



Позиционная специфичность Sox2 при связывании с нуклеосомой

Романова Т. А., 4 курс ФББ

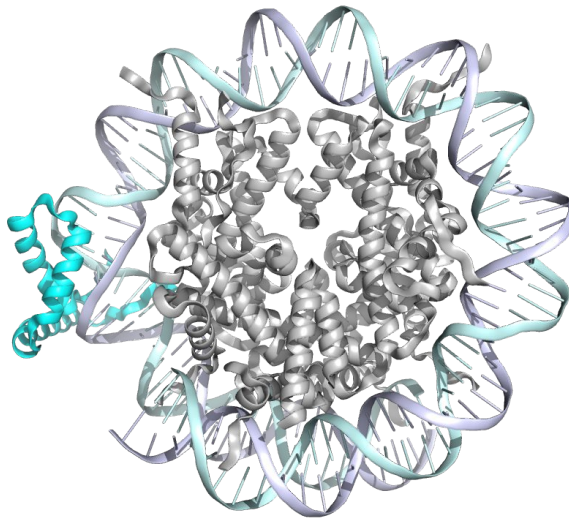
Научные руководители:
Шайтан А. К.,
Головин А. В.

Введение

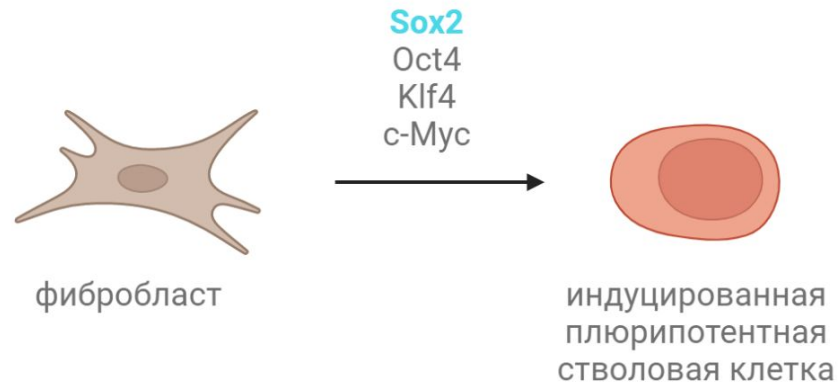
- Sox2 — пионерный транскрипционный фактор
- Связываясь со специфическим сайтом на ДНК, Sox2 изгибает её на $\sim 90^\circ$
- Способен связываться с нуклеосомами и вызывать деконденсацию хроматина



Комплекс Sox2
с линейной ДНК



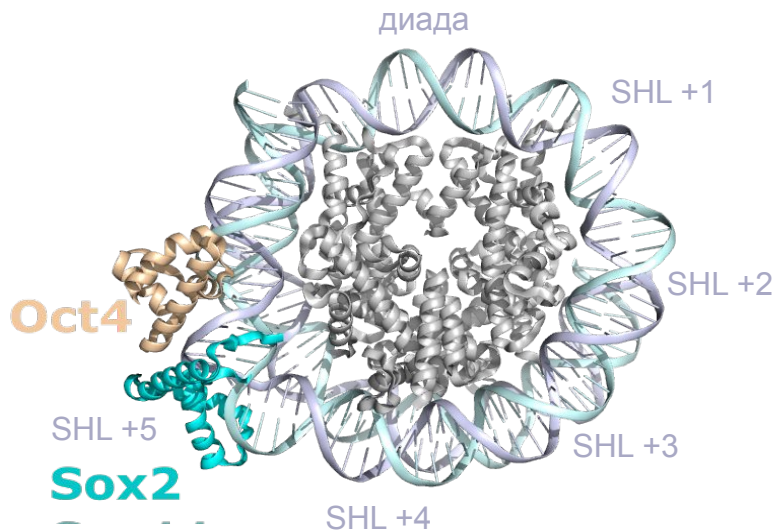
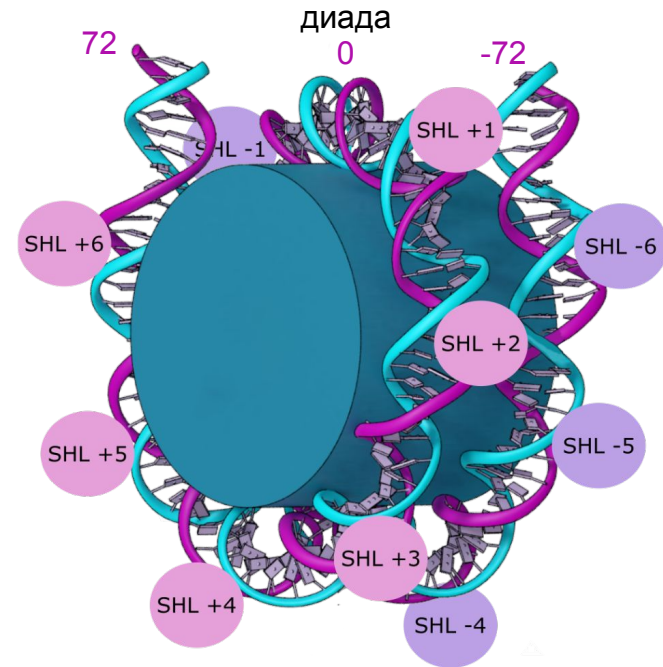
Комплекс Sox2 с ДНК
в составе нуклеосомы



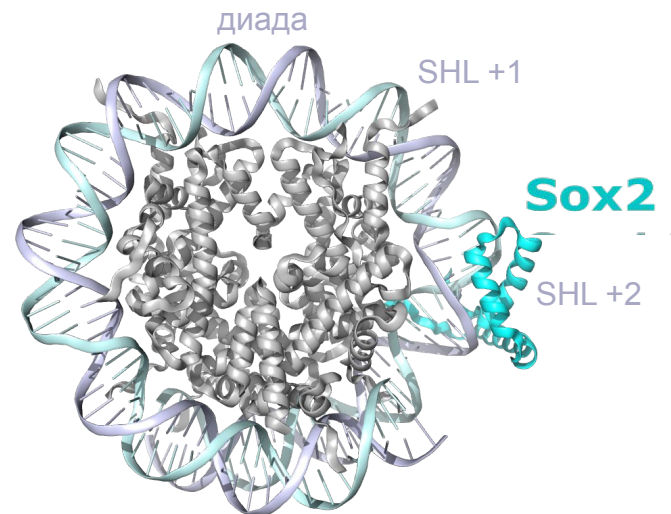
Sox2 входит в «коктейль Яманаки»

Введение

- Сайт связывания Sox2 может находиться на нуклеосоме в разном положении
- Нуклеосомальные позиции отсчитываются от центра (диады): по периодичности ДНК (суперспиральная позиция, SHL) или по номеру нуклеотида



позиция 50 (SHL +5)



позиция 18 (SHL +2)

Цели и задачи

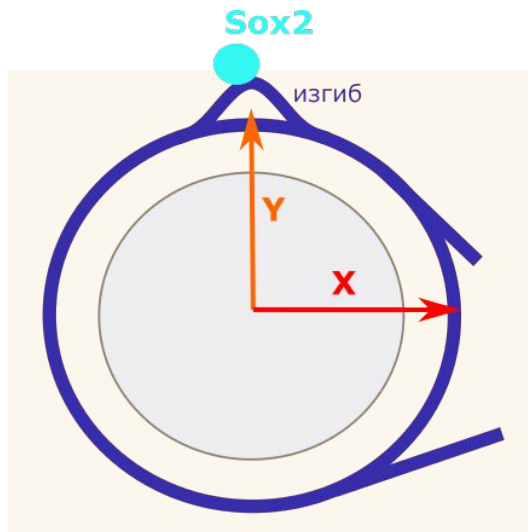
Цель работы — выделение структурных механизмов, определяющих различия между комплексами Sox2 с нуклеосомой в зависимости от нуклеосомальной позиции сайта связывания.

Задачи:

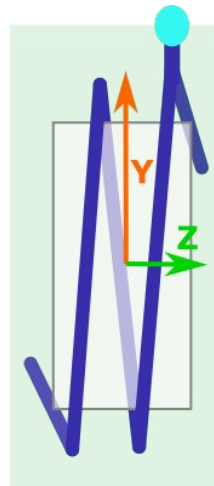
- Описание и сравнение известных структур комплексов Sox2-нуклеосома с фокусом на геометрию ДНК в области вызванного Sox2 изгиба ДНК
- Анализ геометрии ДНК на свободной нуклеосоме в контексте возможности образования изгиба, подобного изгибу ДНК в комплексе с Sox2
- Построение модели комплекса Sox2-нуклеосома на тех нуклеосомальных позициях, на которых такой комплекс возможен
- Анализ полученных комплексов Sox2-нуклеосома и определение причин и механизмов позиционной специфичности Sox2

Описание структур — методы

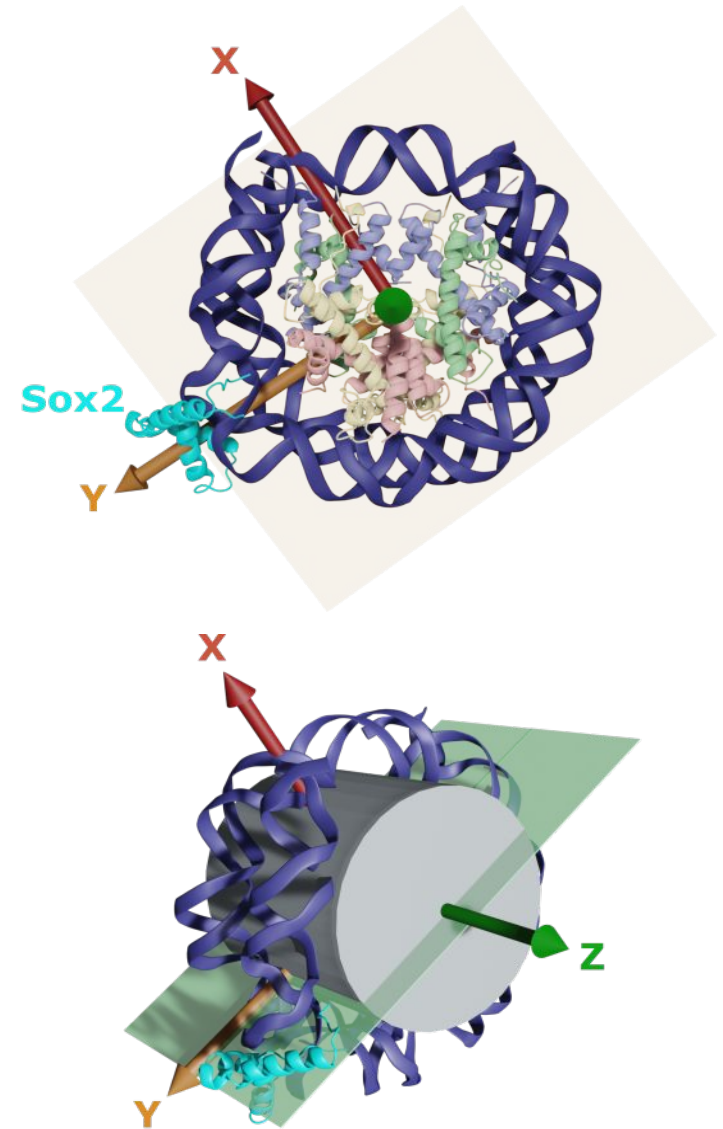
Проекции хода ДНК в координатах, определяемых положением Sox2



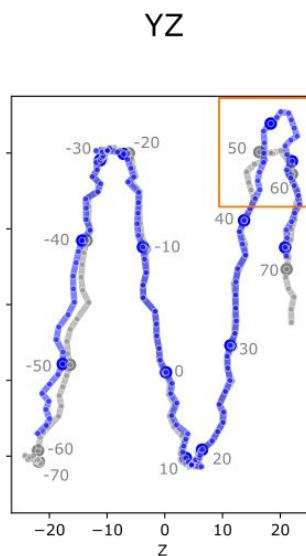
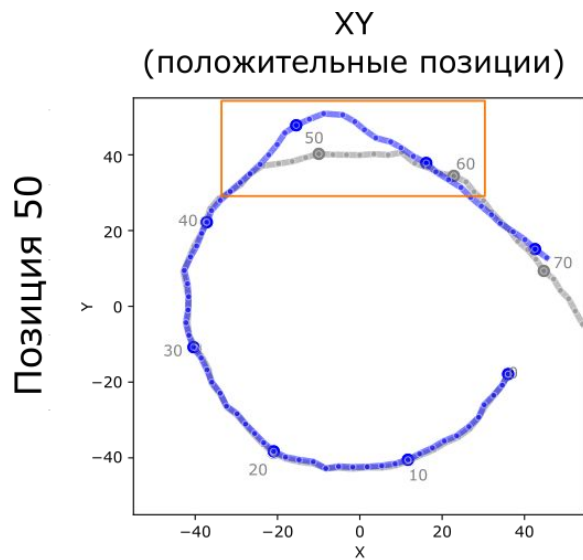
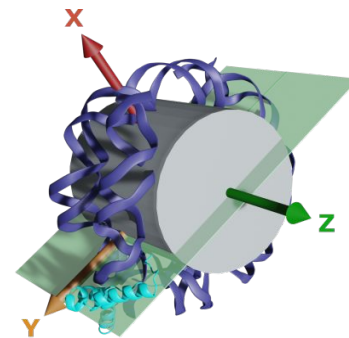
ПЛОСКОСТЬ
XY



ПЛОСКОСТЬ
YZ

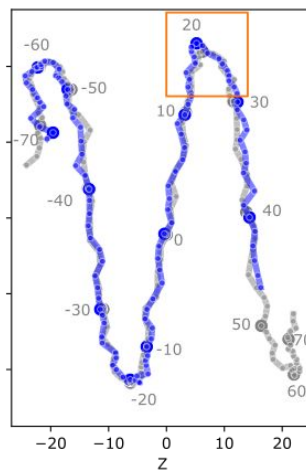
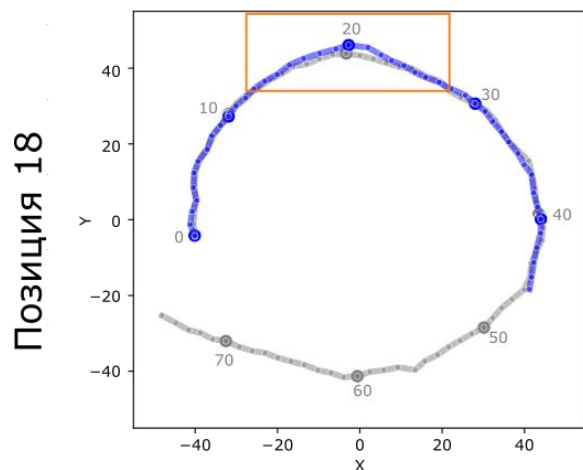


Описание структур — результаты



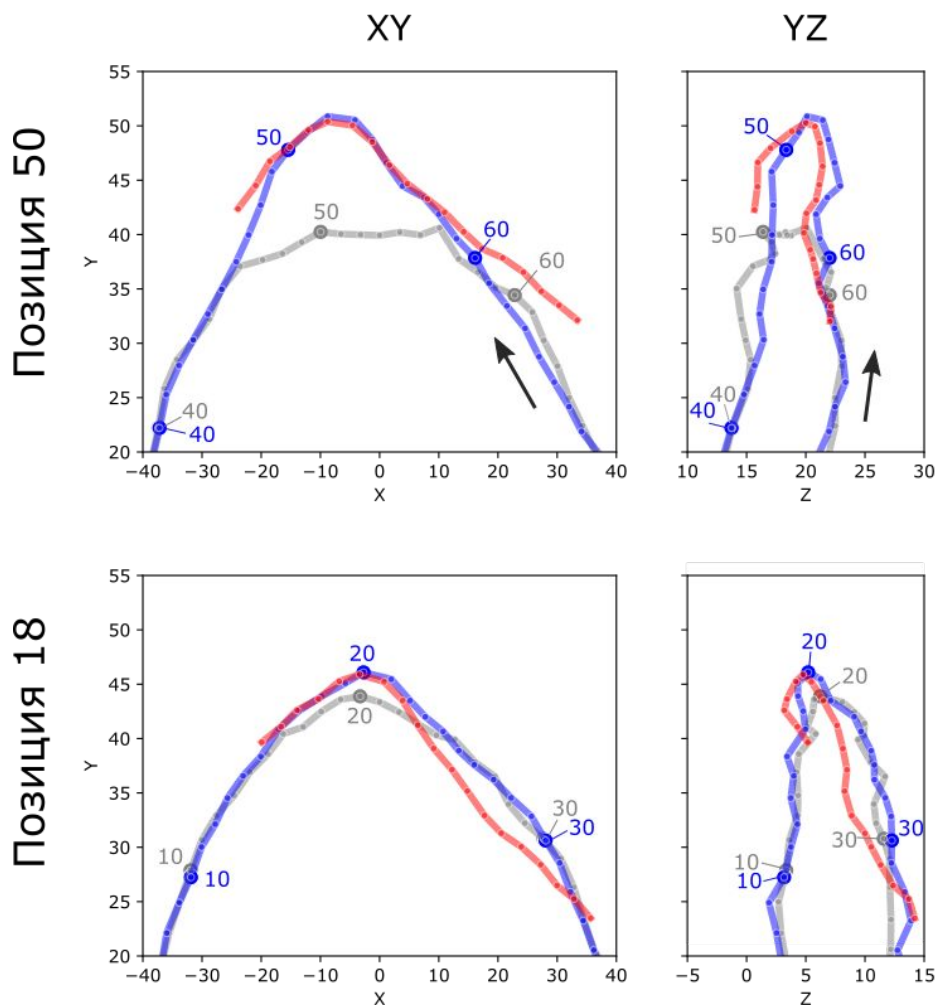
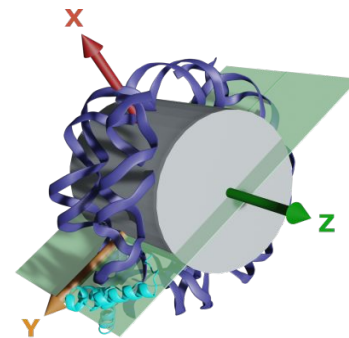
Выделяется два изгиба:

- «большой» на позиции 50
- «малый» на позиции 18



- Комплекс нуклеосома-Sox2
- Свободная нуклеосома
- Область изгиба

Описание структур — результаты

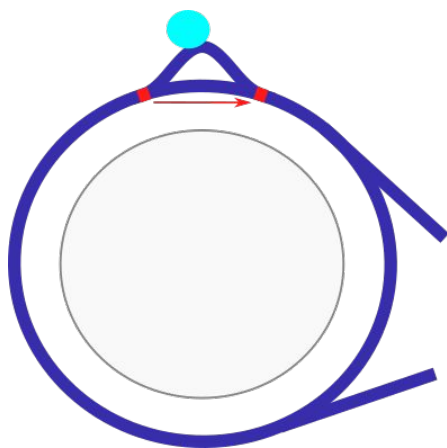


- «Большой» изгиб изогнут как комплекс с линейной ДНК, но требует сдвига ДНК на 2 нт
- «Малый» изгиб не требует сдвига ДНК, но изогнут меньше, чем с линейной ДНК

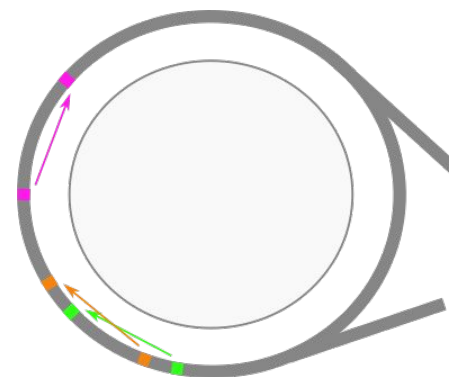
- Комплекс нуклеосома-Sox2
- Свободная нуклеосома
- Комплекс линейная ДНК-Sox2

Сходство геометрии ДНК — методы

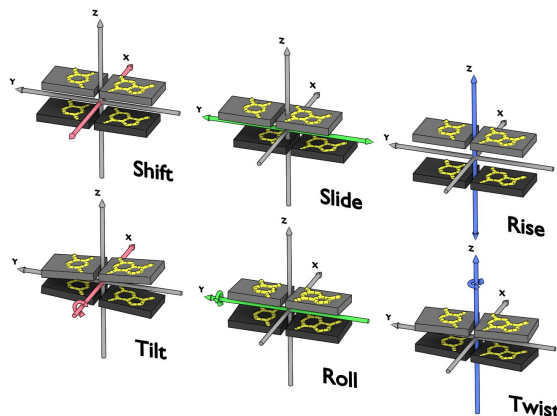
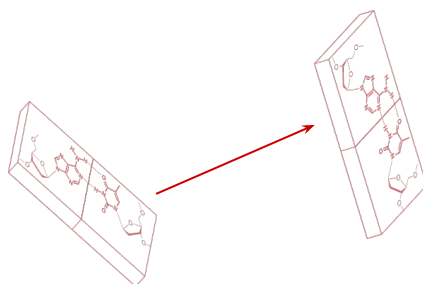
Параметры
референсного изгиба



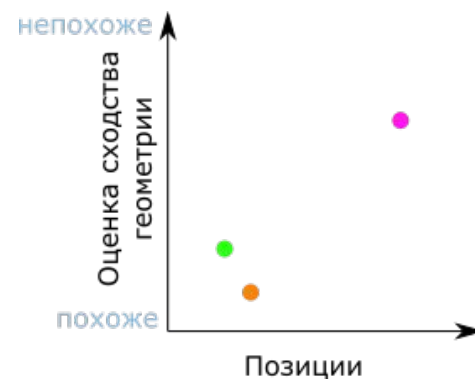
Геометрия
свободной нуклеосомы



«динуклеотидный прыжок»

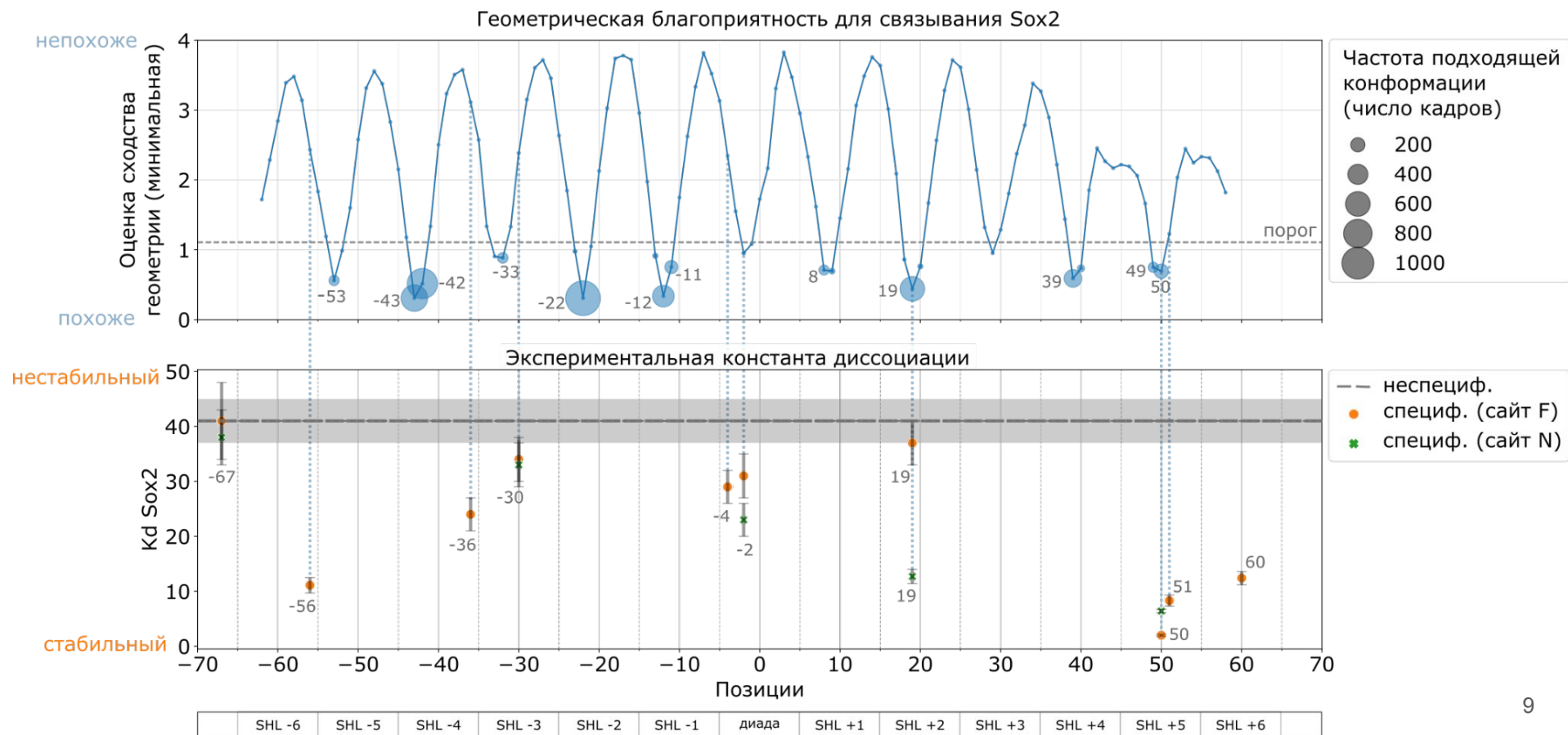


Параметры динуклеотидного шага



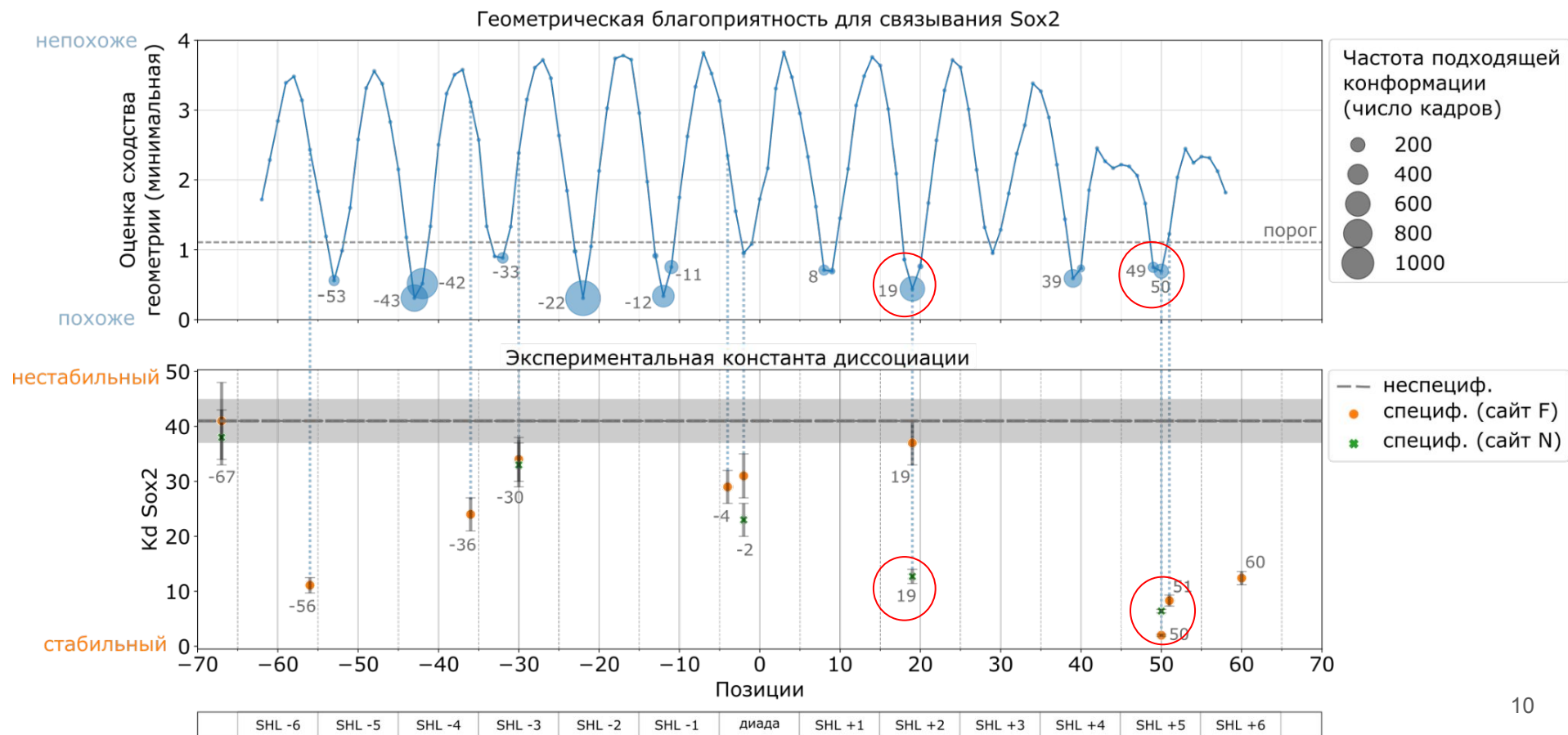
Сходство геометрии ДНК — результаты

Геометрия ДНК свободной нуклеосомы частично коррелирует с аффинностью Sox2 к сайту на соответствующей позиции



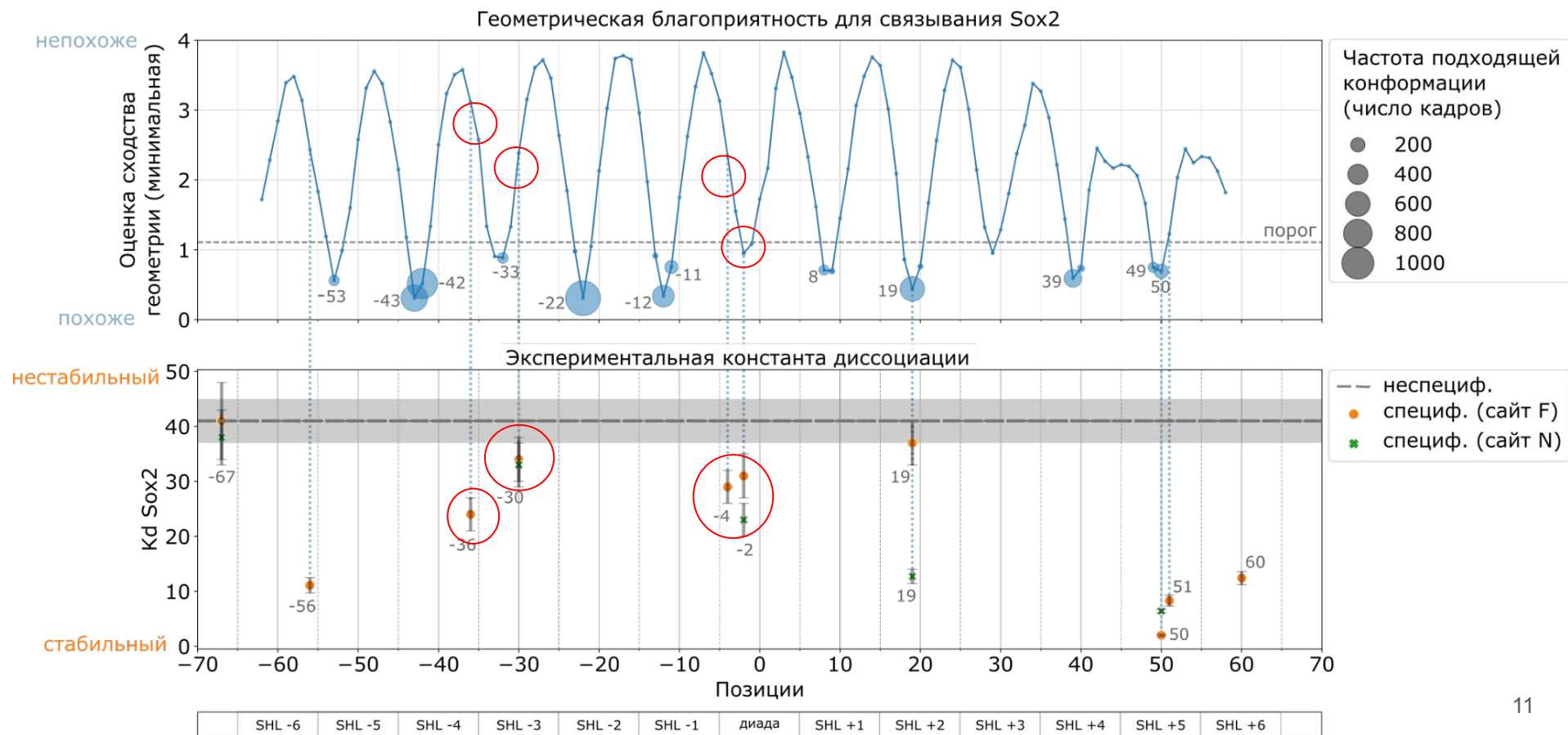
Сходство геометрии ДНК — результаты

Позиции с низкой K_d имеют большее сходство геометрии (SHL +2, +5)



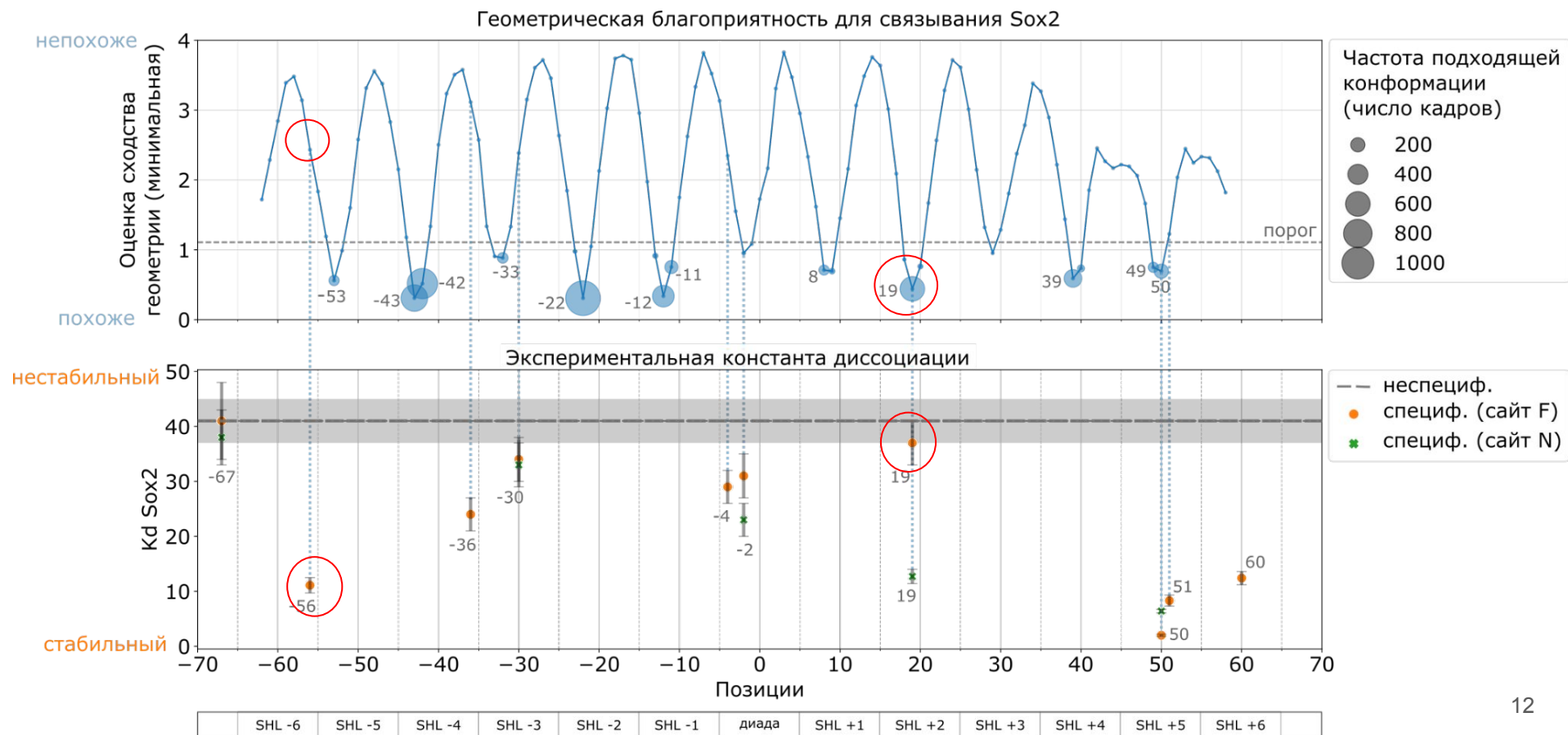
Сходство геометрии ДНК — результаты

Позиции с высокой K_d имеют меньшее сходство геометрии (SHL -3, диада)



Сходство геометрии ДНК — результаты

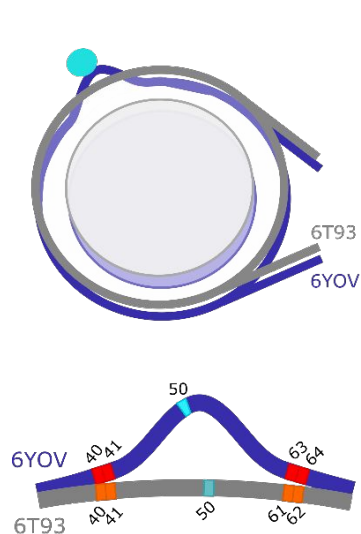
Соответствие неполное (SHL -5, разница N и F сайтов, количественные соотношения).



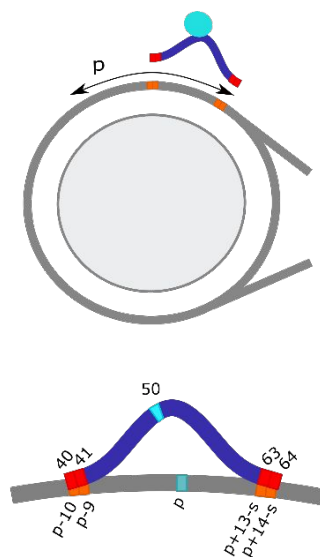
Построение комплексов — методы

Построение комплексов с сайтом Sox2 на произвольной (из подходящих по геометрии) позиции путём вставки референсного изгиба.

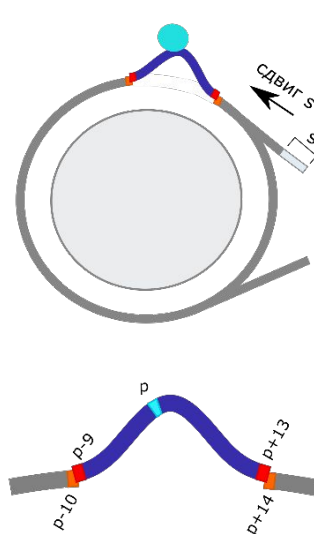
a) Наложение структур
($p=50$)



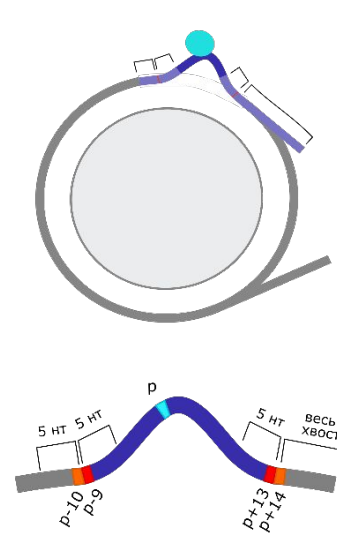
b) Выравнивание изгиба
на позицию p



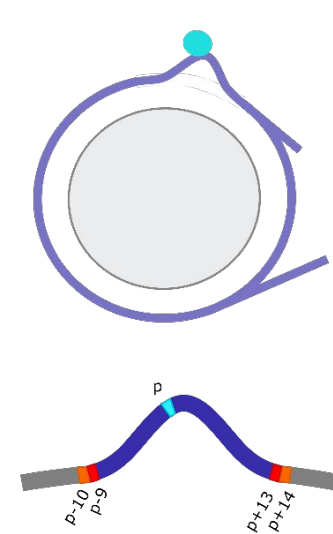
c) "Склеивание",
перенумерация



d) Оптимизация
геометрии

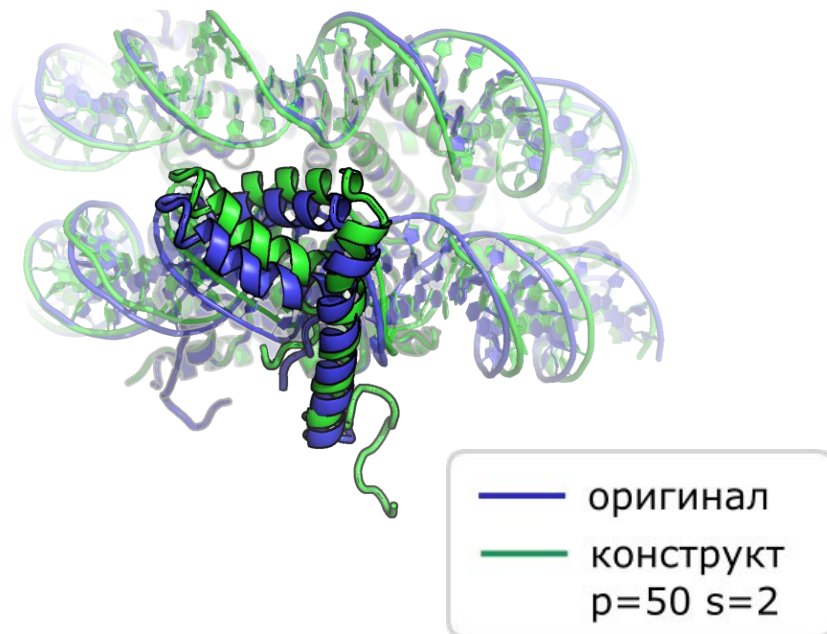


e) Замена
последовательности



Построение комплексов — результаты

- Реконструированный комплекс стабилен
- RMSD Sox2 в реконструированном комплексе относительно оригинала (2,2 Å) меньше RMSF теплового движения (3,6 Å)
- Различается поведение С-конца



Средняя флуктуация C α -атомов белка Sox2



Выводы

- Предложены методы анализа геометрии изгиба ДНК в комплексах Sox2-нуклеосома (проекции хода ДНК, параметры «динуклеотидного прыжка»). С их помощью охарактеризованы известные структуры.
- Показано, что сходство геометрии изгиба ДНК свободной нуклеосомы с изгибом, вызванным Sox2, частично объясняет позиционные предпочтения Sox2
- Предложен метод построения комплексов Sox2-нуклеосома при различных положениях сайта связывания Sox2. Показана необходимость доработки метода прежде, чем будет возможно перейти к этапу анализа комплексов, построенных этим методом.

Дополнительные слайды

Источники данных

Константы диссоциации комплексов Sox2-нуклеосома из работы:

Malaga Gadea, F. C. and Nikolova, E. N. (2022) Structural plasticity of pioneer factor Sox2 and DNA bendability modulate nucleosome engagement and Sox2-Oct4 synergism. J. Mol. Biol. 167916. 10.1016/j.jmb.2022.167916

МД свободной нуклеосомы (7 мкс) из работы:

Armeev, G. A., Kniazeva, A. S., Komarova, G. A., Kirpichnikov, M. P. and Shaytan, A. K. (2021) Histone dynamics mediate DNA unwrapping and sliding in nucleosomes. Nat. Commun. 12. 10.1038/s41467-021-22636-9

3D-структуры:

комплексы Sox2-нуклеосома — 6T7D, 6YOV

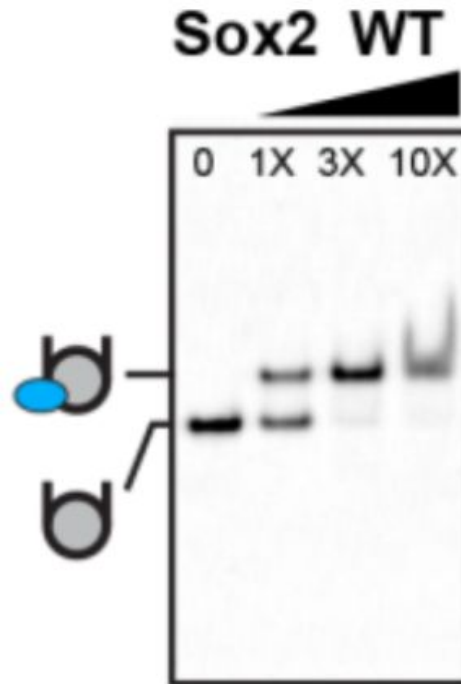
комплекс Sox2-линейная ДНК — 1GT0

свободные нуклеосомы — 6T79, 6T93

Методы — молекулярная динамика

- 500 нс
- Ячейка: додекаэдр, 2 нм до границ
- AMBER ff14SB cufix + parmbsc1, вода TIP3P
- 300 K (масштабирование скоростей), 1 атм (Парринелло-Рамана)
- Электростатика — SPME, ван-дер-ваальсовы — отсечка 8 Å

EMSA



Malaga Gadea, F. C. and Nikolova, E. N. (2022) Structural plasticity of pioneer factor Sox2 and DNA bendability modulate nucleosome engagement and Sox2-Oct4 synergism. *J. Mol. Biol.* 167916.