамики нуклеосом канонического состава и поиску механизма управления динамикой ДНК белковым диском была опубликована в апреле в журнале Nature Communications [1].

Данная выпускная квалификационная работа посвящена изучению одного из описанных выше путей модуляции хроматина - замене канонического гистонового белка H2A в составе нуклеосомного диска на его вариантную форму H2A.Z с помощью ремоделирующего комплекса SWR1. Это явление будет рассмотрено с точки зрения возможных механизмов узнавания канонических (H2A) и вариантов (H2A.Z) нуклеосом и димеров гистоновых белков H2A(.Z)/H2B соответствующими молекулярными машинами и особенностей динамики таких нуклеосом.

Цели и задачи

Целью работы является изучение особенностей динамики канонических и H2A.Z-нуклеосом и димеров гистонов H2A(.Z)/H2B, связанных с их функциями и специфичностью узнавания шаперонами и ремоделирующими комплексами.

Для изучения динамических особенностей канонических и вариантовых систем были поставлены следующий задачи:

1. Провести расчеты молекулярной динамики систем димеров гистонов H2A(.Z)/H2B с каноническим (H2A) и варианты (H2A.Z) гистонами.
2. Провести расчеты молекулярной динамики систем полноразмерных нуклеосом с каноническими (H2A) и варианты (H2A.Z) гистонами.
3. Описать динамику движений ДНК в канонических и вариантовых нуклеосомах и участие гистонов в этих движениях.
4. Выделить характерные моды движения гистонов H2A(.Z) на уровне димеров H2A(.Z)/H2B, описать динамику элементов гистонового фолда H2A(.Z) гистонов на уровне нуклеосом и димеров H2A(.Z)/H2B.
5. На основе анализа литературы и выявленных динамических особенностей канонических и вариантовых систем сформулировать гипотезы, объясняющие селективность ремоделера SWR1 по отношению к каноническим (H2A) нуклеосомам.

Объем и структура работы. Работа состоит из введения, 4 глав, заключения и 1 приложения.

Полный объём работы составляет 66 страниц, включая 20 рисунков и 2 таблицы. Список литературы содержит 59 наименований.

Публикации автора по теме диссертации

- A1. Histone Dynamics Mediate DNA Unwrapping and Sliding in Nucleosomes [Текст] / G. A. Armeev, A. S. Kniazeva, G. A. Komarova, M. P. Kirpichnikov, A. K. Shaytan // Nature Communications. — 2021. — 22 апр. — Т. 12. — DOI: [10.1038/s41467-021-22636-9](https://doi.org/10.1038/s41467-021-22636-9). — pmid: [33888707](#).
- A2. Analyzing Nucleosome Plasticity via Atomistic MD Simulations [Текст] / A. S. Kniazeva, G. A. Armeev, I. Pospelova, A. K. Shaytan // Biophysical Journal. — 2020. — Т. 118, № 3. — DOI: [10.1016/j.bpj.2019.11.3375](https://doi.org/10.1016/j.bpj.2019.11.3375).
- A3. Analyzing Nucleosome Plasticity Using Molecular Dynamics Simulations [Текст] / G. A. Armeev, I. Pospelova, A. S. Kniazeva, G. A. Komarova, A. K. Shaytan // FEBS Open Bio. — 2019. — July. — Vol. 9, S1. — P. 2—64. — DOI: [10.1002/2211-5463.12674](https://doi.org/10.1002/2211-5463.12674).

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Структура хроматина и определение нуклеосомы

Наследственный материал клетки большинства живых организмов представляет собой набор молекул ДНК, общая длина которой значительно превышает размер клеток и ядер (в случае ядерных организмов). ДНК в клетках эукариот и архей упакована с помощью специальных белков. Упаковка эукариот получила название хроматин и представляет собой комплекс белков и ДНК со сложной многоуровневой организацией. Базовым элементом хроматина (на нижнем уровне организации) является нуклеосома - комплекс белкового диска и участка ДНК. Кор (диск) в классическом варианте образован тетramerом гистонов H3-H4 и двумя димерами H2A-H2B (Рисунок 1.1). Молекула ДНК в таких структурах образует левосторонний виток длиной 145-147 пар оснований (длина участка ДНК в нуклеосомах варьирует и в кристаллических структурах, и по *in vitro* данным). Вне диска находятся “хвосты” гистонов - концевые неструктурированные участки аминокислотной последовательности. Эти участки являются высокоподвижными (относятся к группе белков Intrinsically disordered proteins) и играют важную роль в регуляции компактизации хроматина и экспрессии генов, так как несут сайты посттрансляционных модификаций, таких как метилирование и ацетилирование [2]. Между единичными нуклеосомами находятся линкерные области, длина которых видо- и тканеспецифична.

Нуклеосомы представляют собой динамичные структуры, динамика которых во многом определяет свойства хроматина. Пластичность и подвижность гистонов определяют связывание белков и белковых комплексов с нуклеосомой и с участками ДНК, участвуя таким образом в регуляции экспрессии генов, репликации и reparации ДНК, контроле клеточного цикла и ремоделировании хроматина. В ходе этих процессов наблюдается перемещение и разборка нуклеосом. Например, показано, что ключевым начальным этапом разборки нуклеосом с участием гистоновых шаперонов является перемещение димера H2A-H2B из его канонического положения и последующая диссоциация димера [3]. Одним из условий для перемещения является разворачивание молекулы ДНК [4]. Схожим образом происходит взаимодействие нуклеосомы с РНК-поли-

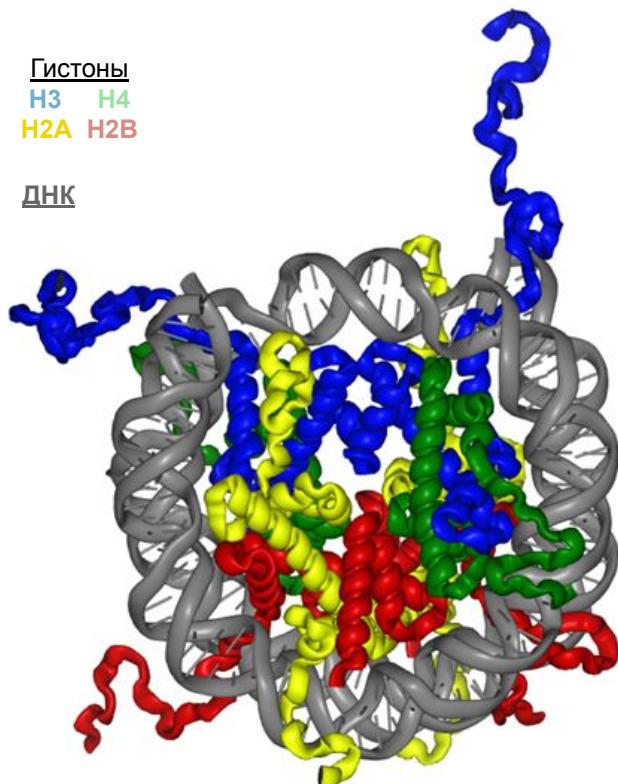


Рисунок 1.1 — Структура нуклеосомы (PDB ID 1KX5) [2].

меразой II в процессе транскрипции. Показано формирование на ранних этапах структуры, представляющей собой гексамер (H3-H4)2 и H2A-H2B. Такая структура образуется при диссоциации одного из димеров H2A-H2B от октамера нуклеосомы. Сохранение гексамиера в таком состоянии предположительно поддерживается благодаря электростатическим взаимодействиям полимеразы и гистонов [5].

Сборка нуклеосом происходит пошагово. Сначала два гетеродимера H3-H4 формируют тетramer, который затем дополняется гетеродимерами H2A-H2B [6]. Дальнейшая судьба нуклеосом определяется различными молекулярными машинами. Группу таких молекулярных машин представляют ремоделирующие комплексы, функции которых заключаются в изменении состава нуклеосом и замена гистонов в составе кора, передвижении нуклеосом вдоль ДНК, разборке нуклеосом.

В формировании нуклеосомы могут принимать участие вариантные формы гистонов, которые встраиваются на место одного их четырех канонических

гистонов. Данная работа посвящена изучению динамических свойств одного из вариантов гистонов - H2A.Z.

1.2 Вариантная форма гистона H2A - H2A.Z

Как отмечено выше, помимо канонических гистонов в клетках встречаются варианты гистоны, которые заменяют один из канонических гистонов в нуклеосоме. Встраивание вариантов форм и формирование разных по свойствам нуклеосом (которые по своей сути являются универсальными и однотипными структурами) является одним из механизмов эпигенетического регулирования хроматина, наряду с метилированием ДНК, посттрансляционными модификациями гистонов и др. И, как и другие эпигенетические метки, встраивание вариантов является обратимым и зависит от внешних условий и окружения.

Наибольшее количество таких вариантов описано для гистонов H2A и H2B (согласно данным базы HistoneDB [7]). Вариантные формы гистонов могут быть результатом изменения одной из многочисленных копий канонических форм или альтернативного сплайсинга гистонов, могут быть общими для эукариот (например, гистоны H2A.Z И H2A.X) или видоспецифичными (например, гистон H2A.J, характерный только для человека и мышей).

Среди генов гистонов выделяют зависимые от репликации, экспрессия которых совпадает с S-фазой клеточного цикла, и независимые от репликации, экспрессия которых остается на постоянном уровне в течение всего клеточного цикла. К первой группе относятся гены, кодирующие канонические гистоны, а ко второй - гены вариантов форм [8].

Изучаемый вариантный гистон H2A.Z - универсальный для эукариот гистон, фланкирующий промоторы, энхансеры и другие важные регуляторные генетические элементы большинства эукариотических генов.

1.3 Роль вариантного гистона H2A.Z в клетках

Вариантный гистон H2A.Z вызывает большой интерес в научном сообществе одновременно. Его роли в живых системах, описанные на данный момент, широки и разнообразны. Об этом варианте говорят как о регуляторе процессов и на уровне отдельных генов, и на уровне разных областей генома генома, и на уровне функционирования клеток, тканей и организма в целом. При этом эти роли могут быть не однозначны, например, в контексте регуляции транскрипции его встраивание может быть как активирующим, так и репрессирующим фактором. Далее поговорим подробнее обо всех уровнях.

1.4 Роль гистона H2A.Z в регуляции транскрипции

Существует много механизмов регуляции активности генов специальными белками, пост-трансляционными модификациями гистонов, метилированием ДНК и т.д. Одним из «дирижеров» транскрипции является H2A.Z гистон, который, согласно литературе, может как активировать гены, так и репрессировать. Направление регуляции зависит от частей гена, в которых встречаются вариантные нуклеосомы, от частоты их встречаемости и от посттрансляционных меток самого вариантного гистона. Например, высокий общий уровень насыщения вариантными нуклеосомами с немодифицированным или убиквитинилизованным вариантом репрессирует гены, в то время как ацетилирование варианта и постепенное удаление вдоль гена усиливает связывание РНК полимеразы II и сопутствующих факторов [9].

О специфике локализации варианта и эффектах на уровень транскрипции имеются следующие данные. Вариантная форма часто встречается в сайтах начала транскрипции [10], регуляторных областях генов [11]. Также иногда встречается вставка H2A.Z в телях генов, что является слабо изученным аспектом, но показана репрессия таких генов [12]. Однако, в целом вариантный гистон H2A.Z встречается довольно редко в телях гистонов. Основная локализация - +1 и -1 нуклеосомы от сайта начала транскрипции. Активной

транскрипции способствуют гистоновые шапероны FACT и Spt6H, которые «выкидывает» вариантные гистоны из тел генов по ходу движения полимеразы.

В экспериментах наблюдается обратная корреляция между уровнем транскрипции и насыщенностью генома вариантным гистоном H2A.Z. Так, в работе [10] при общем ингибировании активности РНК полимеразы II наблюдалось общее повышение содержания вариантных H2A.Z-нуклеосом в сайтах начала транскрипции и в телях генов.

Еще один сильный аргумент в пользу регулирования транскрипции варианты гистоном H2A.Z является наблюдение, согласно которому положения варианты нуклеосом влияют на место посадки CTCF фактора, функцией которого является формирование петель хроматина для возможности транскрибирования выпетленных участков [13].

1.5 Участие гистона H2A.Z в репарации двунитевых разрывов

Наиболее опасными для клетки повреждениями являются разрывы, особенно, двунитевые, возникающие, например, при облучении клеток. Для репарации разрывов необходимы “подготовительные” процессы, включающие в себя ремоделирование хроматина и изменение его структуры, в первую очередь изменение структур нуклеосомных комплексов. Это нужно для открытия доступа к поврежденному участку и в качестве посадочной площадки для участников системы репарации, при этом с сохранением возможности восстановить эпигенетический ландшафт по завершении репарирующих действий [14].

Описана роль изучаемого варианты гистона в репарации двунитевых разрывов. Ключевой участник подготовки к репарации и реорганизации нуклеосом - NuA4-Tip60 - ремоделирующий комплекс, активация которого происходит за счет каскада активации киназ и метилаз. Этот белковый комплекс состоит из ремоделера p400 SWI/SNF АТРазы и Tip60 ацетилтрансферазы. Ремоделирующая АТФаза в этом комплексе осуществляет замену канонического гистона H2A в составе нуклеосомы на варианты форму H2A.Z. Включение этого варианта в состав нуклеосомы приводит к активации Tip60 субъединицы, которая ацетилирует гистон H4, что делает сайт с повреждением доступным для репарационной системы [15]. Дисфункция ремоделирующей АТРазы ве-

дет к невозможности включения варианта в состав нуклеосом и нарушению последующих этапов, что приводит к усилению чувствительности наследственного материала к двунитевым разрывам и появлению геномной нестабильности. Также показано, что необходимо не только точечное включение варианта в нуклеосомы, а также его обязательное удаление на последующих этапах.

1.6 Роль гистона H2A.Z в регуляции распространения гетерохроматина

Интересно, что вариантный гистон H2A.Z регулирует не только уровень транскрипции активных генов, но и связан с активностью генов в общем. Известно, что области факультативного гетерохроматина очень насыщены вариантными нуклеосомами.

Также показано, что нарушение уровня содержания вариантового гистона H2A.Z или ремоделера SWR1 в клетке ведет к снижению уровня метилирования 27 лизина гистона H3 (H3K27), что является одной из меток транскрипционно-репрессированного факультативного гетерохроматина [16]. Кроме того, гистон H2A.Z участвует в привлечении гетерохроматиновых белков HP1 [17]. Одной из предполагаемых функций варианта является регулирование распространения центромерного гетерохроматина [18], [19]. Еще одна важная роль варианта - это участие в активации генов после митоза и правильного формирования интерфазного ядра [20].

1.7 Последствия нарушения встраивания или экспрессии гистона H2A.Z на уровне организма

В литературе описана связь нарушения содержания варианта H2A.Z в геноме с некоторыми заболеваниями. Например, пониженная экспрессия этого гистона наблюдается при гипертрофии сердца [21], а повышенное встраивание в геном показано при раке молочной железы [22]. В обзоре [9] упомянуты и другие работы, посвященные раку простаты, колоректальному раку, раку легкого,

печени и др. В этом же обзоре говорится о связи уровня насыщения генома вариантом H2A.Z и памяти, связи с эффективностью эпителиально-мезенхимального перехода. Изменение активности встраивания варианта обсуждается и в контексте терапии пост-травматического синдрома и подавлении памяти о боли и страхе [23].

1.8 Замещение канонического гистона H2A на вариантный гистон H2A.Z в составе нуклеосомы ремоделирующим комплексом SWR1

Итак, содержание и локализация гистона H2A.Z в геноме имеет очень важное значение. Далее будет разобран механизм включения и исчезновения варианта из структуры хроматина.

Вариантный гистон не входит в состав новособранный нуклеосомы. Его включение в состав нуклеосомы происходит путем замены димера H2A-H2B в составе уже собранной нуклеосомы на димер H2A.Z-H2B с помощью специальных ремоделеров (Рисунок 1.2). У дрожжей этот ремоделер известен как SWR1 (Swi2/snif2-related 1) [24], У человека этими ремоделерами являются p400/Tip60 (Protein 400 (p400)/ 60kDa Tat-interactive protein (Tip60) complexes) и SRCAP (Snf2-related CBP activator protein) (метазойные ортологи SWR1) [25]. В состав SWR1 комплекса входит каталитическая субъединица - swr1, которая относится к семейству Swi2/Snf2 АТФ-аз, но в отличие от остальных представителей семейства имеет инсерцию, разделяющую АТФазный домен на две части (как и ремоделер INO80).

Непосредственному ремоделированию комплексом SWR1 предшествует стадия связывания вариантового димера с белками шаперонами или шапероновой субъединицей ремоделирующего комплекса. У дрожжей эту функцию выполняет Chz1 (chaperone for H2A.Z-H2B) [26]. Также шаперонами для H2A.Z являются Swc2 (у дрожжей) или YL1 (у млекопитающих) субъединица ремоделирующего комплекса [27], [28]. Отдельно стоит отметить шаперон Anp32e, встречающийся только у млекопитающих, который, однако, не выполняет функцию медиатора ремоделирования, а участвует в удалении вариантовых нуклеосом из хроматина (во время сборки связывает вариантный димер и не позволяет ему заново включиться в нуклеосомы) [29].

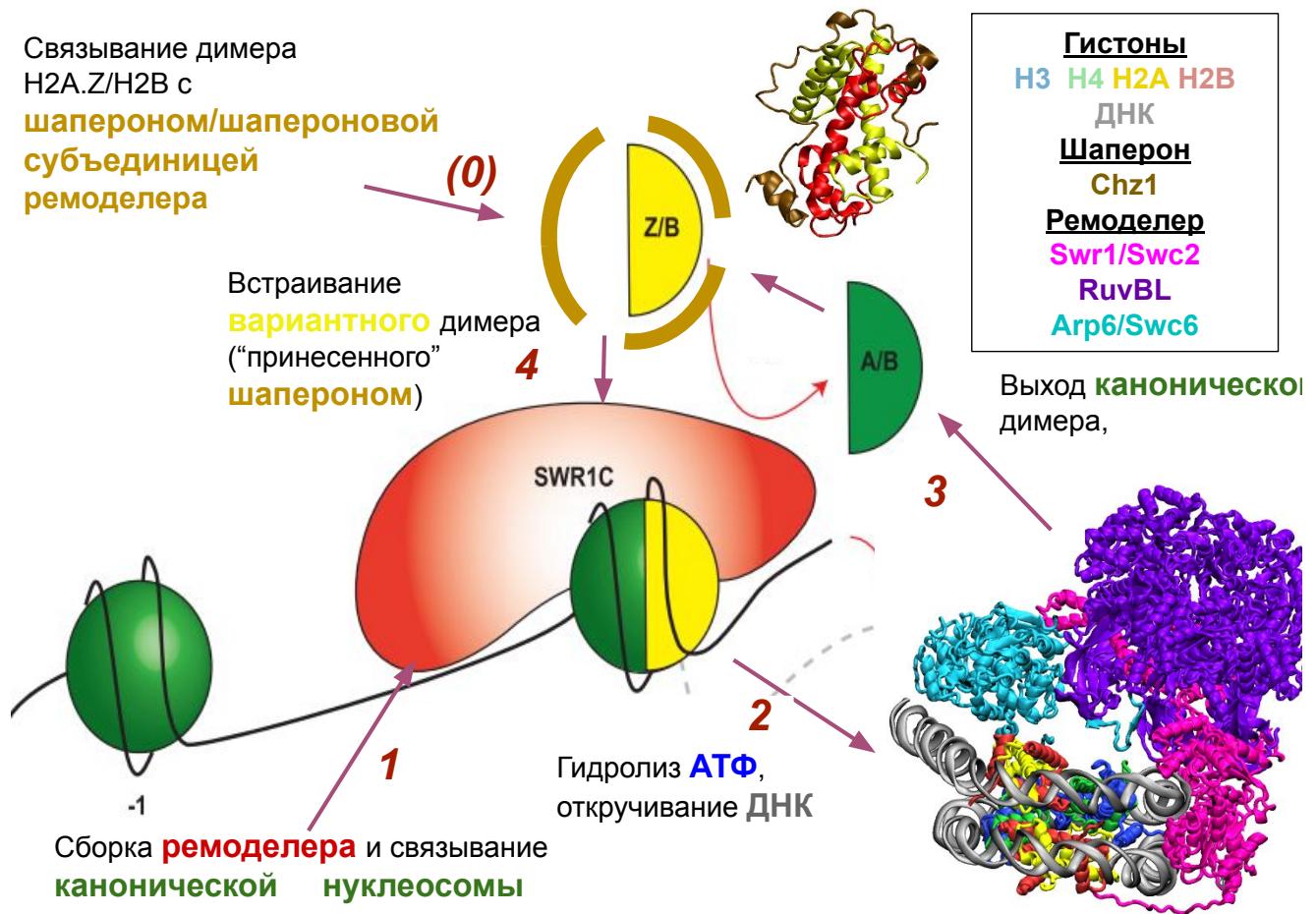


Рисунок 1.2 — Схема процесса ремоделирования хроматина комплексом SWR1 с описанием стадий. Построена на основе схемы Singh et.al., 2019. Стадия открученного состояния ДНК представлена в виде структуры из базы данных белковых структур (PDB ID 2GEJ). Стадия связывания вариантового димера и шаперона показана на примере ЯМР-структурой шаперона Chz1 с химерным белком H2A.Z/H2B (PDB ID 2JSS).

С точки зрения кинетики ремоделирование представляет собой двуфазный несимметричный процесс (Рисунок 1.2). В процессе ремоделирования происходит выход канонического димера H2A/H2B и встраивание вариантового димера H2A.Z/H2B. После замены димера с одной стороны происходит замена димера с другой стороны, при этом показано, что замена второго димера происходит медленнее [30]. Каждый цикл ремоделирования (замена одного димера) сопряжен с гидролизом АТФ.

Изучение структуры таких многосубъединичных комплексов как SWR1 и других ремоделирующих комплексов довольно затруднительно. Только в 2018 году методом криоэлектронной микроскопии была получена структура полного

14-субъединичного комплекса SWR1 с нуклеосомой с разрешением 3,6 Å [31]. На рисунке 1.3 показан вид комплекса ремоделера с нуклеосомой при связывании негидролизуемого АТФ аналога ADP•BeF₃, на котором показаны три основных домена: каркасный (фиолетовый), моторный (розовый) и Aргб/Swc6 гетеродимер (голубой). Особенностями ремоделируемых нуклеосом являются:

1. Появление деформации ДНК в SHL -2 (положение на расстоянии двух полных витков ДНК от диады) (показано на рисунке 1.3д) - в сайте связывания моторной субъединицы Swr1. Это явление характерно для процесса ремоделирования в целом, однако другие ремоделеры способны перемещать образованный дефект ДНК дальше («перекидывать» через диаду) и тем самым двигать нуклеосому вдоль ДНК; SWR1 ремоделер не способен перемещать нуклеосомы.

2. Частичный отворот ДНК на 2,3 витка. При этом гетеродимер Aргб/Swc6 имеет возможность как клин встроиться между ДНК и гистонами и сформировать контакты с димером, который на следующих этапах будет выходить из нуклеосомы и замещаться на вариантный.

3. Моторный домен взаимодействует с двумя витками ДНК, при этом N-конец Swc2 субъединицы моторного домена также взаимодействует и с некоторыми остатками H2A гистона, который не выходит из нуклеосомы при конкретном акте ремоделирования (показано на рисунке 1.3г). Согласно другим работам [27], [28] эта субъединица имеет шапероно-подобную активность в отношении H2A.Z.

1.9 Узнавание канонического гистона H2A и его вариантной формы H2A.Z белками

Как описано выше, в процессе ремоделирования необходимым является образование комплекса шапероновой субъединицы ремоделера или шаперона с димером гистонов H2A.Z/H2B в растворе и димером гистонов H2A-H2B в составе нуклеосомы, и участники этого процесса каким-то образом связывают соответствующие димеры избирательно. Есть достаточно много данных о сайтах связывания вариантного димера с разными шаперонами в растворе (изучение таких небольших комплексов удобно для ЯМР и кристаллографии). Обобщение по этим данным показано на рисунке 1.4. На панели б) показано, что

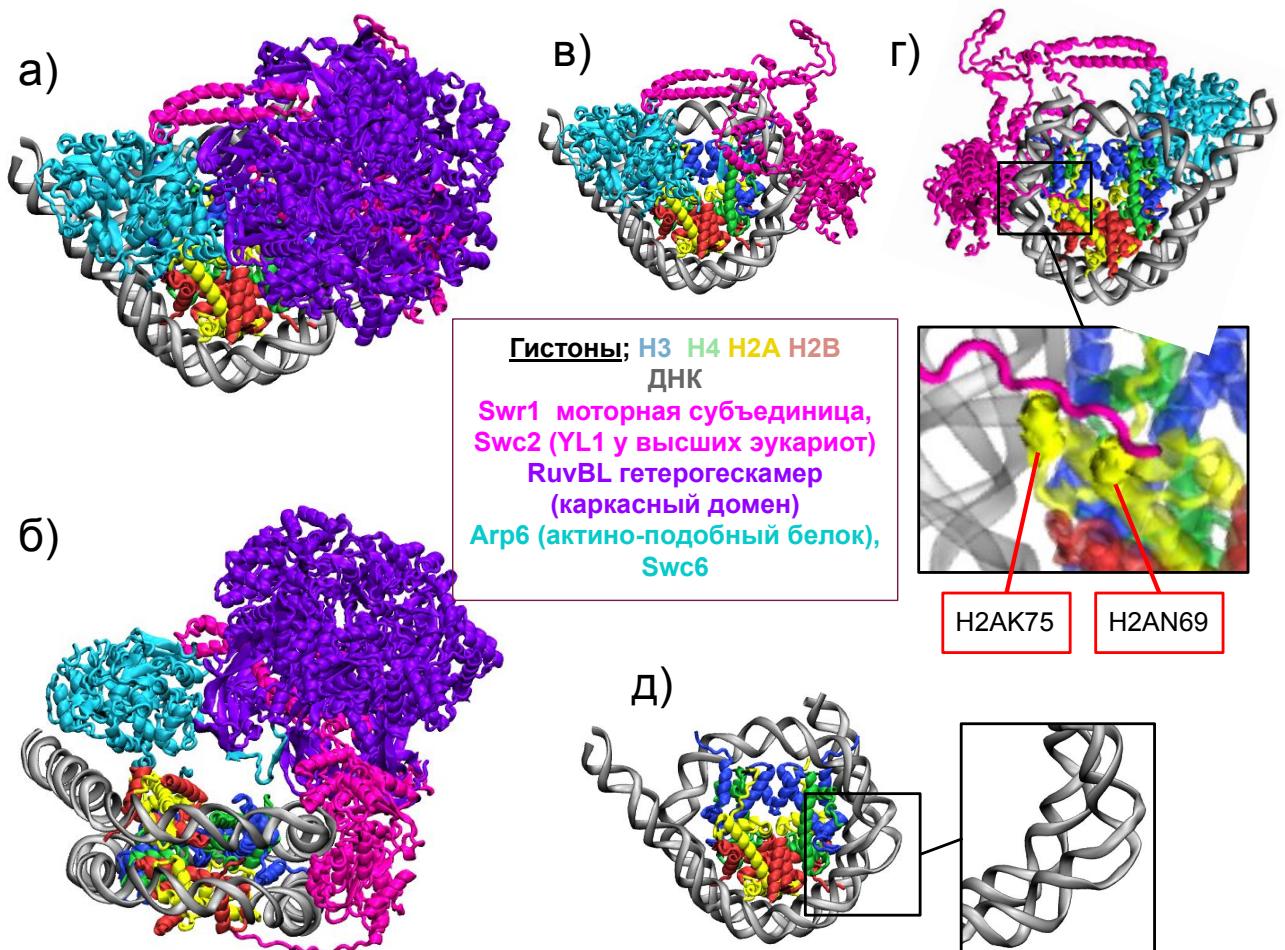


Рисунок 1.3 — Структура комплекса SWR1 с нуклеосомой (КриоЭМ, разрешение 3,6 Å, PDB ID 2GEJ). а). Фронтальный вид комплекса (перпендикулярно оси супервитка); б) вид комплекса снизу. в) Фронтальный вид комплекса нуклеосомы с контактирующими субъединицами (без каркасного домена). г) То же, но с обратной стороны; увеличен сайт взаимодействия N-конца Swc2 субъединицы с концом α 2 спирали H2A. д) Фронтальный вид нуклеосомы и вид деформации ДНК в SHL -2. [31].

некоторый мотив DEF/Y распространен среди гистоновых шаперонов, который формирует сайты непосредственного связывания вариантного гистона H2A.Z. Со стороны гистона H2A.Z эти взаимодействия охватывают конец β 2 листа (петля L2) и начало α 3 спирали. Также много данных связано с α C спиралью.

Если отличия вариантного гистона H2A.Z в составе димера гистонов H2A.Z/H2B в растворе объясняются структурными исследованиями, то задача изучения узнавания канонических нуклеосом обстоит труднее. Согласно *in vitro* экспериментам, наибольшее значение для связывания ремоделера SWR1 с нуклеосомой имеет N-концевой участок α 2 гистона H2A, отличающийся по первичной структуре от вариантной формы H2A.Z пятью аминокислотными остатками. Более детальное рассмотрение этого участка показало, что при замене в положении 47 Gly на Lys происходит падение эффективности замещения канонических димеров на димеры с вариантной формой H2A.Z до 63% от показателя для нуклеосомы без замен, а замена по двум положениям (47 Gly на Lys и 49 Pro на Ala) снижало эффективность до 54% [32], (на рисунке 1.4 этот участок отмечен голубой звездой). Этот участок не контактирует с ремоделером SWR1 напрямую и в целом малодоступен для внешнего взаимодействия, поэтому большой проблемой остается понимание механизма, по которому этот участок определяет селективность ремоделера SWR1 при взаимодействии с нуклеосомой.

В работе 2020 года [33] была получена кристаллическая структура канонического димера H2A/H2B с Swc5 субъединицей ремоделера SWR1, которая встраивается как клин между димером H2A/H2B и открученной ДНК в процессе ремоделирования (на рисунке 1.3 эта субъединица показана бирюзовым). Были выделены остатки C-конца α 2 спирали и L2 петли гистона H2A, непосредственно взаимодействующие с DEF/Y мотивом субъединицы ремоделера, что может быть причиной селективности ремоделера к каноническому гистону H2A. Однако, эта структура не объясняет данные, описанные выше. Важным наблюдением является отличие динамики ДНК в канонических и вариантных нуклеосомах [30].

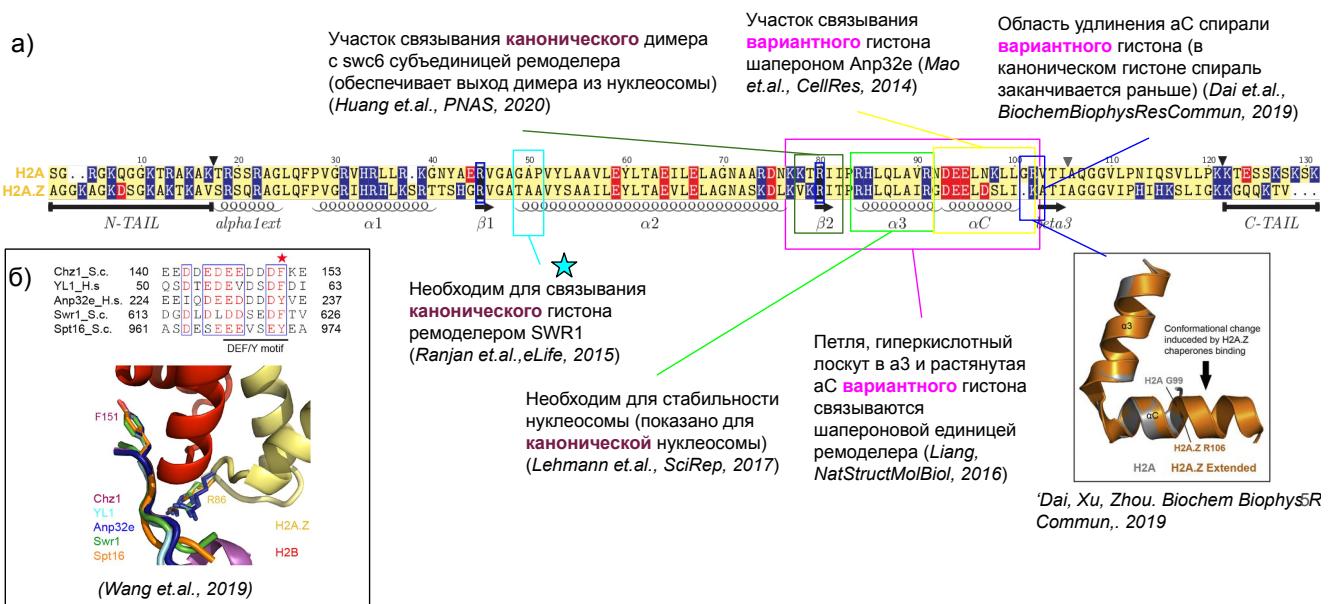


Рисунок 1.4 — Обобщение экспериментальных данных об отличиях H2A и H2A.Z при взаимодействии с шаперонами и ремоделером SWR1. а) Отмеченные на последовательности структурного выравнивания канонического H2A и вариантиного H2A.Z гистонов ([33], [29], [34], [32], [35], [36]); б) универсальный для шаперонов мотив, связывающий вариантиный димер гистонов H2A.Z/H2B [37].

Глава 2. Материалы и методы

2.1 Основы метода молекулярной динамики

Исследование было проведено методом молекулярного моделирования и, в частности, методом молекулярной динамики. В основе этого метода лежит представление атомов в виде материальных точек, взаимодействия между которыми описываются потенциальной функцией [38]. Взаимодействия разделяются на две группы: невалентные (парные) и валентные. Взаимодействия внутри связей включают в себя энергию изменения длин связей, углов между связями, двугранных углов и плоских групп. К парным относятся кулоновские и Вандер-Ваальсовы взаимодействия (2.1):

$$U = U_{\text{вал. связей}} + U_{\text{вал. углов}} + U_{\text{торс. углов}} + U_{\text{н.л. групп}} + U_{\text{Ван-дер-Ваальс}} + U_{\text{кулоновские вз-я}} \quad (2.1)$$

Взаимодействия одной частицы со всеми другими частицами определяют потенциальную энергию этой частицы в каждый момент времени, производная потенциальной энергии определяет силу (2.2), которая в свою очередь согласно второму закону Ньютона определяет направление движения и величину ускорения (2.3).

$$F_i = -\frac{\delta U(r_1, \dots, r_N)}{\delta r_i} \quad (2.2)$$

$$m_i \frac{d^2 r_i}{dt^2} = F_i, \quad i = 1, \dots, N \quad (2.3)$$

Таким образом, при заданных начальных положениях атомов и начальных скоростях (задаются из распределения Максвелла) проводится расчет развития системы во времени - траектории молекулярной динамики.

2.2 Подготовка структур для вычислительного эксперимента

Координаты атомов структур, на основе которых собирались наши системы, были взяты из базы данных белковых молекул PDB. Основой канонической

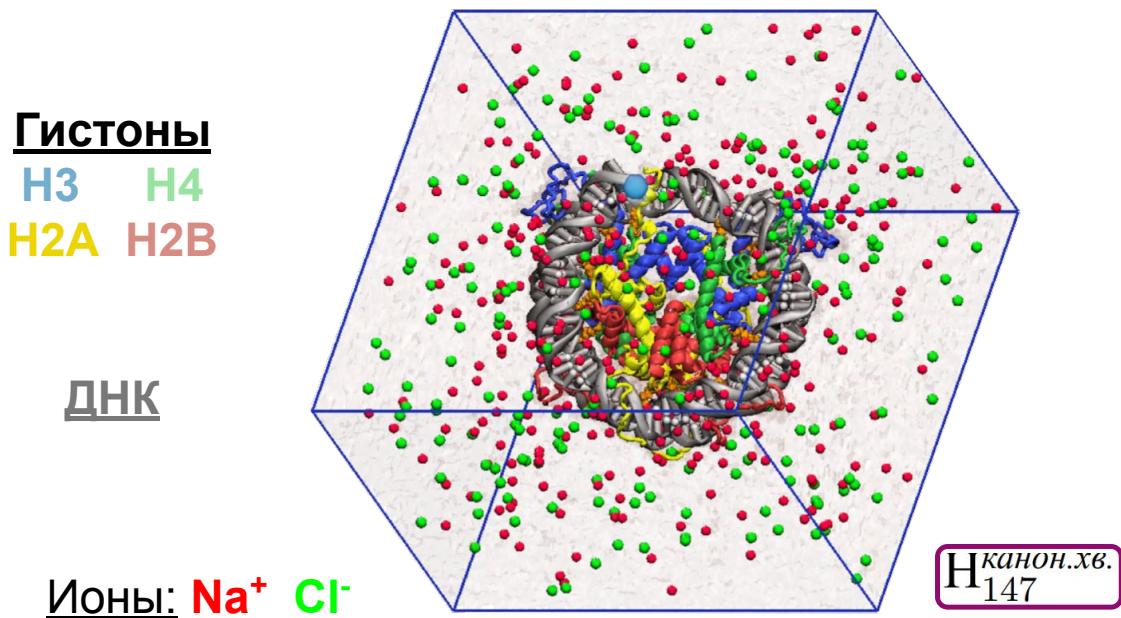


Рисунок 2.1 — Внешний вид расчетной ячейки, в которой моделировалась нуклеосомная коровья частица.

системы была кристаллическая структура нуклеосомы с разрешением 2,5 Å (PDB ID 3ZL0). В качестве основы систем с вариантовым гистоном H2A.Z были использованы гистоны из кристаллической структуры с соответствующим вариантом с разрешением 2,6 Å (PDB ID 1F66).

Системы помещались в вычислительную ячейку - усеченный октаэдр - с периодичными граничными условиями (по осям x, y, z), минимальное расстояние от нуклеосомы до края ячейки 2 нм. Далее в расчетную ячейку добавлялись молекулы воды. Вода моделировалась в виде трехточечной модели TIP3P [39]. Также добавлялись ионы Na^+ и Cl^- для нейтрализации суммарного заряда системы и достижения ионной силы раствора 150 mM. Подробные параметры моделируемых систем (число атомов, молекул воды, ионная сила, размер ячейки и др. показаны в таблицах Приложение 7,8). Далее в рисунках будут использоваться обозначения траекторий, заданные в таблицах.

В целях избежания возможного расхождения пар оснований на концах ДНК (в системах нуклеосомных коровых частиц) накладывался дополнительный гармонический потенциал (с силовой константой 1000 кДж/моль/нм², что примерно 4kT на отклонение на 1 Å) на расстояние между гликозидными атомами азота.

2.3 Проведение вычислительного эксперимента

Расчеты траекторий молекулярной динамики проводились с использованием программного пакета GROMACS 2018.1 [40] (с ускорением на GPU). Силовое поле - AMBER ff14SB [41] с parmbsc1 [42] ДНК и с коррекциями параметров ионов CUFIX [43]. Наиболее долгие вычисления траекторий молекулярной динамики проводились на суперкомпьютере Ломоносов-2 [44] с парализацией методом domain decomposition. Для каждой системы использовались 8 расчетных узлов, на каждом из которых по 14 CPU и 1 NVidia Tesla K40 GPU (для ускорения расчета парных неналентных взаимодействий [40]). Средняя скорость накопления кадров составляла до 60 нс/день.

Подготовленные системы проходили минимизацию энергии и поэтапную эквилибрацию с постепенным ослаблением ограничений, наложенных на все атомы, кроме водородов. Минимизация проводилась с использованием метода steepest descent gradient с позиционными ограничениями 500 кДж/моль/Å². Затем проводилась эквилибрация в пять шагов:

1. 100 пс с позиционными ограничениями 500 кДж/моль/Å² с шагом интегрирования 0.5 фс;
2. 200 пс с позиционными ограничениями 50 кДж/моль/Å² с шагом интегрирования 2 фс (далее шаг сохранялся);
3. 200 пс с позиционными ограничениями 5 кДж/моль/Å²;
4. 200 пс с позиционными ограничениями 0.5 кДж/моль/Å²;
5. 200 пс свободная симулляция.

Система моделировалась в NPT ансамбле с температурой 300 К с использованием метода velocity rescale scheme [45] и с давлением 1 бар с использованием баростата Parrinello-Rahman [46].

Шаг моделирования молекулярной динамики составлял 2 фс, Кадры при моделировании траектории молекулярной динамики сохранялись каждую 1 нс.

2.4 Анализ траекторий

Анализ траекторий проводился с помощью разработанных нашей научной группой алгоритмов, написанных на языке Python 3, с использованием программ Gromacs [47] (обработка траекторий, анализ главных компонент матриц ковариаций атомов), MDAnalysis [48] (работа с координатами атомов, 3D выравнивание), VMD [49] (визуализация), 3DNA [50] (определение центров пар оснований, расчет параметров шага пары оснований).

Для выравнивания структур использовалась система координат нуклеосомы (СКН) (ось OZ задается как ось супервитка ДНК, OY - диадная ось - ось псевдосимметрии нуклеосомы и OX - перпендикулярная двум другим осям) [51]. Выравнивание проводилось путем минимизации среднеквадратичных положений атомов только элементов гистонового фолда относительно нуклеосомы в СКН (снималось влияние откручивания ДНК).

Атом-атомные контакты рассчитывались как расположение не водородных атомов на расстоянии меньше 4 Å. Контактом между нуклеотидом и аминокислотой принималась такая пара, которая образовала хотя бы один атом-атомный контакт. Стабильными назывались нуклеотид-аминокислотные контакты, существующие более чем в 90% кадров в течение выбранного промежутка траектории.

Откручивание ДНК измерялась как длина фрагмента ДНК, все центры пар оснований в котором находились более чем на 7 Å дальше от центров любой пары оснований в кристаллической структуре.

Дефекты кручения ДНК детектировались с помощью профилей смещений регистра позиций пар нуклеотидов ДНК. Для определения смещения регистра проводился поиск ближайшей по координатам пары оснований в кристаллической структуре для данной пары и рассчитывался сдвиг между ними вдоль последовательности ДНК (положительный сдвиг - в сторону 3' конца ДНК, отрицательный - в сторону 5'). Расстояние между парами оснований в данном случае принималось как расстояние между c1' атомами.

Глава 3. Результаты

3.1 Моделирование динамики канонических и вариантовых нуклеосомных систем

Изучение динамических особенностей вариантовых H2A.Z и канонических H2A гистонов проводилось на двух типах систем. Первый тип систем - полноразмерные нуклеосомы с укороченными подвижными хвостами (сайты укорочения показаны в Приложении 1). Времена моделирования, которых мы достигли, находятся в области верхнего предела метода на момент выполнения работы, поэтому было проведено укорочение хвостов с целью ускорения динамики ДНК на моделируемых временах (известно, что хвосты стабилизируют нуклеосому и уменьшают амплитуду откручивания) и акцентировании внимания на особенностях динамики ядра нуклеосомы и элементов гистонового фолда. Обзор траекторий в виде наложения кадров молекулярной динамики показан на рисунке 3.1.

Второй тип систем - димеры гистонов H2A(.Z)/H2B (эти результаты будут обсуждаться позднее). Такие системы моделировались для изучения собственных динамических характеристик димеров гистонов (без влияния динамики ДНК и октамера в целом) и для описания свойств димеров гистонов H2A(.Z)/H2B, важных для узнавания шаперонами.

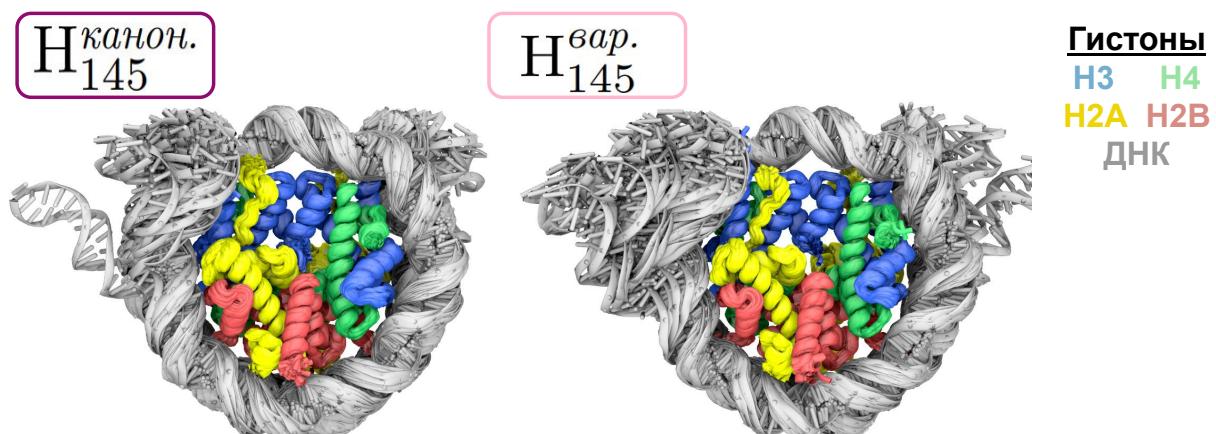


Рисунок 3.1 — Наложение кадров молекулярной динамики систем нуклеосомных коровых частиц с каноническим H2A и вариантом H2A.Z гистонами.

3.2 Откручивание ДНК в микросекундном масштабе

Основной вид движения ДНК в траекториях длиной до 15 микросекунд - откручивание ДНК - имеет место и в канонических, и в вариантной системах. Его изучение методом молекулярной динамики требует проведения таких долгих расчетов так как появление откручивания происходило через 1-6 мкс с начальной точки моделирования (кристаллической структуры) в разных системах (по данным, опубликованным в статье [1]. Отметим, что наблюдаемое движение откручивания в наших траекториях обратимое, таким образом мы наблюдали и описали полный цикл откручивания ДНК.

На рисунках 3.1 заметна большая представленность состояний с сильным откручиванием в системе с варианты гистоном H2A.Z. Для сравнения кинетики откручивания систем были построены профили откручивания как функции длины участка ДНК, пары нуклеотидов которого отклонились более чем на 7 Å от исходного положения, от времени (Рисунок 3.2). При сравнении профилей можно заметить, что движение откручивания отличается в вариантной системе и канонической. В вариантной системе откручивание проксимального конца ДНК происходит почти сразу, в течение первой микросекунды, и более амплитудно - переход от закрученного состояния к открученному происходит сразу с амплитудой до 15 пар нуклеотидов, в то время как до 13 микросекунды каноническая система демонстрировала откручивание только 5-10 пар нуклеотидов.

3.3 Группы ключевых ДНК-гистоновых контактов и барьеры откручивания ДНК

На основе моделирования нуклеосомы с полноразмерными гистонами (без укорочения неструктурных хвостовых участков) (структура PDB ID 1KX5) нами был получен профиль стабильных ДНК-гистоновых взаимодействий. Ключевым контактом мы называем взаимодействие нуклеотида ДНК и аминокислотного остатка гистона, которое существовало в 90% кадров молекулярной динамики в течение первой микросекунды моделирования. Преимущество такого метода заключается в том, что система в течение первой

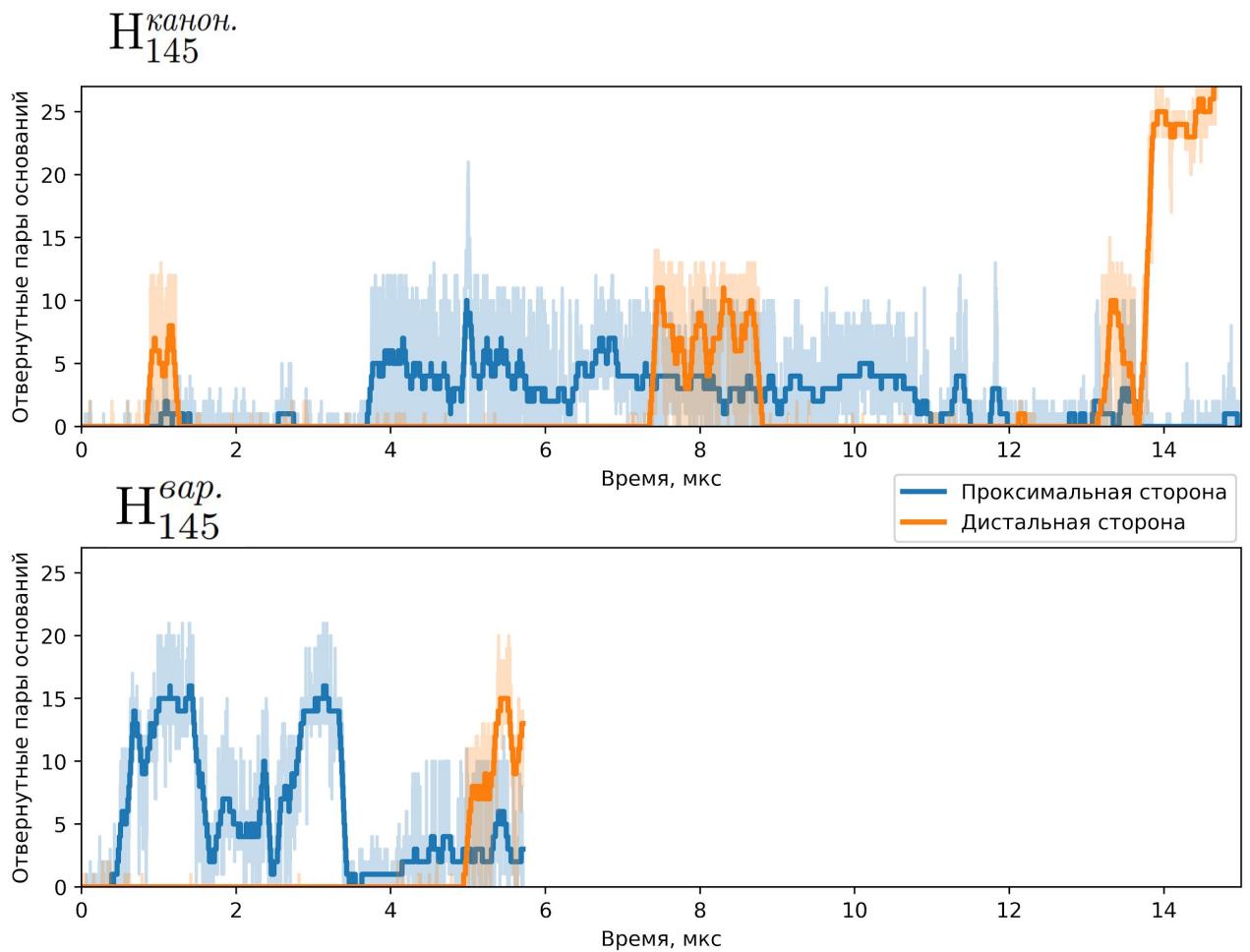


Рисунок 3.2 — Динамика откручивания ДНК в траекториях нуклеосомных коровых частиц с каноническими гистонами и с вариантом H2A.Z.

микросекунды еще находится в состоянии, близком к кристаллическому, при этом метод позволяет отделить устойчивые контакты и временные среди всех контактов, которые можно встретить в кристаллической структуре. Подробный профиль полученных стабильных контактов вдоль последовательности ДНК изображен на рисунке 3.3а (изображена только половина ДНК, входящей в нуклеосому, так как нуклеосома псевдосимметричная структура и вторая половина карты может быть достроена симметричным отражением профиля). Положение ключевых остатков в структуре нуклеосомы показано в Приложении 2.

Изучение профиля стабильных контактов позволило выделить два важных участка гистонового кора. Первый - участок α -N спирали гистона H3, формирующий стабильные контакты как с концом ДНК, так и с областью диады (середины нуклеосомы). Этот участок мы назвали H3-застежкой (H3-latch), так как он удерживает вместе два витка ДНК. Состояние H3-застежки определяет первый этап откручивания ДНК (5-10 пар нуклеотидов), формируя первый

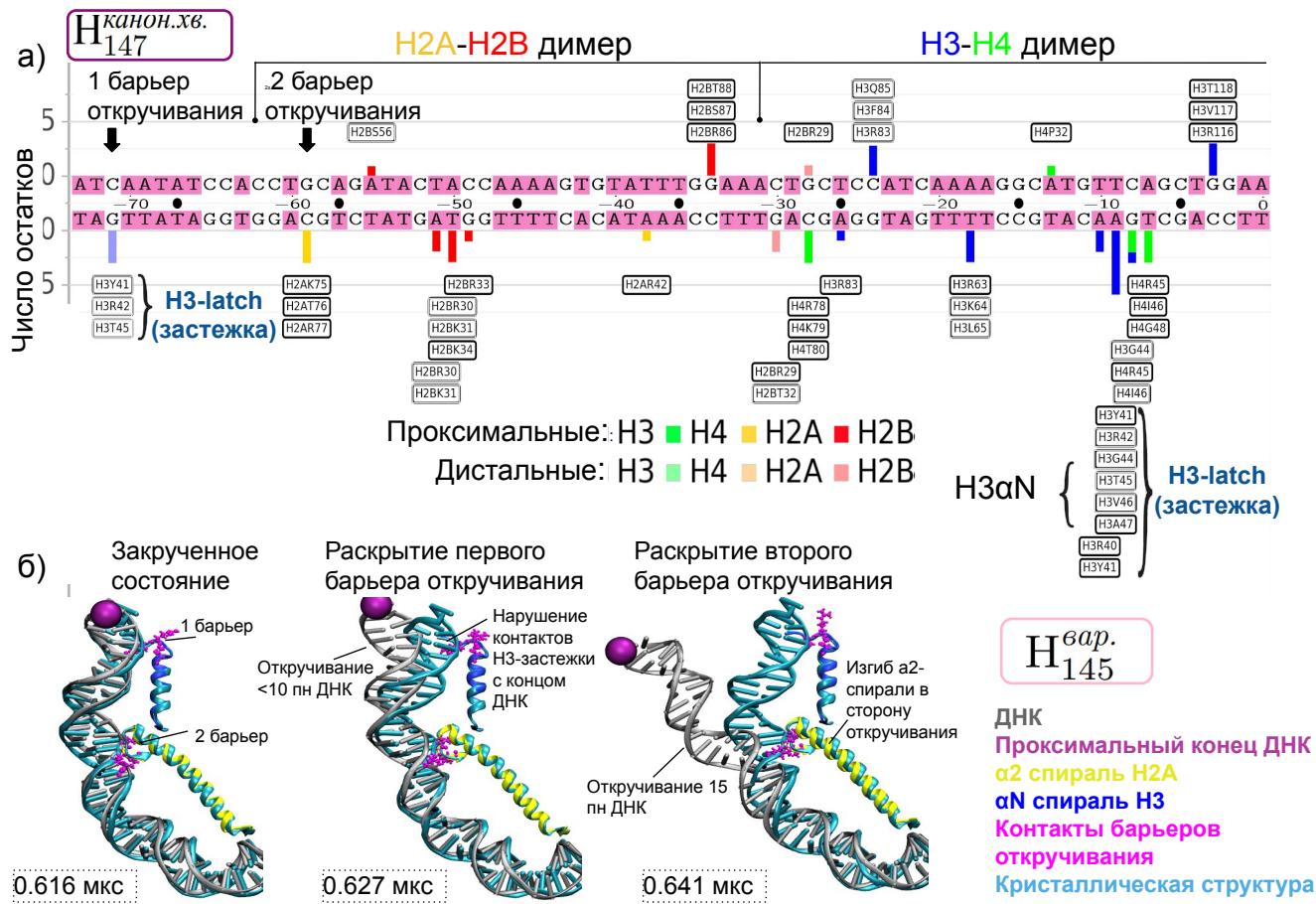


Рисунок 3.3 — Ключевые контакты между ДНК и гистонами и их участие в откручивании ДНК. а) Профиль стабильных (в течение первой микросекунды моделирования полноразмерной нуклеосомы с хвостами) ДНК-гистоновых взаимодействий вдоль последовательности ДНК. Индивидуальные контакты подписаны над столбиками диаграммы. Черные рамки обозначают контакты, сохраняющиеся на траектории 15 микросекунд. б) Последовательное откручивание ДНК в течение 25 нс в динамике вариантной нуклеосомы. Показана часть нуклеосомы в динамике, наложенная на кристаллическую структуру (выделена голубым цветом).

барьер откручивания. Второй - участок петли L2 гистона H2A(.Z). Его нарушение определяет второй этап откручивания - около 15 пар нуклеотидов -, которое формируется вскоре после первого этапа в вариантной системе. Эволюция от закрученного состояния до второго этапа откручивания (через первый этап) показана на примере откручивания проксимального конца ДНК в течение первой микросекунды динамики вариантной системы на рисунке 3.3б. В этом примере полный переход произошел всего за 25 нс. Отметим, что именно эта область связывается swc6 субъединицей ремоделирующего комплекса SWR1 для выхода канонического димера H2A/H2B из нуклеосомы (см. рисунок 1.4), т.е. взаимодействия с этой субъединицей замещают устойчивое взаимодействие петли гистона H2A с ДНК.

Показанная в наших траекториях тенденция к глубокому откручиванию ДНК в вариантных нуклеосомах подтверждается данными криоэлектронной микроскопии [52], согласно которым концевые 10-12 пар нуклеотидов не разрешаются на структурах из-за повышенной динамики, в отличие от канонической системы, где концы ДНК разрешаются полностью (соответственно динамика ДНК в канонических нуклеосомах менее амплитудна). И как мы показали выше, быстрый переход к глубокому откручиванию в вариантной системе связано со спецификой контактов L2 петли гистона H2A.Z (остатки V78, K79 и R80) с ДНК. Вероятно, ключевые контакты L2 петли канонической системы, формируемые остатками K75, T76 и R77 гистона H2A, более устойчивые. В связи с этим могут быть выдвинуты следующие гипотезы:

1. Устойчивость контакта может определяться геометрией L2 петли. Основные силы, удерживающие ДНК с сайтом, - электростатические взаимодействия отрицательно-заряженного остова ДНК и положительно-заряженных лизинов и аргининов гистонов. При этом сайт ключевых контактов второго барьера заряжен одинаково в канонической и вариантной системах (VKR и KTR), поэтому выдвигается предположение о существенных отличиях пространственного распределения положительного заряда в этом сайте.

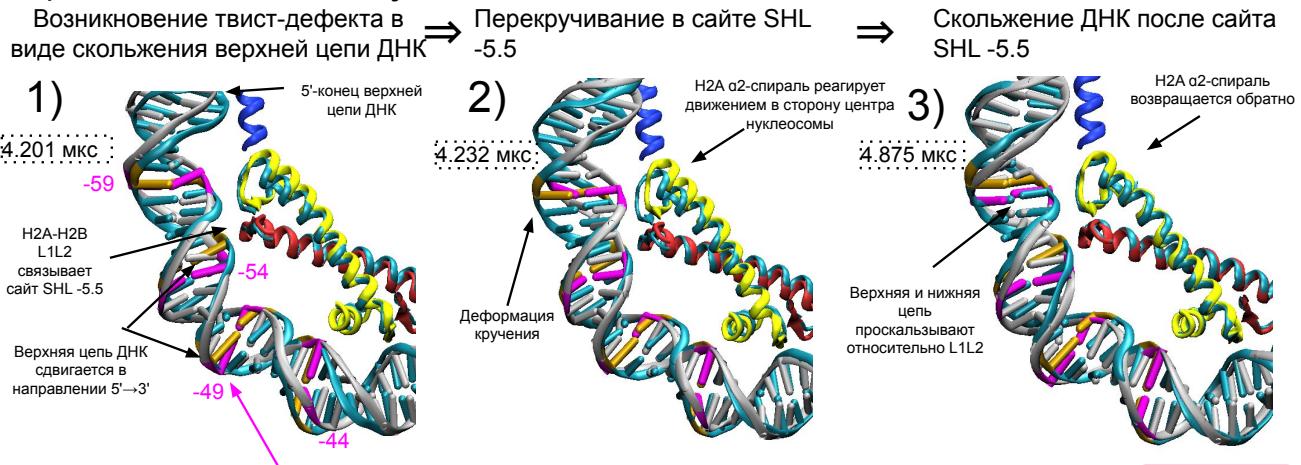
2. Для эффективного взаимодействия петли с ДНК необходима пластичность гистонового ядра в целом. Как видно на рисунке 3.3в, при глубоком откручивании возможен изгиб α 2 спирали гистона H2A.Z в сторону откручивания. Эта гипотеза будет рассмотрена далее.

3.4 Дефекты кручения ДНК в сайте SHL -5,5

Второй функционально важный вид динамики ДНК в хроматине - скольжение нуклеосом вдоль ДНК. В настоящее время существует модель червеобразного движения ДНК по нуклеосоме (inchworm model) [53]. Согласно ей, перемещение ДНК по нуклеосоме происходит через образование и миграцию вдоль ДНК дефектов кручения двойной спирали при формировании супервитка вокруг нуклеосомы. Дефект кручения встречается в кристаллических структурах нуклеосом в сайтах SHL -5/-2/+5/+2, и это объясняет тот факт, что на гистоновый октамер одного размера может быть накручено 145 (как в структуре PDB ID 3LZ0), 146 (PDB ID 1AOI) или 147 (PDB ID 1KX5) пар нуклеотидов. Согласно модели червеобразного движения ДНК, в каком-то сайте нуклеосомы происходит образование дефекта кручения ДНК, что влечет за собой втягивание одной пары нуклеотидов в нуклеосому по штопорообразному механизму. Далее в модели происходит перемещение дефекта кручения, так же через штопорообразное движение ДНК, по нуклеосоме и его релаксация на другом конце. В результате нуклеосома смещается на одну пару нуклеотидов вдоль ДНК. С помощью недавно проведенного ряда экспериментов по получению криоэлектронных структур комплексов нуклеосом с ремоделерами было показано, что перемещение нуклеосом по ДНК ремоделерами и откручивание ДНК нуклеосомы при взаимодействии с SWR1 ремоделером происходит через формирование таких дефектов кручения в сайте связывания ремоделера (SHL -2/+2 в основном, в некоторых случаях SHL -5/+5) [31], [54].

В наших траекториях молекулярной динамики на микросекундном масштабе удалось зафиксировать формирование устойчивого дефекта кручения в сайте SHL -5,5 в канонической и вариантной системах (Рисунок 3.4, Приложение 3). Оно выражалось в «втягивании» одной пары нуклеотидов с проксимального конца ДНК в нуклеосому и ее последующее удерживание в области сайта SHL -5,5. В канонической и вариантной системах это явление произошло в разном контексте: каноническая система совершила такое движение в закрученном состоянии (после 4 мкс моделирования), а вариантная система пришла в это состояние при возвращении после глубоко откручивания (после 3 мкс моделирования). При этом наблюдаются определенные сходства - оче-

а) Каноническая нуклеосома



б) Вариантная нуклеосома

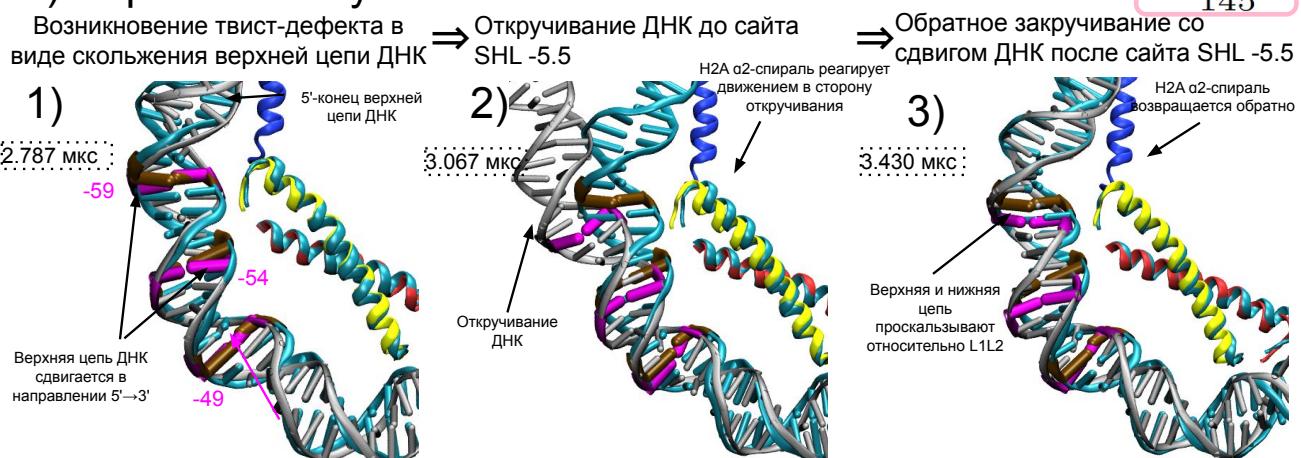


Рисунок 3.4 — Формирование дефектов кручения ДНК в сайте SHL -5,5 при молекулярной динамике канонической (а) и вариантной (б) систем. Показано трех-этапное (панели 1-3) формирование дефекта кручения на структурах из траекторий, наложенных на кристаллическую структуру (показана голубым цветом); для прослеживания смещения нуклеотидные пары -49, -54, -59 выделены розовым и оранжевым цветами в динамике и в кристаллической структуре соответственно.

редность сдвига по цепям и участие α 2 спирали гистона H2A(.Z). Рассмотрим подробнее каждый случай.

В канонической системе формирование дефекта кручения началось с проскальзывания верхней цепи ДНК в направлении к диаде. При этом верхняя цепь сохранила контакты с L1-L2 сайтом (образованным L1 петлей гистона H2B и L2 петлей гистона H2A). Через примерно 30 нс произошло формирование деформации кручения в сайте SHL -6, при этом α 2 спираль гистона H2A совершила

изгиб в сторону центра нуклеосомы. Затем дефект кручения релаксировал в сайте SHL -5,5. При этом спираль вернулась в исходную позицию, но уже взаимодействуя со смещенной на одну пару нуклеотидов ДНК, таким образом $\alpha 2$ спираль гистона H2A сделала «шажок» по ДНК.

Формирование дефекта кручения в вариантной системе произошло при возвращении ДНК после глубокого откручивания, то есть $\alpha 2$ спираль «поймала» перекрученную ДНК и сформировала в сайте SHL -5,5 дефект кручения. В процессе спираль, как и в первом случае, совершила движение изгиба, только в противоположную сторону.

Таким образом, наши системы демонстрируют на микросекундном масштабе формирование дефекта кручения ДНК, что является первым этапом перемещения ДНК по нуклеосоме. Причем мы видим два разных механизма формирования таких движений - в закрученном состоянии и при откручивании. Второй путь является подтверждением идеи, что формирование дефектов кручения и движение откручивания ДНК тесно связаны. И если в нашей работе откручивание вызывает формирование дефекта, то предполагается и формирование откручивания вследствие появления дефекта. Это могло бы объяснить механизм, по которому ремоделер SWR1, взаимодействующий с сайтом SHL -2 и формирующий дефект кручения ДНК в этом сайте, вызывает откручивание конца ДНК для последующего связывания открывшегося сайта L2 гистона H2A (см. рисунок 1.3).

3.5 Динамика канонических и вариантных димеров

Выше были описаны особенности динамики канонических и вариантных нуклеосом в микросекундном масштабе и показаны заметные отличия, согласующиеся с экспериментальными данными. Для выяснения того, какие именно внутренние динамические характеристики вариантового гистона H2A.Z могут быть причиной такого разного поведения на уровне нуклеосом, а также какие отличия могут быть «прочитаны» при взаимодействии димера с шаперонами, было проведено моделирование димеров гистонов H2A(Z)/H2B. Обзор динамики димеров гистонов в виде наложения кадров молекулярной динамики с

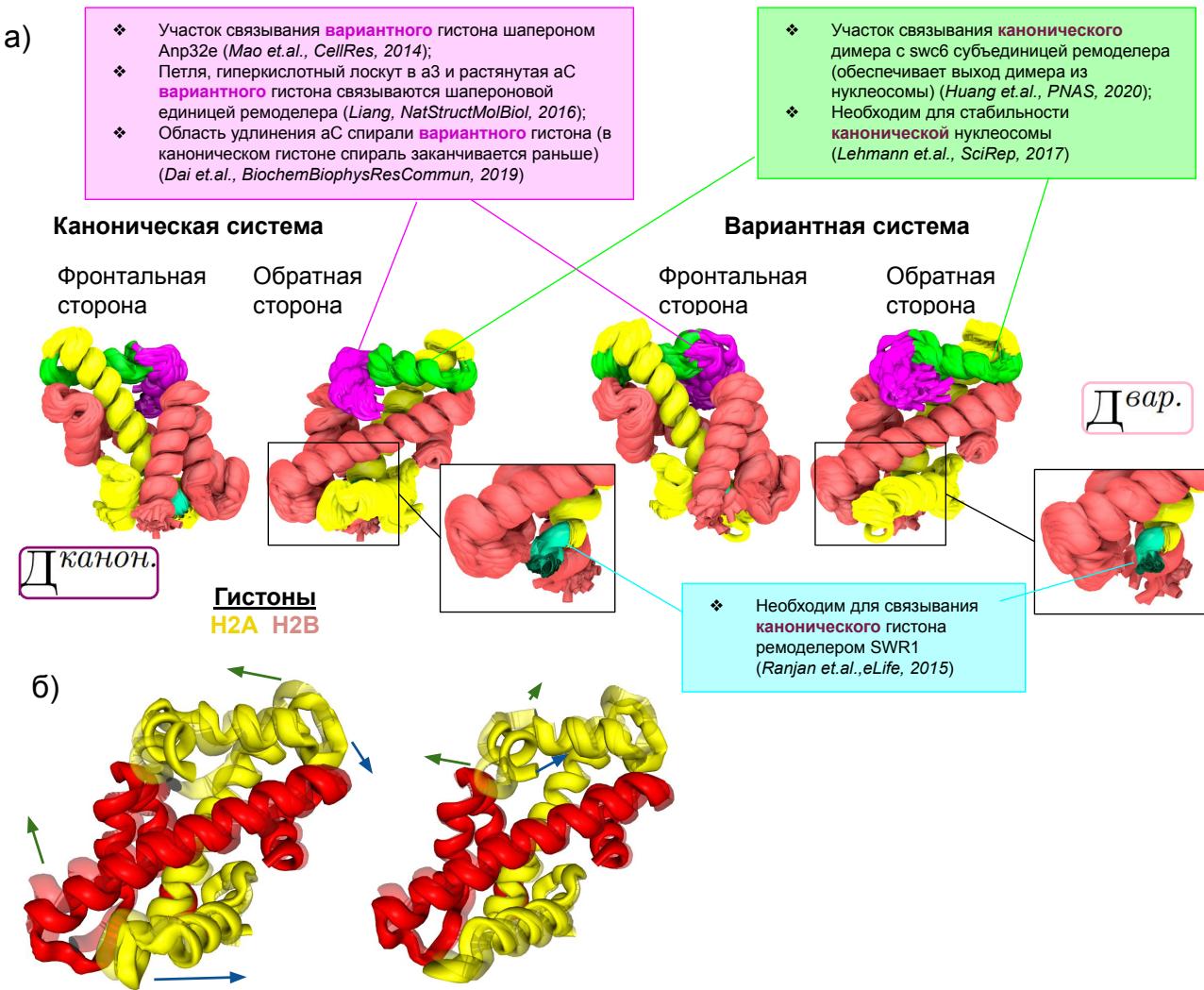


Рисунок 3.5 — Молекулярная динамика димеров гистонов H2A(.Z)/H2B. **а)** Показана в виде наложения кадров молекулярной динамики. Цветом выделены участки, важные для функционирования канонических/вариантных систем (см. обзор литературы).**б)** Примеры характерных мод движения димеров гистонов H2A(.Z)/H2B, вычисленные как собственные вектора матрицы ковариаций положений C- α атомов; слева - 3 вектор канонической системы (H2A/H2B), справа - 3 вектор вариантной системы (H2A.Z/H2B).

выделением важных участков, описанных в обзоре литературы (Рисунок 1.4), показан на рисунке 3.5.

В качестве сравнения наших моделей димеров с аналогичными биологическими системами было проведено сравнение параметров доступности растворителю с данными о скорости дейтеро-водородного обмена [34]. Был предложен метод оценки вероятности дейтеро-водородного обмена из данных молекулярной динамики, в основе которого лежит предположение, что вероятность обмена (определяемая по HSQC спектрам, т.е. описывающая обмен

водорода протона пептидной связи на дейтерий из растворителя) пропорциональна площади доступной растворителю поверхности азота и водорода пептидной связи. Расчет площади поверхности, доступной растворителю, проводился с помощью программы FreeSASA [55]. Были построены профили доступности вдоль последовательности аминокислот (см. Приложение 4,5). Полученные профили хорошо соотносятся с данными о скорости дейтеро-водородного обмена.

Для выявления характерных мод движения димера был проведен анализ главных компонент матриц ковариаций положений атомов (с помощью Gromacs). Полученные собственные вектора - характерные моды - для обоих систем были схожи и могут быть разделены на две группы движений. Первая группа - изгиб центральных α -2 спиралей гистонов (изгиб оси димера) (показан на примере 3-го вектора канонического димера на рисунке 3.5б). Вторая группа - раскрытие α -3 и α -C спиралей (показан на примере 3-го вектора вариантного димера на рисунке 3.5в). α -3 и α -C спирали являются важными с точки зрения узнавания систем и стабильности нуклеосомы, и, возможно, движение раскрытия спиралей является функционально важным. Говоря о роли первой группы движений, нужно отметить наличие таких характерных изгибов центральной спирали H2A как при движении откручивания (см. Рисунок 3.3б), так и при формировании дефектов кручения ДНК (см. Рисунок 3.4). Так как подобные изгибы являются характерной модой движения димера, т.е. внутренней характеристикой гистонов, можно сделать предположение, что наблюдаемые изгибы могут быть причиной описанных движений ДНК, а не следствием. Далее будет подробно рассмотрена пластичность α -2 спиралей гистонов H2A(.Z) в димерах и октамерах и обсуждение возможных причин разной пластичности на уровне последовательности гистонов.

3.6 Динамика центральных спиралей гистонов H2A(.Z)

Для начальной оценки динамики центральных спиралей гистонов H2A(.Z) построены графики изменения среднеквадратичных отклонений положений С α -атомов этих спиралей от начального положения в ходе динамики (Рисунок 3.6). Сравнение этого показателя для нуклеосомных коровых частиц (рису-

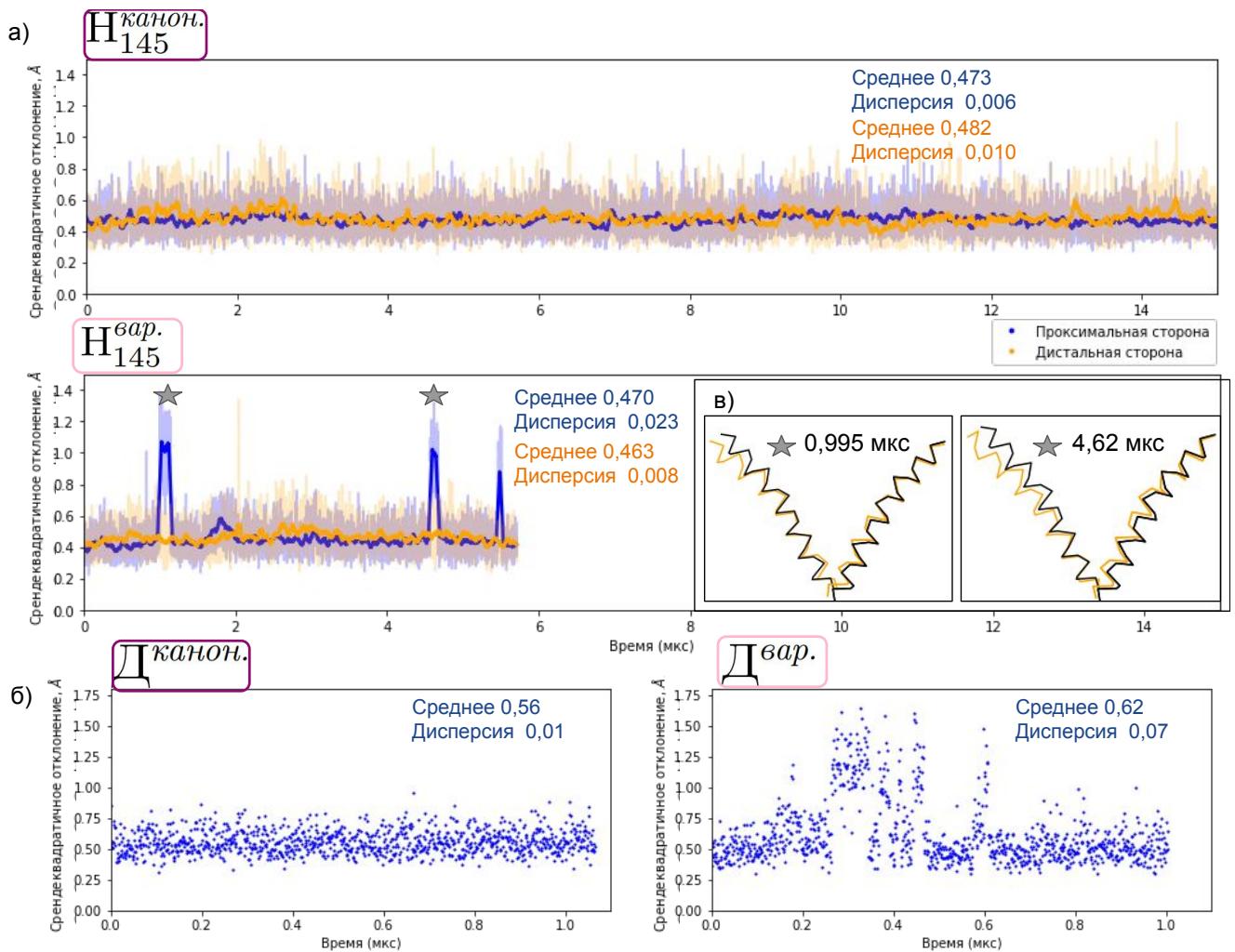


Рисунок 3.6 — Среднеквадратичное отклонение С α -атомов α 2 спирали гистонов H2A/H2A.Z от начального положения (нулевого кадра динамики) при молекулярной динамике нуклеосомных коровых частиц (а) и димеров гистонов H2A(.Z)/H2B (б). На панели в) показано положение спиралей (выделены желтым) в моменты наибольшего отклонения относительно положения в кристаллической структуре (выделена черным).

нок 3.6а) показало, что среднее значение в канонической системе для обеих сторон выше, чем в вариантной системе (что может быть связано с различиями, появившимися в ходе минимизации и эквилибрации). Однако, заметны резкие отклонения для проксимального гистона H2A.Z вариантной системы в некоторые моменты времени. Такие резкие изменения повторяются при моделировании димеров с вариантом H2A.Z (Рисунок 3.6б). Для описания геометрии этих отличий далее будет рассмотрена динамика центральных спиралей в проекции на фронтальную плоскость системы координат нуклеосомы.

На рисунке 3.7а показано, как отличается пластиность центральных спиралей гистонов H2A(.Z) в динамике нуклеосом. В основном эти различия затрагивают движение в фронтальной плоскости СКН, проекции положений C α атомов в динамике показана на графиках слева. Видно, что варианная система имеет тенденцию отклоняться в противоположную сторону от центра нуклеосомы относительно кристаллического положения, наиболее ярко это проявляется на проксимальном гистоне H2A.Z. Также есть отличия в амплитуде таких мод изгиба центральной спирали для канонической и варианной систем. Расстояние между крайними положениями, достижимыми предпоследним атомом спирали, для канонической спирали составляет 6,9 и 8,4 Å для проксимального и дистального гистонов соответственно с дисперсией 1,7 и 1,6 Å² (6,9 и 7,2 Å за первые 5 мкс), в то время как это же расстояние для варианной системы составляет всего 5,1 и 4,3 Å (с дисперсией 1,03 Å² для обеих сторон). Можно сделать вывод, что в канонической системе центральная спираль более пластичная. При этом с проксимальной стороны варианты гистон заметно отклоняются от центра нуклеосомы. Вероятно, такое поведение спирали связано с интенсивным откручиванием ДНК с этой стороны. Для сравнения, аналогичные проекции для центральной спирали гистонов H2B показаны на рисунке 3.7б. Заметных отличий в пластиности этих спиралей не замечено.

Таким образом, изгиб центральных спиралей H2A и H2A.Z в динамике нуклеосом имеет разную амплитуду (каноническая отклоняется сильнее от начального положения) и разное среднее положение (вариантная спираль имеет тенденцию к изгибу от центра нуклеосомы).

Как же пластиность связана с последовательностью нуклеотидов гистонов? Для ответа на этот вопрос рассмотрим подвижность C- α атомов вдоль спирали (Рисунок 3.8а). Как было показано выше, канонические и варианты центральные спиралы имеют разную пластиность, поэтому среднеквадратичные отклонения, ожидаемо, отличаются вдоль последовательности аминокислот. При сравнении последовательностей (Рисунок 3.8б) можно заметить наличие двух замен, Val-Ile и Ile-Val (H2A Val54 на H2A.Z Ile57 и H2A Ile62 на H2A.Z Val65). Они входят в состав спирали, при этом оба ориентированы в центр нуклеосомы (Рисунок 3.8в). Оказалось, что изгиб спирали, обсуждавшийся ранее (Рисунок 3.6), может начинаться из двух положений, близких к расположению описываемых валинов и лейцинов (Рисунок 3.8г). Предполагается, что спирали с валином и изолейцином в одном положении имеют разную гиб-

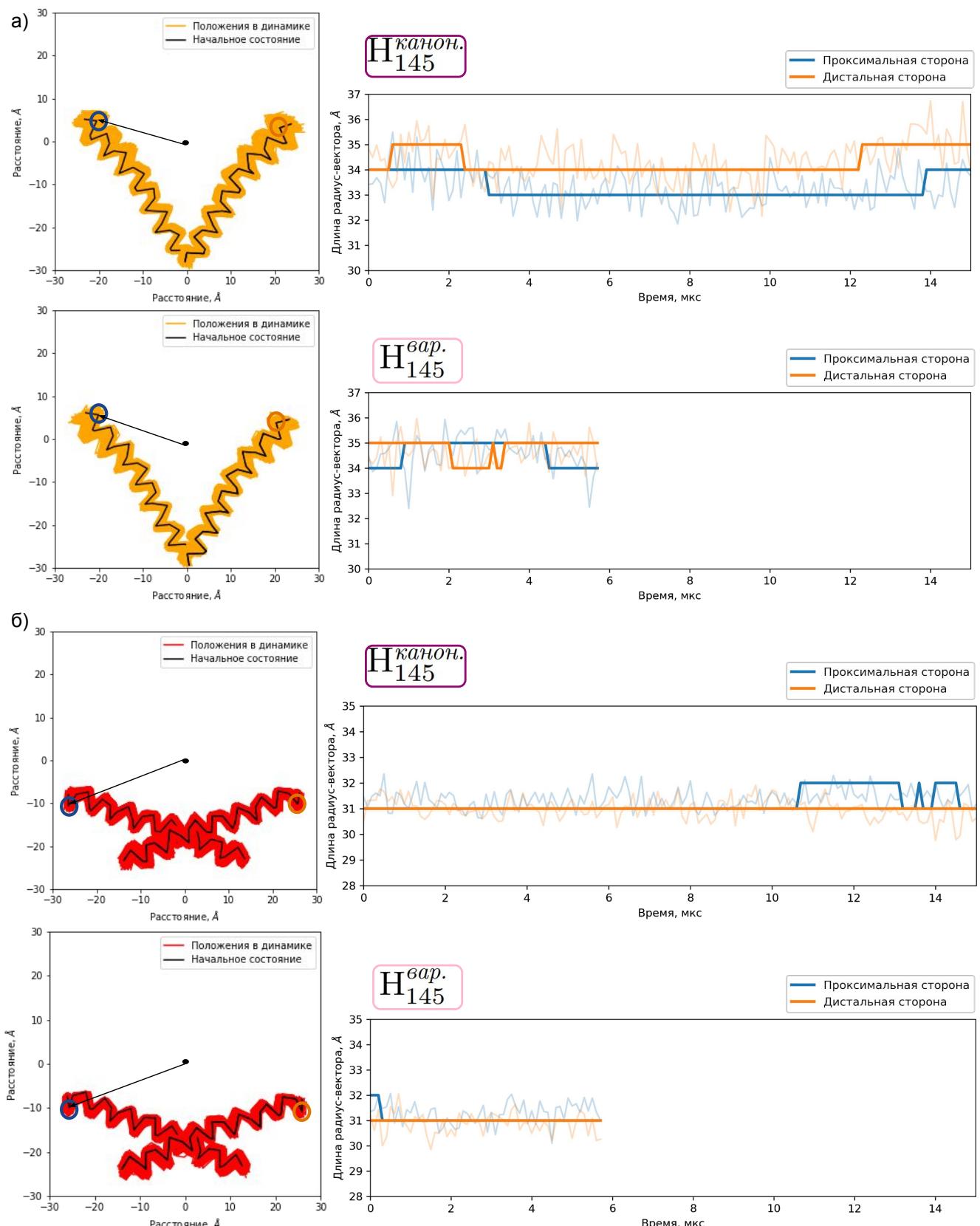


Рисунок 3.7 — Динамика α 2 спиралей гистонов H2A/H2A.Z (а) и H2B (б) при молекулярной динамике нуклеосомных коровых частиц. Слева показаны проекции C α атомов спиралей на плоскость XOY в определении СКН. Справа показан график изменения длины радиус-вектора от положения предпоследнего (для гистона H2A) или второго (для гистона H2B) C α атома (отмечены оранжевыми и синими кругами соответственно на proxимальном и distальном гистонах) до начала координат в СКН; яркая линия дает усреднение по 25 нс.

кость, как видно по распределению углов Рамачандрана для валина и лейцина в одной из траекторий (Рисунок 3.8д), валин имеет немного больший разброс углов, из чего можно предполагать, что он увеличивает локальную пластичность спирали.

Итак, можно выдвинуть предположение, что изгиб α -2 спиралей происходит преимущественно в двух сайтах, разделяющих спираль на три примерно равные части. В этих сайтах в сторону нуклеосомы могут быть ориентированы валины или лейцины, причем наличие валина в сайте делает его локально более пластичным по сравнению с лейционным сайтом. В канонической спирали сначала идет более пластичный сайт с валином, а потом сайт с лейцином, в вариантной наоборот. Это может быть объяснением более равномерному и в среднем более высокому распределению среднеквадратичных отклонений атомов по времени в канонической системе по сравнению аналогичным профилем вариантной системы (ниже среднее и имеются резкие скачки).

3.7 Динамика α С-спиралей гистонов H2A(.Z)

Из структуризации литературных данных вдоль последовательности аминокислот (Рисунок 1.4) следует, что очень важным является С-конец гистонов H2A(.Z). Он формирует контакты с щаперонами, регулирует стабильность нуклеосомы и имеет некоторое отличие согласно ЯМР данным для канонического и вариантного гистонов. В экспериментах было показано [34], что вариантный гистон имеет продленную на две аминокислоты α -спираль относительно канонического гистона. На наших траекториях были рассчитаны вероятности формирования разных элементов вторичной структуры гистонами (Рисунок 3.9в) с помощью программы DSSP [56]. Продолжения спирали в выделенном вертикальными линиями участке показать не удалось, однако интересным наблюдением было формирование 3-10 спирали вариантным гистоном в области остатков 116-119 (в нумерации выравнивания).

При сравнении общей подвижности С-конца гистонов H2A(.Z) (3.9а,б) можно заметить, что спирали вариантного гистона H2A.Z более ограничены в пространстве и находятся на большем расстоянии друг от друга, чем канонические спирали. Это заметно в меньшей степени при проекции спиралей

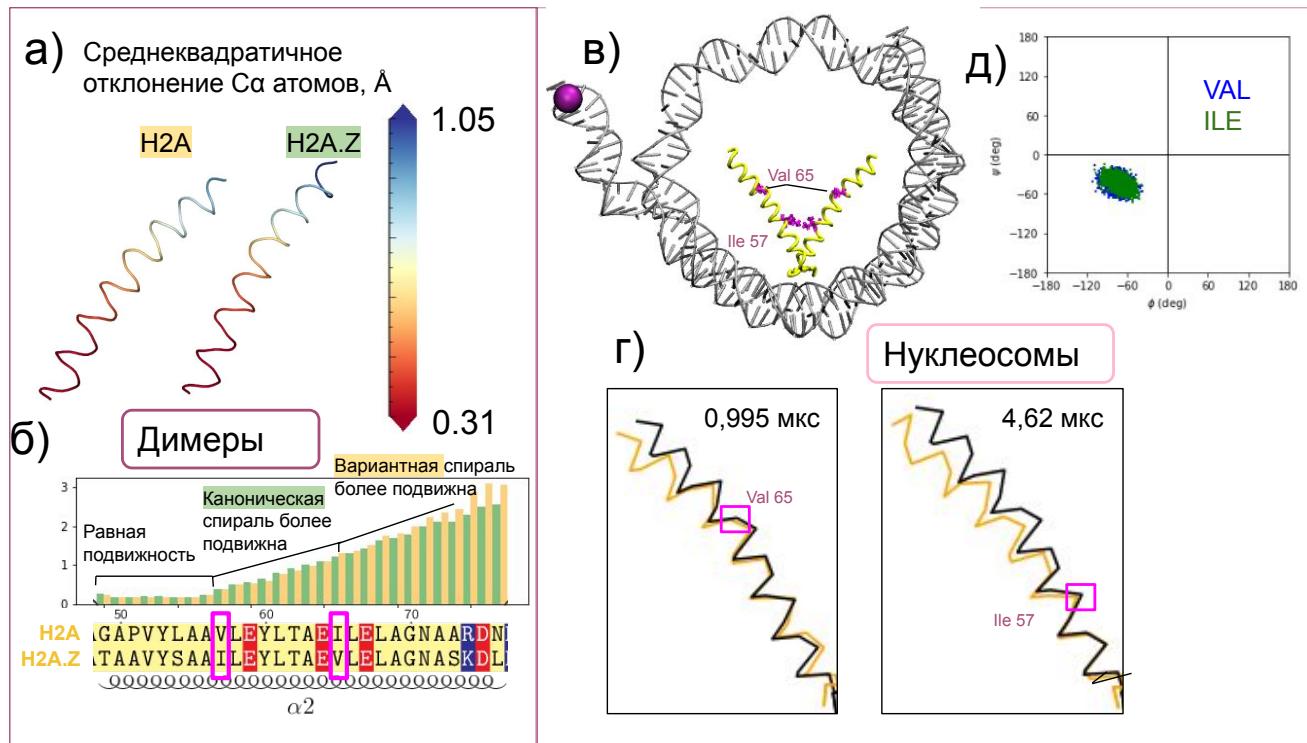


Рисунок 3.8 — Связь пластиности α -2 спирали гистонов H2A(.Z) с ее первичной структурой. Панели а-б относятся к системам димеров гистонов H2A(.Z)/H2B, панели в-д - нуклеосом. Перед расчетом отклонений на панелях а-б было произведено выравнивание траектории по начальному участку спирали (остатки 49-56 на выравнивании) а) Среднеквадратичное отклонение атомов С- α атомов центральных спиралей в траекториях молекулярной динамики канонического и варианного димеров на структуре спиралей (значения показаны на тепловой оси). б) Среднеквадратичное отклонение атомов С- α атомов центральных спиралей в траекториях молекулярной динамики канонического и варианного димеров вдоль последовательности нуклеотидов. Последовательность представлена в виде структурного выравнивания α -2 спиралей H2A и H2A.Z гистонов. Розовыми рамками отмечены предполагаемые точки перегиба спиралей. в) Положение предполагаемых точек перегиба в структуре нуклеосомы. г) Положения С- α атомов α -2 спирали H2A.Z в двух кадрах траектории молекулярной динамики варианной нуклеосомы (кадры соответствуют максимумам среднеквадратичных отклонений на рисунке 3.6). Розовой рамкой показано положение Ile 57 и Val 65. д) Значения углов Рамачандрана остатков Ile 57 и Val 65 в траектории молекулярной динамики варианной нуклеосомы.

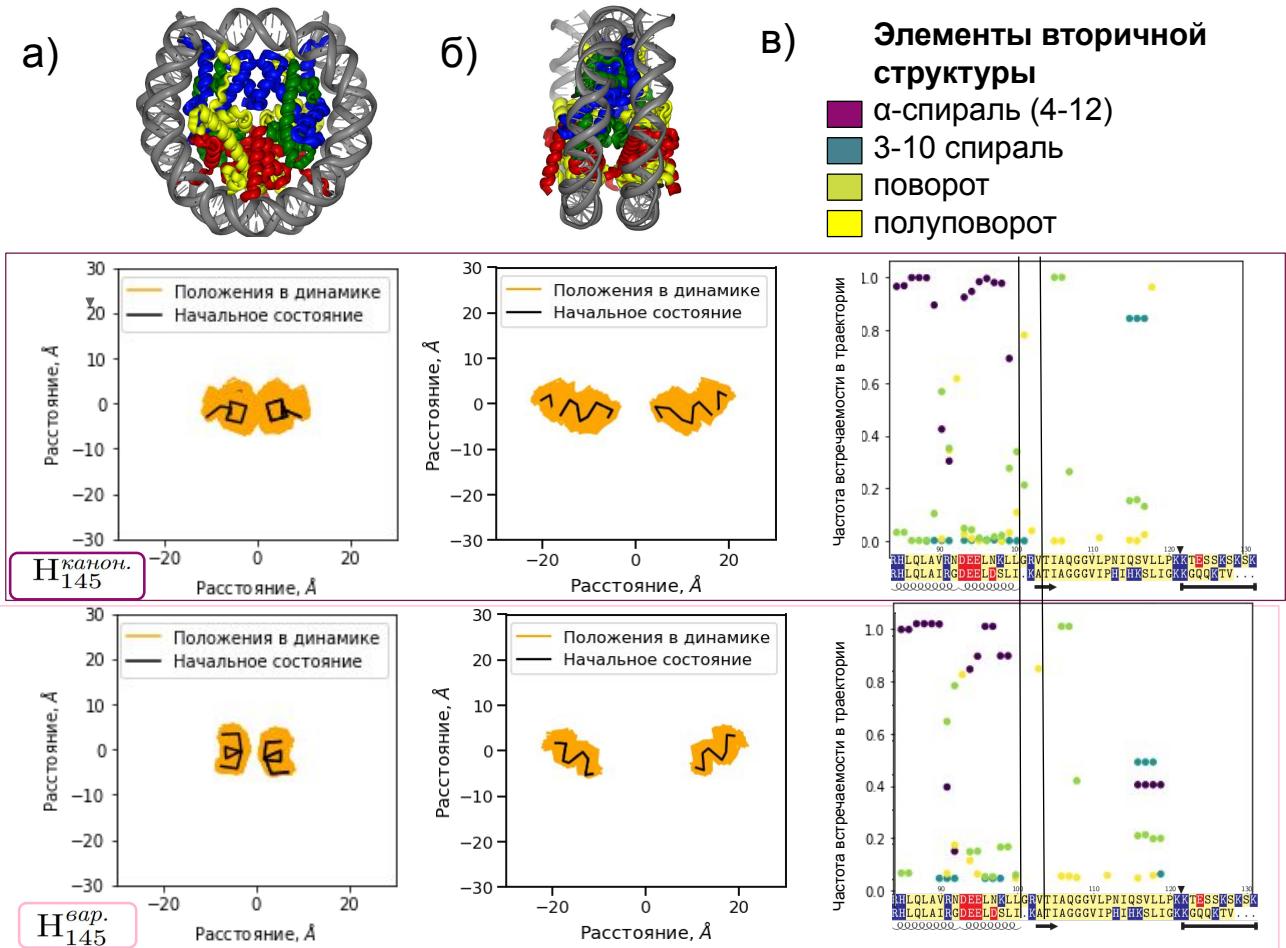


Рисунок 3.9 — Динамика α C спиралей гистонов H2A/H2A.Z при молекулярной динамике нуклеосомных коровых частиц. (а) Показаны проекции С α атомов спиралей на плоскость ХОY в определении СКН в динамике систем полноразмерных нуклеосом: канонических (сверху) и вариантных (снизу). (б) То же, но в проекции на плоскость ZOY СКН (соответствующая ориентации нуклеосомы показана выше) (в) Вероятности формирования элементов вторичной структуры в траектории нуклеосомных коровых частиц вдоль последовательности аминокислот С-конца гистона H2A(.Z). По оси абсцисс дано структурное выравнивание канонического и вариантного гистона. Расчет вероятностей проводился с помощью программы DSSP [56]. Вертикальные черные линии ограничивают участок, на котором происходит продолжение α -С спирали гистона H2A.Z, согласно данным ЯМР-экспериментов [34].

на фронтальную плоскость СКН (а) и в большей степени при виде сбоку (б). Это согласуется с данными криоэлектронной микроскопии [52]. В упомянутой работе приводится модель, согласно которой из-за определенного участка на С-конце вариантного гистона H2A.Z, вариантный димер H2A.Z/H2B не может компактно встроиться в состав нуклеосомы, как это делает канонический димер гистонов H2A/H2B, поэтому и происходит нарушение стабильности нуклеосомы и повышение динамики откручивания ДНК. Интересно, что ограничение подвижности α -С спирали при динамике нуклеосомных коровых частиц является не собственно гистоновой характеристикой - в системах димеров гистонов H2A(.Z)/H2B в вариантной системе подвижность этой спирали даже выше, чем в канонической (см. Приложение 6).

Глава 4. Обсуждение

Для изучения особенностей канонических (с гистоном H2A) и вариантных (с гистоном H2A.Z) систем были построены модели димеров гистонов H2A(.Z)/H2B и нуклеосомных коровых частиц с каноническим H2A или варианты H2A.Z гистонами в составе. Благодаря суперкомпьютерным технологиям с применением графических ускорителей и долгим вычислениям были достигнуты времена моделирования до 15 мкс, что позволило изучать динамические процессы, протекающие в микросекундном масштабе. Одним из важнейших результатов является получение в свободной динамике полноатомной модели обратимого движения откручивания ДНК. С помощью таких длинных траекторий удалось описать молекулярные механизмы этого процесса (стадии, роль контактов ДНК с гистонами и определение барьеров откручивания, Н3-“застежки”, удерживающей два витка ДНК вместе). Второе важное движение, которое удалось зафиксировать в длинных траекториях, - это скольжение ДНК по гистоновому ядру вследствие формирования локального дефекта кручения ДНК. Такой механизм скольжения лежит в основе перемещения нуклеосом вдоль ДНК и используется ремоделирующими комплексами [57]. Удалось показать два способа формирования таких дефектов кручения: в канонической системе в прикрученном состоянии (внутреннее формирование дефекта) и в вариантной системе после прикручивания ДНК после глубокого откручивания. Таким образом была показана связь между формированием дефектов кручения и движением откручивания ДНК. Это согласуется с гипотезой о роли дефекта кручения в сайте SHL -2 в откручивании конца ДНК на 20 пар нуклеотидов (в данной работе такое откручивание относится к глубокому и связано с открытием второго барьера) при ремоделировании хроматина ремоделирующим комплексом SWR1 [37], Рисунок 1.3д).

На уровне динамики откручивания ДНК было показано, что канонические и варианты нуклеосомы имеют некоторые отличия. В частности тот факт, что переход от первой стадии откручивания к глубокому откручиванию происходил быстро для обоих концов ДНК вариантной нуклеосомы. Это согласуется с данными криоэлектронной микроскопии [52], согласно которым только 125 из 147 пар нуклеотидов удалось разрешить на структуре вариантной нуклеосомы, т.е. концевые участки ДНК по 10 пар нуклеотидов в такой системе более

подвижны, чем в канонической. Предположительно причиной такого эффекта является особе устройство L1-L2 сайта (формирующего второй барьер откручивания), открытие которого происходит быстрее в вариантной системе, чем в канонической. Этот сайт формируется группой остатков V78, K79 и R80 в вариантной системе; в канонической это соответственно остатки K75, T76 и R77. Эти остатки формируют контакты также при взаимодействии с шаперонами (Рисунок 1.4), в частности с субъединицей swc6 ремоделирующего комплекса SWR1 (затем следует выход канонического димера). Интересно, что в этих позициях возникают онкомутации (например, R80C) [58], механизм действия которых, вероятно, может быть связан с нарушением динамики ДНК (можно предложить увеличение интенсивности откручивания из-за смены положительного заряда на нейтральный в сайте взаимодействия с ДНК, вследствие чего может повышаться общий уровень экспрессии генов).

В работе с экспериментами ФРЕТ [30] была выдвинута гипотеза, согласно которой фактором селективности ремоделера SWR1 является отличия кинетики откручивания ДНК в канонических и вариантных нуклеосомах, обращая внимание на то, что и стабильность нуклеосомы, и эффективность ремоделирования зависят от последовательности ДНК. Мы предполагаем, что зависимость между эффективностью ремоделирования и динамикой ДНК может появляться на начальном этапе - при посадке комплекса на нуклеосому в сайте SHL -2, при этом, как видно на рисунке 1.3г, должно произойти взаимодействие swc1/swc2 домена одновременно с двумя витками ДНК и петлей H2A(.Z) гистона, формирующей второй барьер откручивания. Вероятно такая посадка может быть затруднена при устойчивом состоянии глубокого откручивания ДНК. Это объясняет влияние последовательности ДНК на эффективность ремоделирования через изменение динамики откручивания и тот факт, что второй цикл работы ремоделера SWR1 происходит на порядок медленнее (посадка на канонический гистон H2A и замена первого димера гистонов H2A/H2B происходит в микросекундном масштабе, а посадка на недавно встроенный гистон H2A.Z и замена второго димера гистонов H2A/H2B происходят в миллисекундном масштабе [30]).

Увеличение динамики ДНК вариантной системы может быть связано, как упоминалось выше, с особенностями петли гистона H2A.Z, определяющей второй барьер откручивания ДНК. Однако, есть альтернативная гипотеза, выдвинутая в работе [52], согласно которой такая динамика происходит из-за α -С

спирали гистона H2A.Z, которая слишком длинная для того чтобы компактно укладываться в нуклеосому. Об удлинении этой спирали говорится также в статье [34]. В наших результатах можно видеть, что для димеров с вариантом характерна повышенная подвижность этой спирали, при этом в нуклеосомах она жестче ограничена в пространстве, чем спираль канонического гистона (Рисунок 3.9, Приложение 6).

Третьим возможным источником повышенной динамики ДНК вариантных нуклеосом (помимо L2 петли гистонов H2A(.Z) и формы α -С спирали) может быть особенность центральной α -2 спирали гистонов H2A(.Z). Было показано, что в положениях основных точек перегибов при формировании изгиба спирали существуют взаимно обратные замены (H2A Val54 на H2A.Z Ile57 и H2A Ile62 на H2A.Z Val65). Также показано, что движение изгиба спирали имеет место при глубоком откручивании и при формировании дефектов кручения, при этом общая подвижность спиралей отличается у канонического и варианного гистонов и в контексте нуклеосомы, и в контексте димера H2A(.Z)/H2B.

Эти три гипотезы все сводятся к повышенной динамике откручивания ДНК вариантных нуклеосом как к фактору, обуславливающему селективность связывания канонических нуклеосом ремоделером SWR1, согласно которой swc1/swc2 домен ремоделера не может связать виток ДНК в сайте SHL -2, открученный участок ДНК (до сайта SHL +5) и остатки K75 и N69 гистона H2A(.Z). Однако, стоит обратить внимание на данные, согласно которым замены в гистоне H2A в соответствии с гистоном H2A.Z на N-конце α -2 спирали (связана с ДНК в сайте SHL +-3/3,5) ведет к резкому снижению эффективности встраивания варианного гистона H2A.Z ([32]. Можно сформулировать две объясняющие этот факт гипотезы. Согласно первой гипотезе, эти замены могут иметь значение на стадии выхода канонического димера из нуклеосомы (после этапа откручивания ДНК и формирования контактов с swc6 субъединицей ремоделера SWR1). Вторая гипотеза вытекает из результатов бакалаврской выпускной квалификационной работы автора ([59], согласно которым введение замен в систему димер-участок ДНК длиной 30 пар нуклеотидов приводил к формированию откручивания ДНК в сайте, где вводились замены. Это привело к предположению, что ключевые позиции, взаимодействующие с сайтом ДНК SHL +-3/3,5, имеют влияние на способность релаксации дефекта кручения от сайта SHL -2 к концу ДНК, что является механизмом появления откручивания ДНК, необходимого для освобождения сайтов связывания димера субъединицей

swc6. Обе эти гипотезы согласуются с гипотезами откручивания и могли бы дополнить их, так они описывают отличия поведения канонических и вариантовых гистонов на разных стадиях ремоделирования хроматина комплексом SWR1.

Заключение

Моделирование динамики нуклеосом и частей нуклеосом в течение нескольких микросекунд позволило изучить процессы, происходящие в микросекундном масштабе. Важность таких долгих расчетов, находящихся на пределе возможностей метода в настоящее время, заключается в возможности на атомистическом уровне описывать механизмы движений, наблюдавшихся в экспериментах. Траектории до 15 мкс позволили изучить обратимое движение откручивания ДНК и формирование дефекта кручения с последующим скольжением ДНК в свободной молекулярной динамике. Удалось описать динамику и стадийность откручивания ДНК, барьеры откручивания в виде контактов ДНК с гистонами, участие элементов гистонового фолда в формировании и эволюции таких движений. На основе сравнения особенностей канонических (с гистоном H2A) и вариантных (с гистоном H2A.Z) систем были показаны отличия на уровне динамики нуклеосом и на уровне динамики димеров гистонов H2A(.Z)/H2B. Исходя из этих особенностей были сформулированы гипотезы, объясняющие селективность работы ремоделирующего комплекса SWR1 по отношению к каноническим нуклеосомам.

Выводы

Основные результаты работы заключаются в следующем.

1. Были проведены расчеты молекулярной динамики систем димеров H2A(.Z)/H2B и нуклеосом с каноническим (H2A) и варианты (H2A.Z) гистонами в микросекундном масштабе. На полноатомных моделях удалось смоделировать и описать детали процессов обратимого откручивания ДНК и формирования дефектов кручения ДНК.
2. Было продемонстрировано более интенсивное откручивание ДНК в вариантной нуклеосоме по сравнению с динамикой откручивания канонической нуклеосомы и выявлен сайт гистона H2A.Z (L2 петля), обуславливающий более быстрый переход от дыхания ДНК к глубокому откручиванию.

3. Показано, что α 2 спираль гистонов H2A(.Z) участвует в формировании движений откручивания и скольжения ДНК, совершая изгиб в сторону откручивания или в сторону центра нуклеосомы. Такая модель изгиба является характерной также и для систем димеров гистонов H2A(.Z)/H2B.
4. Выявлены сайты изгиба α 2 спирали гистонов H2A(.Z) и предложена гипотеза о влиянии аминокислотных замен в этих положениях на склонность спирали к изгибу в гистонах H2A и H2A.Z.
5. На основе анализа литературы и выявленных динамических особенностей канонических (с гистоном H2A) и вариантных (с гистоном H2A.Z) систем были сформулированы гипотезы, объясняющие селективность ремоделера SWR1 по отношению к каноническим нуклеосомам.

Благодарности

Автор выражает благодарность своим научным руководителям А.К. Шайтану и Г.А. Армеееву и коллективу кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ.

Работа была поддержана грантом РНФ 18-74-10006 (Структурная динамика нуклеосом и их взаимодействий: поиск подходов для диагностики и лечения онкологических заболеваний). Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова (суперкомпьютер Ломоносов-2).

Список сокращений и условных обозначений

КриоЕМ - криоэлектронная микроскопия

МД - молекулярная динамика

НКЧ - нуклеосомная коровая частица (ядро нуклеосомы, nucleosome core particle)

СКФ - среднеквадратичное отклонение атомов

СКН - система координат нуклеосомы

ФРЕТ - Фёрстеровский перенос энергии (Forster resonance energy transfer)

ЯМР - метод спектроскопии ядерно-магнитного резонанса

PDB ID - код структуры в базе данных белковых структур (protein data bank identification number)

SHL - положение на суперспирали нуклеосомной ДНК (super helix location) относительно диады (SHL=0)

Список литературы

1. Histone Dynamics Mediate DNA Unwrapping and Sliding in Nucleosomes [Текст] / G. A. Armeev, A. S. Kniazeva, G. A. Komarova, M. P. Kirpichnikov, A. K. Shaytan // Nature Communications. — 2021. — Dec. — Vol. 12, no. 1. — P. 2387. — DOI: [10.1038/s41467-021-22636-9](https://doi.org/10.1038/s41467-021-22636-9).
2. Crystal Structure of the Nucleosome Core Particle at 2.8 Å Resolution [Текст] / K. Luger, A. W. Mäder, R. K. Richmond, D. F. Sargent, T. J. Richmond // Nature. — 1997. — Sept. — Vol. 389, no. 6648. — P. 251—260. — DOI: [10.1038/38444](https://doi.org/10.1038/38444).
3. Akey, C. W. Histone Chaperones and Nucleosome Assembly [Текст] / C. W. Akey, K. Luger // Current Opinion in Structural Biology. — 2003. — Feb. — Vol. 13, no. 1. — P. 6—14. — DOI: [10.1016/S0959-440X\(03\)00002-2](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(03)00002-2).
4. Lee, J. Single-Molecule Investigations on Histone H2A-H2B Dynamics in the Nucleosome [Текст] / J. Lee, T.-H. Lee // Biochemistry. — 2017. — Feb. 21. — Vol. 56, no. 7. — P. 977—985. — DOI: [10.1021/acs.biochem.6b01252](https://doi.org/10.1021/acs.biochem.6b01252).
5. Mechanism of Chromatin Remodeling and Recovery during Passage of RNA Polymerase II [Текст] / O. I. Kulaeva, D. A. Gaykalova, N. A. Pestov, V. V. Golovastov, D. G. Vassylyev, I. Artsimovitch, V. M. Studitsky // Nature Structural & Molecular Biology. — 2009. — Dec. — Vol. 16, no. 12. — P. 1272—1278. — DOI: [10.1038/nsmb.1689](https://doi.org/10.1038/nsmb.1689).
6. Kleinschmidt, J. A. Nucleosome Assembly in Vitro: Separate Histone Transfer and Synergistic Interaction of Native Histone Complexes Purified from Nuclei of Xenopus Laevis Oocytes [Текст] / J. A. Kleinschmidt, A. Seiter, H. Zentgraf // The EMBO journal. — 1990. — Apr. — Vol. 9, no. 4. — P. 1309—1318. — pmid: [2323341](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1697111/).
7. HistoneDB 2.0: A Histone Database with Variants—an Integrated Resource to Explore Histones and Their Variants [Текст] / E. J. Draizen, A. K. Shaytan, L. Mariño-Ramírez, P. B. Talbert, D. Landsman, A. R. Panchenko // Database. — 2016. — Vol. 2016. — baw014. — DOI: [10.1093/database/baw014](https://doi.org/10.1093/database/baw014).

8. The Evolutionary Differentiation of Two Histone H2A.Z Variants in Chordates (H2A.Z-1 and H2A.Z-2) Is Mediated by a Stepwise Mutation Process That Affects Three Amino Acid Residues [Tekct] / J. M. Eirín-López, R. González-Romero, D. Dryhurst, T. Ishibashi, J. Ausió // BMC Evolutionary Biology. — 2009. — Vol. 9, no. 1. — P. 31. — DOI: [10.1186/1471-2148-9-31](https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-31).
9. The Histone Variant H2A.Z in Gene Regulation [Tekct] / B. D. Giaimo, F. Ferrante, A. Herchenröther, S. B. Hake, T. Borggrefe // Epigenetics & Chromatin. — 2019. — Dec. — Vol. 12, no. 1. — P. 37. — DOI: [10.1186/s13072-019-0274-9](https://doi.org/10.1186/s13072-019-0274-9).
10. Global Inhibition of Transcription Causes an Increase in Histone H2A.Z Incorporation within Gene Bodies [Tekct] / A. Lashgari, J.-F. Millau, P.-É. Jacques, L. Gaudreau // Nucleic Acids Research. — 2017. — Dec. 15. — Vol. 45, no. 22. — P. 12715—12722. — DOI: [10.1093/nar/gkx879](https://doi.org/10.1093/nar/gkx879). — pmid: [29036442](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29036442/).
11. *Zhang, H.* Genome-Wide Dynamics of Htz1, a Histone H2A Variant That Poises Repressed/Basal Promoters for Activation through Histone Loss [Tekct] / H. Zhang, D. N. Roberts, B. R. Cairns // Cell. — 2005. — Oct. — Vol. 123, no. 2. — P. 219—231. — DOI: [10.1016/j.cell.2005.08.036](https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.08.036).
12. The Euchromatic and Heterochromatic Landscapes Are Shaped by Antagonizing Effects of Transcription on H2A.Z Deposition [Tekct] / S. Hardy, P.-É. Jacques, N. Gévry, A. Forest, M.-È. Fortin, L. Laflamme, L. Gaudreau, F. Robert // PLoS Genetics / ed. by J. D. Lieb. — 2009. — Oct. 16. — Vol. 5, no. 10. — e1000687. — DOI: [10.1371/journal.pgen.1000687](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000687).
13. Histone Variant H2A.Z Regulates Nucleosome Unwrapping and CTCF Binding in Mouse ES Cells [Tekct] / Z. Wen, L. Zhang, H. Ruan, G. Li // Nucleic Acids Research. — 2020. — June 19. — Vol. 48, no. 11. — P. 5939—5952. — DOI: [10.1093/nar/gkaa360](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa360).
14. *Price, B. D.* Chromatin Remodeling at DNA Double-Strand Breaks [Tekct] / B. D. Price, A. D. D'Andrea // Cell. — 2013. — Mar. — Vol. 152, no. 6. — P. 1344—1354. — DOI: [10.1016/j.cell.2013.02.011](https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.011).

15. *Gursoy-Yuzugullu, O.* Histone Chaperone Anp32e Removes H2A.Z from DNA Double-Strand Breaks and Promotes Nucleosome Reorganization and DNA Repair [Tekct] / O. Gursoy-Yuzugullu, M. K. Ayrapetov, B. D. Price // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2015. — June 16. — Vol. 112, no. 24. — P. 7507—7512. — DOI: [10.1073/pnas.1504868112](https://doi.org/10.1073/pnas.1504868112).
16. Normal Patterns of Histone H3K27 Methylation Require the Histone Variant H2A.Z in *Neurospora Crassa* [Tekct] / A. J. Courtney, M. Kamei, A. R. Ferraro, K. Gai, Q. He, S. Honda, Z. A. Lewis // Genetics. — 2020. — Sept. — Vol. 216, no. 1. — P. 51—66. — DOI: [10.1534/genetics.120.303442](https://doi.org/10.1534/genetics.120.303442).
17. *Ryan, D. P.* The Interplay between H2A.Z and H3K9 Methylation in Regulating HP1alpha Binding to Linker Histone-Containing Chromatin [Tekct] / D. P. Ryan, D. J. Tremethick // Nucleic Acids Research. — 2018. — Oct. 12. — Vol. 46, no. 18. — P. 9353—9366. — DOI: [10.1093/nar/gky632](https://doi.org/10.1093/nar/gky632).
18. *Rangasamy, D.* Pericentric Heterochromatin Becomes Enriched with H2A.Z during Early Mammalian Development [Tekct] / D. Rangasamy // The EMBO Journal. — 2003. — 1 апр. — T. 22, № 7. — C. 1599—1607. — DOI: [10.1093/emboj/cdg160](https://doi.org/10.1093/emboj/cdg160).
19. H2A.Z Contributes to the Unique 3D Structure of the Centromere [Tekct] / I. K. Greaves, D. Rangasamy, P. Ridgway, D. J. Tremethick // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2007. — Jan. 9. — Vol. 104, no. 2. — P. 525—530. — DOI: [10.1073/pnas.0607870104](https://doi.org/10.1073/pnas.0607870104).
20. VPS72/YL1-Mediated H2A.Z Deposition Is Required for Nuclear Reassembly after Mitosis [Tekct] / D. Moreno-Andrés, H. Yokoyama, A. Scheufen, G. Holzer, H. Lue, A. K. Schellhaus, M. Weberruss, M. Takagi, W. Antonin // Cells. — 2020. — July 16. — Vol. 9, no. 7. — P. 1702. — DOI: [10.3390/cells9071702](https://doi.org/10.3390/cells9071702).
21. Histone H2A.z Is Essential for Cardiac Myocyte Hypertrophy but Opposed by Silent Information Regulator 2alpha [Tekct] / I.-Y. Chen, J. Lypowy, J. Pain, D. Sayed, S. Grinberg, R. R. Alcendor, J. Sadoshima, M. Abdellatif // Journal of Biological Chemistry. — 2006. — July. — Vol. 281, no. 28. — P. 19369—19377. — DOI: [10.1074/jbc.M601443200](https://doi.org/10.1074/jbc.M601443200).

22. H2A.Z Overexpression Promotes Cellular Proliferation of Breast Cancer Cells [Tekct] / A. Svetelis, N. Gévrí, G. Grondin, L. Gaudreau // Cell Cycle. — 2010. — Jan. 15. — Vol. 9, no. 2. — P. 364—370. — DOI: [10.4161/cc.9.2.10465](https://doi.org/10.4161/cc.9.2.10465).
23. Sex-Specific Effects of the Histone Variant H2A.Z on Fear Memory, Stress-Enhanced Fear Learning and Hypersensitivity to Pain [Tekct] / F. Ramzan, S. D. Creighton, M. Hall, J. Baumbach, M. Wahdan, S. J. Poulson, V. Michailidis, [et al.] // Scientific Reports. — 2020. — Dec. — Vol. 10, no. 1. — P. 14331. — DOI: [10.1038/s41598-020-71229-x](https://doi.org/10.1038/s41598-020-71229-x).
24. Mizuguchi, G. ATP-Driven Exchange of Histone H2AZ Variant Catalyzed by SWR1 Chromatin Remodeling Complex [Tekct] / G. Mizuguchi // Science. — 2004. — Jan. 16. — Vol. 303, no. 5656. — P. 343—348. — DOI: [10.1126/science.1090701](https://doi.org/10.1126/science.1090701).
25. A Protein Complex Containing the Conserved Swi2/Snf2-Related ATPase Swr1p Deposits Histone Variant H2A.Z into Euchromatin [Tekct] / M. S. Kobor, S. Venkatasubrahmanyam, M. D. Meneghini, J. W. Gin, J. L. Jennings, A. J. Link, H. D. Madhani, J. Rine // PLoS Biology / ed. by Peter Becker. — 2004. — Mar. 23. — Vol. 2, no. 5. — e131. — DOI: [10.1371/journal.pbio.0020131](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020131).
26. NMR Structure of Chaperone Chz1 Complexed with Histones H2A.Z-H2B [Tekct] / Z. Zhou, H. Feng, D. F. Hansen, H. Kato, E. Luk, D. I. Freedberg, L. E. Kay, C. Wu, Y. Bai // Nature Structural & Molecular Biology. — 2008. — Aug. — Vol. 15, no. 8. — P. 868—869. — DOI: [10.1038/nsmb.1465](https://doi.org/10.1038/nsmb.1465).
27. The Catalytic Subunit of the SWR1 Remodeler Is a Histone Chaperone for the H2A.Z-H2B Dimer [Tekct] / J. Hong, H. Feng, F. Wang, A. Ranjan, J. Chen, J. Jiang, R. Ghirlando, [et al.] // Molecular Cell. — 2014. — Feb. — Vol. 53, no. 3. — P. 498—505. — DOI: [10.1016/j.molcel.2014.01.010](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.01.010).
28. Molecular Basis and Specificity of H2A.Z–H2B Recognition and Deposition by the Histone Chaperone YL1 [Tekct] / C. M. Latrick, M. Marek, K. Ouararhni, C. Papin, I. Stoll, M. Ignatyeva, A. Obri, [et al.] // Nature Structural & Molecular Biology. — 2016. — Apr. — Vol. 23, no. 4. — P. 309—316. — DOI: [10.1038/nsmb.3189](https://doi.org/10.1038/nsmb.3189).

29. Anp32e, a Higher Eukaryotic Histone Chaperone Directs Preferential Recognition for H2A.Z [Tekct] / Z. Mao, L. Pan, W. Wang, J. Sun, S. Shan, Q. Dong, X. Liang, [et al.] // Cell Research. — 2014. — Apr. — Vol. 24, no. 4. — P. 389—399. — DOI: [10.1038/cr.2014.30](https://doi.org/10.1038/cr.2014.30).
30. Transient Kinetic Analysis of SWR1C-Catalyzed H2A.Z Deposition Unravels the Impact of Nucleosome Dynamics and the Asymmetry of Histone Exchange [Tekct] / R. K. Singh, J. Fan, N. Gioacchini, S. Watanabe, O. Bilsel, C. L. Peterson // Cell Reports. — 2019. — Apr. — Vol. 27, no. 2. — 374—386.e4. — DOI: [10.1016/j.celrep.2019.03.035](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.03.035).
31. Structure and Dynamics of the Yeast SWR1-Nucleosome Complex [Tekct] / O. Willhoft, M. Ghoneim, C.-L. Lin, E. Y. D. Chua, M. Wilkinson, Y. Chaban, R. Ayala, [et al.] // Science. — 2018. — Oct. 12. — Vol. 362, no. 6411. — eaat7716. — DOI: [10.1126/science.aat7716](https://doi.org/10.1126/science.aat7716).
32. H2A Histone-Fold and DNA Elements in Nucleosome Activate SWR1-Mediated H2A.Z Replacement in Budding Yeast [Tekct] / A. Ranjan, F. Wang, G. Mizuguchi, D. Wei, Y. Huang, C. Wu // eLife. — 2015. — June 27. — Vol. 4. — e06845. — DOI: [10.7554/elife.06845](https://doi.org/10.7554/elife.06845).
33. Role of a DEF/Y Motif in Histone H2A-H2B Recognition and Nucleosome Editing [Tekct] / Y. Huang, L. Sun, L. Pierrakeas, L. Dai, L. Pan, E. Luk, Z. Zhou // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2020. — Feb. 18. — Vol. 117, no. 7. — P. 3543—3550. — DOI: [10.1073/pnas.1914313117](https://doi.org/10.1073/pnas.1914313117).
34. *Dai, L.* NMR Investigations on H2A-H2B Heterodimer Dynamics Conferred by Histone Variant H2A.Z [Tekct] / L. Dai, N. Xu, Z. Zhou // Biochemical and Biophysical Research Communications. — 2019. — Oct. — Vol. 518, no. 4. — P. 752—758. — DOI: [10.1016/j.bbrc.2019.08.127](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.08.127).
35. Effects of Charge-Modifying Mutations in Histone H2A A3-Domain on Nucleosome Stability Assessed by Single-Pair FRET and MD Simulations [Tekct] / K. Lehmann, R. Zhang, N. Schwarz, A. Gansen, N. Mücke, J. Langowski, K. Toth // Scientific Reports. — 2017. — Dec. — Vol. 7, no. 1. — P. 13303. — DOI: [10.1038/s41598-017-13416-x](https://doi.org/10.1038/s41598-017-13416-x).

36. Structural Basis of H2A.Z Recognition by SRCAP Chromatin-Remodeling Subunit YL1 [Tekct] / X. Liang, S. Shan, L. Pan, J. Zhao, A. Ranjan, F. Wang, Z. Zhang, [et al.] // Nature Structural & Molecular Biology. — 2016. — Apr. — Vol. 23, no. 4. — P. 317—323. — DOI: [10.1038/nsmb.3190](https://doi.org/10.1038/nsmb.3190).
37. Structural Insights into Histone Chaperone Chz1-Mediated H2A.Z Recognition and Histone Replacement [Tekct] / Y. Wang, S. Liu, L. Sun, N. Xu, S. Shan, F. Wu, X. Liang, [et al.] // PLOS Biology / ed. by T. Misteli. — 2019. — May 20. — Vol. 17, no. 5. — e3000277. — DOI: [10.1371/journal.pbio.3000277](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000277).
38. *Rahman, A.* Correlations in the Motion of Atoms in Liquid Argon [Tekct] / A. Rahman // Physical Review. — 1964. — Oct. 19. — Vol. 136, 2A. — A405—A411. — DOI: [10.1103/PhysRev.136.A405](https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.A405).
39. Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water [Tekct] / W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L. Klein // The Journal of Chemical Physics. — 1983. — July 15. — Vol. 79, no. 2. — P. 926—935. — DOI: [10.1063/1.445869](https://doi.org/10.1063/1.445869).
40. GROMACS: High Performance Molecular Simulations through Multi-Level Parallelism from Laptops to Supercomputers [Tekct] / M. J. Abraham, T. Murtola, R. Schulz, S. Páll, J. C. Smith, B. Hess, E. Lindahl // SoftwareX. — 2015. — Sept. — Vol. 1/2. — P. 19—25. — DOI: [10.1016/j.softx.2015.06.001](https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001).
41. ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB [Tekct] / J. A. Maier, C. Martinez, K. Kasavajhala, L. Wickstrom, K. E. Hauser, C. Simmerling // Journal of Chemical Theory and Computation. — 2015. — Aug. 11. — Vol. 11, no. 8. — P. 3696—3713. — DOI: [10.1021/acs.jctc.5b00255](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00255).
42. Parmbsc1: A Refined Force Field for DNA Simulations [Tekct] / I. Ivani, P. D. Dans, A. Noy, A. Pérez, I. Faustino, A. Hospital, J. Walther, [et al.] // Nature Methods. — 2016. — Jan. — Vol. 13, no. 1. — P. 55—58. — DOI: [10.1038/nmeth.3658](https://doi.org/10.1038/nmeth.3658).
43. *Yoo, J.* New Tricks for Old Dogs: Improving the Accuracy of Biomolecular Force Fields by Pair-Specific Corrections to Non-Bonded Interactions [Tekct] / J. Yoo, A. Aksimentiev // Physical Chemistry Chemical Physics. — 2018. — Vol. 20, no. 13. — P. 8432—8449. — DOI: [10.1039/C7CP08185E](https://doi.org/10.1039/C7CP08185E).

44. Supercomputer Lomonosov-2: Large Scale, Deep Monitoring and Fine Analytics for the User Community [Текст] / V. V. Voevodin, A. S. Antonov, D. A. Nikitenko, P. A. Shvets, S. I. Sobolev, I. Y. Sidorov, K. S. Stefanov, V. V. Voevodin, S. A. Zhumat // Supercomputing Frontiers and Innovations. — 2019. — Июнь. — Т. 6, № 2. — DOI: [10.14529/jsfi190201](https://doi.org/10.14529/jsfi190201).
45. *Bussi, G.* Canonical Sampling through Velocity Rescaling [Текст] / G. Bussi, D. Donadio, M. Parrinello // The Journal of Chemical Physics. — 2007. — Jan. 7. — Vol. 126, no. 1. — P. 014101. — DOI: [10.1063/1.2408420](https://doi.org/10.1063/1.2408420).
46. *Parrinello, M.* Polymorphic Transitions in Single Crystals: A New Molecular Dynamics Method [Текст] / M. Parrinello, A. Rahman // Journal of Applied Physics. — 1981. — Dec. — Vol. 52, no. 12. — P. 7182—7190. — DOI: [10.1063/1.328693](https://doi.org/10.1063/1.328693).
47. Tackling Exascale Software Challenges in Molecular Dynamics Simulations with GROMACS [Текст] / S. Páll, M. J. Abraham, C. Kutzner, B. Hess, E. Lindahl // Solving Software Challenges for Exascale. Т. 8759 / под ред. S. Markidis, E. Laure. — Cham : Springer International Publishing, 2015. — С. 3—27. — (Lecture Notes in Computer Science). — ISBN 978-3-319-15975-1 978-3-319-15976-8. — DOI: [10.1007/978-3-319-15976-8_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-15976-8_1).
48. MDAnalysis: A Toolkit for the Analysis of Molecular Dynamics Simulations [Текст] / N. Michaud-Agrawal, E. J. Denning, T. B. Woolf, O. Beckstein // Journal of Computational Chemistry. — 2011. — July 30. — Vol. 32, no. 10. — P. 2319—2327. — DOI: [10.1002/jcc.21787](https://doi.org/10.1002/jcc.21787).
49. *Humphrey, W.* VMD: Visual Molecular Dynamics [Текст] / W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten // Journal of Molecular Graphics. — 1996. — Feb. — Vol. 14, no. 1. — P. 33—38. — DOI: [10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5).
50. *Lu, X.-J.* 3DNA: A Software Package for the Analysis, Rebuilding and Visualization of Three-Dimensional Nucleic Acid Structures [Текст] / X.-J. Lu // Nucleic Acids Research. — 2003. — Sept. 1. — Vol. 31, no. 17. — P. 5108—5121. — DOI: [10.1093/nar/gkg680](https://doi.org/10.1093/nar/gkg680).
51. Coupling between Histone Conformations and DNA Geometry in Nucleosomes on a Microsecond Timescale: Atomistic Insights into Nucleosome Functions [Текст] / A. K. Shaytan, G. A. Armeev, A. Gonçarenc, V. B. Zhurkin,

- D. Landsman, A. R. Panchenko // Journal of Molecular Biology. — 2016. — Jan. — Vol. 428, no. 1. — P. 221—237. — DOI: [10.1016/j.jmb.2015.12.004](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.12.004).
52. Structural Basis of Nucleosome Dynamics Modulation by Histone Variants H2A.B and H2A.Z.2.2 [Tekct] / M. Zhou, L. Dai, C. Li, L. Shi, Y. Huang, Z. Guo, F. Wu, P. Zhu, Z. Zhou // The EMBO Journal. — 2021. — Jan. 4. — Vol. 40, no. 1. — DOI: [10.15252/embj.2020105907](https://doi.org/10.15252/embj.2020105907).
53. Linking Chromatin Composition and Structural Dynamics at the Nucleosome Level [Tekct] / G. A. Armeev, A. K. Gribkova, I. Pospelova, G. A. Komarova, A. K. Shaytan // Current Opinion in Structural Biology. — 2019. — June. — Vol. 56. — P. 46—55. — DOI: [10.1016/j.sbi.2018.11.006](https://doi.org/10.1016/j.sbi.2018.11.006).
54. *Bowman, G. D.* Remodeling the Genome with DNA Twists [Tekct] / G. D. Bowman, S. Deindl // Science (New York, N.Y.) — 2019. — Oct. 4. — Vol. 366, no. 6461. — P. 35—36. — DOI: [10.1126/science.aay4317](https://doi.org/10.1126/science.aay4317). — pmid: [31604293](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31604293/).
55. *Mitternacht, S.* FreeSASA: An Open Source C Library for Solvent Accessible Surface Area Calculations [Tekct] / S. Mitternacht // F1000Research. — 2016. — Feb. 18. — Vol. 5. — P. 189. — DOI: [10.12688/f1000research.7931.1](https://doi.org/10.12688/f1000research.7931.1).
56. *Kabsch, W.* Dictionary of Protein Secondary Structure: Pattern Recognition of Hydrogen-Bonded and Geometrical Features [Tekct] / W. Kabsch, C. Sander // Biopolymers. — 1983. — Dec. — Vol. 22, no. 12. — P. 2577—2637. — DOI: [10.1002/bip.360221211](https://doi.org/10.1002/bip.360221211). — pmid: [6667333](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6667333/).
57. *Nodelman, I. M.* Biophysics of Chromatin Remodeling [Tekct] / I. M. Nodelman, G. D. Bowman // Annual Review of Biophysics. — 2021. — May 6. — Vol. 50, no. 1. — annurev-biophys-082520—080201. — DOI: [10.1146/annurev-biophys-082520-080201](https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-082520-080201).
58. Molecular Mechanisms of Oncogenesis through the Lens of Nucleosomes and Histones [Tekct] / D. Espiritu, A. K. Gribkova, S. Gupta, A. K. Shaytan, A. R. Panchenko // The Journal of Physical Chemistry B. — 2021. — Apr. 29. — Vol. 125, no. 16. — P. 3963—3976. — DOI: [10.1021/acs.jpcb.1c00694](https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.1c00694).

59. Князева, А. С. Исследование функционально-значимых конформационных изменений в белковых молекулах методами термодинамического интегрирования и метадинамики [Текст] / А. С. Князева // Выпускная квалификационная работа бакалавра. — 2019.

Список рисунков

1.1 Структура нуклеосомы	8
1.2 Схема процесса ремоделирования хроматина комплексом SWR1 с описанием стадий.	14
1.3 Структура комплекса SWR1 с нуклеосомой.	16
1.4 Обобщение экспериментальных данных об отличиях H2A и H2A.Z при взаимодействии с шаперонами и ремоделером SWR1.	18
 2.1 Внешний вид расчетной ячейки, в которой моделировалась нуклеосомная коровья частица.	 20
 3.1 Наложение кадров молекулярной динамики систем нуклеосомных коровьих частиц с каноническим H2A и варианты H2A.Z гистонами.	 23
3.2 Динамика откручивания ДНК в траекториях нуклеосомных коровьих частиц с каноническими гистонами и с вариантом H2A.Z. .	25
3.3 Ключевые контакты между ДНК и гистонами и их участие в откручивании ДНК.	26
3.4 Формирование дефектов кручения ДНК в сайте SHL -5,5 при молекулярной динамике нуклеосомных коровьих частиц.	29
3.5 Молекулярная динамика димеров гистонов H2A(.Z)/H2B.	31
3.6 Подвижность α 2 спирали гистонов H2A/H2A.Z в ходе молекулярной динамики нуклеосомных коровьих частиц.	33
3.7 Динамика α 2 спиралей гистонов H2A/H2A.Z и H2B в ходе молекулярной динамики нуклеосомных коровьих частиц.	35
3.8 Связь пластичности α -2 спирали гистонов H2A(.Z) с ее первичной структурой.	37
3.9 Динамика α C спиралей гистонов H2A/H2A.Z в ходе молекулярной динамики нуклеосомных коровьих частиц.	38
 A.1 Последовательности аминокислот коровьих гистонов и 601 ДНК. . .	 59
A.2 Ключевые контакты между ДНК и гистонами на структуре нуклеосомы.	60
A.3 Динамика появления дефектов кручения ДНК ходе молекулярной динамики нуклеосомных коровьих частиц.	61

A.4	Доступная растворителю поверхность азотов и водородов пептидной связи гистонов H2A и H2B и сравнение с ЯМР-экспериментами.	62
A.5	Доступная растворителю поверхность гистонов H2A и H2B в ходе молекулярной динамики нуклеосомных коровых частиц.	63
A.6	Подвижность C- α атомов гистоно H2A/H2A.Z в ходе молекулярной динамики димеров H2A/H2B(.Z).	64

Список таблиц

1	Описание моделируемых систем нуклеосомных коровых частиц (НКЧ) и параметры	65
2	Описание моделируемых систем димеров и параметры	66

Приложение А

Рисунки и таблицы

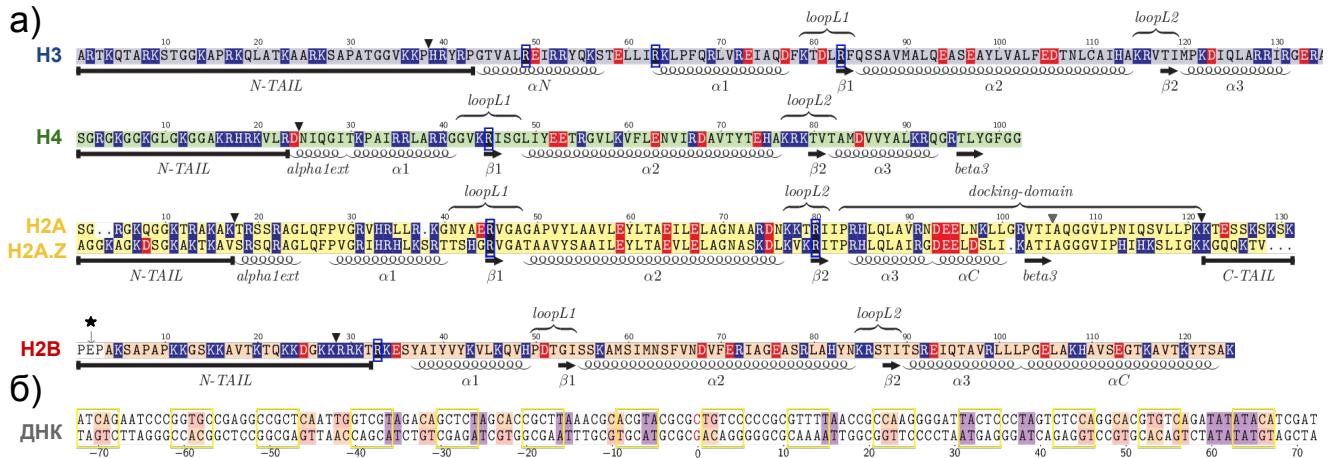


Рисунок А.1 — а) Последовательности аминокислот коровых гистонов (четырех канонических и вариантного H2A.Z, представленный в виде выравнивания с каноническим H2A) с указанием положений элементов вторичной структуры (α -спирали, β -слои, петли, подвижные гистоновые хвосты и т.д.). Сайты укорачивания подвижных хвостов показаны символом \blacktriangledown (для димеров и полноазмерных нуклеосом сайты совпадали, кроме С-конца H2A - в системах с димером его сайт укорачивания отмечен серым \blacktriangledown). Положительно и отрицательно заряженые остатки окрашены в синий и красный цвет соответственно. Ключевые аргинины, формирующие контакты с малой бороздкой ДНК, отмечены ярко-синей рамкой. Первые три остатка гистона H2B, отмеченные звездой, отсутствуют в рекомбинантной версии белка и, соответственно, в кристаллической структуре. **б)** Показана последовательность нуклеотидов молекулы 601 ДНК. Красным цветом отмечено положение диады в структуре нуклеосомы; желтые рамки показывают участки ДНК, ориентированные малой бороздкой в сторону от камера в структуре нуклеосомы; примидин-пуриновые динуклеостиды отмечены цветом (ТА - фиолетовый, СА - абрикосовый, ТГ - розовый).

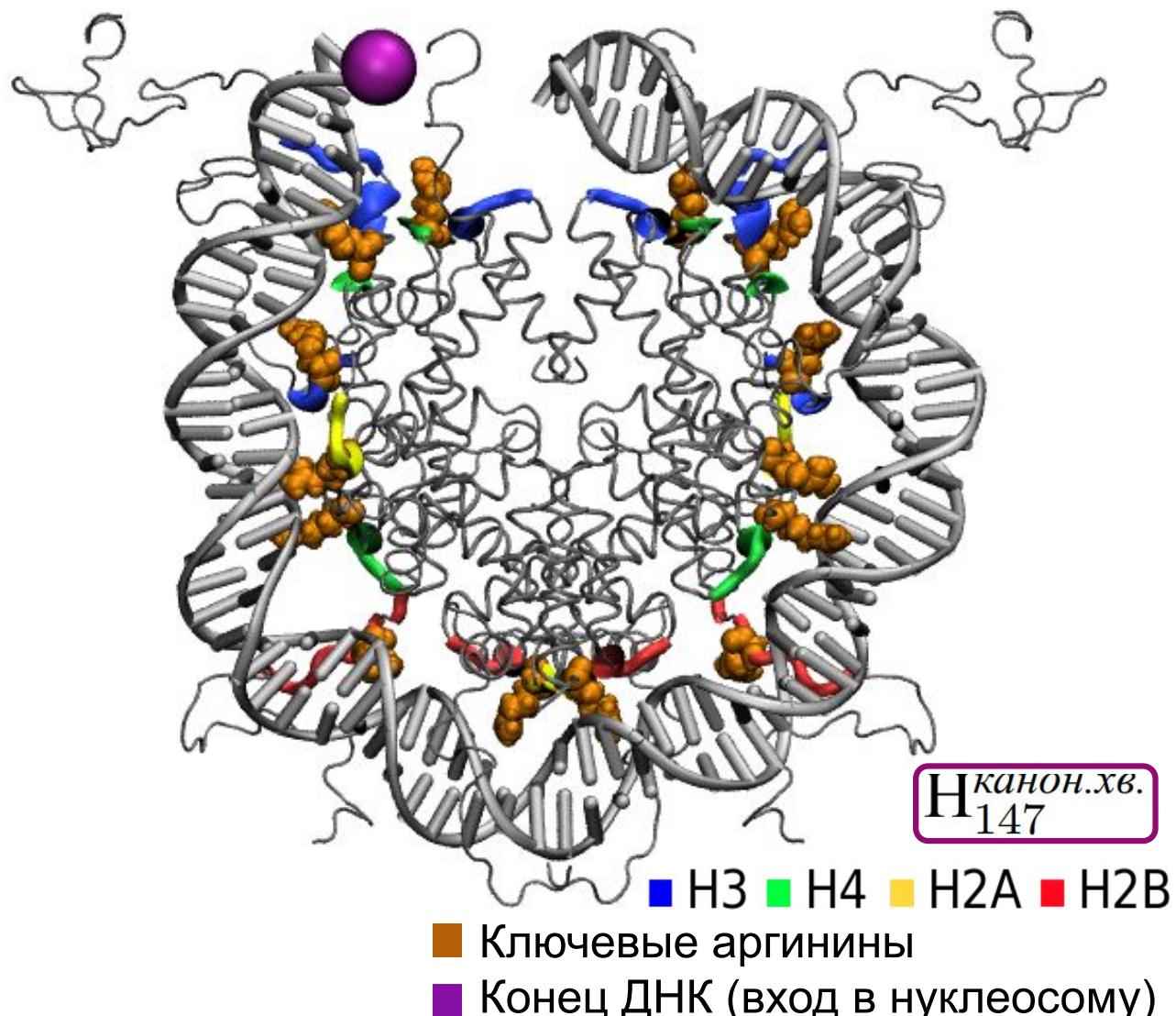
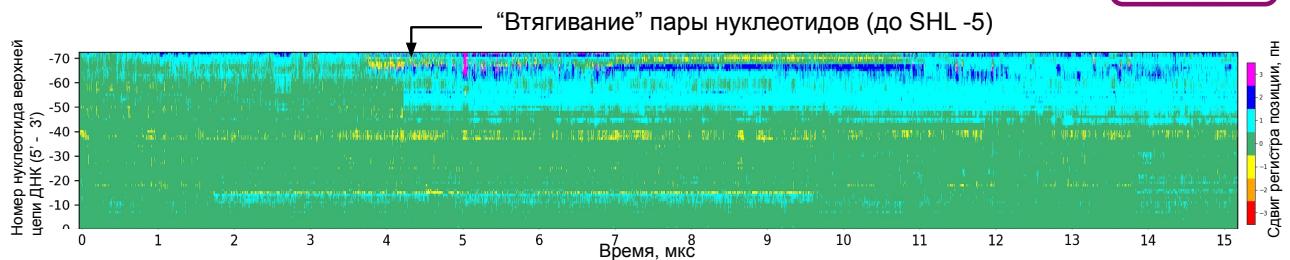


Рисунок А.2 — Ключевые контакты между ДНК и гистонами, показанные на структуре нуклеосомы (выделены цветами в соответствии с типом гистона). Показана половина молекулы ДНК (проксимальный конец) и 14 ключевых аргининов, взаимодействующих с малой бороздкой ДНК.

а) Каноническая нуклеосома

$H_{145}^{\text{канон.}}$



б) Вариантная нуклеосома

$H_{145}^{\text{вар.}}$

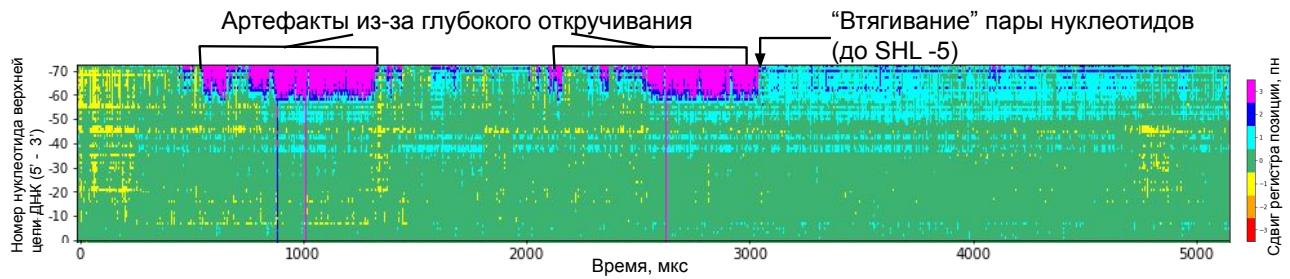


Рисунок А.3 — Динамика появления дефектов кручения ДНК показана в виде тепловых карт смещений позиций нуклеотидов проксимального конца верхней цепи ДНК в ходе молекулярной динамики нуклеосомных коровых частиц. Стрелками показан момент времени, начиная с которого участок ДНК от -72 до -50 сдвинулся на одну пару нуклеотидов в сторону диады.

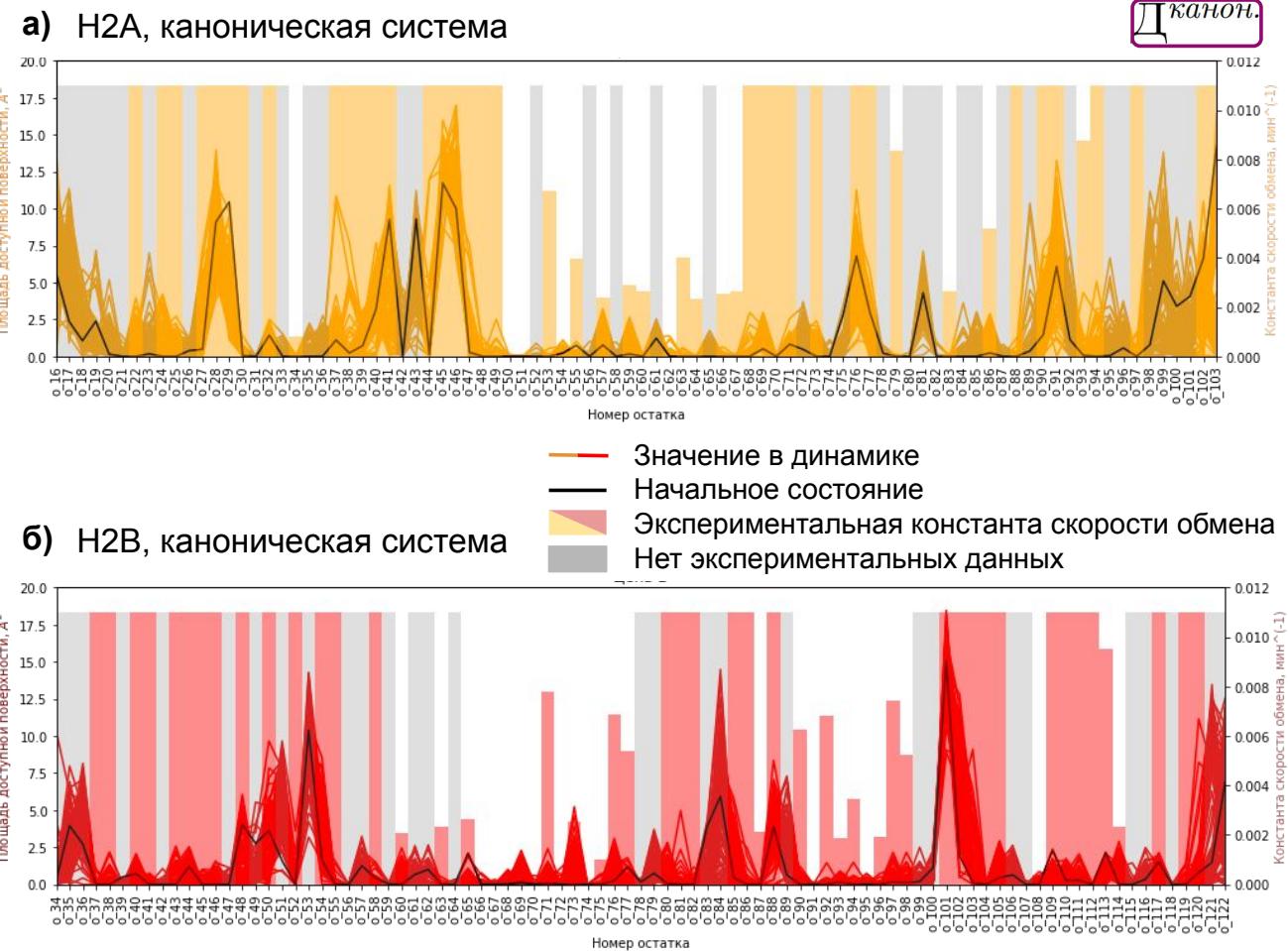


Рисунок А.4 — Профили доступной растворителю поверхности азотов и водородов пептидной связи вдоль последовательности аминокислот гистонов H2A и H2B. Показана эволюция профилей в ходе молекулярной динамики димеров H2A(.Z)/H2B в виде наложения профилей, исходный профиль выделен черным. Полупрозрачные столбцы соответствуют экспериментальным данным о скорости дейтеро-водородного обмена [34].

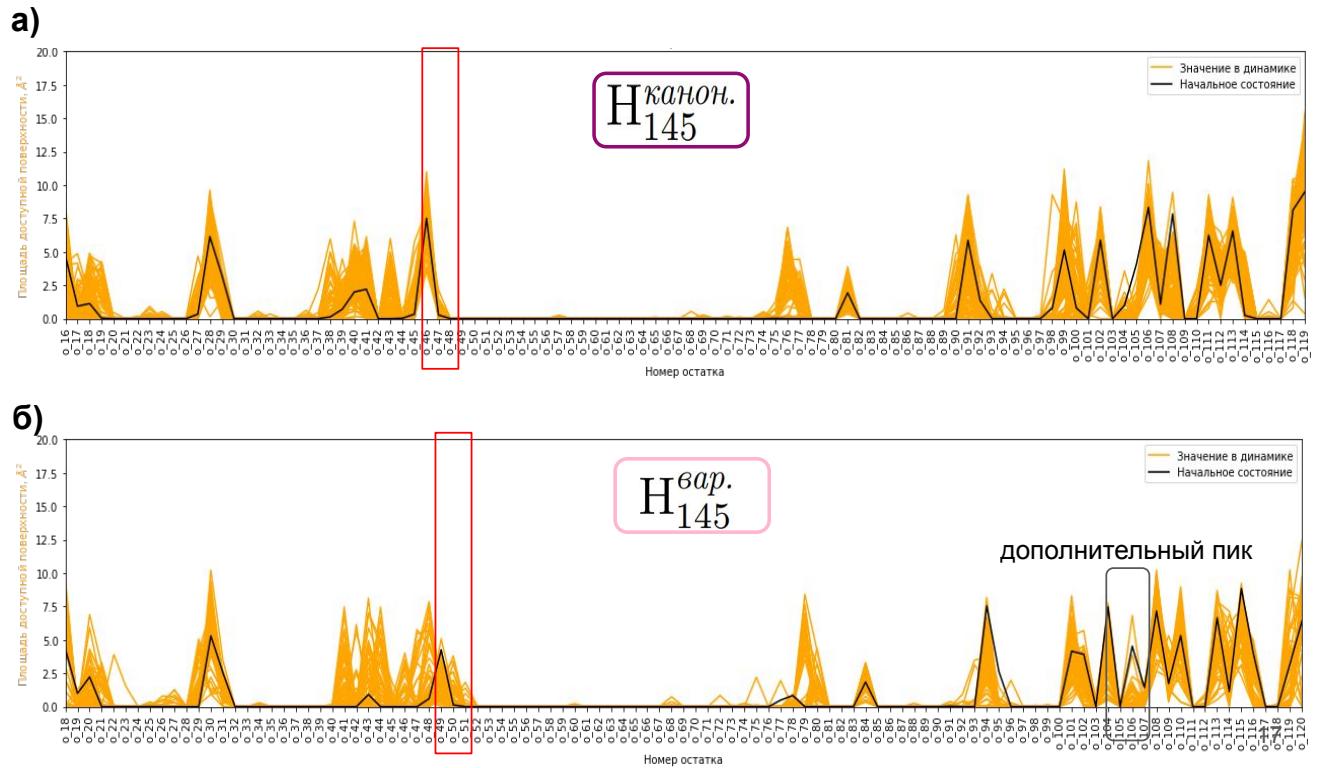


Рисунок А.5 — Профили доступной растворителю поверхности азотов и водородов пептидной связи вдоль последовательности аминокислот гистонов H2A и H2A/Z в составе нуклеосомальных коровых частиц. Показана эволюция профилей в ходе молекулярной динамики нуклеосом в виде наложения профилей, исходный профиль выделен черным. Красная рамка выделяет область, которая является критической для узнавания канонических нуклеосом ремоделером ([32]).

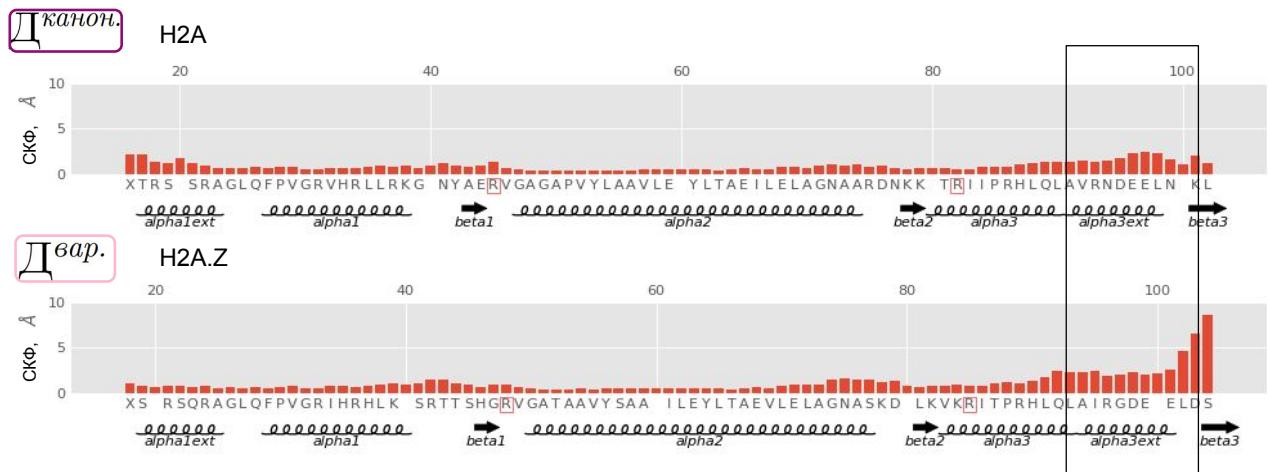


Рисунок А.6 — Среднеквадратичные флюктуации (СКФ) С- α атомов гистонов H2A/H2A.Z в ходе динамики димеров H2A/H2B(.Z) вдоль последовательности аминокислот.

Таблица 1 — Описание моделируемых систем нуклеосомных коровых частиц (НКЧ) и параметры

Название	PDB ID ^a	Описание	Размер ячейки, нм ³	Число атомов	Число молекул воды	Число ионов, Na/Cl	Ионная сила (относительно количества воды), мМ	Ионная сила (относительно размера ячейки), мМ	Объемная ионная сила ^b , мМ	Миним. расстояние между периодическими проекциями, нм	Время, мкс
H ^{канон.} ₁₄₅	3LZ0	канон. гистоны, 145 пн 601 ДНК, укороч. гист. хвосты ^c	2817	283K	87K	459/237	151	139	168	3,546	15,5
H ^{вариант.} ₁₄₅	1F66 + 3LZ0	вариант. гистоны H2A.Z, 145 пн 601 ДНК, укороч. гист. хвосты ^c	2820	283K	87K	461/237	151	139	170	3,165	5,7
H ^{канон.хв.} ₁₄₇	1KX5	канон. гистоны, 147 пн α -сат. ДНК, полноразмерные гист. хвосты	2658	267K	81K	363/219	150	136	172	2.089	15

^a В основе моделируемых систем лежали структуры из базы данных белков PDB.

^b Рассчитано по числу молекул воды вдали более чем на 1 нм от поверхности нуклеосомы.

^c Сайты укорачивания хвостов показаны на рисунке A.1.

Таблица 2 — Описание моделируемых систем димеров и параметры

Название	PDB ID ^a	Описание	Размер ячейки, нм ³	Число атомов	Число молекул воды	Число ионов, Na/Cl	Ионная сила (относительно количества воды), мМ	Ионная сила (относительно размера ячейки), мМ	Объемная ионная сила ^b , мМ	Миним. расстояние между периодическими проекциями, нм	Время, мкс
Д ^{канон.}	3LZ0	Димер канонических гистонов H2A/H2B, укороченные гистоновые хвосты ^c	860	86K	28K	75/87	175	167	166	4.11	1.1
Д ^{вар.}	1F66	Димер H2B с вариантным гистоном H2A.Z, укороченные гистоновые хвосты ^c	877	87K	28K	76/87	172	164	163	4.107	0.52

^a В основе моделируемых систем лежали структуры из базы данных белков PDB.

^b Рассчитано по числу молекул воды вдали более чем на 1 нм от поверхности нуклеосомы.

^c Сайты укорачивания хвостов показаны на рисунке A.1.