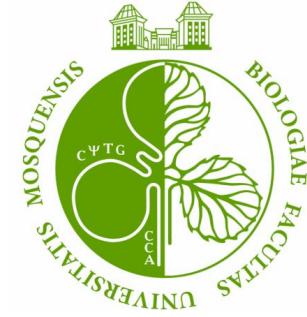




Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова
Биологический факультет
Кафедра Биоинженерии



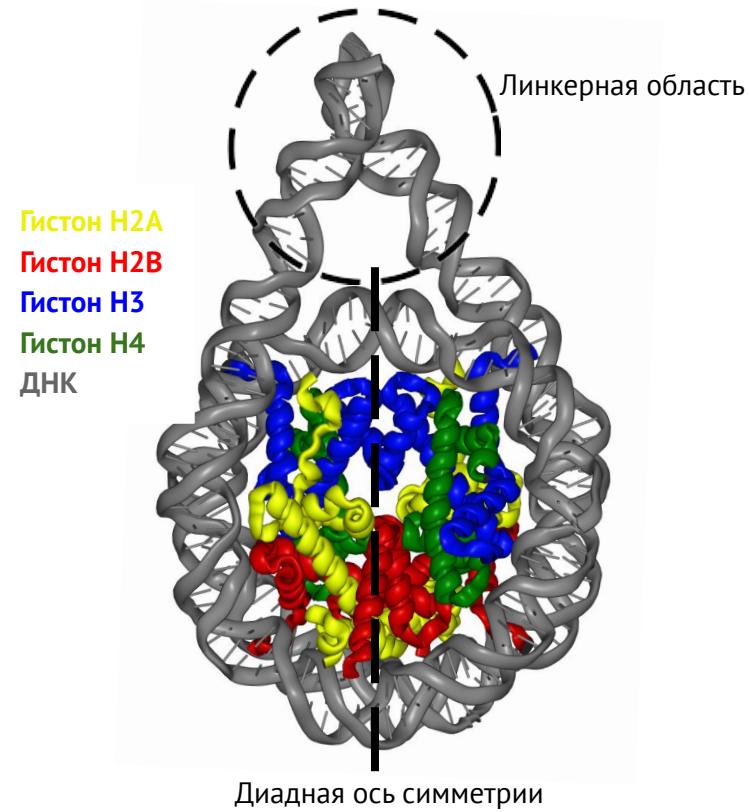
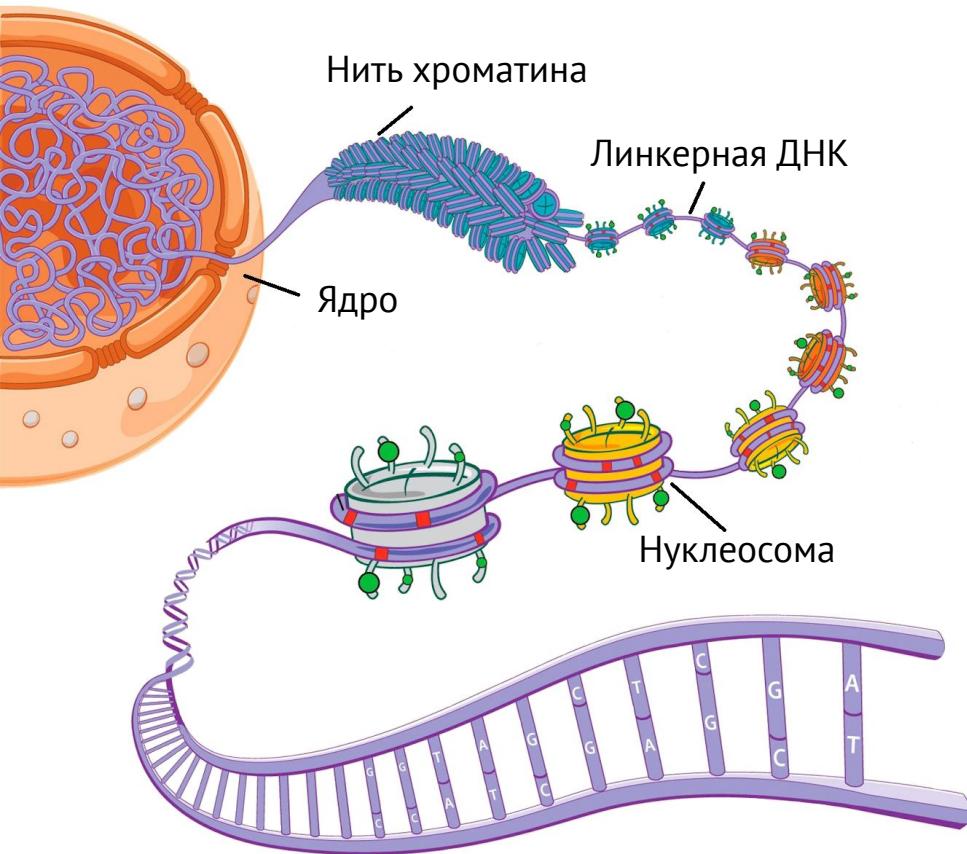
Выпускная квалификационная работа магистра

Анализ влияния типа моновалентных катионов на структуру и динамику линкерной области нуклеосомы

Выполнил студент II курса
магистратуры
Косарим Никита Александрович

Научный руководитель:
д.ф.-м.н Шайтан Алексей
Константинович

Организация ДНК в ядре



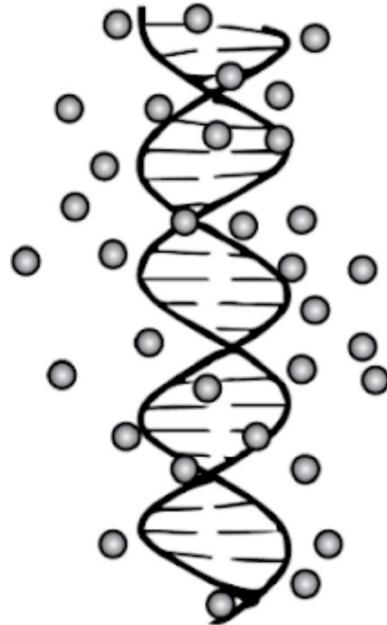
Структура PDB 1KX5 с удаленными концевыми хвостами гистонов и добавленными ДНК-линкерами

Распределение моновалентных катионов

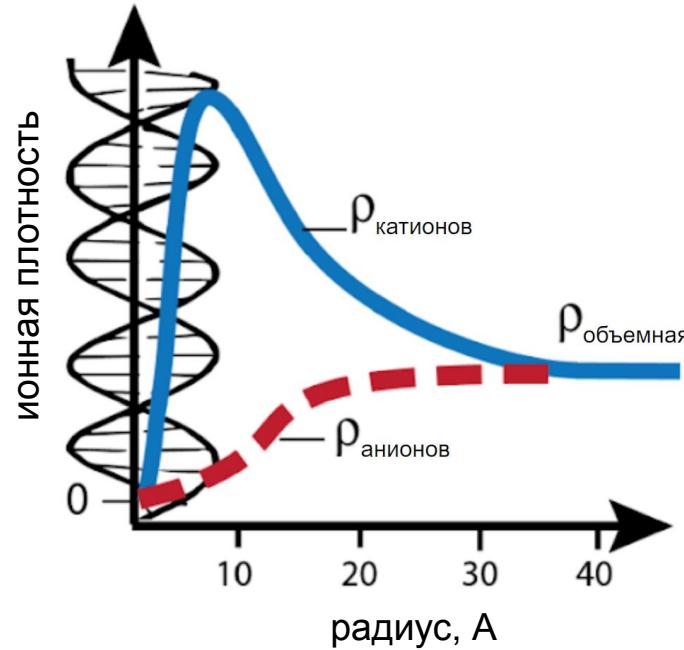
Ион	Внеклеточная концентрация, мМ	Внутриклеточная концентрация, мМ
Na ⁺	140-150	5-15
K ⁺	4-5	140-160

Ионы натрия и калия во внеклеточных средах и в цитоплазме эукариотических клеток

Ионная атмосфера ДНК



а) схематическое изображение катионов, окружающих нуклеиновую кислоту

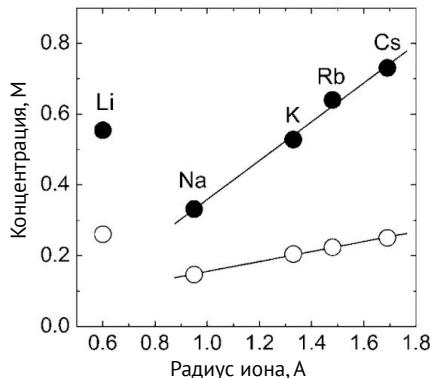


б) схематическое представление плотности ионов в зависимости от расстояния до нуклеиновой кислоты

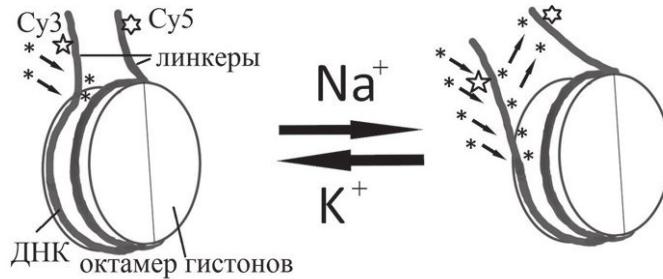
Сходства и различия ионов натрия и калия

Метод	Последовательность	Источник
^{23}Na ЯМР	$\text{Cs}^+ > \text{K}^+ > \text{Li}^+ > \text{Na}^+$	Bleam et al. (1980)
Электрофорез кольцевой ДНК	$\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Li}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+$	Anderson and Bauer (1978)
Круговой дихроизм в водных растворах	$\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Li}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+$	Hanlon et al. (1975); Wolf and Hanlon (1975); Wolf et al. (1977)
Круговой дихроизм в водных/спиртовых растворах	$\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$	Ivanov et al. (1973)
^{23}Na ЯМР релаксация	$\text{Cs}^+ \approx \text{Rb}^+ \approx \text{K}^+ > \text{Na}^+$	Denisov and Halle (2000); Cesare Marincola et al. (2004)
Ионообменные измерения конкуренции связывания с ДНК-волокнами	$\text{Na}^+ \approx \text{K}^+ > \text{Li}^+$	Korolev et al. (2001)

а) потенциал связывания моновалентных катионов с ДНК, определенный различными методами (Zinchenko, Yoshikawa, 2005)

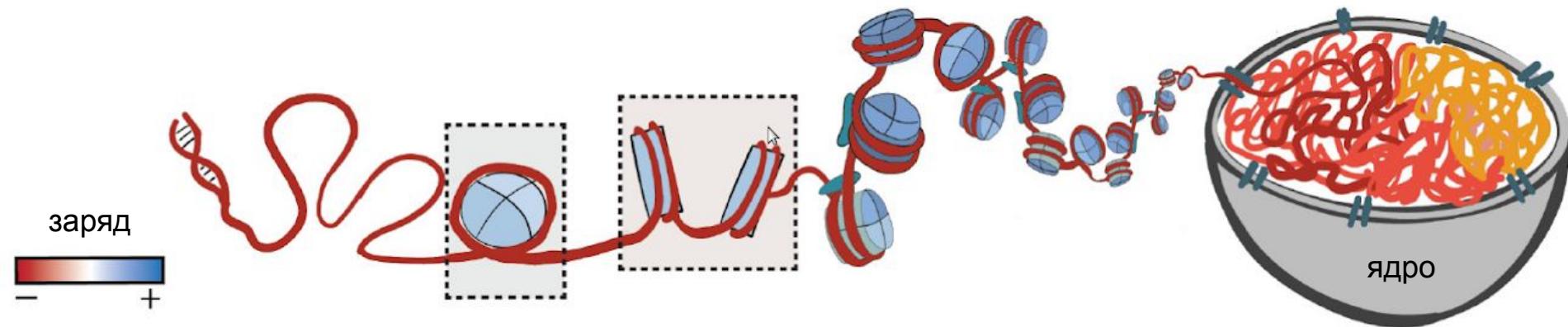


б) зависимость концентрации монокатионов, необходимой для перевода 50% ДНК в глобулярное состояние в ПЭГ 3000 ● и ПЭГ 10000 ○ от ионного радиуса (Zinchenko, Yoshikawa, 2005)



в) схема возможных конформаций нуклеосомы. Ионы Na^+ связываются с ДНК значительно сильнее, чем ионы K^+ , препятствуя реассоциации ДНК с нуклеосомным ядром в области, подверженной нуклеосомному "дыханию". Символом ** обозначены ионы соответствующих металлов (Lyubitelev et al, 2017)

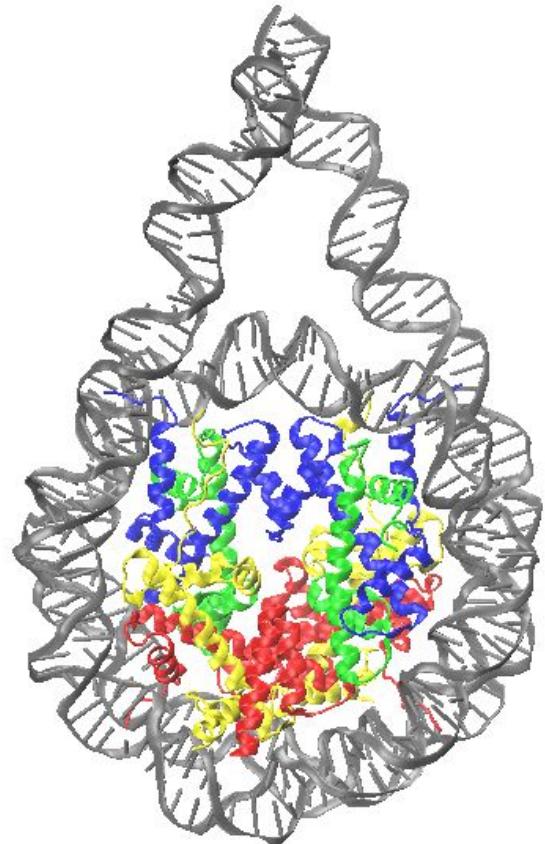
Взаимодействия ДНК с гистонами



Схематическое изображение формирования нуклеосом и компактизации ДНК

Нуклеосомное дыхание

Гистон H2A
Гистон H2B
Гистон H3
Гистон H4
ДНК



Отворачивание одного из ДНК-линкеров в ходе траектории K3000a

- **Нуклеосомное дыхание**
отворачивание до двадцати пар нуклеотидов от нуклеосомного ядра, приводящее к расхождению линкеров и частичному разворачиванию нуклеосомы

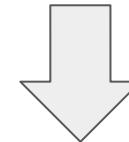
Итоги

Тип иона может влиять на

- распределение ионов вокруг ДНК
- эффективность связывание ионов с ДНК
- способность упаковывать ДНК
- взаимодействие молекул ДНК друг с другом
- взаимодействие ДНК с белками



Влияние на динамику линкерной области



Анализ методом молекулярной динамики

Цель

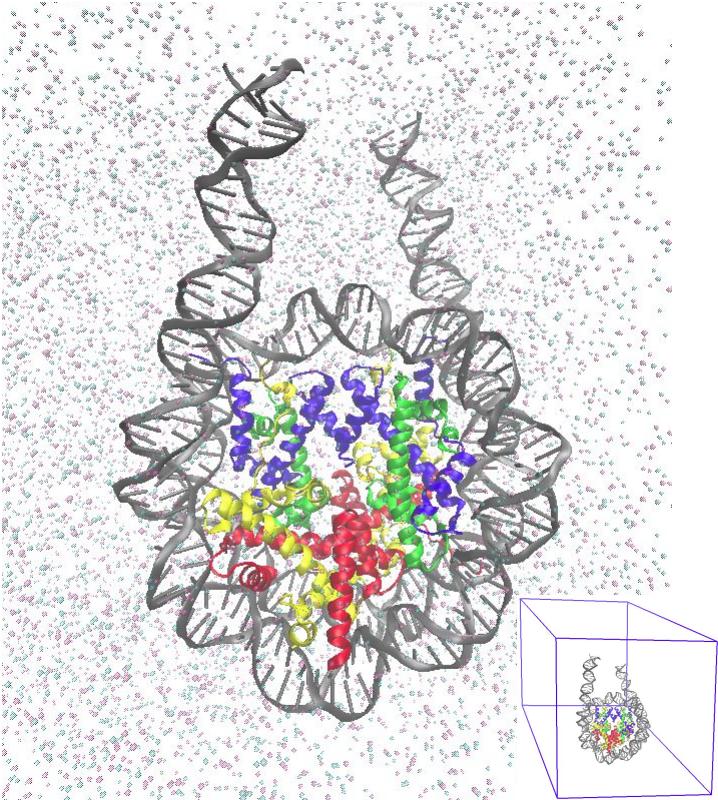
Изучение влияния типа моновалентных катионов в среде на структуру и динамику нуклеосомы методом молекулярной динамики.

Задачи

1. Построить полноатомные модели нуклеосом с ДНК-линкерами длиной 20 пар нуклеотидов и удаленными подвижными участками хвостов гистонов в различном ионном окружении (150 мМ KCl, 150 мМ NaCl, 3 М KCl, 3 М NaCl).
2. Провести молекулярно-динамические расчеты полученных систем.
3. Проанализировать полученные траектории, изучить детали динамики линкерной ДНК, распределения ионов и межмолекулярных взаимодействий.
4. Сравнить детали динамики линкеров, ионного распределения и межмолекулярных взаимодействий в расчетах с различным солевым составом.

Методы

Гистон H2A Гистон H2B Гистон H3 Гистон H4 ДНК K⁺ Cl⁻



- **Молекулярная динамика**

представление атомов в виде материальных точек, описание движений и взаимодействий которых осуществляется в соответствии с законами классической механики

- **Анализ траекторий**

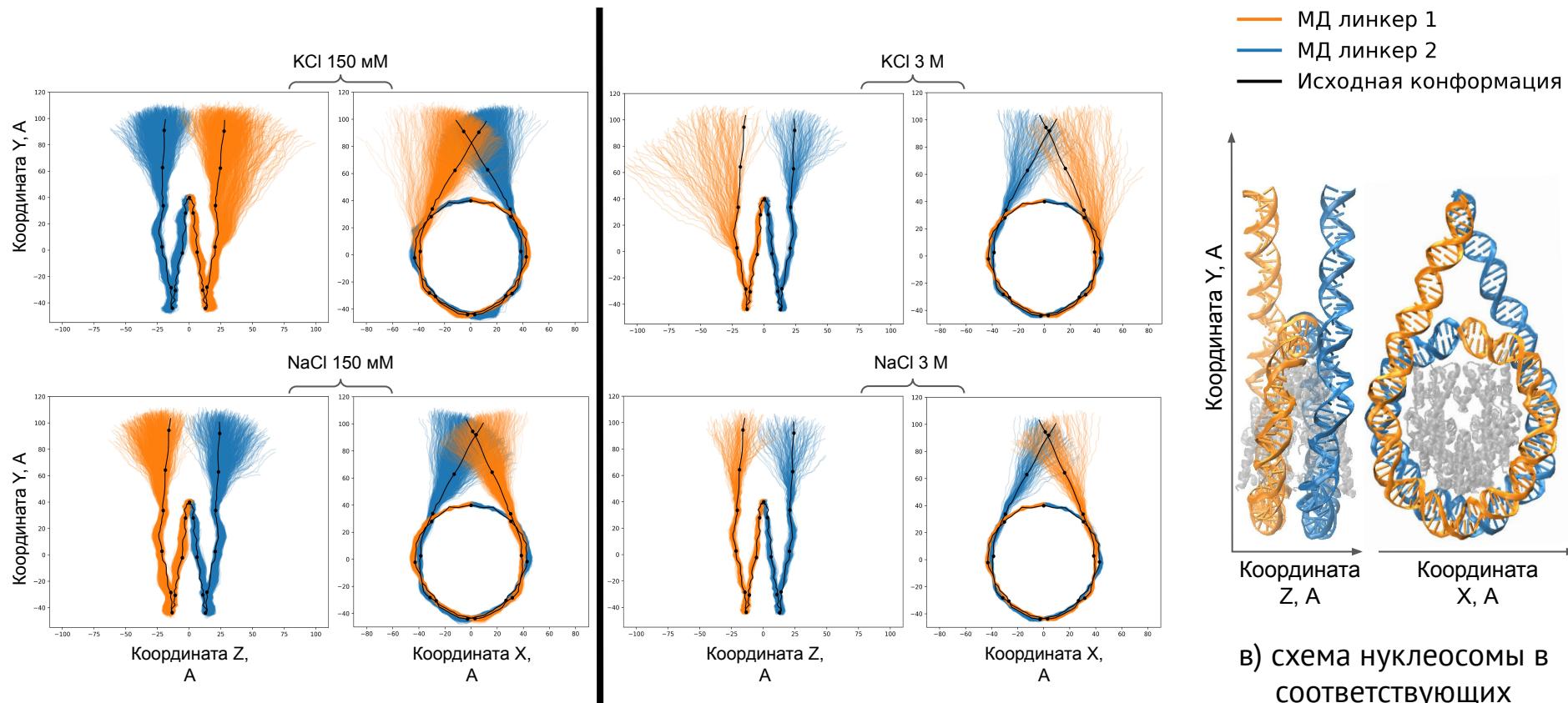
проводился с использованием программ Gromacs, MDAnalysis и VMD



Название системы	K150	K3000	K3000a	K3000g	Na150	Na3000	Na3000a	Na3000g
Тип катионов	K+	K+	K+	K+	Na+	Na+	Na+	Na+
Расстояние до края ячейки, нм	2	2	3	2	2	2	3	2
Время траектории, мкс	1,37	0,92	0,94	0,16	0,88	0,80	0,93	0,16

в) таблица траекторий

Проекции линкеров

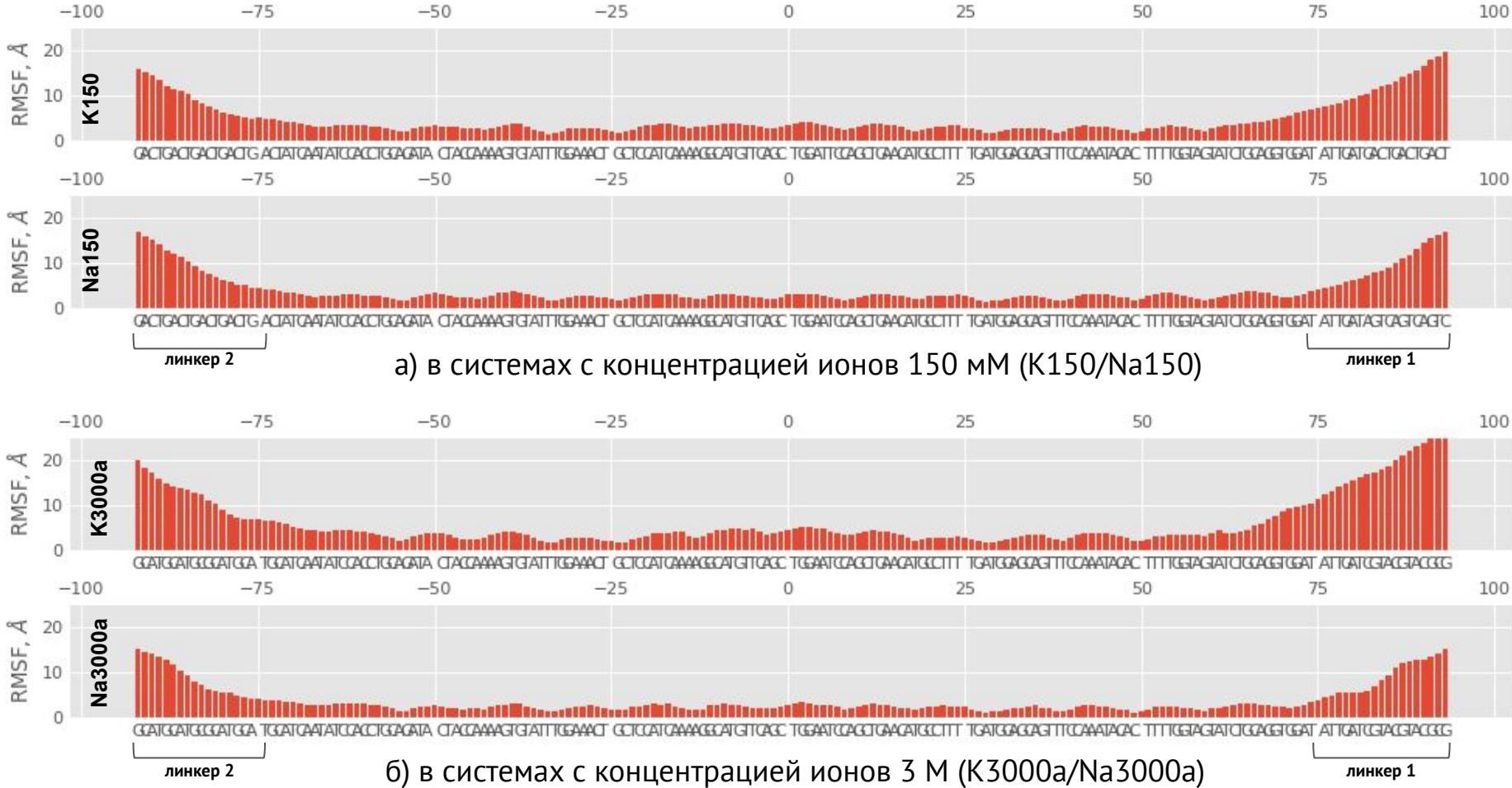


а) в системах с концентрацией ионов 150 мМ (K150/Na150)

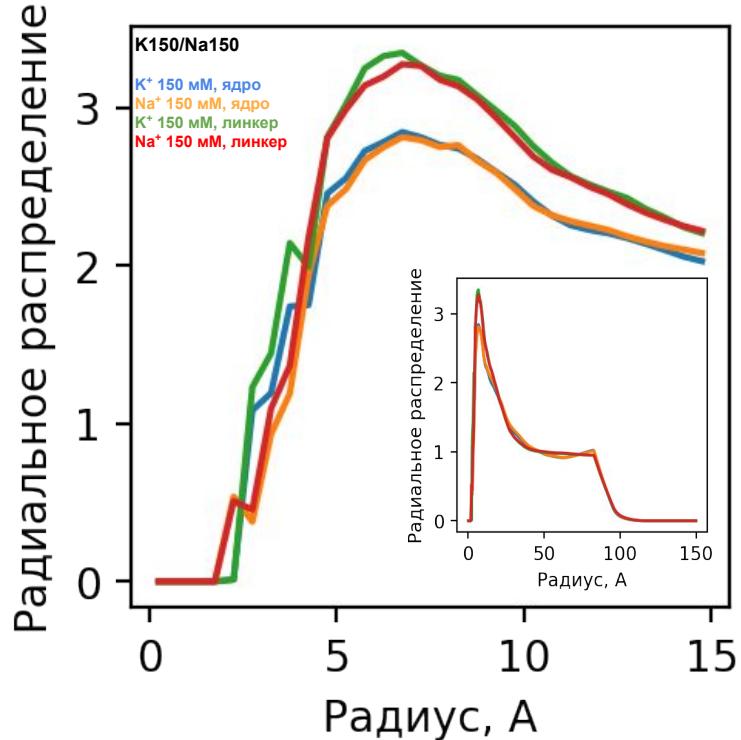
б) в системах с концентрацией ионов 3 М (K3000a/Na3000a)

в) схема нуклеосомы в соответствующих проекциях

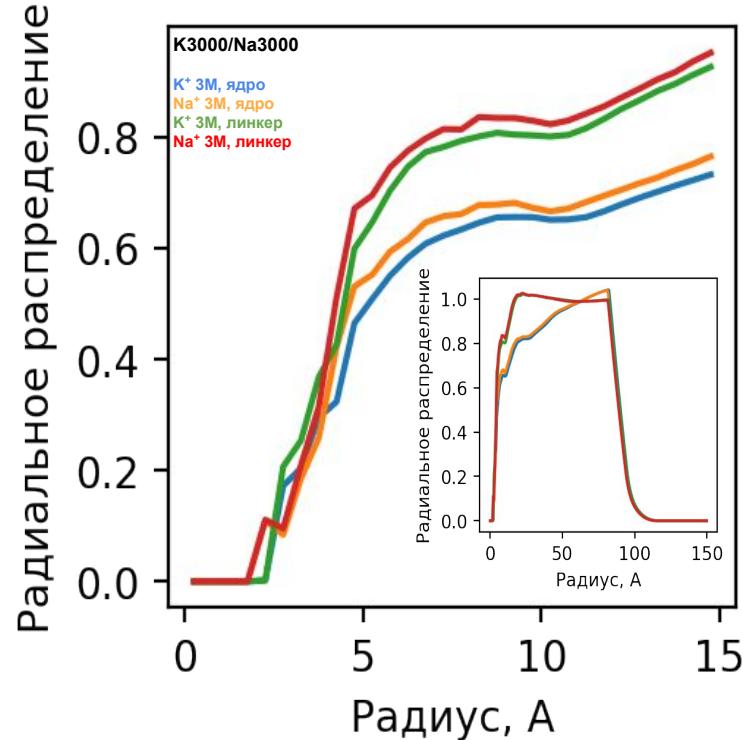
Среднеквадратичное колебание ДНК нуклеосом



Функция радиального распределения ионов вокруг ДНК

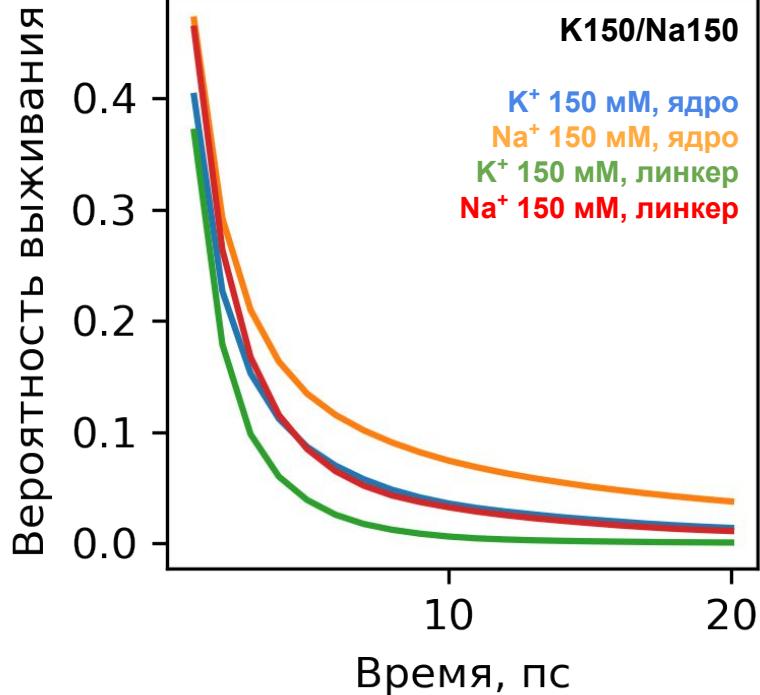


а) в системах с концентрацией ионов 150 мМ

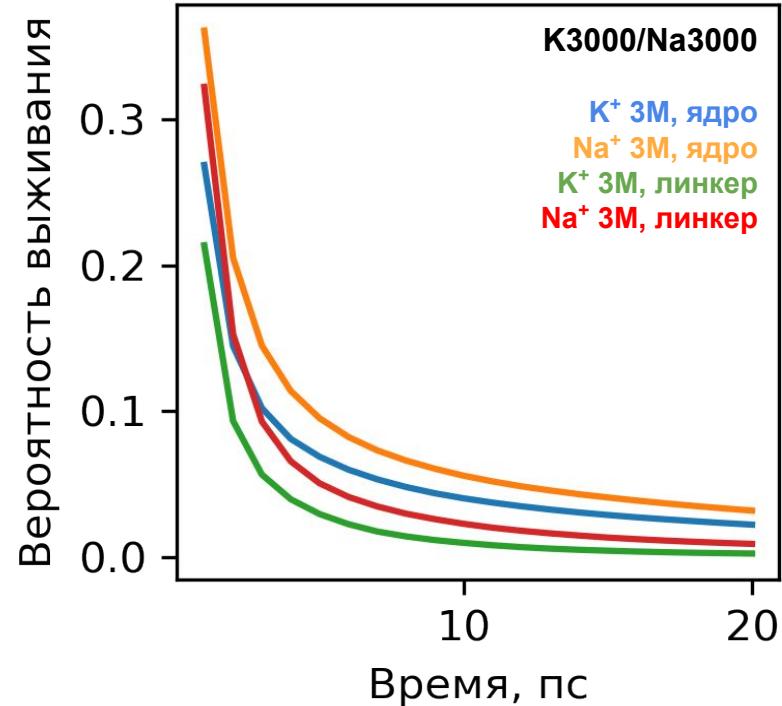


б) в системах с концентрацией ионов 3 М

Вероятность выживания ионов вблизи ДНК

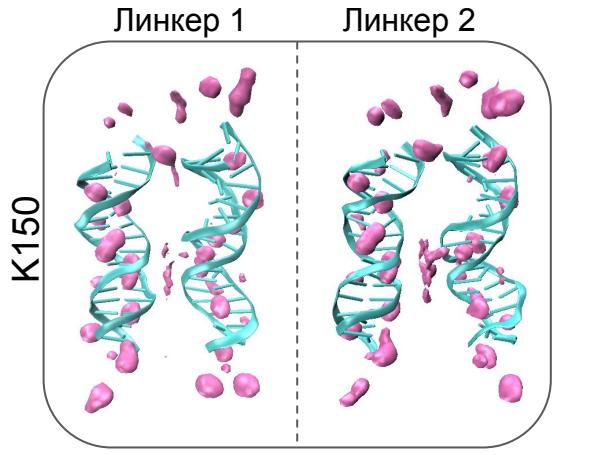


а) в системах с концентрацией ионов 150 мМ в радиусе 5 Å

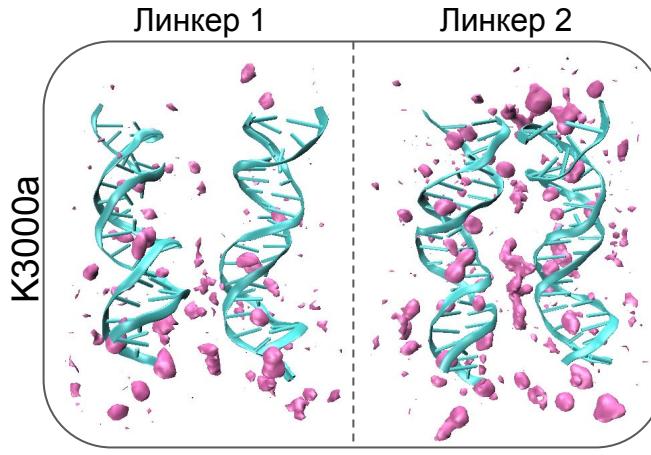


б) в системах с концентрацией ионов 3 М в радиусе 5 Å

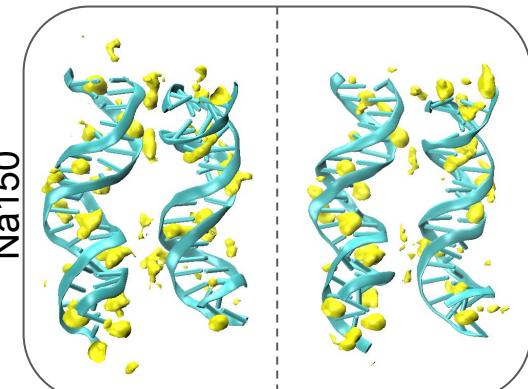
Занятость ионов вблизи сайта открытия нуклеосомной ДНК



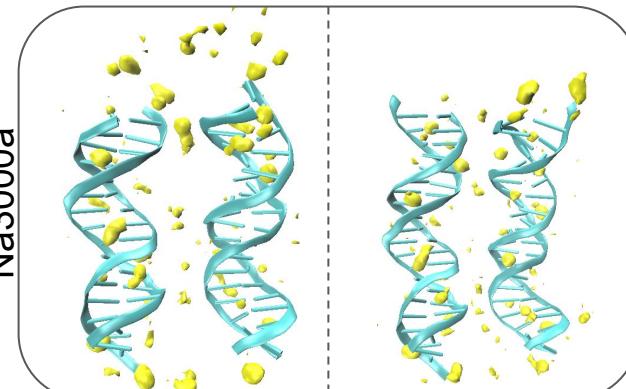
а) при концентрации K⁺ 150 мМ



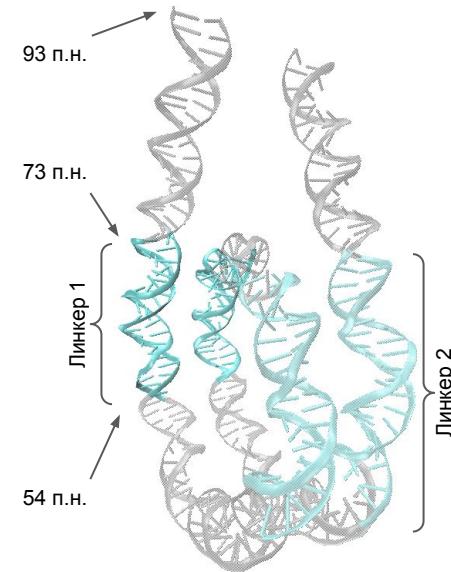
б) при концентрации K⁺ 3 М



в) при концентрации Na⁺ 150 мМ



г) при концентрации Na⁺ 3 М



д) схема нуклеосомы

Выводы

1. Отворачивание ДНК от нуклеосомного ядра наблюдалось в молекулярно-динамических расчетах на масштабах более 1 микросекунды для физиологических концентраций ионов калия и натрия и на масштабах сотен микросекунд для трехмолярной концентрации ионов.
2. Количество ионов вблизи нуклеосомной ДНК меньше, чем вокруг линкерной, что может быть связано с занятостью части сайтов связывания гистонами и соседней ДНК.
3. Время нахождения ионов обоих типов рядом с нуклеосомной ДНК больше, чем рядом с линкерной, что можно объяснить взаимодействиями с соседними цепями ДНК или гистонами, препятствующими движению ионов.
4. Время нахождения ионов натрия вблизи ДНК больше, чем ионов калия, что может говорить о более эффективном взаимодействии натрия с ДНК.
5. Ионы скапливаются между соседними цепями ДНК, вероятно, способствуя их сближению.

Спасибо за внимание!

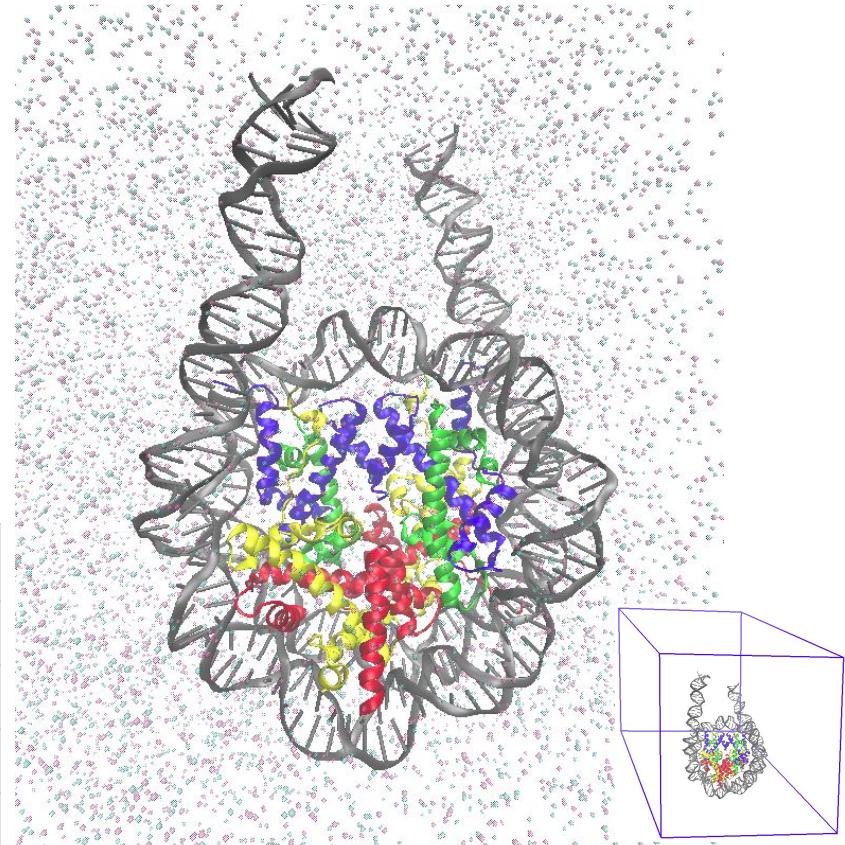
Строение моделей и параметры молекулярной динамики

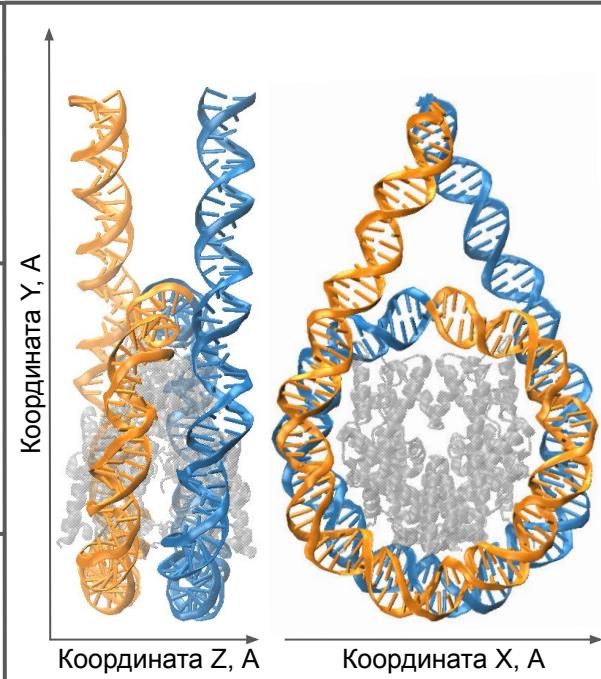
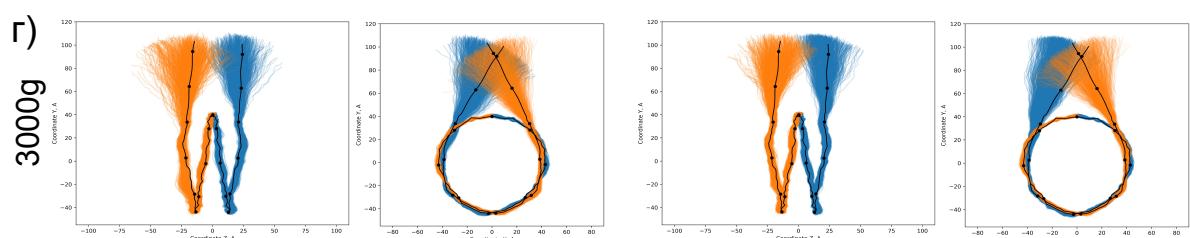
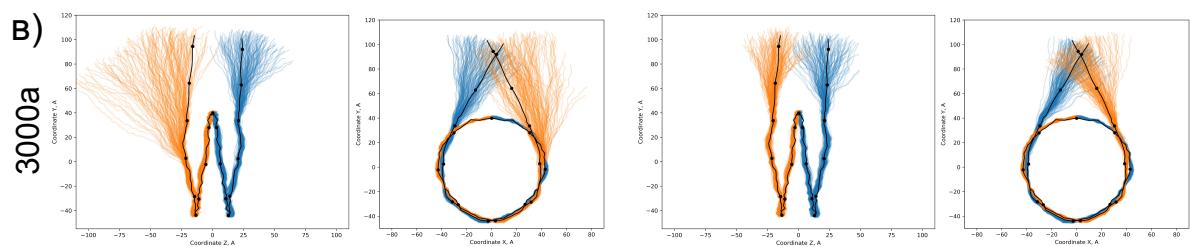
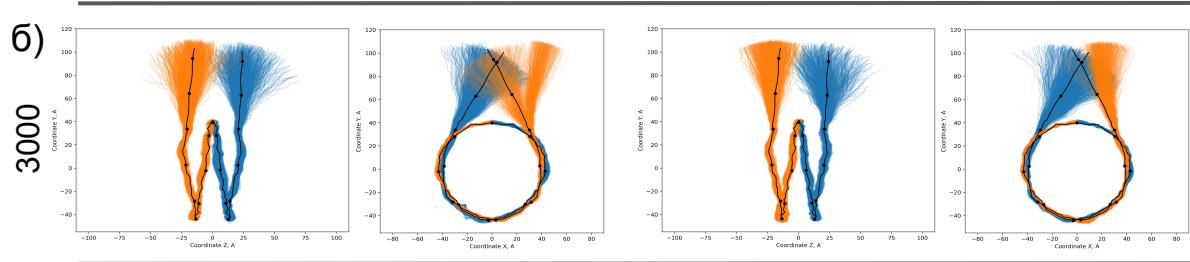
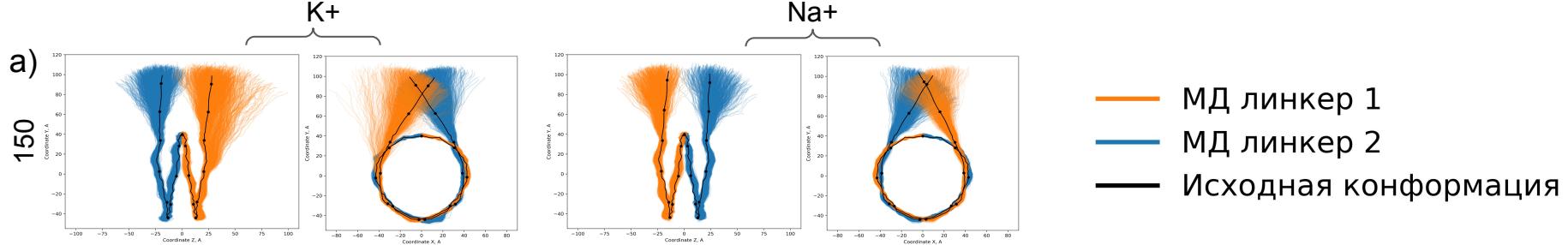
- Исходные кристаллическая структура: 1KX5
- Добавлены ДНК-линкеры длиной 20 пар нуклеотидов
- Удалены подвижные концевые хвосты гистонов
- Водное окружение (модель воды TIP3P), ионы K⁺ / Na⁺ и Cl⁻ (концентрации 150 мМ / 3 М)
- Температура 300 К
- Наименьшее расстояние до края ячейки - 2 нм
- Силовое поле AMBER14SB + parmbsc1 + cufix
- Суммарная длина траекторий: KCl 150 мМ - 1,5 мкс, NaCl 150 мМ - 1 мкс, KCl 3 М - 2 мкс, NaCl 3 М - 2 мкс

	K150/Na150	K3000a/Na3000a	K3000/K3000g/Na3000/Na3000g
Нуклеосома	24198	24198	24198
K ⁺ /Na ⁺	577	7557	5723
Cl ⁻	271	7251	5417
Вода	99490	119461	89184

Количество ионов в системах

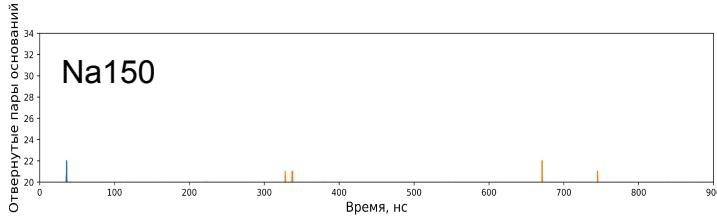
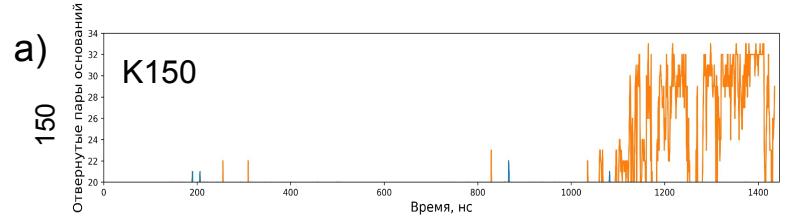
Гистон H2A Гистон H2B Гистон H3 Гистон H4 ДНК K⁺ Cl⁻



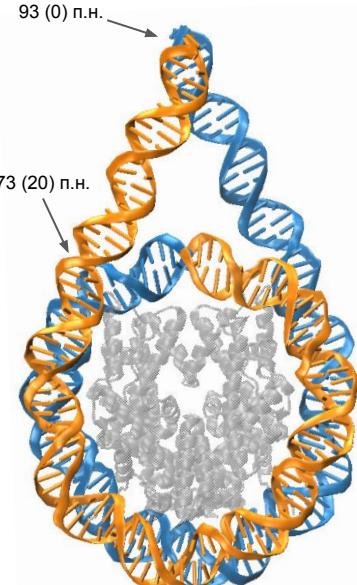
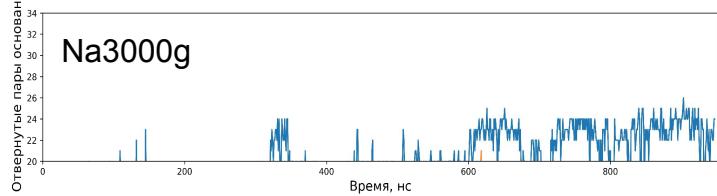
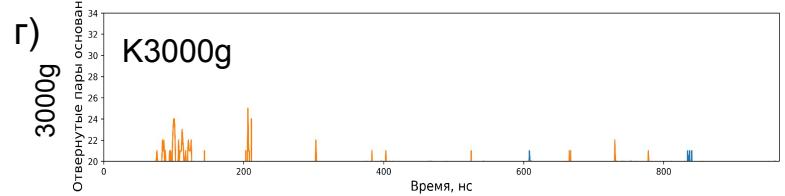
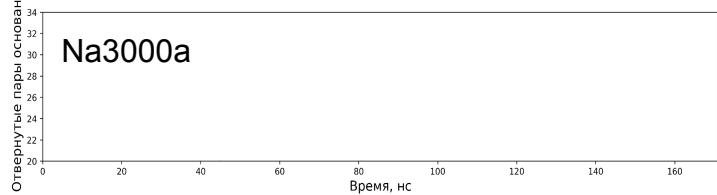
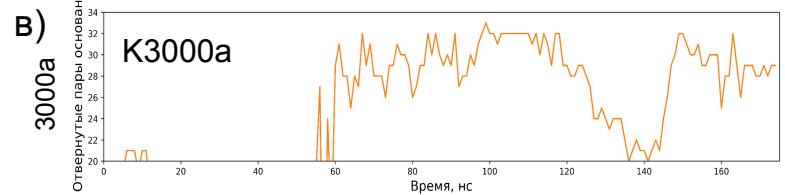
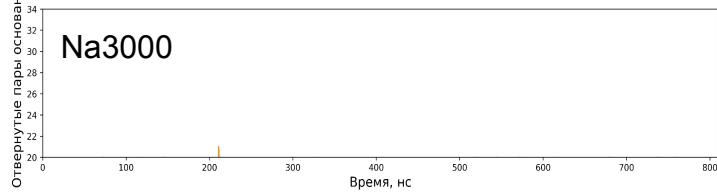
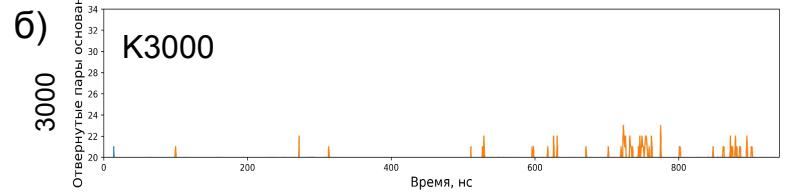


д)

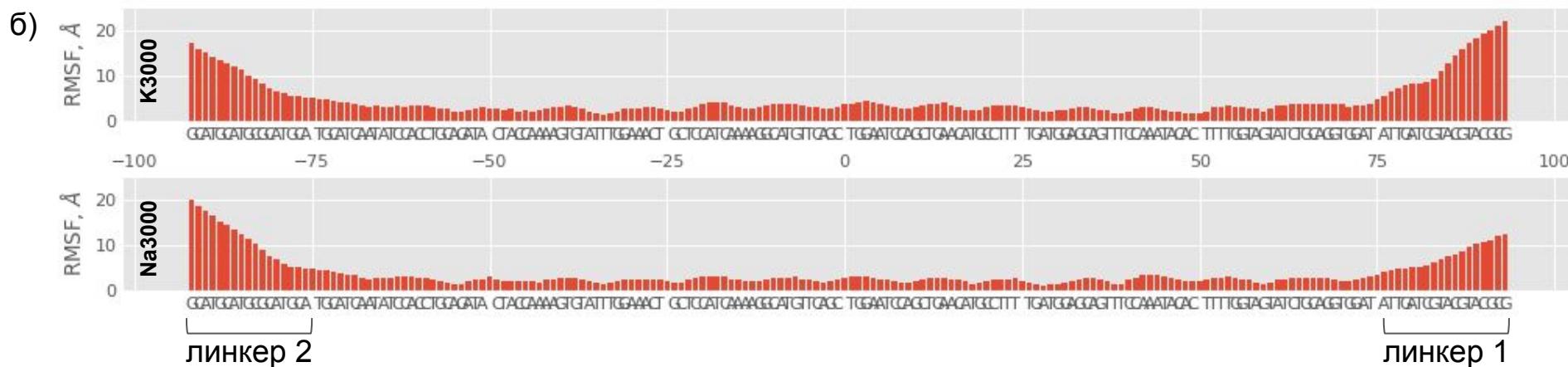
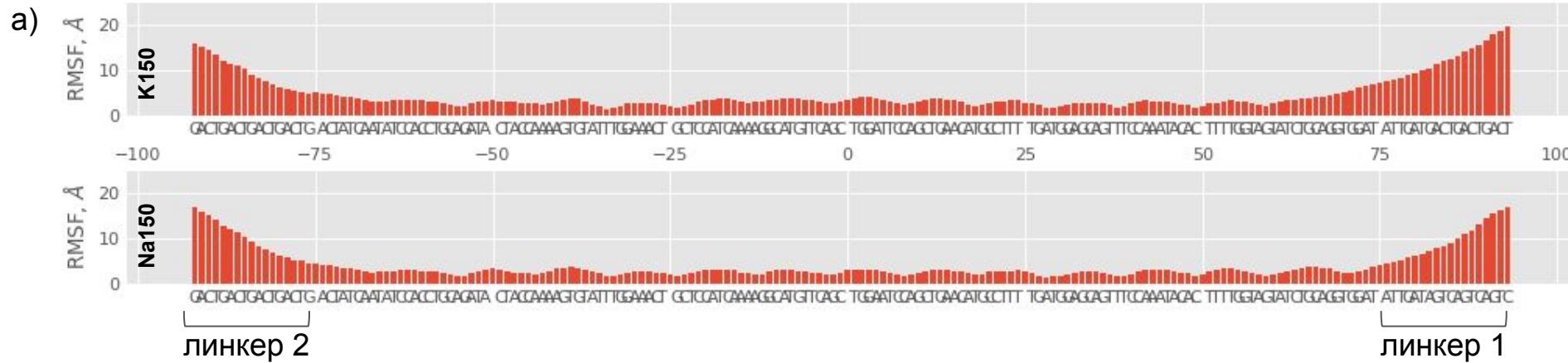
Динамика отворачивания нуклеосомной ДНК

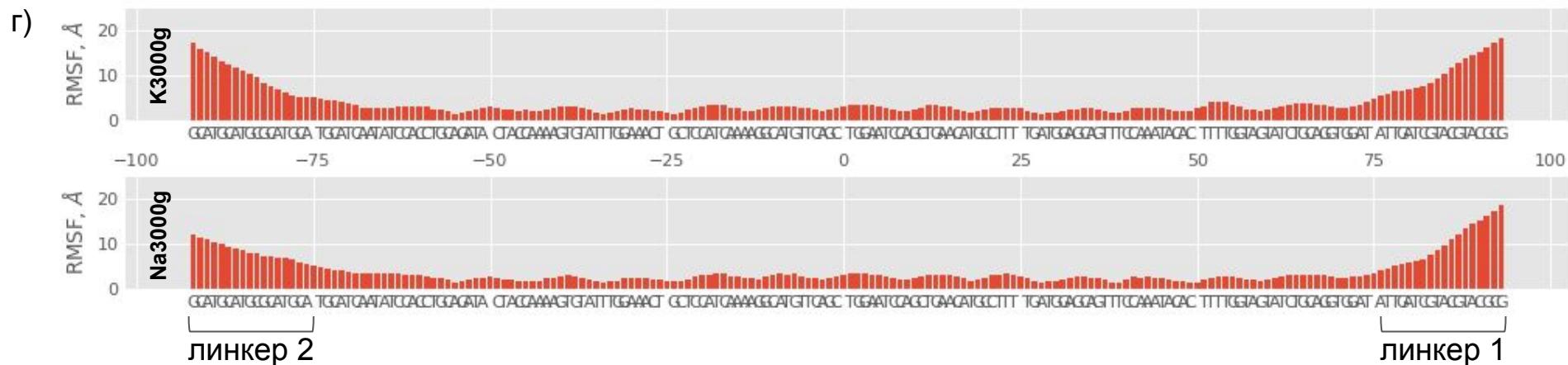


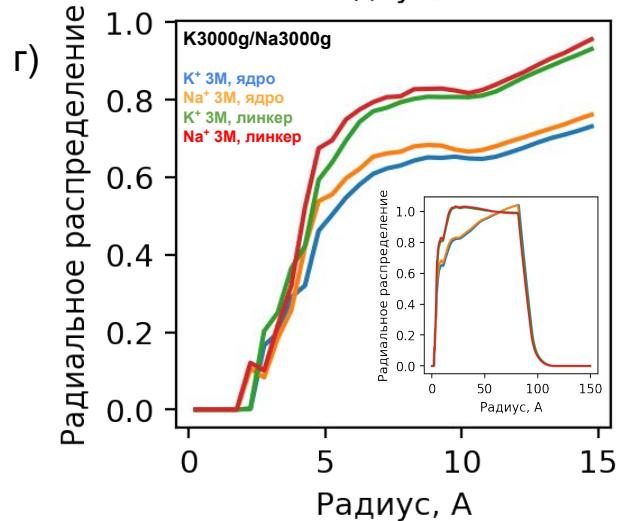
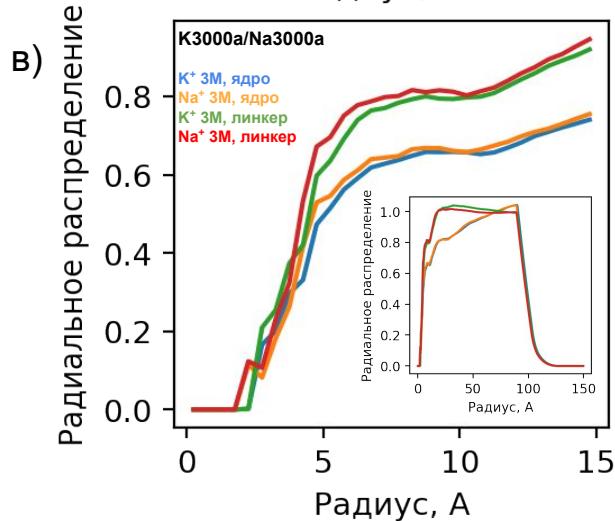
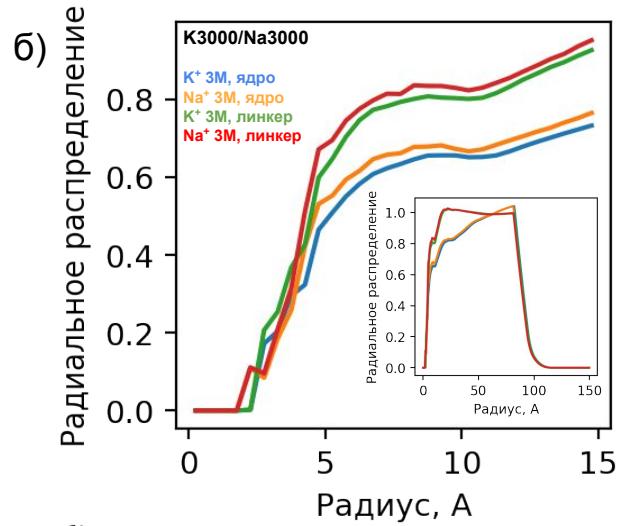
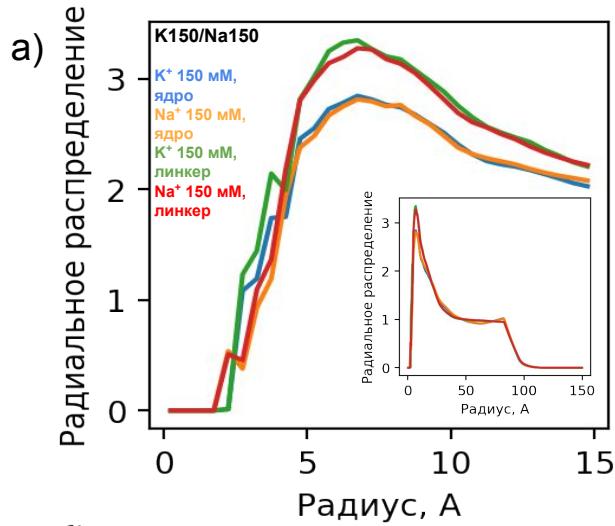
— линкер 1
— линкер 2

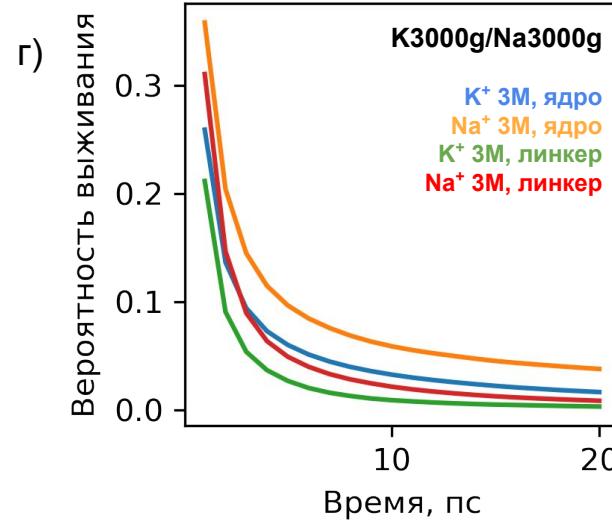
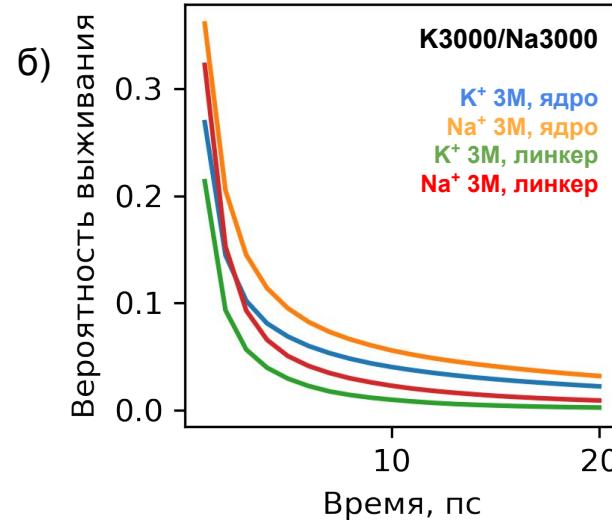
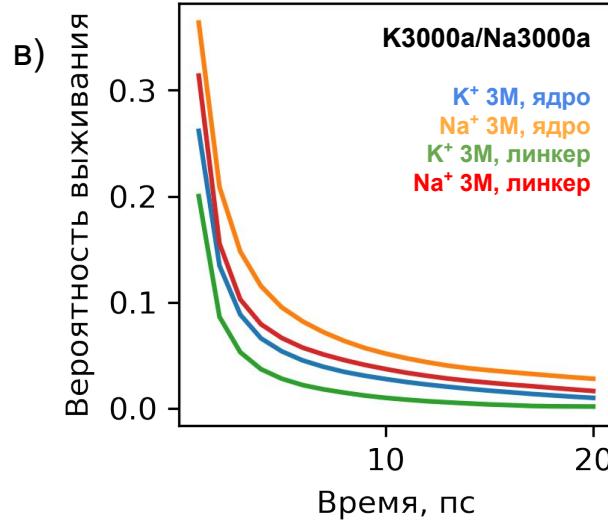
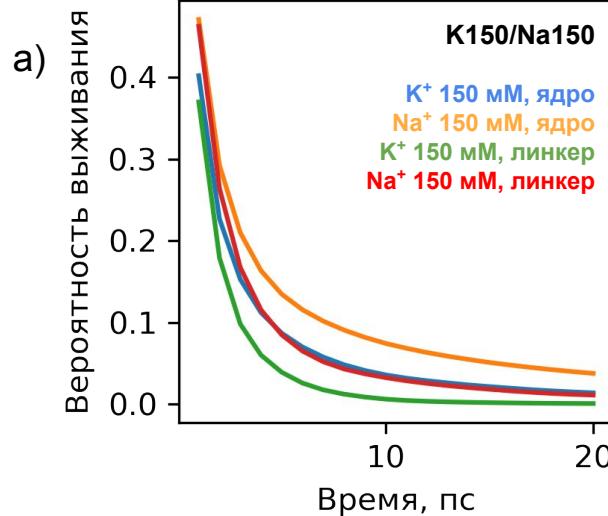


д)





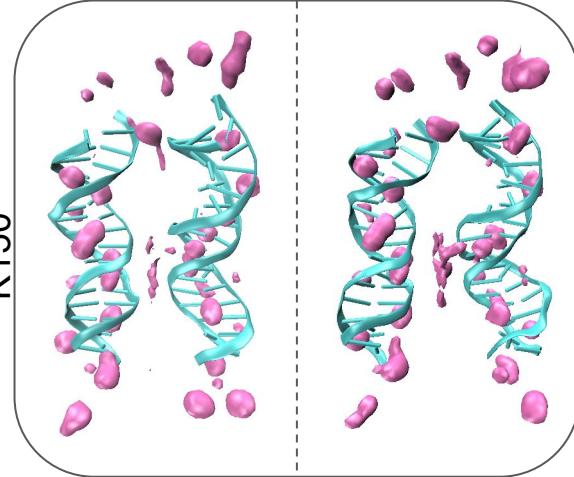




Линкер 1

Линкер 2

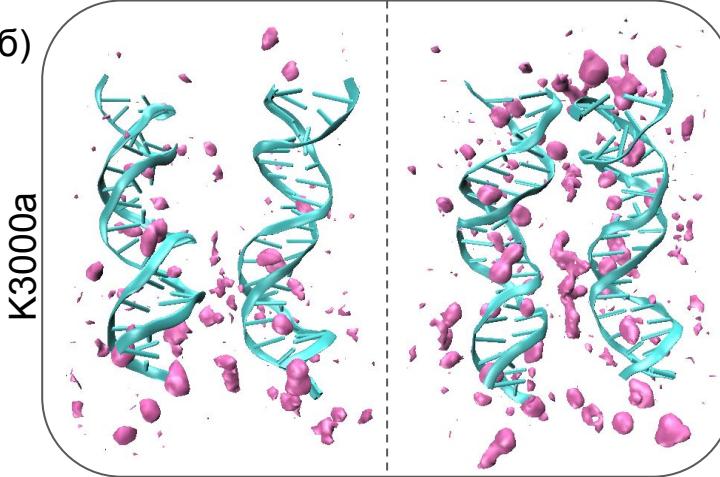
а)



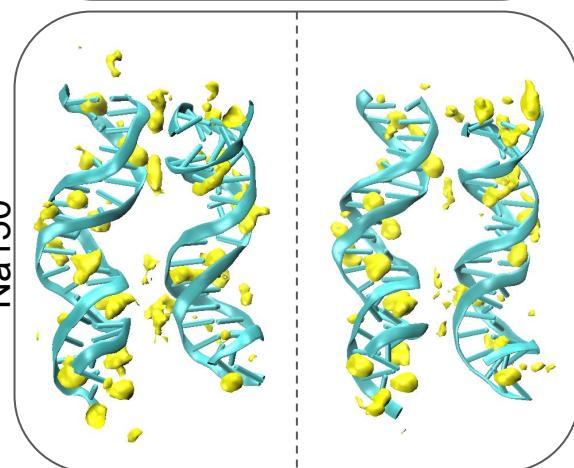
Линкер 1

Линкер 2

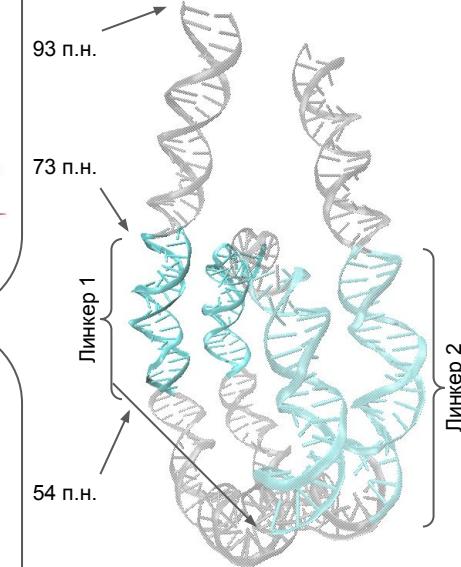
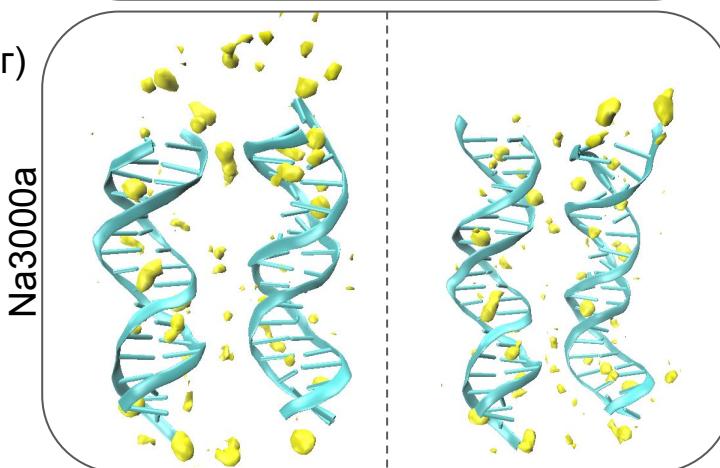
б)

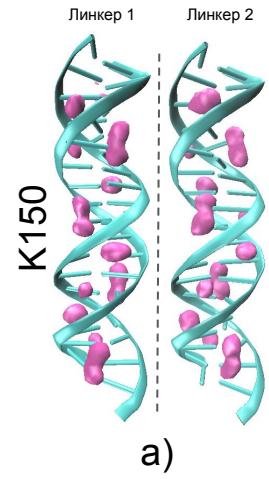


в)

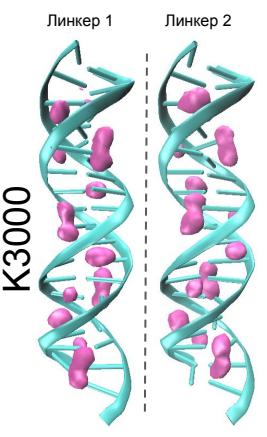


г)

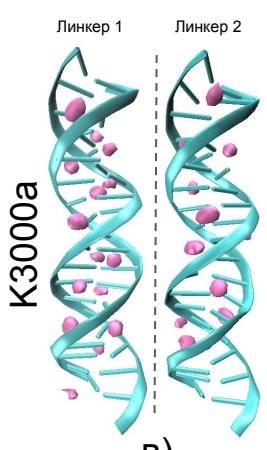




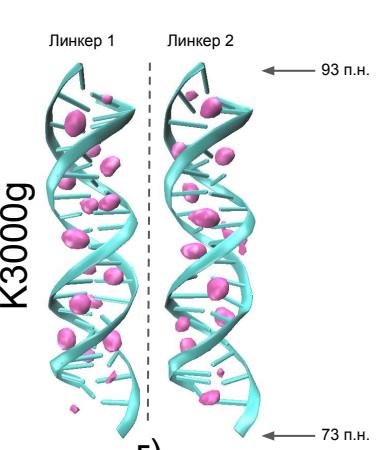
а)



б)

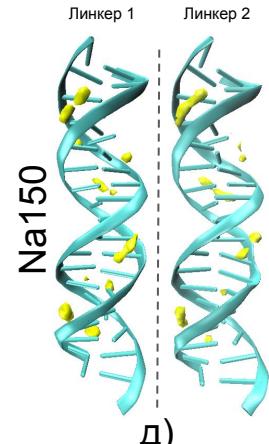
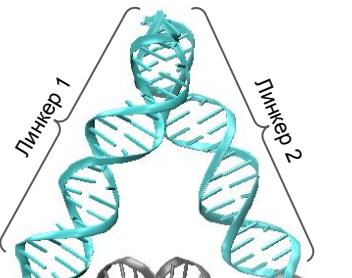


в)

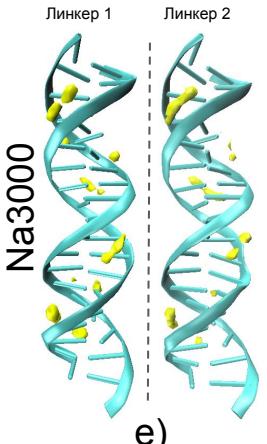


93 п.н.

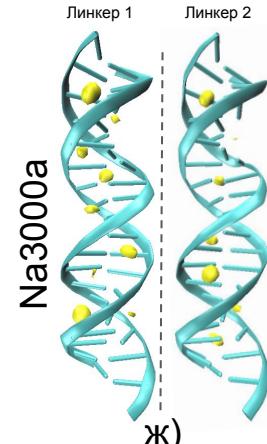
Г)



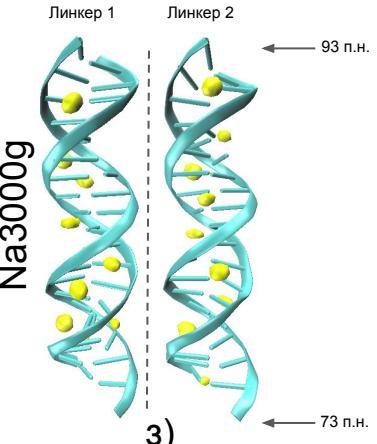
д)



е)



ж)



93 п.н.

з)

И)