

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова
Биологический факультет
Программа “Геномика и здоровье человека”

Солоколизация посттрансляционных модификаций гистонов человека: анализ аннотации геномов и моделирование влияния множественных модификаций на структуру нуклеосом

Выпускная квалификационная работа магистра
Шаряфетдиновой Александры Сергеевны

Лаборатория интегративной
биологии кафедры биоинженерии
биологического факультета МГУ

Научные руководители:
канд. физ.-мат. наук,
вед. научн. сотр. кафедры биоинженерии
Армеев Григорий Алексеевич,
асп. четвертого г.о. кафедры биоинженерии
Федулова Анастасия Сергеевна

Москва
2025

Эпигенетическая регуляция хроматина

Хроматин = нуклеиновые кислоты + белки

Нуклеосома = гистоновый октамер (H3, H4, H2A, H2B)

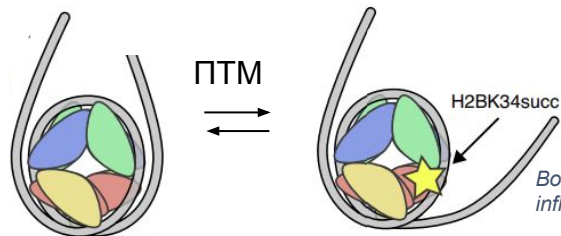
+ ~146 п.о. ДНК

Гистон = коровая часть и неупорядоченная (гистоновый хвост)

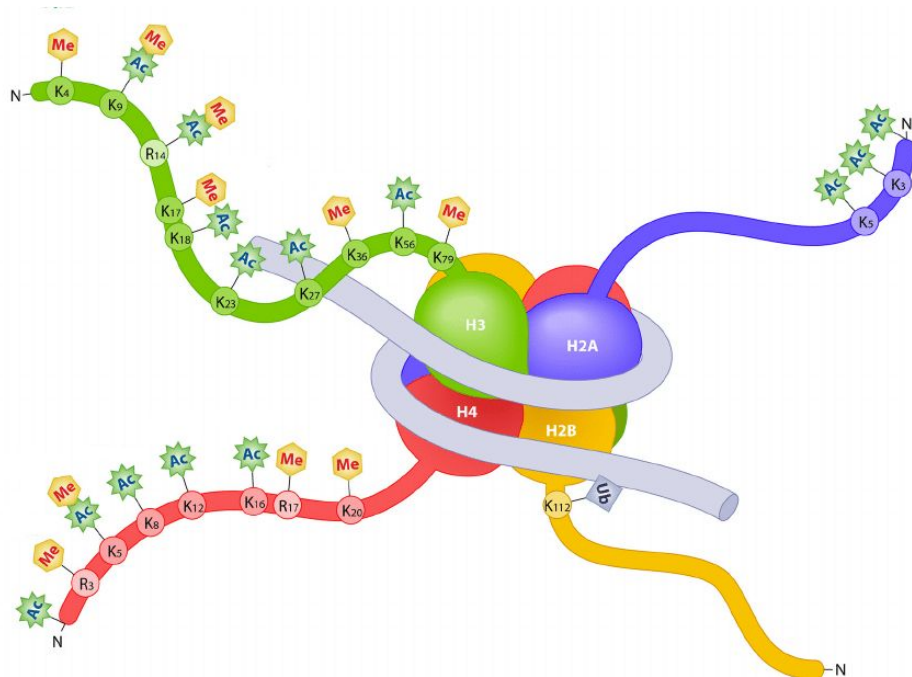
Посттрансляционные модификации (ПТМ)

Основные функции гистоновых ПТМ:

- регуляция экспрессии генов
- "химические маркеры", привлекающие белки хроматина
- "откручивание" ДНК от гистонового ядра (стабильность нуклеосомы)



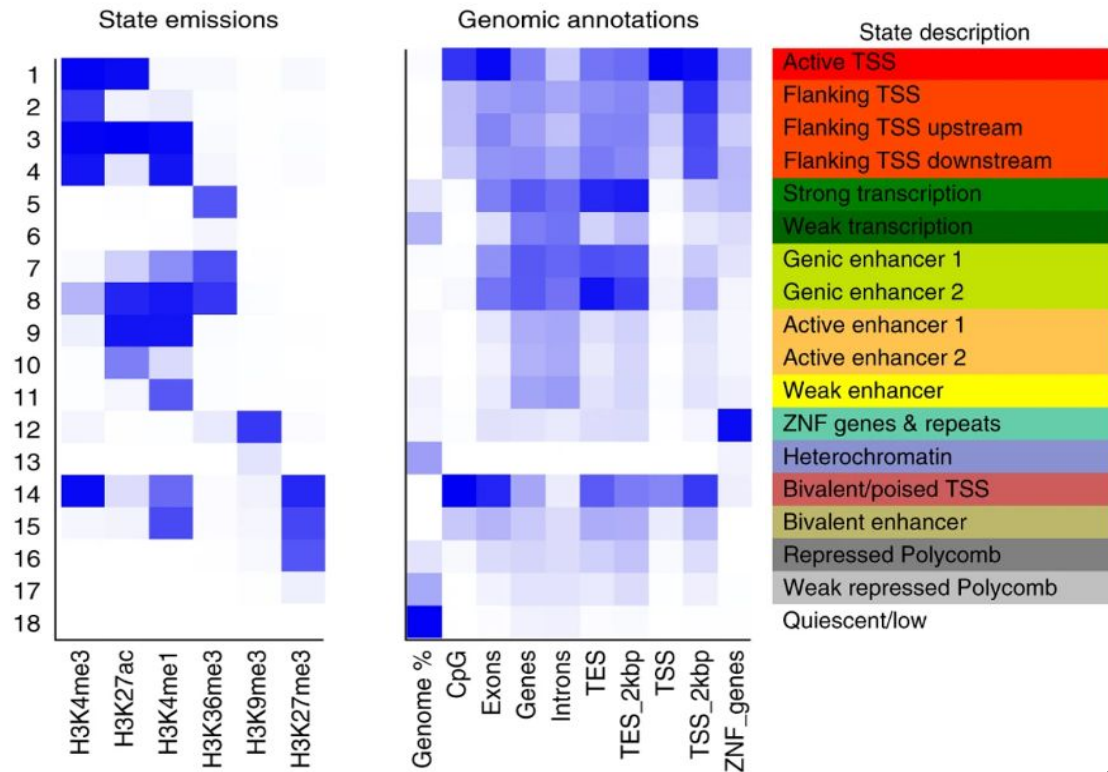
Bowman G. D. et al., Post-translational modifications of histones that influence nucleosome dynamics, 2015



Cui L, Miao J. Chromatin-mediated epigenetic regulation in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*, *Eukaryot Cell.*, 2010

Комбинации ПТМ, аннотация хроматина, ChromHMM

Комбинации ПТМ -> эпигенетические состояния хроматина (аннотация хроматина)



- Основан на Марковских моделях
- Было аннотировано 18 состояний хроматина на основе комбинаций из **6** ПТМ (H3K4me1, H3K4me3, H3K27me3, H3K27ac, H3K36me3, and H3K9me3)
- Культура - IMR90 (фибробласты)
- Широко применяется для аннотации генома человека

Цель работы – исследовать эпигенетические состояния хроматина на основе анализа соллоколизации посттрансляционных модификаций и оценить применимость подхода для решения задач биоинженерии. При помощи анализа ковстречаемости ПТМ и молекулярного моделирования выявить влияние множественных модификаций на структуру нуклеосом.

Задачи:

1. Используя функциональную разметку генома человека (ChromHMM), определить геномные локусы, подходящие для задач инженерной биологии (активации/репрессии генов с помощью системы CRISPR-Cas)
2. На основе анализа ковстречаемости ПТМ выделить комбинации модификаций, совместно встречающихся в геномных локусах
3. Провести сравнительный анализ структуры и динамики нуклеосом, содержащих комбинации различных ПТМ, методами молекулярного моделирования

Методы

1 часть

Набор данных NCBI (белок-кодирующие гены)



разметка генома на промоторные области и тела генов



классификация генов исходя из разметки ChromHMM

набор данных экспрессий генов



Гены с сильной экспрессией



Гены для задачи репрессии



Гены со слабой экспрессией



Гены для задачи активации

2 часть

Набор данных ChIP-seq с ПТМ из базы данных ENCODE (культура H1)



Анализ костречаемости, построение тепловых карт



Выделение комбинаций ПТМ



Проведение моделирования (МД)

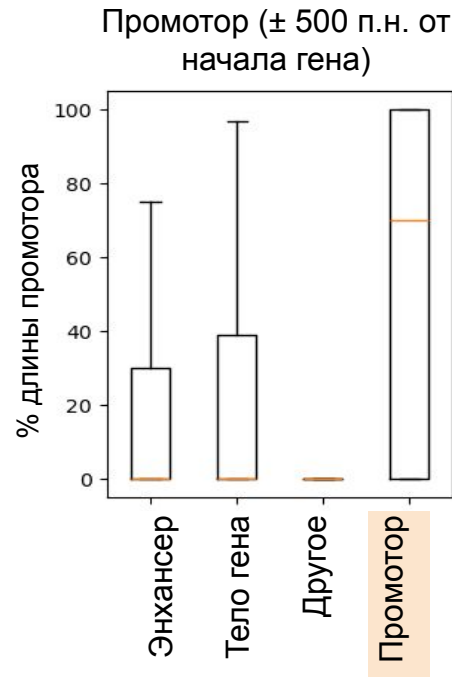
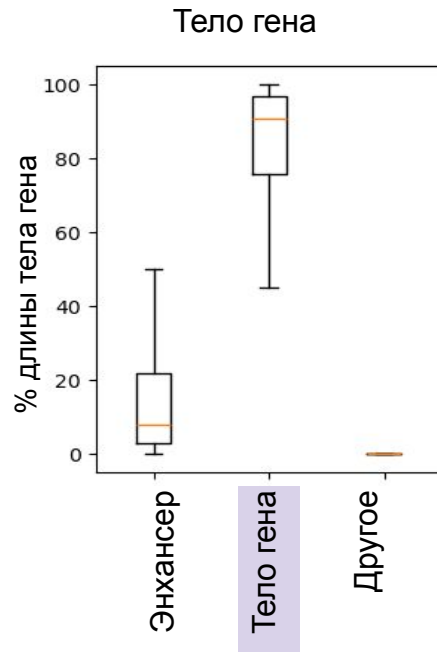
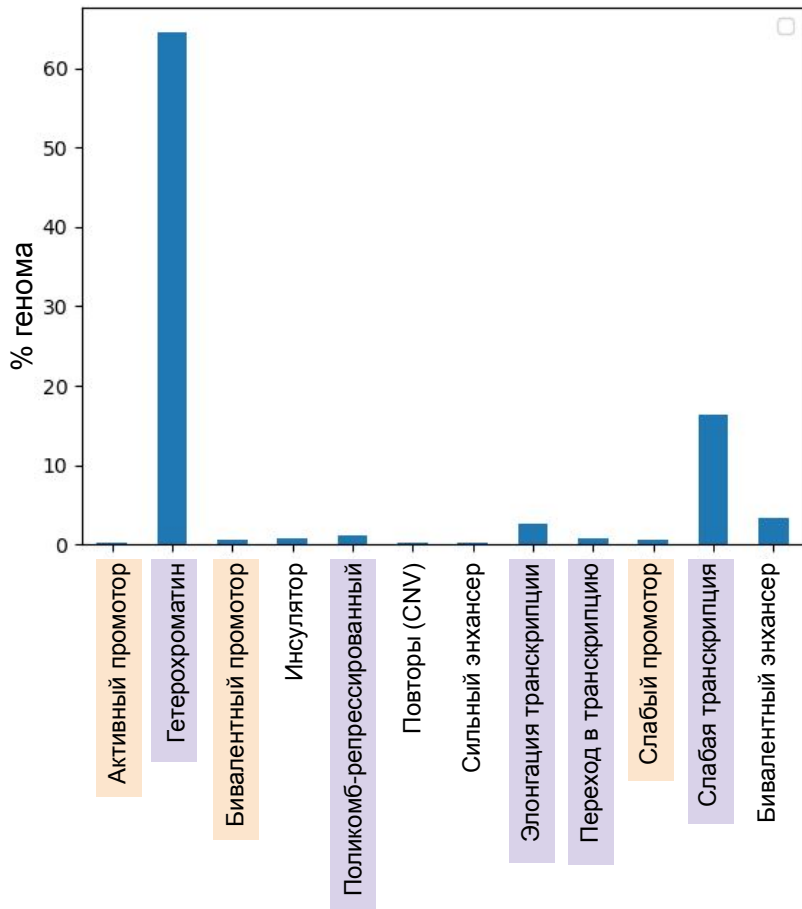


Сравнение характеристик из МД

В поле AMBER19SB + OL21, 150 mM NaCl, OPC

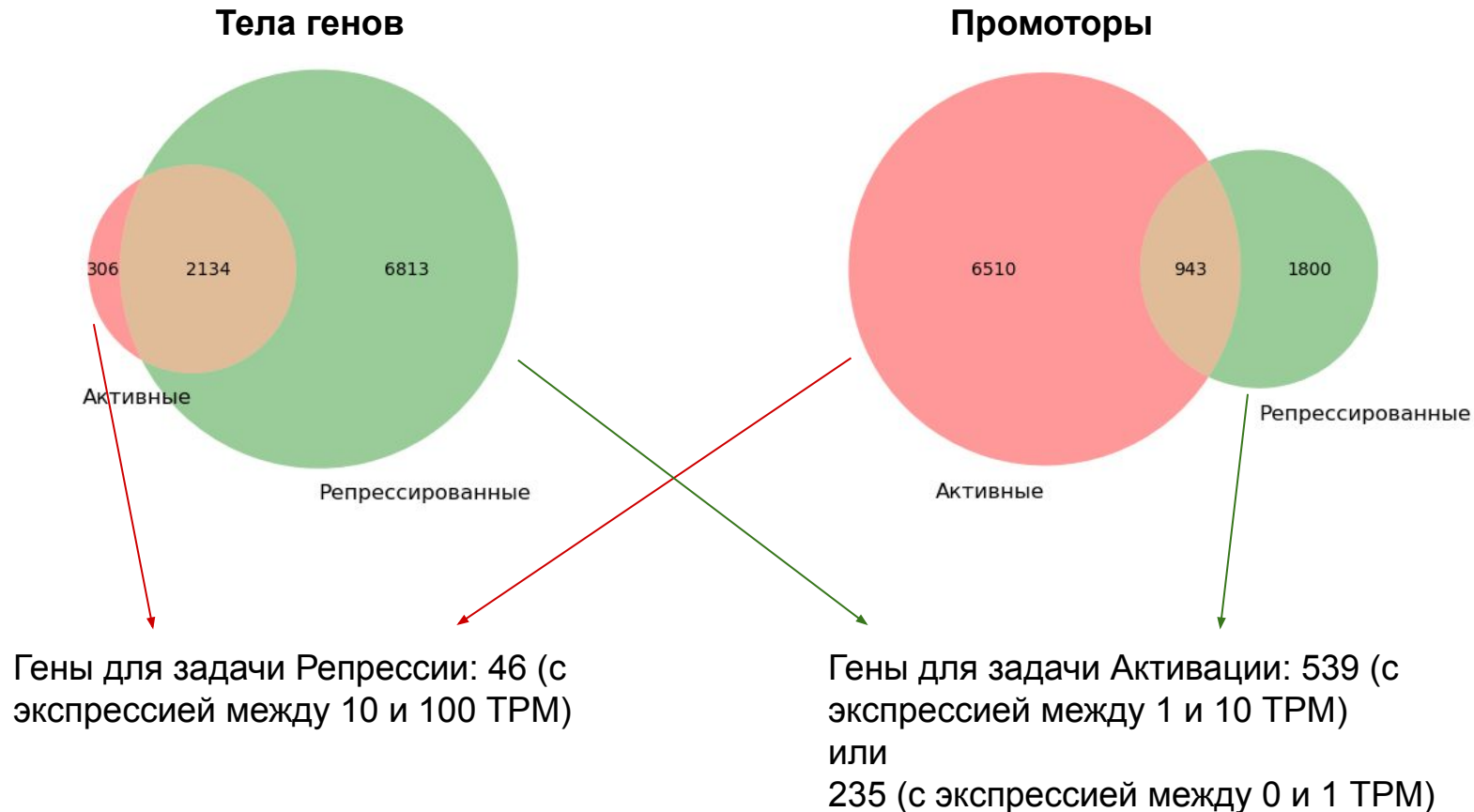
- RMSF хвостов и гистонового ядра (альфа-спиралей и петель);
- среднее количество контактов ДНК-хвост;
- пластичность нуклеосомы

1. Анализ разметки генома человека ChromHMM

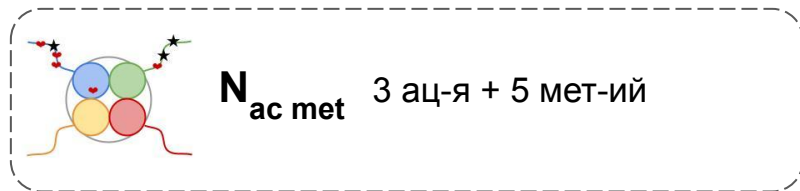
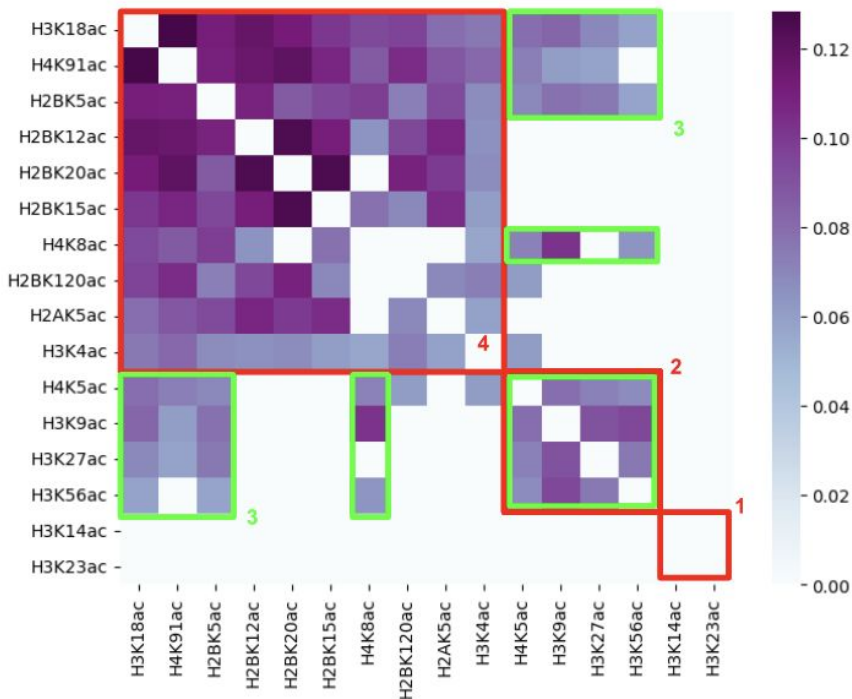


Вывод: ChromHMM на культуре H1 работает адекватно

1. Анализ разметки генома человека ChromHMM



2. Выделение комбинаций модификаций гистонов



★ ацетилирование
♥ метилирование

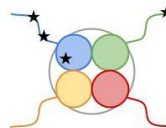
1 **N_{rare ac}**

2 ац-я



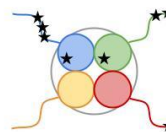
2 **N_{H3 grouped ac}**

4 ац-я



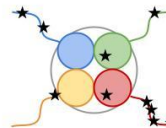
3 **N_{H3-H4 grouped ac}**

8 ац-й



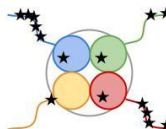
4 **N_{H2B grouped ac}**

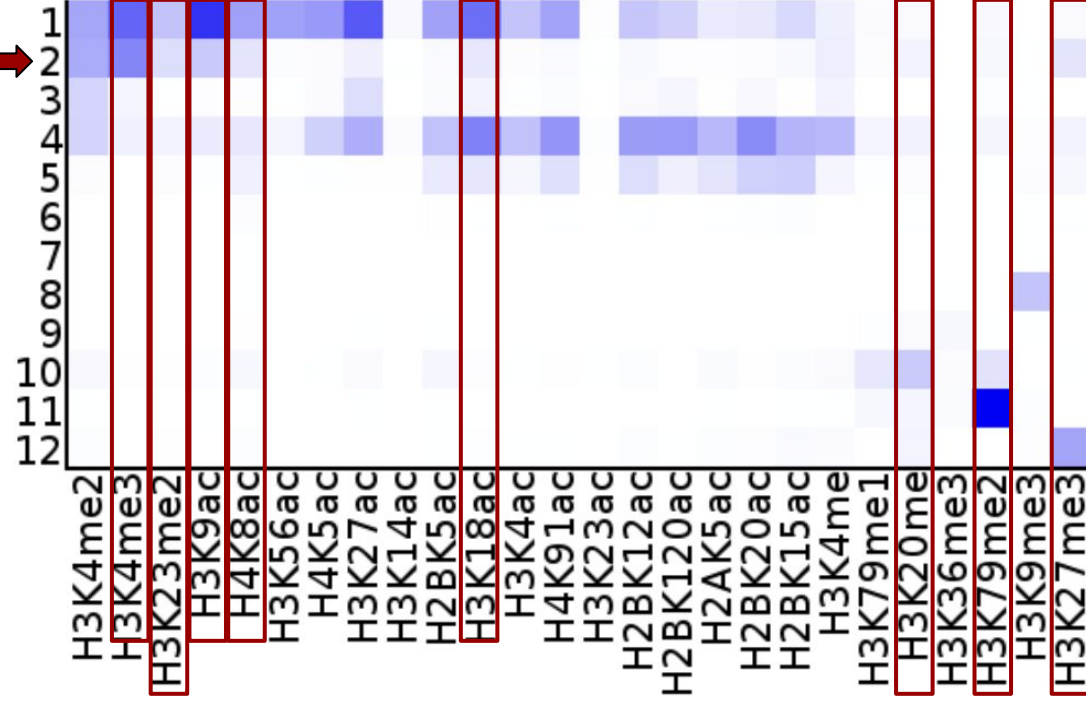
10 ац-ий



N_{all ac}

16 ац-ий



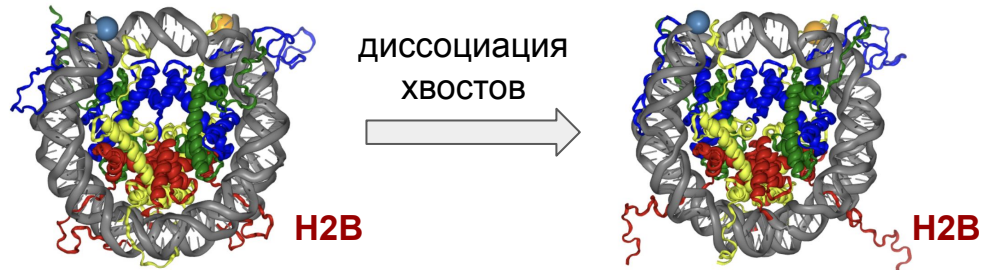
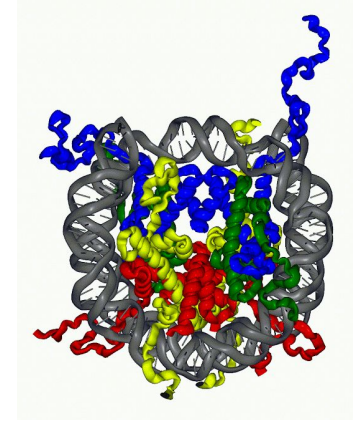
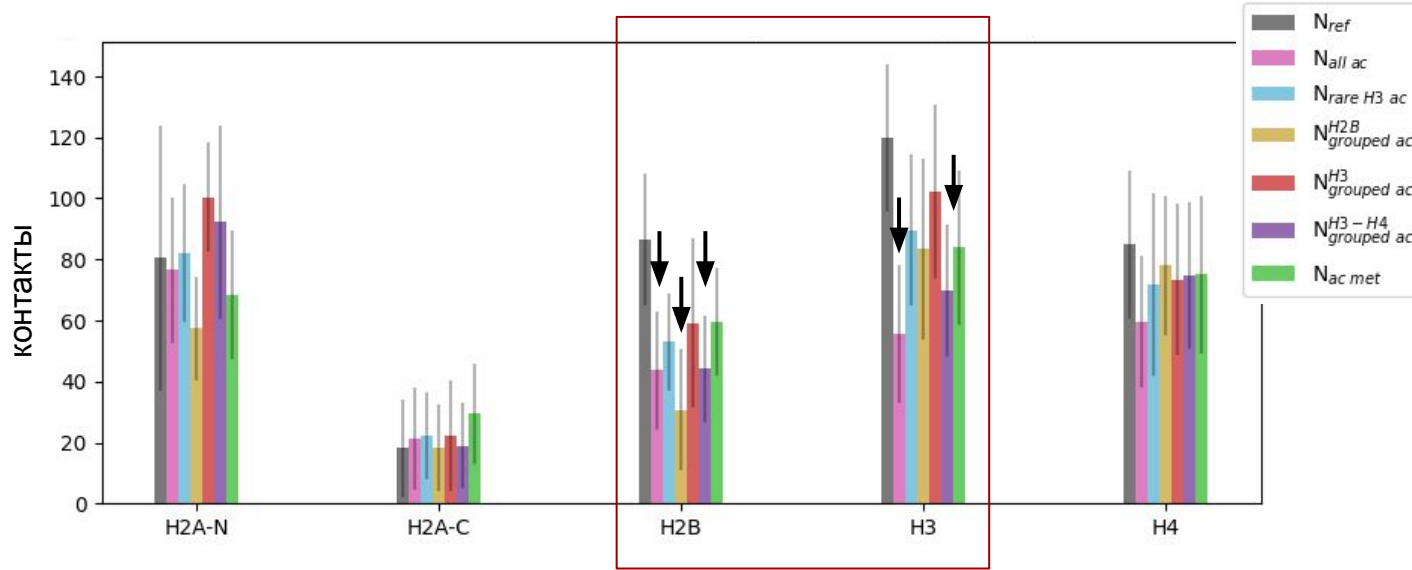


Проведение МД

N_{rare ac}	1 мкс, 2 повторности
N_{H3 grouped ac}	1 мкс, 2 повторности
N_{H3-H4 grouped ac}	1 мкс, 2 повторности
N_{H2B grouped ac}	1 мкс, 2 повторности
N_{all ac}	1 мкс, 2 повторности
N_{ac met}	0.7 мкс, 2 повторности

Вебсайт: http://intbio.org/2025_PTMT_colocalization.io/

2. Анализ структуры и динамики нуклеосом



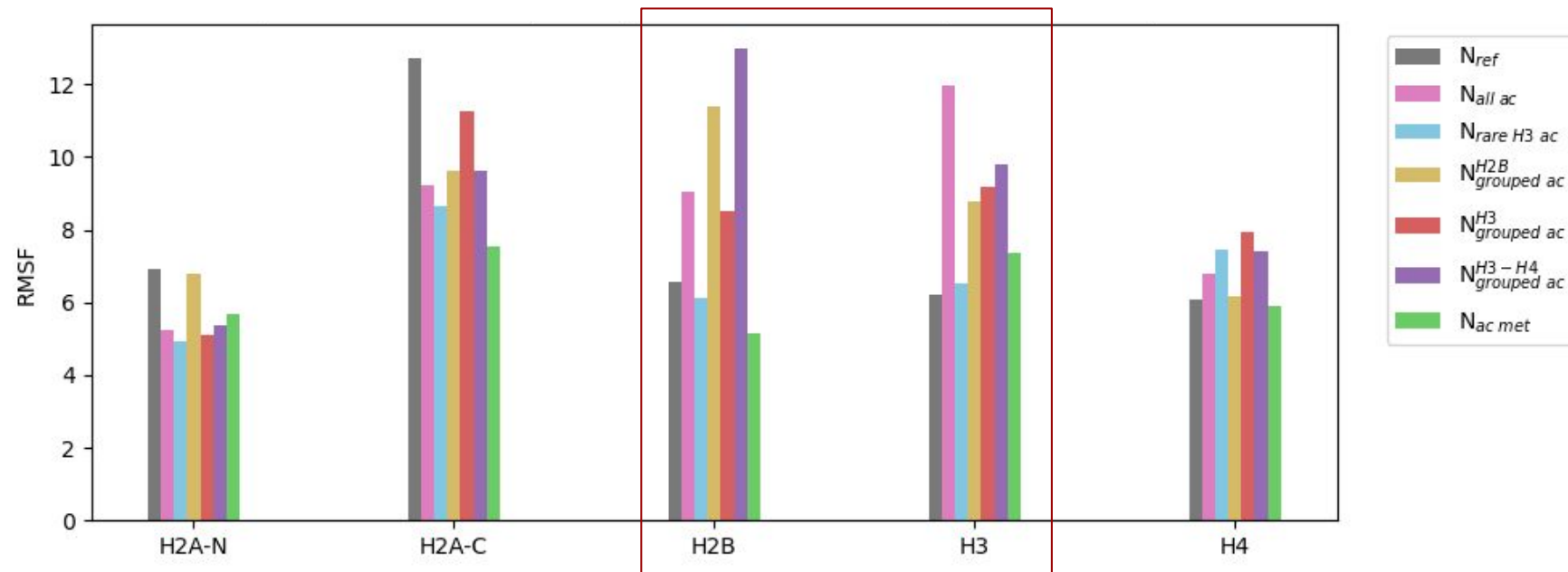
Ацетилирование хвостов

Диссоциация хвостов

ДНК открывается для
посадки факторов

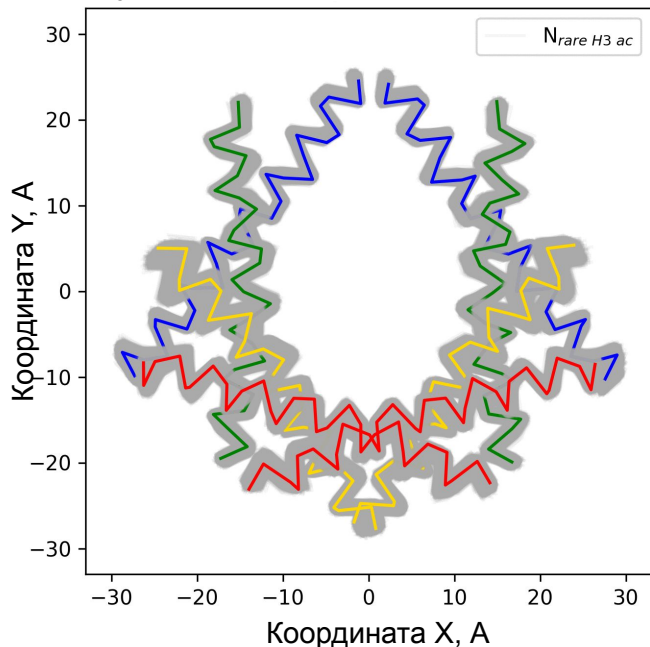
2. Анализ структуры и динамики нуклеосом

Среднее RMSF гистоновых хвостов

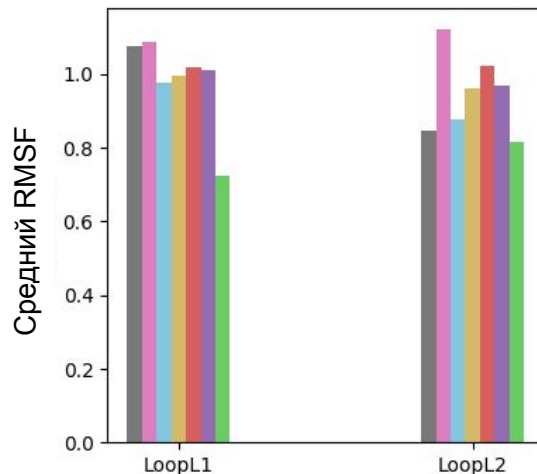


2. Анализ структуры и динамики нуклеосом

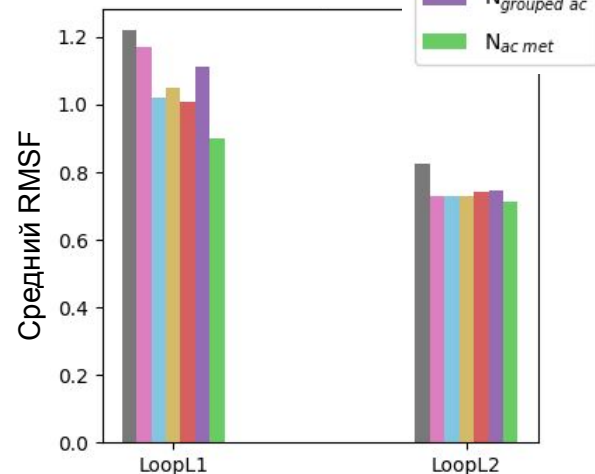
Пластичность ядра
нуклеосомы (α 2-спиралей)



Среднее RMSF гистоновых петель
гистонов H2B и H3



H3



Изменяется динамика глобулярной части нуклеосомы => изменение стабильности нуклеосомы на больших временах моделирования

Выводы

1. С помощью функциональной разметки генома человека (ChromHMM), были определены 2 группы генов, подходящие для задачи активации/репрессии генов с помощью системы CRISPR-Cas (46 генов для задачи репрессии, 776 - для задачи активации).
2. На основе анализа ко-встречаемости ПТМ были выделены 6 комбинаций модификаций, совместно встречающихся в геномных локусах
3. Множественные ПТМ гистонов H2B и H3 приводят к уменьшению количества контактов между ДНК и гистоновыми хвостами и увеличению подвижности хвостов
4. Множественные ПТМ хвостов влияют на динамику глобулярной части нуклеосомы

Список литературы

- Grigoriy A Armeev, Anna K Gribkova, Iunona Pospelova, Galina A Komarova, Alexey K Shaytan, Linking chromatin composition and structural dynamics at the nucleosome level, *Current Opinion in Structural Biology*, Volume 56, 2019, Pages 46-55, ISSN 0959-440X, <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2018.11.006>.
- Peng, Y., Li, S., Onufriev, A. *et al.* Binding of regulatory proteins to nucleosomes is modulated by dynamic histone tails. *Nat Commun* 12, 5280 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25568-6>
- Bowman GD, Poirier MG. Post-translational modifications of histones that influence nucleosome dynamics. *Chem Rev*. 2015 Mar 25;115(6):2274-95. doi: 10.1021/cr500350x. Epub 2014 Nov 26. PMID: 25424540; PMCID: PMC4375056.
- Yunhui Peng, Shuxiang Li, David Landsman, Anna R Panchenko, Histone tails as signaling antennas of chromatin, *Current Opinion in Structural Biology*, Volume 67, 2021, Pages 153-160, ISSN 0959-440X, <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.10.018>.
- Zhao Y, Garcia BA. Comprehensive Catalog of Currently Documented Histone Modifications. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015 Sep 1;7(9):a025064. doi: 10.1101/cshperspect.a025064. PMID: 26330523; PMCID: PMC4563710.
- Histone H4 Tails in Nucleosomes: a Fuzzy Interaction with DNA Sevastyan O. Rabdano,Matthew D. Shannon,Sergei A. Izmailov,Nicole Gonzalez Salguero,Mohamad Zandian,Rudra N. Purusottam,Michael G. Poirier,Nikolai R. Skrynnikov, Christopher P. Jaroniec <https://doi.org/10.1002/anie.202012046>

Благодарности

Хочу выразить благодарность следующим
людям: Грибкова А.К., Шайтан А.К.,
за обучение, помощь в выполнении
дипломной работы и обсуждение
молекулярной динамики гистоновых хвостов.

Центр коллективного пользования
сверхвысокопроизводительными вычислительными
ресурсами МГУ имени М.В.Ломоносова



Работа поддержана грантом
РНФ № 23-74-10012

<https://rscf.ru/en/project/23-74-10012/>



Российский
научный
фонд