

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биоинженерии

Косарим Никита Александрович

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ТИПА МОНОВАЛЕНТНЫХ КАТИОНОВ НА СТРУКТУРУ И
ДИНАМИКУ ЛИНКЕРНОЙ ОБЛАСТИ НУКЛЕОСОМЫ

Выпускная квалификационная работа магистра

Научный руководитель:
доктор физико-математических наук
А.К. ШАЙТАН

Москва – 2022 г.

Оглавление

Список сокращений.....	3
Терминология.....	4
Введение.....	5
Глава 1. Обзор литературы.....	6
1.1 Устройство хроматина.....	6
1.2 Ионное окружение хроматина.....	13
1.3 Сравнение ионов натрия и калия.....	21
1.4 Заключение.....	27
Глава 2. Материалы и методы.....	29
2.1 Основы метода молекулярной динамики.....	29
2.2 Подготовка систем для вычислений.....	30
2.3 Проведение вычислений.....	32
2.4 Анализ траекторий.....	34
Глава 3. Результаты и их обсуждение.....	35
3.1 Рассматриваемые системы.....	35
3.2 Проекции ДНК нуклеосом.....	36
3.3 Подвижность линкеров.....	38
3.4 Отворачивание нуклеосомной ДНК.....	40
3.5 Радиальное распределение ионов вокруг ДНК.....	42
3.6 Временное распределение ионов вокруг ДНК.....	45
3.7 Пространственное распределение ионов.....	47

Заключение.....	50
Выводы.....	51
Список литературы.....	52

Список сокращений

МД – молекулярная динамика

NCP – nucleosome core particle (нуклеосомное ядро)

PARP1 – Poly(ADP-ribose)-polymerase 1 (поли(АДФ-рибоза)-полимераза 1)

FRET – Forster resonance energy transfer (Фёрстеровский резонансный перенос энергии)

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

ASAXS – anomalous small-angle X-ray scattering (аномальное малоугловое рассеяние рентгеновских лучей)

BE-AES – buffer equilibration – atomic emission spectroscopy (буферное уравновешивание - атомно-эмиссионная спектроскопия)

BE-ICP-MS – (buffer equilibration – inductively coupled plasma mass spectrometry (буферное уравновешивание – масс-спектрометрия с индуктивно связанный плазмой)

CIP – contact ion pair (контактная ионная пара)

SIP – solvent separated ion pair (разделенная растворителем ионная пара)

п.н. – пара нуклеотидов

RMSF – root mean square fluctuation (среднеквадратичное колебание)

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

Терминология

Мононуклеосома – одна нуклеосома, в состав которой входят гистоновый октамер, нуклеосомная ДНК и линкерная ДНК

Коровые гистоны – гистоны нуклеосомного ядра (H2A, H2B, H3, H4)

Нуклеосомное ядро – октамер гистонов, обернутый в ДНК длиной 147 п.н.

Нуклеосомная ДНК – ДНК в составе нуклеосомного ядра

Линкерная ДНК – ДНК не в составе нуклеосомного ядра, соединяющая соседние нуклеосомы

Линкерная область – область пространства вокруг линкерной ДНК

Противоионы – ионы, имеющие заряд, противоположный заряду потенциалопределяющих молекул или ионов

Коионы – ионы, имеющие заряд, идентичный заряду потенциалопределяющих молекул или ионов

Введение

На сегодняшний день большинство экспериментальных работ по исследованию хроматина и различных уровней его компактизации, в частности нуклеосомы, проводятся в средах с добавлением соли NaCl и, соответственно, высоким содержанием ионов натрия. Однако, подобное окружение не соответствует таковому *in vivo*: в клетках доминирующим ионом является ион калия. Таким образом, в экспериментах воспроизводятся неестественные условия, что может повлиять на получаемые результаты. Конечно, существует ряд работ, которые говорят о практически полной идентичности ионов натрия и калия в их влиянии на структуру и динамику хроматина и нуклеосом, в частности, однако еще больше исследований говорят в пользу существенного различия влияния типа ионов. Таким образом, данная работа посвящена изучению влияния типа моновалентных катионов на структуру и динамику мононуклеосом методом молекулярной динамики.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Устройство хроматина

1.1.1 Компактизация ДНК

В эукариотических клетках наследственная информация хранится в ядре в виде ДНК. Известно, что суммарная длина ДНК, содержащейся в одной эукариотической клетке, в развернутом состоянии может достигать метров [8]. Например, длина ДНК в одной клетке млекопитающих составляет около двух метров [74]. Поэтому, для размещения ДНК в клеточном ядре, диаметр которого составляет около 10 мкм [74], она должна быть упакована в достаточно компактный нуклеопротеидный комплекс — хроматин.

1.1.2 Гистоновые белки

Ключевую роль в компактизации ДНК в эукариотических клетках играют гистоны, представляющие собой глобулярные белки с одним или двумя неструктуризованными концевыми хвостами, несущими сильный положительный заряд благодаря наличию в их составе большого количества остатков лизина и аргинина. Гистоновые белки делятся на гистоны нуклеосомного ядра (так называемые «коровьи» гистоны от англ. core - ядро) и линкерные гистоны. Существует четыре основных гистона нуклеосомного ядра: H2A, H2B, H3, H4 и линкерный гистон H1, каждый из которых имеет несколько разновидностей в зависимости от типа клетки, стадии клеточного цикла и некоторых других факторов [50].

1.1.3 Нуклеосома

Элементарной единицей компактизации ДНК можно назвать нуклеосому. Она сформирована октамером гистонов (два димера H2A-H2B в комплексе с тетramerом H3-H4/H3-H4), вокруг которого в левостороннюю спираль в 1,67 оборота обернута ДНК длиной около 147 пар нуклеотидов (Рисунок 1). Данная структура также называется ядром нуклеосомы или NCP (nucleosome core particle) [47, 76].

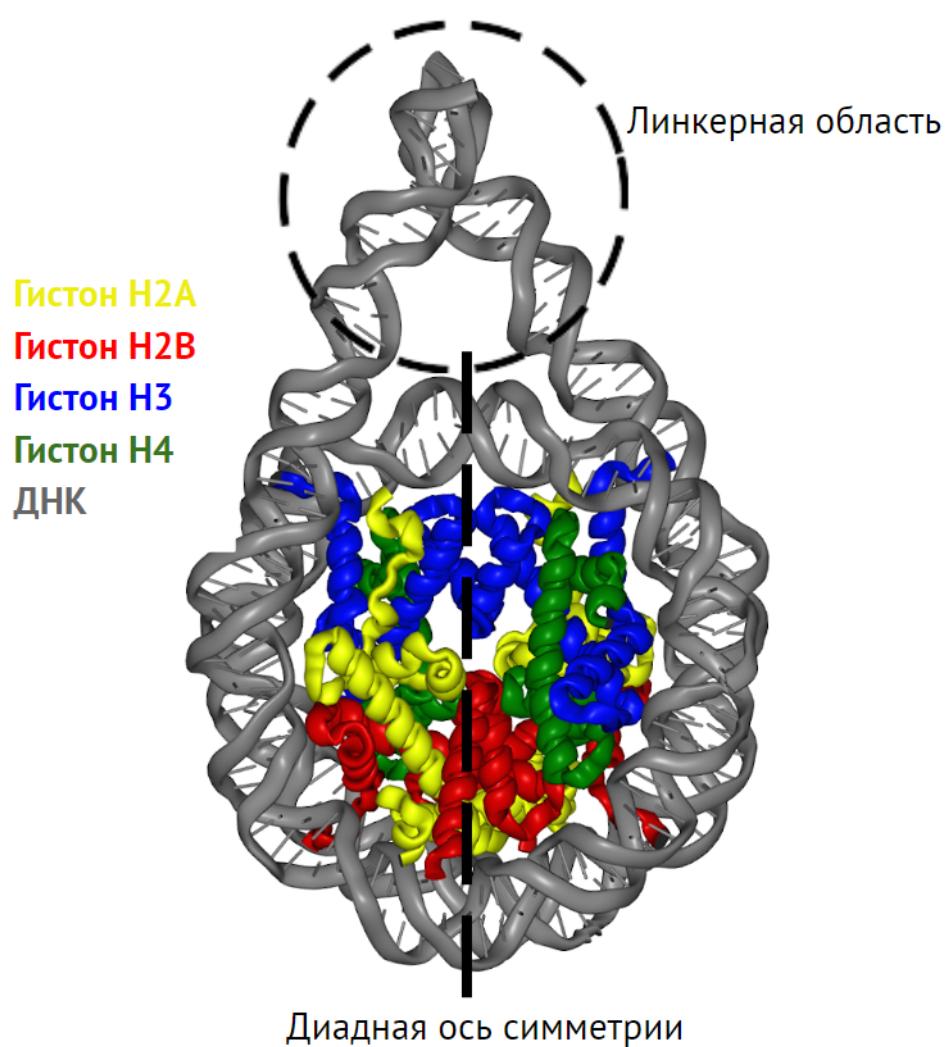


Рисунок 1. Молекулярная модель нуклеосомы.

Соседние нуклеосомы соединены, так называемой, линкерной ДНК длиной от 10 до 90 пар нуклеотидов, различающейся в зависимости от вида организма, типа клетки, стадии клеточного цикла и местоположения в ядре клетки [3, 44]. Последовательный ряд нуклеосом, связанных линкерной ДНК, называется 10-нанометровой фибриллой (10 нм — диаметр нуклеосомы) или «бусами на нитке».

1.1.4 Хроматосома и линкерный гистон H1

Последующая компактизация осуществляется посредством линкерных гистонов, которые связываются с нуклеосомами в соотношении один к одному в так называемой линкерной области, взаимодействуя с линкерной ДНК и формируя хроматосому. Линкерные гистоны стабилизируют нуклеосомы и обуславливают дальнейшую упаковку полинуклеосомной цепи, регулируя межнуклеосомные взаимодействия [50].

1.1.5 Более высокие уровни укладки хроматина

Традиционно следующим этапом упаковки генома считалось формирование так называемой 30-нанометровой фибриллы, представляющей из себя ряд тем или иным способом компактно уложенных нуклеосом, в том числе с помощью линкерного гистона H1. Однако, данные относительно её точного строения противоречивы. Существует несколько моделей строения 30-нанометровой фибриллы (Рисунок 2), полученных как экспериментально *in vitro*, так и с помощью молекулярного моделирования [82, 83, 89].

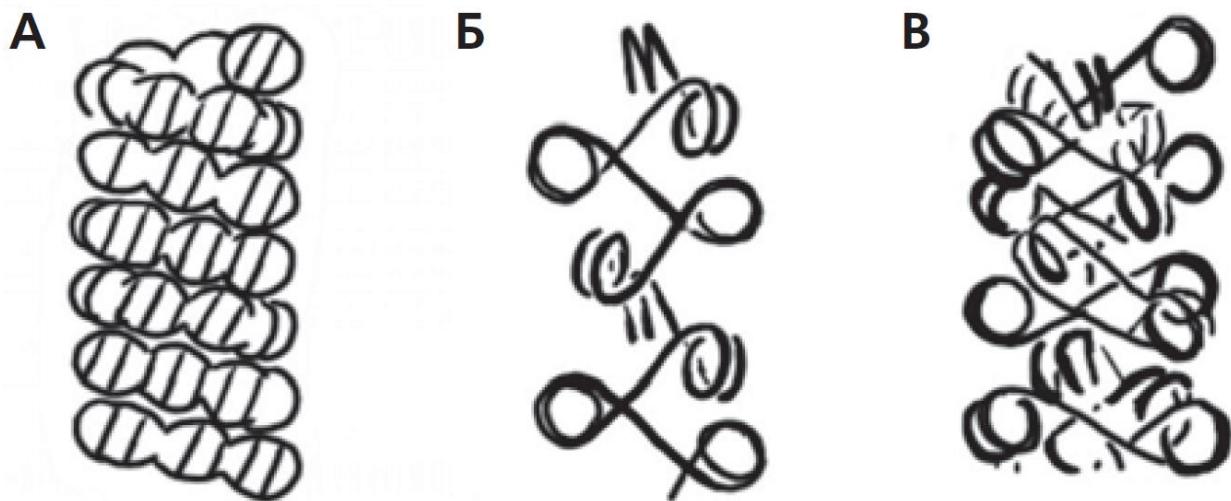


Рисунок 2. Схемы моделей 30-нм фибриллы: соленоид (А) и зигзаг (Б и В) [1].

В свою очередь, ряд исследований замороженных гидратированных срезов различных клеток методом криоэлектронной микроскопии, который позволяют наблюдать биологические образцы в почти нативном состоянии, не выявил наличия в клетках 30-нанометровых фибрилл [15, 23, 62]. Таким образом, на сегодняшний день 30-нанометровую фибриллу стоит рассматривать не как однородную функциональную единицу, а как обобщение различных временных конформаций, принимаемых нуклеосомной нитью в зависимости от окружающих условий, а ключевой структурой хроматина считать 10-нанометровую фибриллу [51].

1.1.6 Линкерная область нуклеосомы

Линкерная ДНК является функционально важным регионом, связанным со следующими после нуклеосомного этапами компактизации генома и динамическими процессами, протекающими в хроматине. Во-первых, это обусловлено тем, что длина и конформация линкерной ДНК способны оказывать влияние на формирование хроматиновой фибриллы и её параметры. Во-вторых, линкерная ДНК — место связывания многочисленных структурных

и регуляторных белков, включая линкерный гистон H1, факторы транскрипции и её регуляции, такие, как РНК-полимераза и PARP1. Также длина и конформация линкерной ДНК [49].

Вследствие отсутствия чётко выраженной и стабильной структуры линкерной области нулеосомы данный регион крайне сложен для исследования. На данный момент существуют предположения, подкреплённые анализами методом FRET, относительно существования нескольких вероятных структур линкерной области, все из которых согласуются с известным значением персистентной длины ДНК (около 50 нм) [30]. В первом случае, который является крайне маловероятным, линкеры рассматривают как прямые и жесткие, во втором – как имеющие изгибы. В любом случае, даже при добавлении линкерного гистона H1, не было оснований полагать, что в растворе линкеры пересекаются. Более того, при принятии горизонтального или вертикального межлинкерного расстояния за постоянное и сопоставлении второго с результатами FRET, на основе расчетов делают вывод об изгибе линкеров наружу [85]. Данное явление, вероятно, может быть результатом взаимодействия линкерной ДНК с хвостами гистонов нуклеосомного ядра. В пользу данного предположения также говорят результаты криоэлектронной микроскопии нуклеосом с длинными линкерами (256 пар нуклеотидов) без линкерного гистона H1, которые демонстрируют отсутствие пересечения линкеров и их расхождение относительно оси симметрии под углом $32^\circ \pm 20^\circ$ [85]. Описанные свойства линкерной области серьезно затрудняют исследование ее структуры с применением традиционных методов анализа структуры макромолекул, таких, как рентгеноструктурный анализ и криоэлектронная микроскопия. Методики с применением FRET позволяют частично преодолеть указанные затруднения, а также оценить динамические свойства линкерной области нуклеосом и их комплексов с различными белками, что немаловажно для понимания связи структуры и функций. Еще одним методом, позволяющим анализировать структуру и динамику линкерной

области является молекулярное моделирование.

1.2 Ионное окружение хроматина

1.2.1 Вода и ионы

Ионное окружение — один из ключевых факторов биологической системы. Ионы играют множество ролей в определении структуры, динамики и функций нуклеиновых кислот [71, 81]. Примером их важности, например, служит тот факт, что молекулы ДНК, самой важной биомолекулы, не способны сохранять свою классическую форму двойной спирали в среде с недостаточной концентрацией ионов, так как сильное электростатическое отталкивание отрицательно заряженных фосфатных групп приведет к разделению комплементарных нитей [65]. В контексте данной работы наиболее интересными являются моновалентные катионы натрия (Na^+) и калия (K^+), поэтому в дальнейшем рассматриваться будут только они.

Внутри клеток концентрация ионов калия превышает концентрации всех остальных ионов и составляет 140-160 мМ. Тем не менее, внеклеточная концентрация ионов калия составляет всего 4-5 мМ. Противоположная ситуация наблюдается для ионов натрия с внеклеточной концентрацией 140-150 мМ и внутриклеточной концентрацией 5-15 мМ. Существует ряд гипотез, предполагающих причины подобного распределения, хотя какого-либо универсального объяснения до сих пор не найдено [44]. Одна из гипотез такого распределения ионов, по крайней мере для эукариотических клеток, говорит о более эффективной реализации ассоциированных с хроматином процессов в калиевом окружении по сравнению с натриевым. Таким образом, натриевое ионное окружение является неестественным для внутриклеточной ДНК *in vivo*. Тем не менее, по исторически сложившейся традиции большинство экспериментальных работ, связанных с изучением нуклеосом, проводятся в средах, содержащих ионы натрия.

Некоторые работы демонстрировали идентичность экспериментальных результатов, полученных в калиевых и натриевых растворах [13, 41, 42, 43]. Тем не менее, на сегодняшний день все больше исследователей заявляют о заметном различии между этими ионами и о необоснованности продолжения проведения экспериментальных работ в натриевом окружении.

Несмотря на очевидную схожесть ионов натрия и калия, которая на данный момент дает повод использовать в экспериментах с нуклеосомами натрий вместо калия, данные ионы не идентичны и обладают рядом принципиальных различий, которые, вероятно, могут значительно повлиять на результаты экспериментов. Ключевым различием является диаметр ионов: у натрия он меньше, чем у калия. В то же время диаметр гидратной оболочки натрия больше, чем калия. Эти различия могут влиять на распределение ионов в пространстве вокруг нуклеосомы и особенности их взаимодействия с нуклеосомой, что в свою очередь может оказывать влияние на структуру и динамику нуклеосомы.

1.2.2 Электростатика нуклеосомы

ДНК — один из самых заряженных полимеров в природе, несет два отрицательных заряда, представленных фосфатными группами, на каждую пару оснований, которые генерируют вокруг молекулы сильное отрицательно заряженное электростатическое поле, определяющее механические параметры ДНК и характер её взаимодействия с другими молекулами и ионами [18]. Это же поле является причиной взаимного отталкивания молекул ДНК, препятствуя их упаковке [10, 46, 64]. Таким образом, для компактизации ДНК необходимо ослабление взаимного электростатического отталкивания соседних цепей ДНК путем экранирования заряда ДНК положительно заряженными ионами и белками [6, 46].

Подобный механизм конденсации ДНК и РНК в присутствии ионов

необходим для упаковки нуклеиновых кислот не только в клетках, но и, например, в капсидах вирусов [12, 26, 47]. В эукариотических клетках после первоначального экранирования ДНК катионами становится возможным дальнейшая компактизация путем взаимодействия с гистонами и формирования нуклеосомы, что является важным шагом на пути к электростатическому скринингу отрицательных зарядов на цепи ДНК.

На интуитивном уровне можно предположить, что формирование нуклеосомы приводит к практически полному экранированию ДНК и, соответственно, слабому электростатическому полю, окружающему нуклеосому, что способствует ослаблению отталкиванию между соседними нуклеосомами и дальнейшей упаковке хроматина. Однако, существующие расчетные модели предоставляют диаметрально противоположный взгляд на электростатику нуклеосомы [22, 61, 85]. Они предсказывают, что близкое сворачивание ДНК в нуклеосоме приводит к повышенной локальной плотности отрицательного заряда и усилию электрического поля. Таким образом, несмотря на снижение общего заряда нуклеосомы по сравнению со свободной ДНК, электростатическое поле в результате формирования нуклеосомы усиливается [22, 61, 77, 85, 87]. Экспериментально это было подтверждено тем, что привлечение ионов магния, а также их конкуренция с ионами натрия сильнее по отношению к нуклеосоме, чем к свободной двуцепочечной ДНК [19].

Таким образом, процесс компактизации ДНК имеет по большей части электростатическую природу, что обуславливает его зависимость от ионного окружения.

1.2.3 Взаимодействие ионов с ДНК

При физиологических условиях положительно заряженные ионы (противоионы) окружают ДНК, формируя вокруг нее так называемую ионную

атмосферу - область вблизи поверхности молекулы ДНК, где распределение ионов отличается от такового в окружающей среде из-за электростатических взаимодействий ионов с молекулой [92]. В свою очередь отрицательно заряженные ионы (коионы) исключаются из ионной атмосферы (Рисунок 3).

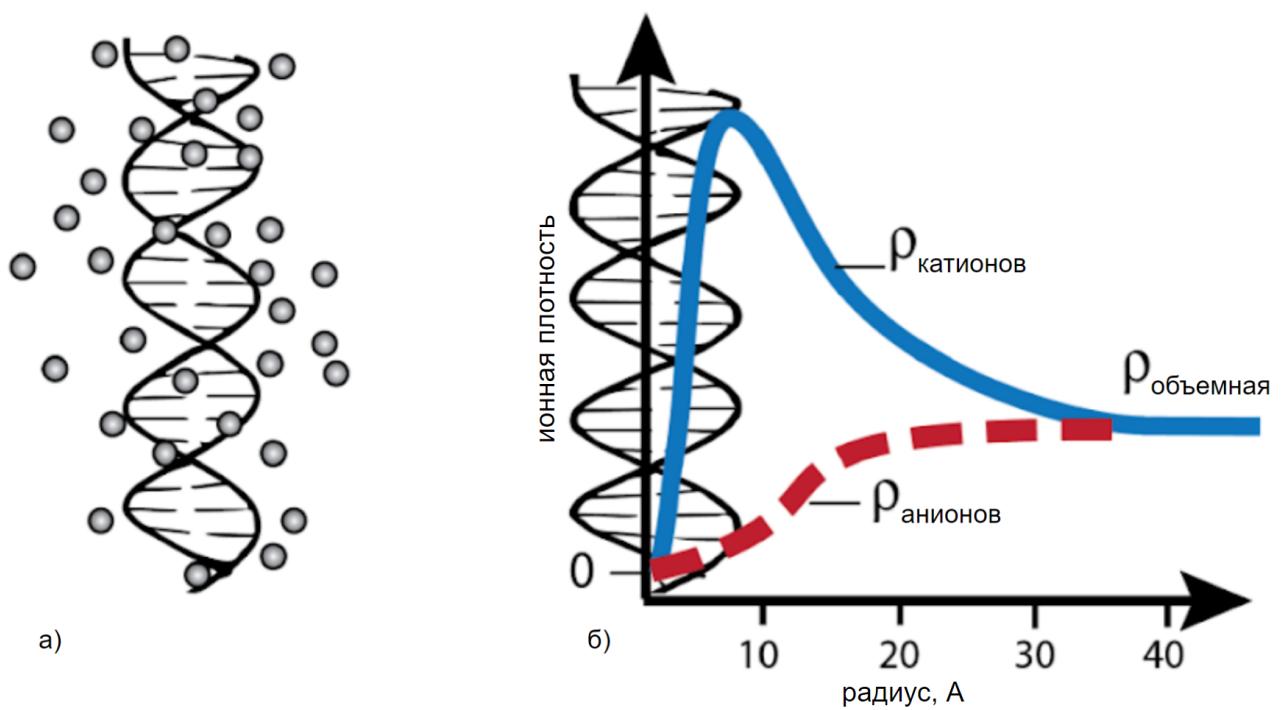


Рисунок 3. а) Схематическое изображение катионов, окружающих нуклеиновую кислоту; б) Схематическое представление плотности ионов в зависимости от расстояния до нуклеиновой кислоты, оцененное по теории Пуассона-Больцмана [19].

В 2014 году была разработана теория ионных оболочек [84], в рамках которой область вокруг оси нуклеиновых кислот разделена на четыре оболочки в зависимости от расстояния от оси ДНК: оболочка с глубоко связанными

ионами (0 — 7 Å), внутренняя оболочка (7 — 12 Å), внешняя оболочка (7 — 16 Å) и область несвязанных ионов (>16 Å).

Некоторые нюансы распределения катионов одинакового заряда вокруг ДНК не зависят от типа иона [55]. В частности, ранее было обнаружено что разные одновалентные ионы создают схожую диффузную атмосферу вокруг ДНК [16]. Методом молекулярной динамики было показано, что радиальное распределение ионов за пределами оболочки с глубоко связанными ионами (0 — 7 Å) существенно не зависит от типа одновалентных ионов. Тем не менее, нельзя сказать то же про распределение внутри этого радиуса, где детали распределения могут меняться под влиянием ионного радиуса атомов [78].

1.2.4 Методы изучения ионной атмосферы

Одним из основных инструментов для предсказания распределения ионов вокруг биомолекул в растворе служит теория Пуассона-Больцмана, сформулированная в начале прошлого века [25]. Популярной альтернативой для случаев, когда необходимо описать распределение ионов вокруг стержнеподобных молекул наподобие развернутой ДНК, является теория конденсации противоионов Мэннинга [54, 55, 56, 57, 58]. В свою очередь, экспериментальные методы позволяют проверять и подтверждать результаты вычислительных работ.

К экспериментальным методам, позволяющим исследовать ионную атмосферу ДНК относятся ЯМР, ASAXS, а также так называемые методы подсчета ионов (ion counting), среди которых BE-AES и BE-ICP-MS [19]. Методы подсчета ионов, вероятно, самые эффективные экспериментальные методы для количественного анализа распределения ионов вокруг нуклеиновых кислот [4, 9, 27, 28, 38, 68]. Тем не менее, они не предоставляют информацию о пространственном распределении и динамических характеристиках противоионов в ионной атмосфере.

Стоит отметить, что на сложность исследования ионной атмосферы влияет тот фактор, что противоионы в ионной атмосфере ДНК обладают высокой подвижностью. Даже в кристаллических структурах с высоким разрешением большинство противоионов неразрешены, что предполагает их высокую мобильность. Было показано, что коэффициент диффузии ионов в атмосфере в 10 раз больше, чем у ДНК и всего в менее чем 2 раза меньше, чем у свободных ионов [72]. ЯМР-исследования показали, что взаимодействие противоионов с ДНК непродолжительно — катионы осуществляют обмен между свободным и связанным состоянием, быстро диффундируя в ионной атмосфере [5, 11, 75]. Однако, характер движения и смены расположения ионов в ионной атмосфере до конца не ясен [92].

1.2.5 Влияние ионов на механические параметры ДНК

Ионное окружение оказывает влияние на механические характеристики ДНК, в частности, повышение концентрации катионов в диапазоне физиологических значений приводит к уменьшению персистентной длины молекулы ДНК [21] и, соответственно, к повышению её гибкости [67]. Эти эффекты лежат в основе компактизации хроматина. В то же время повышение концентрации катионов выше физиологических значений оказывает минимальное влияние на персистентную длину ДНК, что было продемонстрировано как экспериментально, так и с помощью МД [88].

1.2.6 Сайты связывания ионов с ДНК

Положительно заряженные ионы имеют предпочтительные электроотрицательные сайты взаимодействия с нуклеиновыми кислотами [20, 29, 31, 33, 34, 35, 70], формируя вокруг них так называемые «облака плотности». К таким сайтам относятся, например, малая и большая бороздки, а также фосфатные группы ДНК.

Несмотря на то, что набор ион-координирующих атомов не зависит от типа иона, от него зависят детали ионного распределения как между сайтами, так и внутри них. Например, согласно имеющимся результатам кристаллографии, ЯМР и моделирования, ионы калия предпочтительно связываются с большой бороздкой, а натрия — с малой [20, 32, 59, 90].

Помимо общих для ионов натрия и калия сайтов связывания с ДНК также существуют и специфические сайты. Однако, количество доступных экспериментальных данных о специфичных сайтах связывания ионов натрия и калия с ДНК крайне ограничены, а сами подобные сайты вносят относительно небольшой вклад в общее количество связанных ионов.

1.3 Сравнение ионов натрия и калия

1.3.1 Аффинность ионов к ДНК

Вопрос о сравнительной аффинности ионов натрия и калия к ДНК до сих пор однозначно не разрешен. Некоторые вычислительные работы говорят о большей аффинности натрия, объясняя это рядом причин: (1) ионы натрия, обладающие меньшим размером, лучше проникают вглубь молекулы ДНК; (2) ионы натрия испытывают больший электростатический потенциал около поверхности ДНК; (3) ионы натрия практически не формируют кластеры с ионами хлора в отличие от ионов калия [79].

В свою очередь, результаты экспериментальных работ неоднозначны. Более ранние исследования говорят о большей аффинности калия [93]. Более актуальные работы, проведенные в том числе и методом счета ионов, говорят о том, аффинность ионов натрия и калия к ДНК не различается или различается незначительно [9, 42, 45]. Анализируя вышеупомянутые работы можно прийти к выводу, что аффинность значительно зависит от метода исследования.

1.3.2 Эффективность компактизации ДНК

Еще одним параметром, по которому можно сравнить влияние типа ионов на ДНК, является способность ионов компактизировать ДНК. Под компактизацией ДНК, в частности, подразумевается взаимное сближение расположенных рядом друг с другом молекул ДНК в том или ином ионном окружении. В контексте нуклеосомы опосредованные ионами взаимные электростатические взаимодействия цепей ДНК предположительно могут оказывать воздействие на структуру и динамику нуклеосомы.

Согласно теории ионных оболочек, вероятность конденсации ДНК прямо пропорциональна количеству ионов на расстоянии от 12 до 16 Å от оси ДНК. В расчетах с одиночными молекулами ДНК существенной разницы в количестве ионов натрия и калия во внешней оболочке ДНК выявлено не было. В некоторых случаях количество ионов натрия превышало количество ионов калия, но этот эффект не был систематическим, так как во многих случаях количество ионов не отличалось [40].

Тем не менее, в молекулярно динамических расчетах с двумя молекулами ДНК, закрепленных параллельно на расстоянии около 22 ангстрем, количество ионов натрия в пересечении внешних ионных оболочек было больше, чем количество ионов калия в широком диапазоне концентраций. В натриевом окружении молекулы ДНК находились ближе друг к другу, чем в калиевом окружении, что говорит о более слабом взаимном электростатическом отталкивании нитей ДНК в присутствии натрия по сравнению с калием. Ионы обоих типов предпочтительно скапливались в пересечении малых бороздок, где взаимодействовали одновременно с обеими молекулами ДНК, порождая притяжение. В пересечении малых бороздок, как и в пересечении внешних ионных оболочек нитей ДНК, количество ионов натрия было больше, чем количество ионов калия. Таким образом, сближение ДНК в присутствии ионов

натрия более энергетически выгодно, чем в присутствии ионов калия в широком диапазоне концентраций.

Этот вывод неоднократно подтверждался с помощью различных экспериментальных методов, которые в том числе продемонстрировали компактизирующую способность ионов натрия не только на ДНК [93], но также и на полинуклеосомные цепи [3]. Стоит отметить, что предположительные механизмы компактизации ионами натрия на разных уровнях различаются. Таким образом, по сравнению с ионами калия, ионы натрия эффективнее упаковывают ДНК и полинуклеосомные цепи и, соответственно, могут в большей степени подавлять естественную динамику, которая необходима для осуществления ассоциированных с хроматином жизненно важных процессов. Тем не менее, на уровне мононуклеосом наблюдается противоположный эффект — в калиевом окружении нуклеосома приобретает более компактную конформацию, этот вывод можно сделать по результатам FRET экспериментов [49].

1.3.3 Влияние ионов на взаимодействия ДНК с белками

Как уже было сказано, первая ступень компактизации хроматина — формирование нуклеосомы, представляющей собой комплекс ДНК и октамера гистонов. Связывание ДНК и гистонов обусловлено в первую очередь электростатическими взаимодействиями между отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК и положительно заряженными боковыми цепей аминокислот аргинина и лизина через так называемые «солевые мостики» (ионные пары) [48]. На долю этих взаимодействий приходится около 57% всех контактов между ДНК и гистонами. На взаимодействия гистонов с сахарами и основаниями в малой и большой бороздках ДНК приходится еще 27% и 17% соответственно. Причем 67% всех контактов осуществляются хвостами гистонов (32% контактов с фосфатными группами, 19% контактов с сахарами и

16% контактов с основаниями) [7].

Ионные пары между ДНК и гистонами высоко динамичны: они осуществляют переход между двумя основными состояниями, в одном катион и анион контактируют напрямую, формируют водородную связь (CIP – contact ion pair – контактная ионная пара), в другом — катион и анион разделены водой (SIP – solvent separated ion pair – разделенная растворителем ионная пара). Переход между этими двумя состояниями происходит быстро в пико-наносекундном диапазоне [92].

Динамичные ионные взаимодействия могут способствовать адаптивному молекулярному узнаванию и играть термодинамическую и кинетическую роли во взаимодействиях между белками и нуклеиновыми кислотами.

Было показано, что в присутствии моно- и дивалентных катионов эти взаимодействия ослабевают, а их геометрия изменяется вследствие поляризации зарядов фосфатных групп в сторону ионов [24].

Таким образом, основная роль катионов во взаимодействиях между ДНК и гистонами заключается в регуляции данных взаимодействий, вплоть до модуляции динамики открытия и закрытия нуклеосомной ДНК путем ослабления межмолекулярных контактов.

Также стоит отметить, что при связывании белков с ДНК последняя высвобождает часть связанных противоионов. Это приводит к увеличению энтропии, чей вклад в свободную энергию взаимодействия белка с ДНК бывает довольно высок (Yu 2021). Количество связанных с ДНК ионов, равно как и эффективность их связывания, может зависеть от типа ионов, что, в свою очередь, обуславливает влияние изменения типа ионов на эффективность связывания ДНК с белками путем изменения энергии их взаимодействия.

1.3.4 Нуклеосомное дыхание

Нуклеосома, как и весь хроматин в целом, является динамичной структурой. Эта динамика играет крайне важную роль, давая возможность реализоваться жизненно важным геномным процессам — транскрипции, репликации, reparации и рекомбинации [51, 52].

Нуклеосомная динамика в основном представлена динамикой линкерной ДНК. Основной смысл нуклеосомной динамики в целом и линкерной динамики в частности заключается в регуляции степени компактации ДНК и, соответственно, её доступности для осуществляющих ассоциированные с хроматином процессы факторов. К линкерной динамике относится ряд процессов, отличающихся друг от друга амплитудой, направлением и характерным временем. Среди них нуклеосомное дыхание, затягивание/расслабление (DNA tightening/loosening), нуклеосомное скольжение (nucleosome sliding) и нуклеосомное раскрытие (nucleosome gaping) (Рисунок 4). Также существует вероятность обнаружения иных динамических процессов в нуклеосоме в будущем.

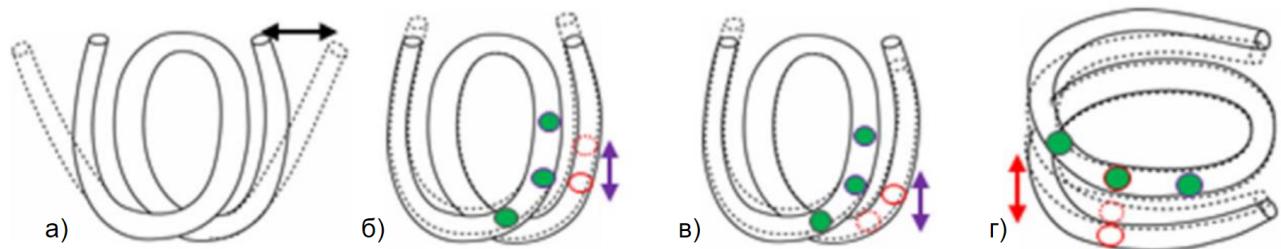


Рисунок 4. Виды нуклеосомной динамики:

а) дыхание, б) затягивание/расслабление, в) скольжение, г) раскрытие [66].

В контексте изучаемой проблемы для нас наиболее интересным процессом является нуклеосомное дыхание, которое представляет собой отворачивание около двадцати пар нуклеотидов от нуклеосомного ядра, приводящее к расхождению линкеров и частичному разворачиванию нуклеосомы. Если на полное разворачивание нуклеосом требуются секунды, а на спонтанное разворачивание нескольких витков ДНК — сотни миллисекунд, то мелкомасштабное дыхание ДНК происходит в масштабе времени от субмиллисекунд до микросекунд.

Нуклеосомное дыхание — поэтапный процесс, который инициируется разрывом взаимодействий между гистонами и ДНК. В рамках каждого этапа отворачивания ДНК осуществляет быстрые колебания во временном диапазоне от 10 до 100 наносекунд, но переходы между этапами требует значительно больше времени (микросекунды и больше) [7]. Стоит отметить, что разворачивание нуклеосомы носит асимметричный характер. Направление разворачивания контролируется относительной гибкостью внутренних участков нуклеосомной ДНК таким образом, что нуклеосома разворачивается с более жесткой стороны. В свою очередь, гибкость зависит от последовательности ДНК. Если гибкость одинакова с обеих сторон, нуклеосома стохастически разворачивается с одной из них. Более того, открытие одного конца нуклеосомы стабилизирует другой конец, приводя к асимметрии нуклеосомного разворачивания даже при небольших различиях в гибкости [66].

1.4 Цели и задачи

На динамику нуклеосомного дыхания способны оказать существенное воздействие как взаимодействия между нитями ДНК, так и между ДНК и гистонами. Также, характерные времена нуклеосомного дыхания попадают в диапазон, доступный для исследования методом молекулярной динамики.

Поэтому, молекулярная динамика является удобным инструментом для изучения влияния типа ионов в среде на структуру и динамику нуклеосомы и, в частности, линкерной области.

К сожалению, какого-то единогласия по вопросу влияния типа моновалентных катионов на структуру и динамику хроматина в целом и нуклеосомы в частности на сегодняшний день не достигнуто, а результаты существующих исследований зачастую противоречат друг другу. Конечно, существование ряда различий между ионами натрия и калия сложно отрицать, но до конца не ясно, насколько существенно они влияют на структуру и динамику нуклеосомы. Поэтому, целью данной работы является изучение влияния типа моновалентных катионов в среде на структуру и динамику нуклеосомы методом молекулярной динамики.

В соответствии с целью работы были поставлены следующие задачи:

1. Построить полноатомные модели нуклеосом с ДНК-линкерами длиной 20 пар нуклеотидов и удаленными подвижными участками хвостов гистонов в различном ионном окружении (KCl 150 mM, NaCl 150 mM, KCl 3 M, NaCl 3 M).
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.

Глава 2. Материалы и методы

2.1 Основы метода молекулярной динамики

Работа проводилась с использованием метода молекулярного моделирования и, в частности, методом молекулярной динамики. Суть метода лежит в представлении атомов в виде материальных точек, описание движений и взаимодействий которых осуществляется в соответствии с законами классической механики. Взаимодействия между точками, описывающиеся потенциальной функцией [73], можно разделить на валентные и невалентные. К валентным относятся энергии изменения длин связей, углов между связями, двугранных углов и плоских групп. К невалентным — кулоновские и Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия (1.1).

$$U = U_{\text{вал. связей}} + U_{\text{вал. углов}} + U_{\text{торс. углов}} + U_{\text{нел. групп}} + U_{\text{Ван-дер-Ваальс}} + U_{\text{кулоновские вз-я}}$$

(1.1)

Взаимодействия одной частицы со всеми другими частицами определяют потенциальную энергию этой частицы в каждый момент времени, производная потенциальной энергии определяет силу (1.2), которая в свою очередь, согласно второму закону Ньютона, определяет направление движения и величину ускорения (1.3).

$$F_i = -\frac{\delta U(r_1, \dots r_N)}{\delta r_i} \quad (1.2)$$

$$m_i \frac{d^2 r_i}{dt^2} = F_i, \quad i = 1, \dots N \quad (1.3)$$

Таким образом, при заданных изначальных положениях атомов и их скоростях проводится расчет развития системы во времени — траектории молекулярной динамики.

2.2 Подготовка систем для вычислений

Первоначальная структура, используемая в дальнейшем для сборки системы, была взята из базы данных белковых молекул Protein Data Bank (PDB). Основой системы стала рентгеновская структура ядра нуклеосомы с разрешением 1.9 Å (PDB ID 1KX5) [17].

К структуре 1KX5 были добавлены ДНК-линкеры длиной 20 пар нуклеотидов с одинаковой нуклеотидной последовательностью. Также были удалены подвижные концевые хвосты гистонов нуклеосомного ядра.

Полученная финальная структура помещалась в вычислительную ячейку

— ромбододекаэдр — с периодическими граничными условиями и минимальным расстоянием от нуклеосомы до края ячейки 2 или 3 нанометра. Затем в расчетную ячейку добавлялись молекулы воды, которая моделировалась в виде трехточечной модели TIP3P [39]. Также добавлялись ионы Na^+ и Cl^- или K^+ и Cl^- для нейтрализации суммарного заряда системы и достижения концентрации катионов 150 мМ или 3 М.

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

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

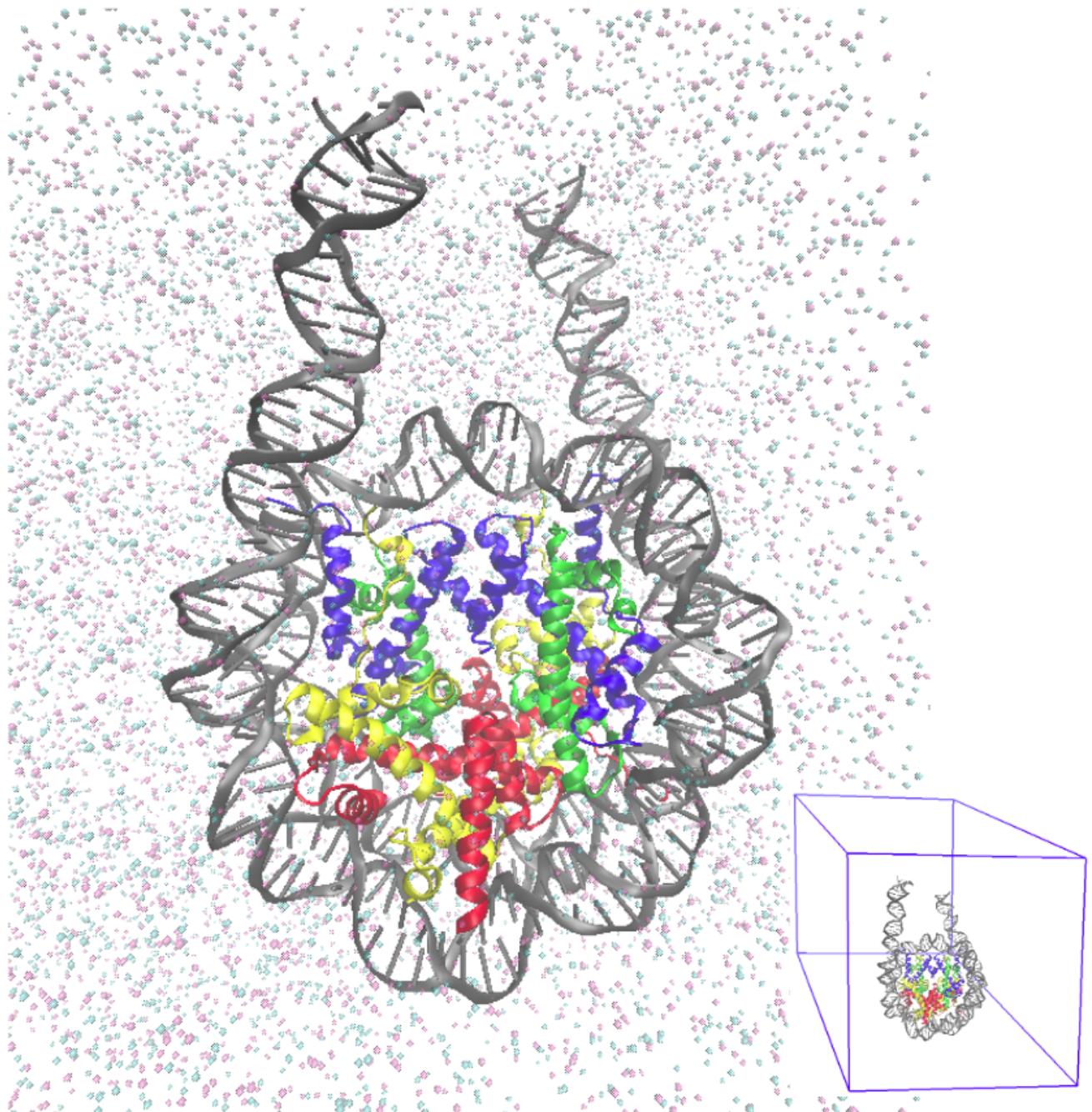


Рисунок 5. Внешний вид расчетной ячейки

2.3 Проведение вычислений

Вычисления траекторий молекулярной динамики собранных систем проводились на суперкомпьютере Ломоносов-2 [86] с помощью программного пакета GROMACS 2020.2 [2] (с ускорением на GPU). Использовалось силовое поле AMBER ff14SB [53] с parmbsc1 [37] ДНК и коррекцией параметров ионов CUFIX [91].

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/ \AA^2 . Затем проводилась эквилибрация в пять шагов:

1. 100 пикосекунд с позиционными ограничениями 500 кДж/моль/ \AA^2 с шагом интегрирования 0.5 фс;
2. 200 пикосекунд с позиционными ограничениями 50 кДж/моль/ \AA^2 с шагом интегрирования 2 фс (далее шаг сохранялся);
3. 200 пикосекунд с позиционными ограничениями 5 кДж/моль/ \AA^2 ;
4. 200 пикосекунд с позиционными ограничениями 0.5 кДж/моль/ \AA^2 ;
5. 200 пикосекунд свободная симуляция.

Система моделировалась в NPT ансамбле с температурой 300 К с использованием метода velocity rescale scheme [14] и с давлением 1 бар с использованием баростата Parrinello-Rahman [69]. Шаг моделирования молекулярной динамики составлял 2 фемтосекунды, Кадры при моделировании траектории молекулярной динамики сохранялись каждую 1 наносекунду.

2.4 Анализ траекторий

Анализ траекторий проводился с помощью разработанных нашей научной группой алгоритмов, написанных на языке Python 3, с использованием программ Gromacs (обработка траекторий, анализ главных компонент матриц ковариаций атомов), MDAnalysis [63] (работа с координатами атомов, 3D выравнивание) и VMD [36] (визуализация).

Глава 3. Результаты и их обсуждение

3.1 Рассматриваемые системы

Изучение влияния типа моновалентных катионов на структуру и динамику линкерной области нуклеосомы проводилось на восьми системах, различающихся типом катионов, расстоянием от нуклеосомы до края ячейки и временем расчета (Таблица 1).

Таблица 1. Полученные системы.

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

3.2 Проекции ДНК нуклеосом

На рисунке 6 показаны все полученные в ходе расчетов конформации линкеров в двух проекциях. На них видно, что в парах траекторий K150/Na150 и K3000a/Na3000a явно преобладает открытия линкеров в калиевом окружении. В остальных парах траекторий дать однозначную оценку сравнительной

степени линкерной динамики затруднительно.

Полученные проекции ДНК-линкеров говорят о более высокой интенсивности нуклеосомного дыхания в калиевом окружении как минимум в двух из четырех пар траекторий.

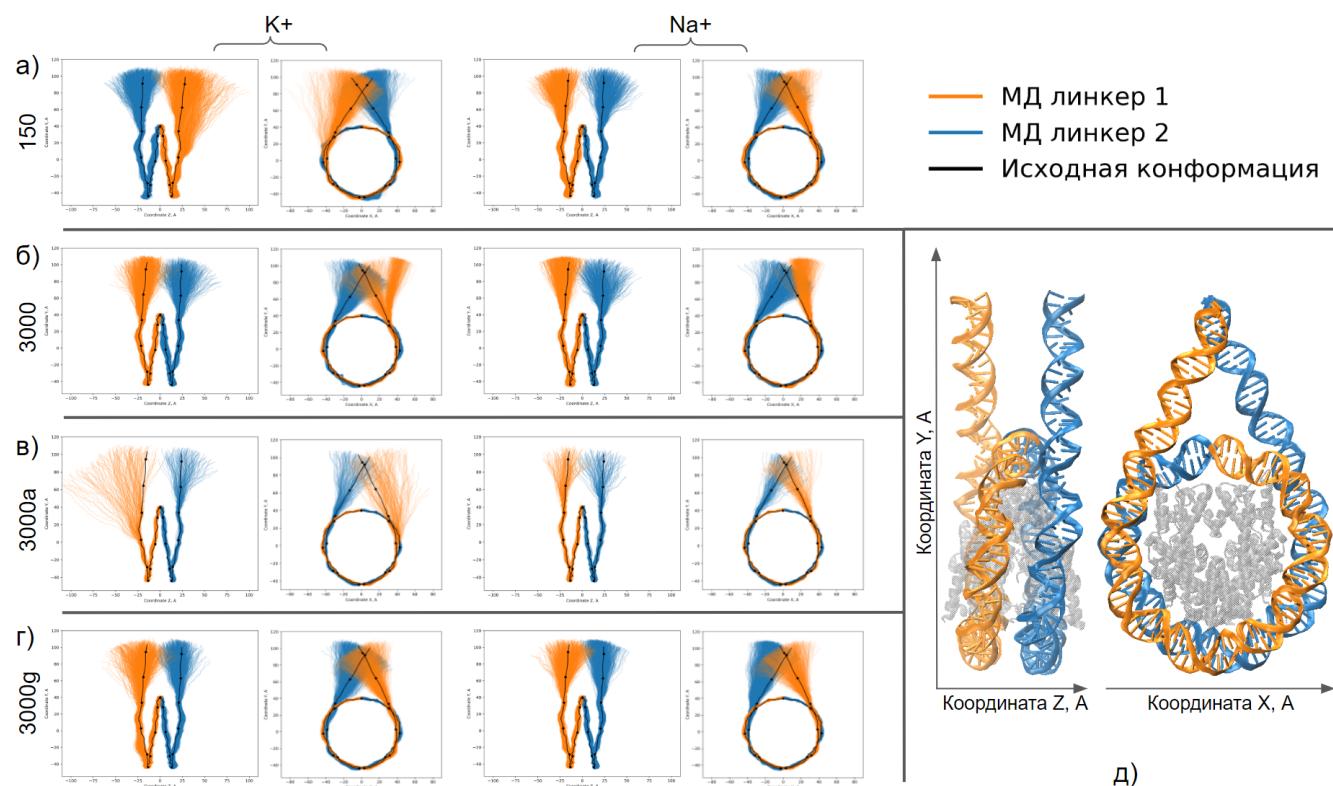


Рисунок 6. Проекции движения ДНК в течение траекторий в калиевом (слева) и натриевом (справа) окружении в парах систем а) K150 и Na150, б) K3000 и Na3000, в) K3000a и Na3000a, г) K3000g и Na3000g. д) Сравнительная молекулярная модель нуклеосомы в соответствующих проекциях.

3.3 Подвижность линкеров

Более наглядно продемонстрировать подвижности ДНК-линкеров позволяет анализ среднеквадратичного колебания (RMSF – root mean square fluctuation). Среднеквадратичное колебание показывает, насколько структура в течение траектории отличается от усредненной позиции по всей траектории. Большое значение среднеквадратичного колебания говорит о высокой подвижности структуры. На рисунке 7 показаны графики значений среднеквадратичного колебания атомов фосфора фосфатных групп одной из цепей ДНК нуклеосомы.

В паре траекторий K150 и Na150 (Рисунок 7а) значения среднеквадратичного колебания для линкера 1 выше в калиевом окружении, а значения среднеквадратичного колебания для линкера 2 значительно не различается.

В паре траекторий K3000 и Na3000 (Рисунок 7б) значения среднеквадратичного колебания для линкера 1 выше в калиевом окружении, а значения среднеквадратичного колебания для линкера 2 значительно не различается.

В паре траекторий K3000a и Na3000a (Рисунок 7в) значения среднеквадратичного колебания для линкера 1 выше в калиевом окружении, значения RMSF атомов фосфора линкера 2 также выше в калиевом окружении, но в меньшей степени.

В паре траекторий K3000g и Na3000g (Рисунок 7г) значения среднеквадратичного колебания для линкера 1 значительно не различается, а значения среднеквадратичного колебания для линкера 2 заметно выше в калиевом окружении.

Таким образом, во всех парах траекторий сохраняется тренд на

повышенное значение среднеквадратичного колебания атомов фосфора как минимум одного из ДНК-линкеров в калиевом ионном окружении, что говорит о большей амплитуде движения. Вероятно, это можно объяснить процессом нуклеосомного отворачивания, происходившим с траекториях с калием (Рисунок 8).

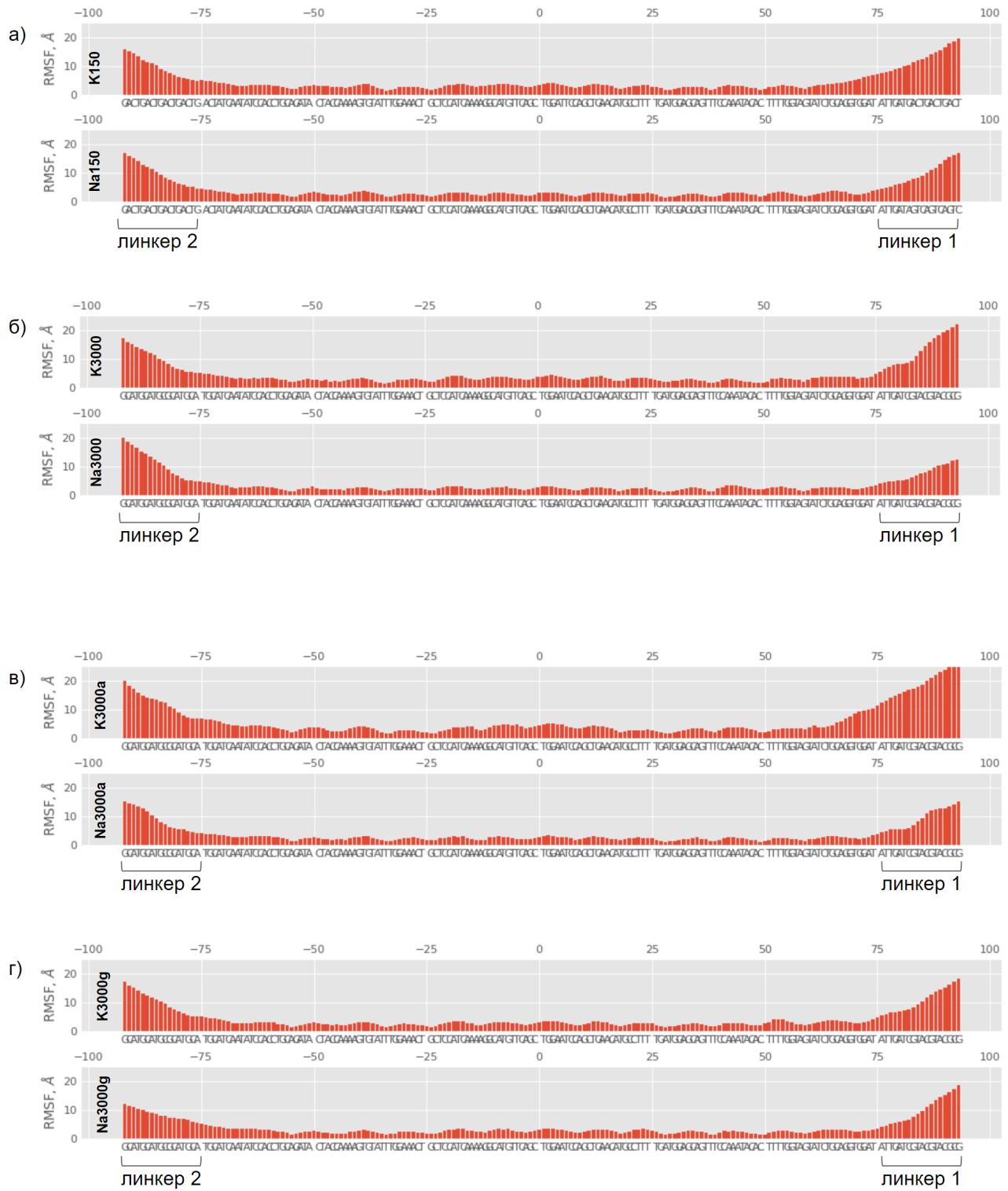


Рисунок 7. Значения среднеквадратичного колебания атомов фосфора фосфатных групп одной из цепей ДНК нуклеосомы.

3.4 Отворачивание нуклеосомной ДНК

Процесс отворачивания нуклеосомной ДНК можно увидеть на рисунке 8. На нем изображена динамика отворачивания нуклеосомной ДНК в течение времени. Отворачивание ДНК измерялось как длина фрагмента ДНК, все центры пар оснований в котором находились более чем на 7 ангстрем дальше от центров любой пары оснований в кристаллической структуре.

Видно, что в случае наибольшего открытия оно осуществляется на 13 пар нуклеотидов в траекториях K150 и K3000a. В то же время самое сильное открытие в натриевом окружении происходит в траектории Na3000g и составляет 6 пар нуклеотидов.

К сожалению, назвать сравнение траекторий в паре K150 и Na150 однозначно достоверным нельзя, так как длительность траекторий заметно различается (1,37 микросекунд для K150 и 0,80 микросекунд для Na150). Явное и продолжительное открытие нуклеосомной ДНК в K150 происходит в диапазоне 1,1-1,4 микросекунды, в то время как суммарная длина траектории Na150 составляет всего 0,80 микросекунды. Длительности траекторий в остальных парах в целом совпадают, что позволяет считать их различия более достоверными.

Пара траекторий K3000 и Na3000: видно несколько непродолжительных открытий максимум 3 пар нуклеотидов в K3000, в то время как в Na3000 произошло лишь однократное открытие 1 пары нуклеотидов.

Пара траекторий K3000a и Na3000a: видно два продолжительных последовательных открытия вплоть до 13 пар нуклеотидов в K3000a и полное отсутствие открытия в Na3000a. Стоит отметить, что длительности этих траекторий составляют всего 0,16 микросекунд, что не позволяет провести однозначное сравнение в данном случае.

Пара траекторий K3000g и Na3000g: в K3000g видно несколько непродолжительных открытий, самые значительные из которых имеют максимумы в 4 и 5 пар нуклеотидов. В Na3000g два продолжительных последовательных открытия вплоть до 6 пар нуклеотидов, а также несколько коротких открытий максимум 4 пар нуклеотидов.

Таким образом, отворачивание ДНК от нуклеосомного ядра наблюдалось в траекториях на масштабах более 1 микросекунды для концентрации ионов 150 mM и на масштабах сотен микросекунд для концентрации 3M.

Суммируя, можно обратить внимание на тренд, согласно которому в трех из четырех пар траекторий существенное открытие нуклеосомы происходит в калиевом ионном окружении. Однако, несоответствие времен траекторий в паре K150 и Na150, малая длительность траекторий в паре K3000a и Na3000a, а также преимущественное открытие нуклеосомы в натриевом окружении в паре симуляций K3000g и Na3000g не позволяет прийти к однозначному выводу.

Помимо прочего, полученные результаты хорошо демонстрируют асимметричную природу нуклеосомного разворачивания.

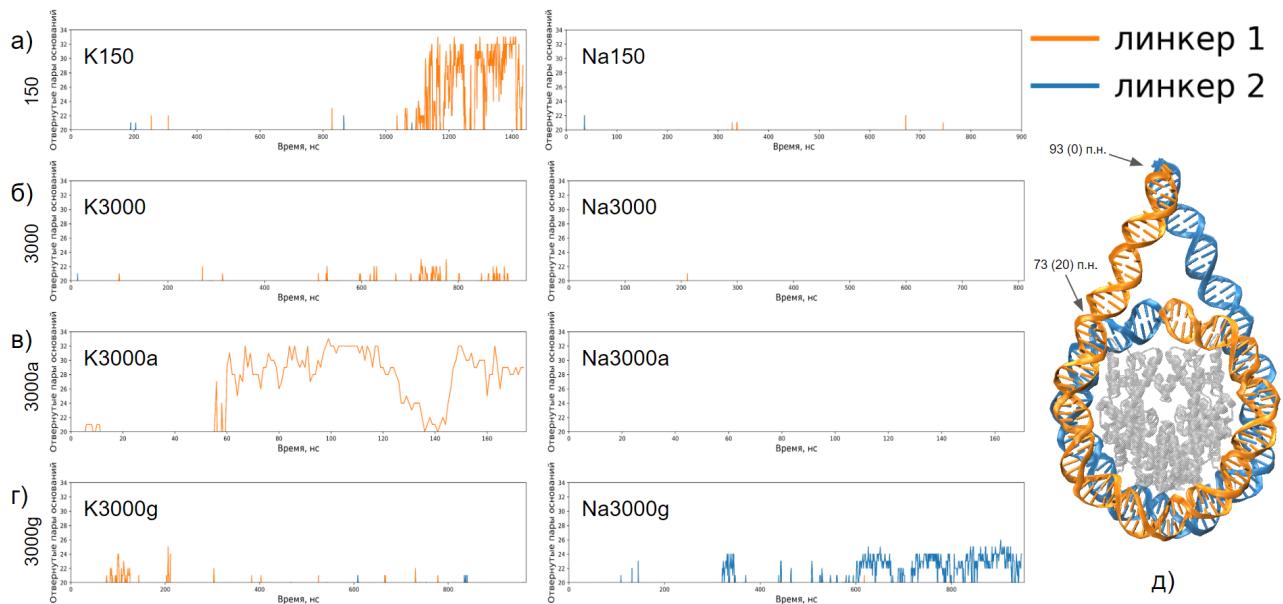


Рисунок 8. Динамика отворачивания нуклеосомной ДНК в течение времени в парах траекторий а) K150 и Na150, б) K3000 и Na3000, в) K3000a и Na3000a, г) K3000g и Na3000g; д) Сравнительная молекулярная модель нуклеосомы.

3.5 Радиальное распределение ионов вокруг ДНК

Для анализа ионной атмосферы вокруг ДНК были построены графики функции радиального распределения ионов натрия и калия вокруг двух участков ДНК нуклеосомы, а именно вокруг ДНК-линкеров (пары нуклеотидов 74-92, «линкер») и нуклеосомной ДНК в районе выхода из нуклеосомы (пары нуклеотидов 54-73, «ядро») (Рисунок 9). Функция радиального распределения характеризует зависимость относительной вероятности обнаружения ионов от расстояния до молекулы ДНК. Функции были нормированы таким образом, чтобы сходиться к единице при больших значениях радиуса.

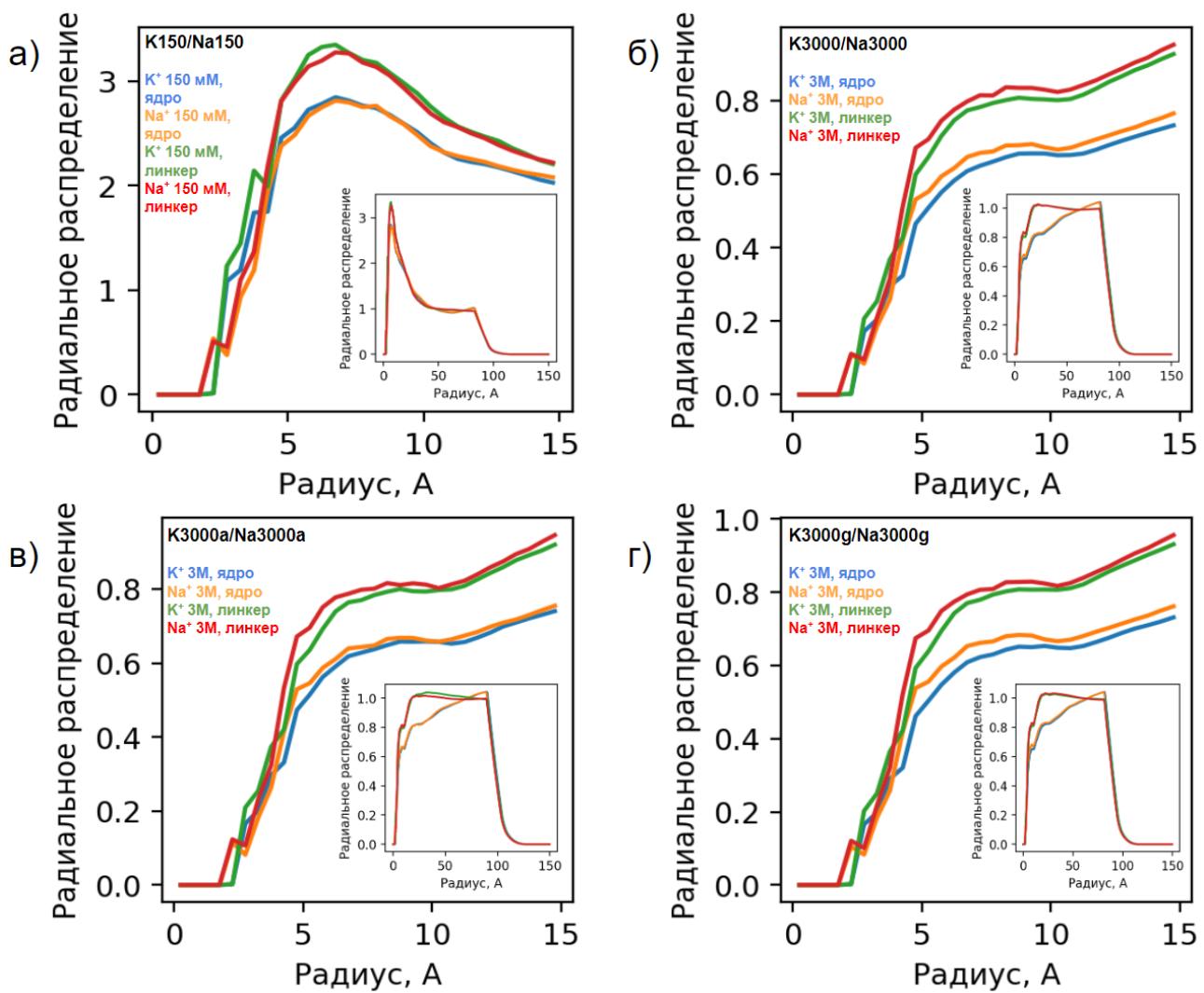


Рисунок 9. Функции радиального распределения ионов натрия и калия вокруг линкерной («линкер») и нуклеосомной («ядро») ДНК в парах траекторий а) K150 и Na150, б) K3000 и Na3000, в) K3000a и Na3000a, г) K3000g и Na3000g.

Глядя на полученные графики можно сделать несколько принципиально важных наблюдений: во первых, графики распределения ионов вокруг ДНК-линкеров расположены выше, чем графики распределения ионов вокруг нуклеосомной ДНК, что говорит о большей вероятности связывания ионов калия и натрия с линкерной, чем с нуклеосомной ДНК; во-вторых, графики для

ионов натрия и калия существенно не различаются, что говорит о схожей вероятности обнаружения ионов калия и натрия вблизи как линкерной, так и нуклеосомной ДНК. Первое можно объяснить тем, что часть участков связывания ионов в нуклеосомной ДНК может быть занята остатками аминокислот находящихся рядом гистоновых белков или соседней нитью ДНК; второе — идентичными сайтами связывания ионов разных типов.

3.6 Временное распределение ионов вокруг ДНК

Другим анализом, позволяющим провести сравнение ионной атмосферы ДНК в калиевом и натриевом окружении является построение графиков так называемой вероятности выживания (survival probability). Данные графики отражают вероятность обнаружения ионов в заданном радиусе от ДНК в течение определенного времени. В нашем случае рассматривалась вероятность обнаружения ионов натрия и калия в при концентрациях 150 мМ и 3 М в радиусе 5 ангстрем от ДНК вокруг ДНК-линкеров (пары нуклеотидов 74-92, «линкер») и нуклеосомной ДНК в районе выхода из нуклеосомы (пары нуклеотидов 54-73, «ядро») (Рисунок 10).

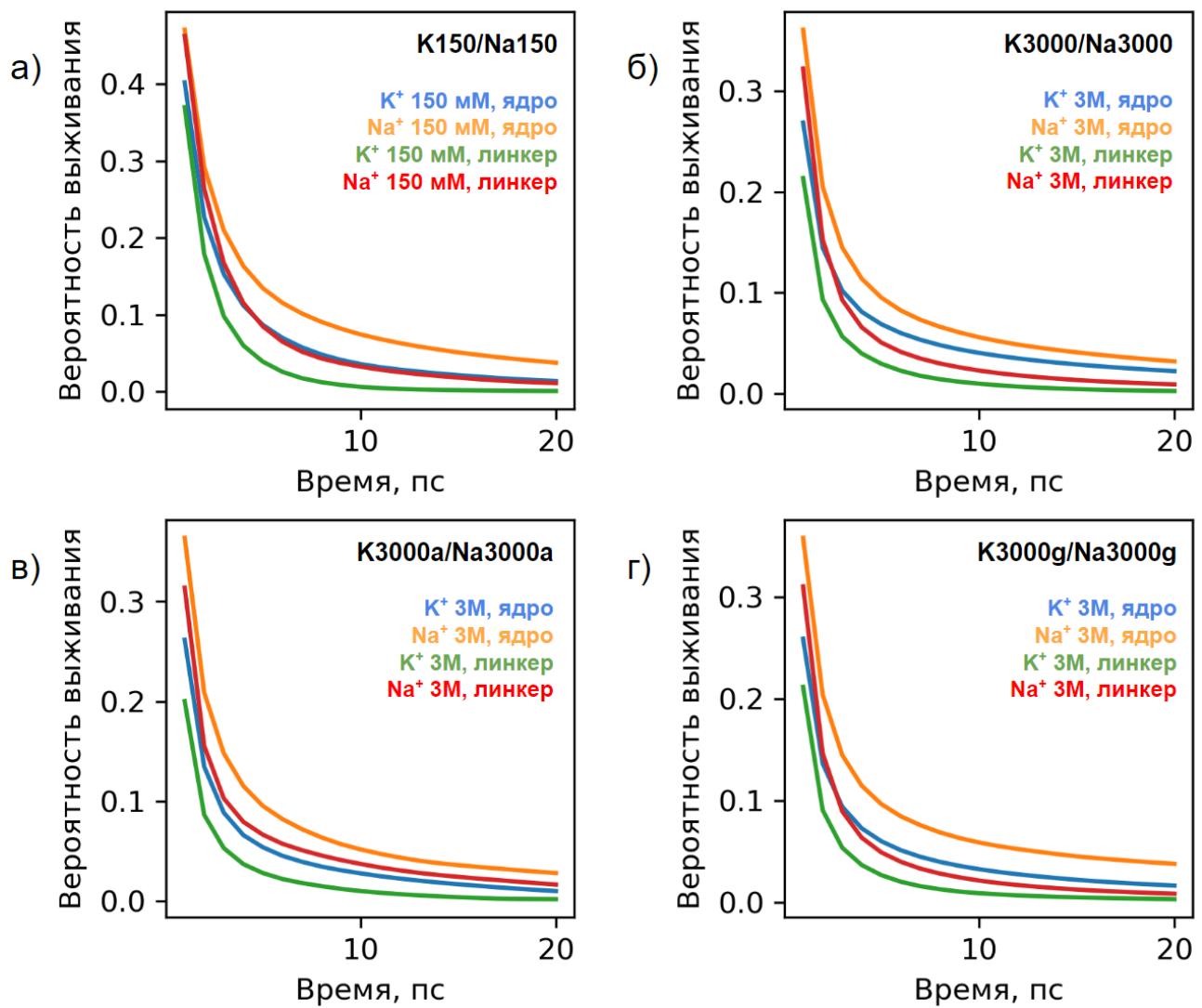


Рисунок 10. Вероятность выживания ионов натрия и калия в радиусе 5 Å от ДНК-линкеров (пары нуклеотидов 74-92, «линкер») и нуклеосомной ДНК в районе выхода из нуклеосомы (пары нуклеотидов 54-73, «ядро») в парах траекторий а) K150 и Na150, б) K3000 и Na3000, в) K3000a и Na3000a, г) K3000g и Na3000g.

Полученные графики демонстрируют большие значения вероятности выживания для ионов натрия по сравнению с ионами калия вблизи линкерной и нуклеосомной ДНК, как при концентрации 150 мМ, так и при 3 М. Это говорит

о более длительном взаимодействии ионов натрия с ДНК, чем ионов калия. Также хочется отметить повышенную вероятность выживания обоих типов ионов вблизи нуклеосомной ДНК по сравнению с вероятностью выживания вблизи линкерной ДНК. Данное наблюдение говорит о сравнительно большем времени нахождения ионов обоих типов вблизи нуклеосомной ДНК, чем вблизи ДНК-линкеров. Это можно объяснить взаимодействиями ионов с гистонами или соседней нитью ДНК, препятствующими их движению.

3.7 Пространственное распределение ионов

Для сравнительного анализа пространственного распределения ионов натрия и калия вокруг ДНК были построены занятости ионов вблизи нуклеосомной ДНК в районе выхода ДНК из нуклеосомы на участке 54-73 пар нуклеотидов. Значения занятости получаются следующим образом: пространство разделяется кубической решеткой в определенным размером ячеек (в данном случае 1 ангстрем), в ходе анализа узлам решетки присваиваются значения 0 или 1 в зависимости от того, пересекается ли с ними один или несколько рассматриваемых атомов, затем происходит усреднение по всем кадрам траектории, что обеспечивает заполнение узлов решетки.

Для данного анализа были выбраны пары систем, демонстрирующие наибольшее открытие нуклеосомы, а именно K150/Na150 и K3000a/Na3000a. Снимки делались изнутри нуклеосомы с позиции октамера гистонов. Вследствие асимметричности нуклеосомного разворачивания, сравнение проводилось между участками, соседствующими с каждым из линкеров для оценки влияния распределения ионов на открытие нуклеосомы. Как видно на рисунке 11, в системах с натриевым окружением, в которых нуклеосома в течении всей симуляции была преимущественно закрыта с обоих сторон, занятость ионов натрия явно не различается. В то же время, в системах с

калием, и в особенности в системе K3000a, наблюдается явное различие в занятости ионов в месте сближения цепей ДНК. Занятость повышена с той стороны нуклеосомы, с которой не происходит процесса открытия и нити ДНК на протяжении всей траектории сближены. Это может говорить как о том, что сближение нитей ДНК приводит к скоплению ионов в межмолекулярном пространстве, так и об обратном — ионы, скапливаясь между и вокруг сближенных нитей ДНК, препятствуют их расхождению и, в данном случае, дыханию нуклеосомы.

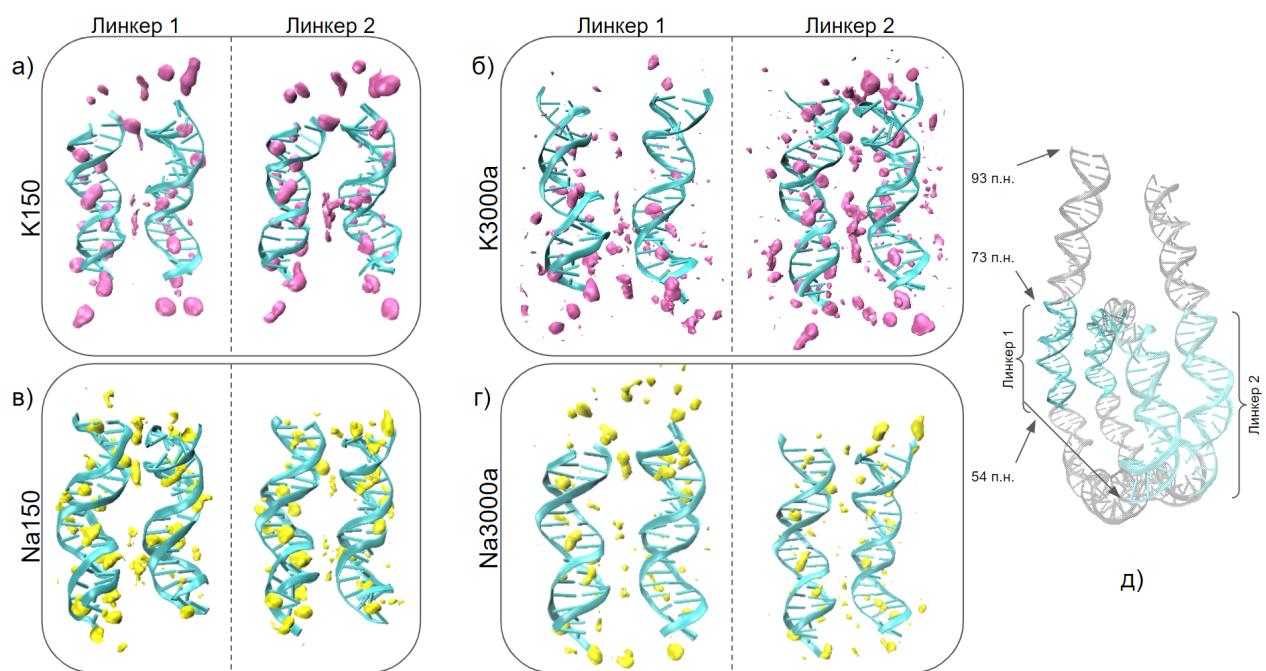


Рисунок 11. Занятости ионов натрия и калия вблизи нуклеосомной ДНК в районе выхода ДНК из нуклеосомы на участке 54–73 пар нуклеотидов в траекториях а) K150, б) K3000a, в) Na150, г) Na3000a; д) Сравнительная молекулярная модель ДНК нуклеосомы.

Также были построены распределения занятости ионов натрия и калия вблизи ДНК-линкеров (Рисунок 12). На них можно увидеть, что занятости линкеров для линкера 1 и линкера 2 принципиально не различаются, что может говорить об отсутствии явной связи между подвижностью линкеров и пространственным расположением ионов вокруг них. Идентичные линкеры в разном ионном окружении также имеют схожее пространственное распределение, что говорит об одних и тех же сайтах связывания ионов натрия и калия вокруг ДНК-линкеров.

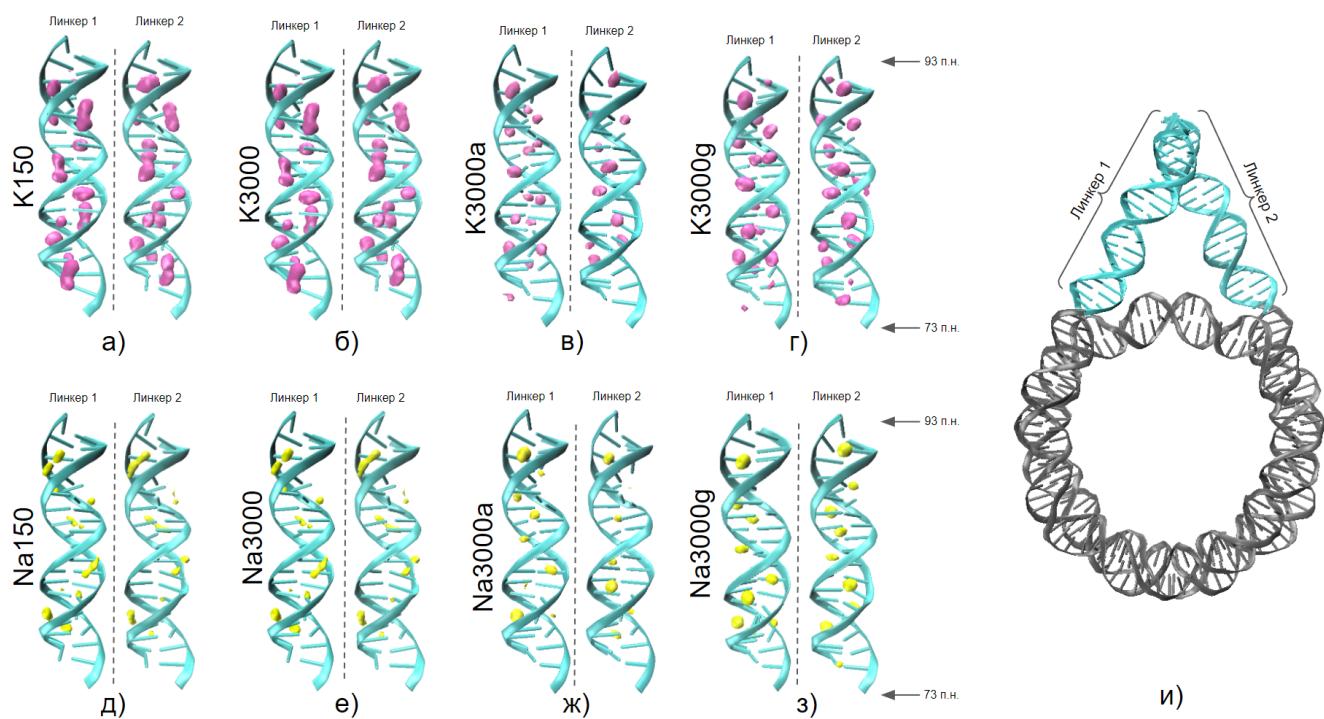


Рисунок 12. Занятости ионов натрия и калия вблизи ДНК-линкеров в траекториях а) K150, б) K3000, в) K3000a, г) K3000g, д) Na150, е) Na3000, ж) Na3000a, з) Na3000g; и) Сравнительная молекулярная модель ДНК нуклеосомы.

Заключение

В результате выполнения данной работы мы сделали важные наблюдения, касающиеся распределения моновалентных катионов натрия и калия вокруг ДНК нуклеосомы, а также их влияния на структуру и динамику линкерной области нуклеосомы. В частности, были получены проекции и значения среднеквадратичных колебаний ДНК нуклеосом, графики нуклеосомного разворачивания, функции радиального и временного распределения, а также заселенности ионов обоих типов вблизи линкерной и нуклеосомной ДНК. Мы обнаружили повышенную амплитуду движения ДНК-линкеров, участвующих в процессе нуклеосомного разворачивания, в калиевом ионном окружении по сравнению с натриевым. Также мы показали, что концентрация и подвижность ионов обоих типов вблизи нуклеосомной ДНК ниже, чем вокруг линкерной, что можно объяснить пространственной занятостью нуклеосомной области и взаимодействиями с гистонами и внутренними витками ДНК. Отмеченное большее время нахождения ионов натрия вблизи ДНК, предположительно, говорит об их большей аффинности к ДНК по сравнению с ионами калия. Помимо прочего, было продемонстрировано, что ионы имеют свойство скапливаются в пространстве между нитями ДНК, вероятно, способствуя их сближению и препятствуя таким образом нуклеосомному дыханию.

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 ниже, 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 супервитками ДНК в нуклеосоме, вероятно, способствуя их сближению.

Список литературы

1. Разин, С. В., & Быстрицкий, А. А. (2015). Хроматин: упакованный геном 4-е издание. Москва Бином.
2. Abraham, M. J., Murtola, T., Schulz, R., Páll, S., Smith, J. C., Hess, B., & Lindah, E. (2015). Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 1–2, 19–25.
3. Allahverdi, A., Chen, Q., Korolev, N., & Nordenskiöld, L. (2015). Chromatin compaction under mixed salt conditions: Opposite effects of sodium and potassium ions on nucleosome array folding. *Scientific Reports*, 5.
4. Allred, B. E., Gebala, M., & Herschlag, D. (2017). Determination of Ion Atmosphere Effects on the Nucleic Acid Electrostatic Potential and Ligand Association Using AH⁺·C Wobble Formation in Double-Stranded DNA. *Journal of the American Chemical Society*, 139(22), 7540–7548.
5. Anderson, C. F., Record, M. T., & Hart, P. A. (1978). Sodium-23 nmr studies of cation-dna znteractions. In *Biophysical Chernistry* (Vol. 7). North-Holland Publkhin~ Company.
6. Anderson, C. F., & Record, M. T. (1995). Salt-nucleic acid interactions. *Annu. Rev. Phys. Chern* (Vol. 46).
7. Armeev, G. A., Kniazeva, A. S., Komarova, G. A., Kirpichnikov, M. P., & Shaytan, A. K. (2021). Histone dynamics mediate DNA unwrapping and sliding in nucleosomes. *Nature Communications*, 12(1).
8. Arya, G., Zhang, Q., & Schlick, T. (2006). Flexible histone tails in a new mesoscopic oligonucleosome model. *Biophysical Journal*, 91(1), 133–150.
9. Bai, Y., Greenfeld, M., Travers, K. J., Chu, V. B., Lipfert, J., Doniach, S., & Herschlag, D. (2007). Quantitative and comprehensive decomposition of the ion atmosphere around nucleic acids. *Journal of the American Chemical*

Society, 129(48), 14981–14988.

- 10.Bai, Y., Das, R., Millett, I. S., Herschlag, D., Doniach, S., & Doudna, J. A. (2005). Probing counterion modulated repulsion and attraction between nucleic acid duplexes in solution. In *PNAS* (Vol. 102).
- 11.Bleam, M. L., Anderson, C. F., & Record, M. T. (1980). Relative binding affinities of monovalent cations for double-stranded DNA (23Na NMR/alkali metal ions/condensation theory) (Vol. 77, Issue 6).
- 12.Borodavka, A., Tuma, R., & Stockley, P. G. (2012). Evidence that viral RNAs have evolved for efficient, two-stage packaging. *Biophysics and Computational Biology*, 109(39), 15769–15774.
- 13.Braunlin, W. H., & Nordenskiold, L. (1984). A potassium-39 NMR study of potassium binding to double-helical DNA. In *Eur. J. Biochem* (Vol. 142).
- 14.Bussi, G., Donadio, D., & Parrinello, M. (2007). Canonical sampling through velocity rescaling. *Journal of Chemical Physics*, 126(1).
- 15.Cai, S., Böck, D., Pilhofer, M., & Gan, L. (2018). The in situ structures of mono-, di-, and trinucleosomes in human heterochromatin. *Molecular Biology of the Cell*, 29(20), 2450–2457.
- 16.Das, R., Mills, T. T., Kwok, L. W., Maskel, G. S., Millett, I. S., Doniach, S., Finkelstein, K. D., Herschlag, D., & Pollack, L. (2003). Counterion Distribution around DNA Probed by Solution X-Ray Scattering. *Physical Review Letters*, 90(18), 4.
- 17.Davey, C. A., Sargent, D. F., Luger, K., Maeder, A. W., & Richmond, T. J. (2002). Solvent mediated interactions in the structure of the nucleosome core particle at 1.9 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, 319(5), 1097–1113.
- 18.Dean Williams, L., & James Maher III, L. (2000). Electrostatic mechanisms of dna deformation.
- 19.Deindl, S., Gebala, M., Johnson, S. L., Narlikar, G. J., & Herschlag, D. (2019). Ion counting demonstrates a high electrostatic field generated by the nucleosome.

- 20.Denisov, V. P., & Halle, B. (1999). Sequence-specific binding of counterions to B-DNA.
- 21.Drozdetski, A. v., Tolokh, I. S., Pollack, L., Baker, N., & Onufriev, A. v. (2016). Opposing Effects of Multivalent Ions on the Flexibility of DNA and RNA. *Physical Review Letters*, 117(2).
- 22.Elbahnsi, A., Retureau, R., Baaden, M., Hartmann, B., & Oguey, C. (2018). Holding the Nucleosome Together: A Quantitative Description of the DNA-Histone Interface in Solution. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 14(2), 1045–1058.
- 23.Eltsov, M., Maclellan, K. M., Maeshima, K., Frangakis, A. S., & Dubochet, J. (2008). Analysis of cryo-electron microscopy images does not support the existence of 30-nm chromatin fibers in mitotic chromosomes in situ.
- 24.Farcaş, A. A., & Bende, A. (2020). The influence of monovalent and divalent metal cations on the stability of the DNA-protein interaction in the nucleosome core particle. In *Advances in Quantum Chemistry* (Vol. 81, pp. 269–290). Academic Press Inc.
- 25.Fogolari, F., Brigo, A., & Molinari, H. (2002). The Poisson-Boltzmann equation for biomolecular electrostatics: A tool for structural biology. In *Journal of Molecular Recognition* (Vol. 15, Issue 6, pp. 377–392).
- 26.Garmann, R. F., Comas-Garcia, M., Gopal, A., Knobler, C. M., & Gelbart, W. M. (2014). The assembly pathway of an icosahedral single-stranded RNA virus depends on the strength of inter-subunit attractions. *Journal of Molecular Biology*, 426(5), 1050–1060.
- 27.Gebala, M., Bonilla, S., Bisaria, N., & Herschlag, D. (2016). Does Cation Size Affect Occupancy and Electrostatic Screening of the Nucleic Acid Ion Atmosphere? *Journal of the American Chemical Society*, 138(34), 10925–10934.
- 28.Gebala, M., Giambaşu, G. M., Lipfert, J., Bisaria, N., Bonilla, S., Li, G., York, D. M., & Herschlag, D. (2015). Cation-Anion Interactions within the Nucleic

- Acid Ion Atmosphere Revealed by Ion Counting. *Journal of the American Chemical Society*, 137(46), 14705–14715.
29. Giambaşu, G. M., Case, D. A., & York, D. M. (2019). Predicting Site-Binding Modes of Ions and Water to Nucleic Acids Using Molecular Solvation Theory. *Journal of the American Chemical Society*.
30. Gross, P., Laurens, N., Oddershede, L. B., Bockelmann, U., Peterman, E. J. G., & Wuite, G. J. L. (2011). Quantifying how DNA stretches, melts and changes twist under tension. *Nature Physics*, 7(9), 731–736.
31. Howard, J. J., Lynch, G. C., & Pettitt, B. M. (2011). Ion and solvent density distributions around canonical B-DNA from integral equations. *Journal of Physical Chemistry B*, 115(3), 547–556.
32. Howerton, S. B., Sines, C. C., VanDerveer, D., & Dean Williams, L. (2001). Locating Monovalent Cations in the Grooves of B-DNA †, ‡. *Biochemistry*, 40, 28.
33. Hud, N. v., & Feigon, J. (1990). Localization of Divalent Metal Ions in the Minor Groove of DNA A-Tracts. In *Annu. Rep. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc* (Vol. 59, Issue 2).
34. Hud, N. v., Schultze, P., År Sklena, V., & Feigon, J. (1999). Binding Sites and Dynamics of Ammonium Ions in a Telomere Repeat DNA Quadruplex.
35. Hud, N. v., & Feigon, J. (2002). Characterization of divalent cation localization in the minor groove of the AnTn and TnAn DNA sequence elements by 1H NMR spectroscopy and manganese(II). *Biochemistry*, 41(31), 9900–9910.
36. Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996). VMD: Visual Molecular Dynamics.
37. Ivani, I., Dans, P. D., Noy, A., Pérez, A., Faustino, I., Hospital, A., Walther, J., Andrio, P., Goñi, R., Balaceanu, A., Portella, G., Battistini, F., Gelpí, J. L., González, C., Vendruscolo, M., Laughton, C. A., Harris, S. A., Case, D. A., & Orozco, M. (2015). Parmbsc1: A refined force field for DNA simulations. *Nature Methods*, 13(1), 55–58.

- 38.Jacobson, D. R., & Saleh, O. A. (2017). Counting the ions surrounding nucleic acids. *Nucleic Acids Research*, 45(4), 1596–1605.
- 39.Jorgensen, W. L., Chandrasekhar, J., Madura, J. D., Impey, R. W., & Klein, M. L. (1983). Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *The Journal of Chemical Physics*, 79(2), 926–935.
- 40.Kolesnikov, E. S., Gushchin, I. Y., Zhilyaev, P. A., & Onufriev A. V. (2021). Similarities and Differences between Na Distributions around DNA Obtained with Three Popular Water Models.
- 41.Korolev, N., & Nordenskiöld, L. (2000). Influence of alkali cation nature on structural transitions and reactions of biopolyelectrolytes. *Biomacromolecules*, 1(4), 648–655.
- 42.Korolev, N., Lyubartsev, A. P., Rupprecht, A., & Nordenskiöld, L. (1999). Experimental and Monte Carlo Simulation Studies on the Competitive Binding of Li⁺, Na⁺, and K⁺ Ions to DNA in Oriented DNA Fibers. *Journal of Physical Chemistry B*, 103(42), 9008–9019.
- 43.Korolev, N., Lyubartsev, A. P., Rupprecht, A., & Nordenskiöld, L. (1999). Competitive binding of Mg²⁺, Ca²⁺, Na⁺, and K⁺ ions to DNA in oriented DNA fibers: Experimental and Monte Carlo simulation results. *Biophysical Journal*, 77(5), 2736–2749.
- 44.Korolev, N. (2021). How potassium came to be the dominant biological cation: of metabolism, chemiosmosis, and cation selectivity since the beginnings of life. *BioEssays*, 43(1).
- 45.Kuznetsov, I., Gorshkov, V., Ivanov, V., Kargov, S., Korolev, N., Filippov, S., & Khamisov, Rk. (1984). Ion-exchange properties of immobilized DNA. In *Reactive Polymers* (Vol. 3).
- 46.Lipfert, J., Doniach, S., Das, R., & Herschlag, D. (2014). Understanding nucleic acid-ion interactions. In *Annual Review of Biochemistry* (Vol. 83, pp. 813–841). Annual Reviews Inc.
- 47.Luger, K., Mä Der, A. W., Richmond, R. K., Sargent, D. F., & Richmond, T. J.

- (1997). Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. In *Nature* © Macmillan Publishers Ltd (Vol. 389).
48. Luscombe, N. M., Laskowski, R. A., & Thornton, J. M. (2001). Amino acid-base interactions: a three-dimensional analysis of protein-DNA interactions at an atomic level. In *Nucleic Acids Research* (Vol. 29, Issue 13).
49. Lyubitelev, A. v., Studitsky, V. M., Feofanov, A. v., & Kirpichnikov, M. P. (2017). Effect of sodium and potassium ions on conformation of linker parts of nucleosomes. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 72(3), 146–150.
50. Lyubitelev, A. v., Nikitin, D. v., Shaytan, A. K., Studitsky, V. M., & Kirpichnikov, M. P. (2016). Structure and functions of linker histones. In *Biochemistry (Moscow)* (Vol. 81, Issue 3, pp. 213–223). Maik Nauka Publishing / Springer SBM.
51. Maeshima, K., Hihara, S., & Eltsov, M. (2010). Chromatin structure: Does the 30-nm fibre exist in vivo? In *Current Opinion in Cell Biology* (Vol. 22, Issue 3, pp. 291–297). <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2010.03.001>
52. Maeshima, K., Ide, S., & Babokhov, M. (2019). Dynamic chromatin organization without the 30-nm fiber. In *Current Opinion in Cell Biology* (Vol. 58, pp. 95–104). Elsevier Ltd.
53. Maier, J. A., Martinez, C., Kasavajhala, K., Wickstrom, L., Hauser, K., Simmerling, C., & Hauser, K. E. (2015). Improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB ff14SB.
54. Manning, G. S. (1969). Limiting laws and counterion condensation in polyelectrolyte solutions I. Colligative properties. *The Journal of Chemical Physics*, 51(3), 924–933.
55. Manning, G. S. (1969). Limiting laws and counterion condensation in polyelectrolyte solutions II. Self-diffusion of the small ions. *The Journal of Chemical Physics*, 51(3), 934–938.
56. Manning, G. S. (1969). Limiting laws and counterion condensation in

- polyelectrolyte solutions. III. An analysis based on the mayer ionic solution theory. *The Journal of Chemical Physics*, 51(8), 3249–3252.
57. Manning, G. S. (1977). Limiting laws and counterion condensation in polyelectrolyte solutions. IV. An analysis based on the mayer ionic solution theory. *The Journal of Chemical Physics*
58. Manning, G. S. (1978). Limiting laws and counterion condensation in polyelectrolyte solutions. V. An analysis based on the mayer ionic solution theory. *The Journal of Chemical Physics*
59. Marincola, F. C., Denisov, V. P., & Halle, B. (2004). Competitive Na⁺ and Rb⁺ binding in the minor groove of DNA. *Journal of the American Chemical Society*, 126(21), 6739–6750.
60. Markidis, S., & Laure, E. (2015). Solving software challenges for exascale: International Conference on Exascale Applications and Software, EASC 2014 Stockholm, Sweden, April 2–3, 2014 revised selected papers. *Lecture Notes in Computer Science (Including Subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)*, 8759.
61. Materese, C. K., Savelyev, A., & Papoian, G. A. (2009). Counterion atmosphere and hydration patterns near a nucleosome core particle. *Journal of the American Chemical Society*, 131(41), 15005–15013.
62. McDowall, A. W., Smith, J. M., & Dubochet, J. (1986). Cryo-electron microscopy of vitrified chromosomes in situ. *The EMBO Journal*, 5(6), 1395–1402.
63. Michaud-Agrawal, N., Denning, E. J., Woolf, T. B., & Beckstein, O. (2011). MDAnalysis: A toolkit for the analysis of molecular dynamics simulations. *Journal of Computational Chemistry*, 32(10), 2319–2327.
64. Misra, V. K., & Draper, D. E. (1999). The Interpretation of Mg 2+ Binding Isotherms for Nucleic Acids using Poisson-Boltzmann Theory.
65. Mocci, F., & Laaksonen, A. (2012). Insight into nucleic acid counterion interactions from inside molecular dynamics simulations is “worth its salt.” In

- Soft Matter* (Vol. 8, Issue 36, pp. 9268–9284). Royal Society of Chemistry.
- 66.Ngo, T. T. M., Zhang, Q., Zhou, R., Yodh, J. G., & Ha, T. (2015). Asymmetric unwrapping of nucleosomes under tension directed by DNA local flexibility. *Cell*, 160(6), 1135–1144.
- 67.Okonogi, T. M., Alley, S. C., Harwood, E. A., Hopkins, P. B., & Robinson, B. H. (2002). Phosphate backbone neutralization increases duplex DNA flexibility: A model for protein binding.
- 68.Pabit, S. A., Meisburger, S. P., Li, L., Blose, J. M., Jones, C. D., & Pollack, L. (2010). Counting ions around DNA with anomalous small-angle X-ray scattering. *Journal of the American Chemical Society*, 132(46), 16334–16336.
- 69.Parrinello, M., & Rahman, A. (1981). Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. *Journal of Applied Physics*, 52(12), 7182–7190.
- 70.Pasi, M., Maddocks, J. H., & Lavery, R. (2015). Analyzing ion distributions around DNA: Sequence-dependence of potassium ion distributions from microsecond molecular dynamics. *Nucleic Acids Research*, 43(4), 2412–2423.
- 71.Peters, J. P., & Maher, L. J. (2010). DNA curvature and flexibility in vitro and in vivo. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 43(1), 23–63.
- 72.Pletka, C. C., Nepravishta, R., & Iwahara, J. (2020). Detecting Counterion Dynamics in DNA–Protein Association. *Angewandte Chemie - International Edition*, 59(4), 1465–1468.
- 73.Rahman, A. (1964). Correlations in the Motion of Atoms in Liquid Argon.
- 74.Razin, S. v., & Ulianov, S. v. (2017). Gene functioning and storage within a folded genome. In *Cellular and Molecular Biology Letters* (Vol. 22, Issue 1). Springer International Publishing.
- 75.Reuben, J., Shporer, M., & Gabbaytf, E. J. (1975). The Alkali Ion-DNA Interaction as Reflected in the Nuclear Relaxation Rates of ^{23}Na and ^{87}Rb (nucleic acids/nuclear magnetic resonance of alkali ions) (Vol. 72, Issue 1).
- 76.Richmond, T. J., & Davey, C. A. (2003). *The structure of DNA in the*

nucleosome core.

77. Rohs, R., West, S. M., Sosinsky, A., Liu, P., Mann, R. S., & Honig, B. (2009). The role of DNA shape in protein-DNA recognition. *Nature*, 461(7268), 1248–1253.
78. Savelyev, A., & Mackerell, A. D. (2015). Differential impact of the monovalent ions Li⁺, Na⁺, K⁺, and Rb⁺ on DNA conformational properties. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 6(1), 212–216.
79. Savelyev, A., & Papoian, G. A. (2006). Electrostatic, steric, and hydration interactions favor Na⁺ condensation around DNA compared with K⁺. *Journal of the American Chemical Society*, 128(45), 14506–14518.
80. Schiessel, H. (2003). The physics of chromatin. *J. Phys.: Condens. Matter* 15 R699
81. Sharp, K. A., & Honig, B. (1995). Salt effects on nucleic acids. In *Current Opinion in Structural Biology* (Vol. 5).
82. Song, F., Chen, P., Sun, D., Wang, M., Dong, L., Liang, D., Xu, R.-M., Zhu, P., & Li, G. (2014). Cryo-EM Study of the Chromatin Fiber Reveals a Double Helix Twisted by Tetranucleosomal Units.
83. Thoma, F., Koller, T. H., & Klug, A. (1979). Involvement of histone h1 in the organization of the nucleosome and of the salt-dependent superstructures of chromatin.
84. Tolokh, I. S., Pabit, S. A., Katz, A. M., Chen, Y., Drozdetski, A., Baker, N., Pollack, L., & Onufriev, A. v. (2014). Why double-stranded RNA resists condensation. *Nucleic Acids Research*, 42(16), 10823–10831.
85. Tóth, K., Brun, N., & Langowski, J. (2001). Trajectory of nucleosomal linker DNA studied by fluorescence resonance energy transfer. *Biochemistry*, 40(23), 6921–6928.
86. Voevodin, V. v., Antonov, A. S., Nikitenko, D. A., Shvets, P. A., Sobolev, S. I., Sidorov, I. Y., Stefanov, K. S., Voevodin, V. v., & Zhumatiy, S. A. (2019). Supercomputer Lomonosov-2: Large scale, deep monitoring and fine analytics

- for the user community. *Supercomputing Frontiers and Innovations*, 6(2), 4–11.
87. West, S. M., Rohs, R., Mann, R. S., & Honig, B. (2010). Electrostatic interactions between arginines and the minor groove in the nucleosome. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 27(6), 861–866.
88. Winogradoff, D., & Aksimentiev, A. (2019). Molecular Mechanism of Spontaneous Nucleosome Unraveling. *Journal of Molecular Biology*, 431(2), 323–335.
89. Wong, H., Victor, J. M., & Mozziconacci, J. (2007). An all-atom model of the chromatin fiber containing linker histones reveals a versatile structure tuned by the nucleosomal repeat length. *PLoS ONE*, 2(9).
90. Yoo, J., & Aksimentiev, A. (2012). Competitive binding of cations to duplex DNA revealed through molecular dynamics simulations. *Journal of Physical Chemistry B*, 116(43), 12946–12954.
91. Yoo, J., & Aksimentiev, A. (2018). New tricks for old dogs: Improving the accuracy of biomolecular force fields by pair-specific corrections to non-bonded interactions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20(13), 8432–8449.
92. Yu, B., Pettitt, B. M., & Iwahara, J. (2020). Dynamics of ionic interactions at protein-nucleic acid interfaces. *Accounts of Chemical Research*, 53(9), 1802–1810.
93. Zinchenko, A. A., & Yoshikawa, K. (2005). Na⁺ shows a markedly higher potential than K⁺ in DNA compaction in a crowded environment. *Biophysical Journal*, 88(6), 4118–4123.