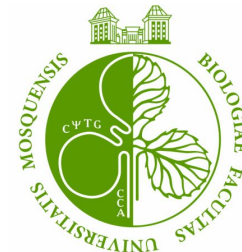




Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова
Биологический факультет
Кафедра биоинженерии
Группа интегративной биологии



Изучение динамики гистонов и влияния посттрансляционных модификаций методами молекулярной динамики с использованием различных моделей воды

Шаряфетдинова Александра Сергеевна,
студентка 426 группы
Научные руководители:
канд. физ.-мат. наук,
вед. научн. сотр. кафедры биоинженерии
Армеев Григорий Алексеевич,
асп. второго г.о. кафедры биоинженерии
Князева Анастасия Сергеевна

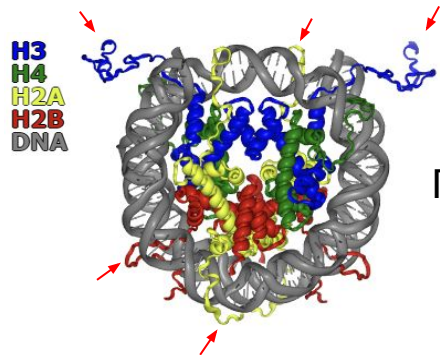
Москва
2023

Нуклеосома - структурная единица упаковки ДНК

Хроматин = нуклеиновые кислоты + белок

Нуклеосома = октамер гистонов (H3, H4, H2A, H2B) + ~146 п.н. ДНК

Гистоновые хвосты - концевые неупорядоченные структуры гистонов; электростатически взаимодействуют с ДНК



→ ГИСТОНОВЫЕ ХВОСТЫ

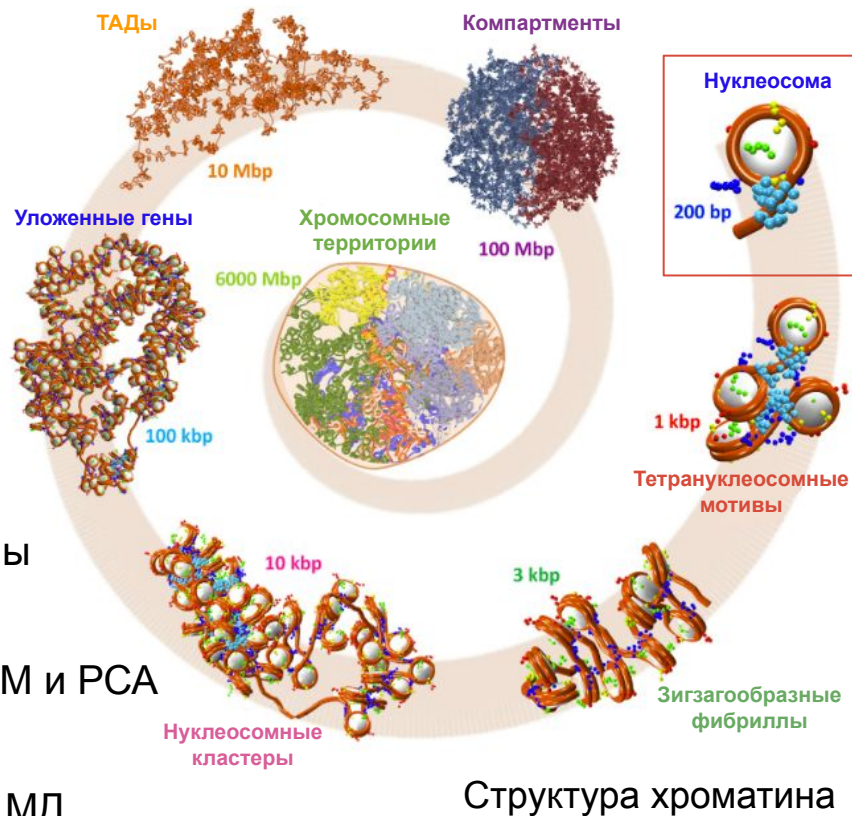
Гистоновые хвосты динамичны



Плохо разрешаются методами ЭМ и РСА



Исследуются методами ЯМР и МД

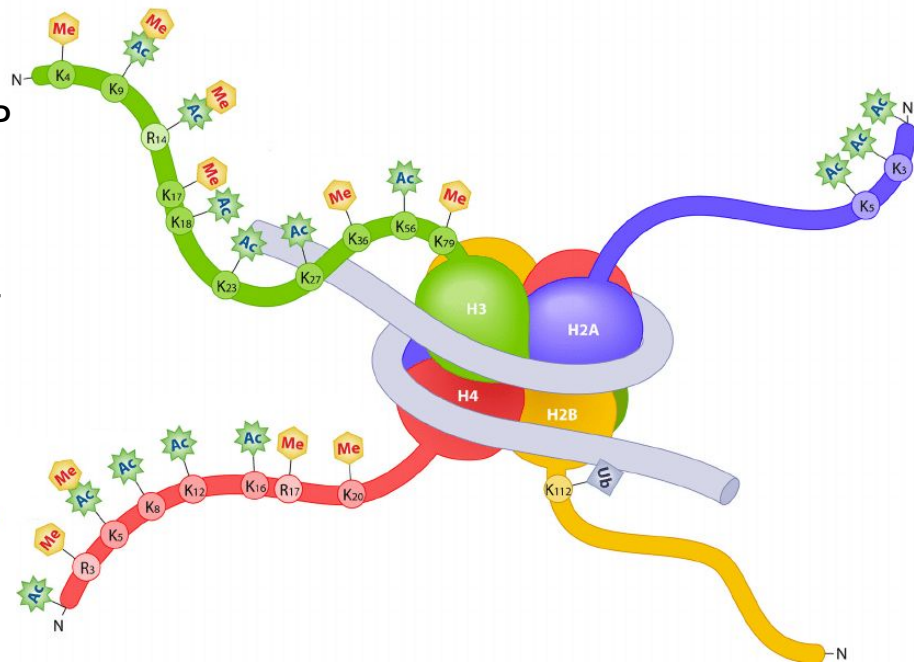
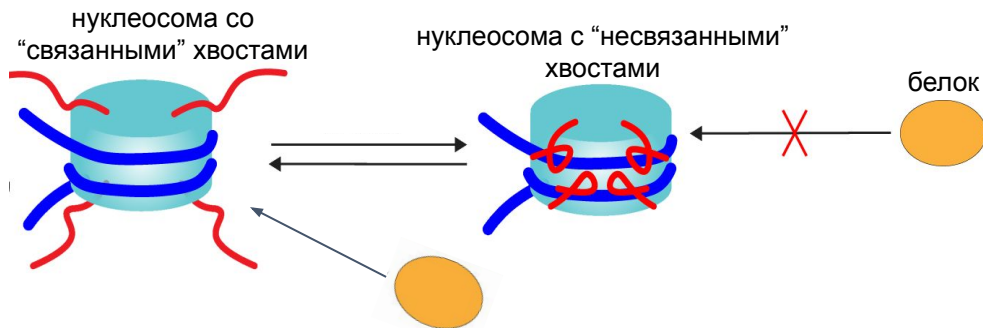


Динамичность гистоновых хвостов и ПТМ

В МД хвосты менее динамичны:

- 1) Результаты из МД не совпадают с данными ЯМР
- 2) Хвосты должны быть диссоциированы от нуклеосомы, чтобы связываться с белками

Одна из возможных причин - модель воды (TIP3P - самая универсальная модель воды)



Расположение некоторых ПТМ хвостов

Некоторые посттрансляционные модификации изменяют динамику гистоновых хвостов.

Цель работы – изучить влияние посттрансляционных модификаций на динамику нуклеосомы методами молекулярной динамики с использованием различных моделей воды.

Задачи:

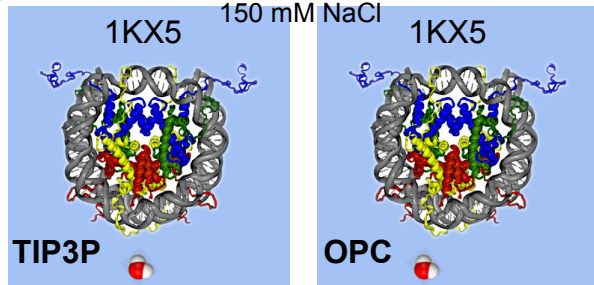
1. Сравнить результаты моделирования нуклеосомы в окружении разных моделей воды (TIP3P и OPC) и показать, при моделировании с использованием которой из них гистоновые хвосты будут меньше “залипать” на нуклеосоме.
2. Рассчитать энергетические эффекты фосфорилирования сайтов при последовательном фосфорилировании серинов, тирозинов и треонинов нуклеосомы.
3. Внести заряд-экранирующие мимики ПТМ в хвосты гистонов H3 и выявить их эффект на динамику нуклеосомы.
4. Создать набор параметров для моделирования фосфосерина в силовом поле AMBER14SB и произвести его валидацию.
5. Показать влияние фосфорилированного серина 57 в гистоне H3 на динамику нуклеосомы.

Методы

Выбор модели воды

В поле AMBER14SB + parambsc1 + cufix,

150 mM NaCl



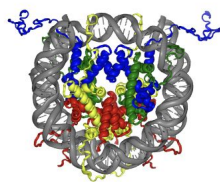
Сравнение характеристик из МД

- время жизни “связанного” с ДНК состояния;
- коэффициент самодиффузии;
- поверхность, доступная для растворителя;
- параметр порядка

Выбор модели воды

Подходы к анализу влияния ПТМ на динамику нуклеосомы

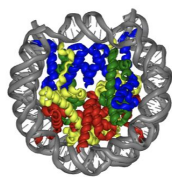
→ Моделирование МД с мимиками заряд-экранирующих ПТМ 1KX5



LYS, ARG → ALA ⇒ МД с мимиками

→ Расчет свободной энергии нуклеосом с ПТМ без МД (с помощью FoldX)

3LZ0

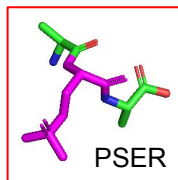


SER, TYR, THR → pHSER, pHTYR, pHTHR

FoldX

⇒ Расчет энергий без проведения МД

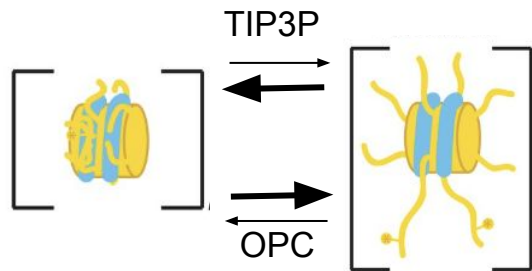
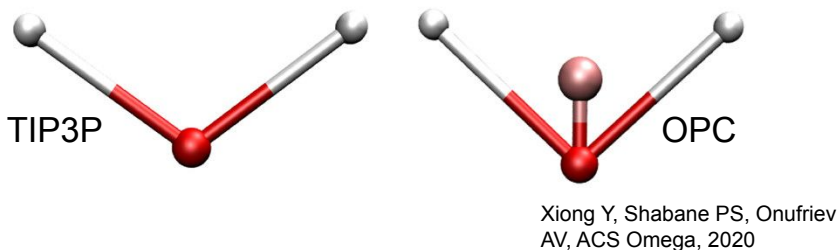
→ Параметризация ПТМ и проведение МД



⇒ Внедрение в силовое поле AMBER14SB ⇒ МД с внедренной ПТМ

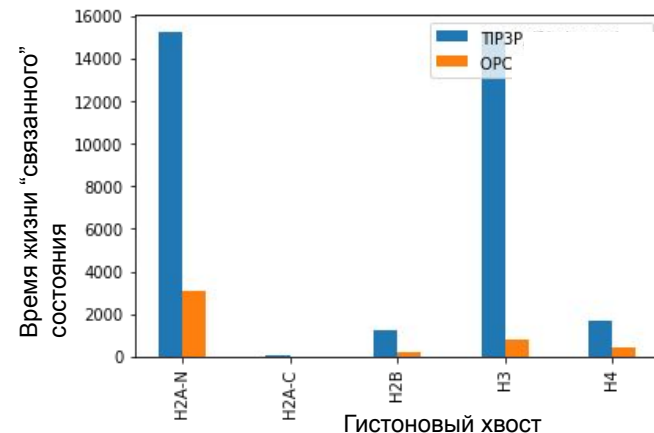
Параметризация (асруре+PsiRESP)

Выбор модели воды

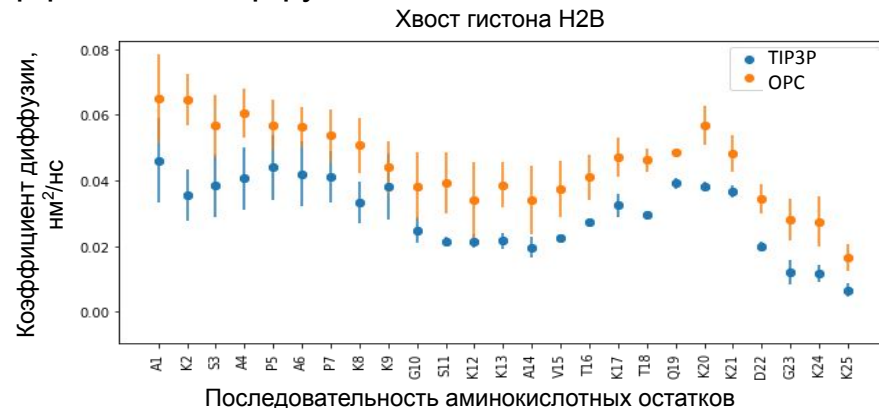


Вывод: для дальнейшего моделирования ПТМ была выбрана модель воды **OPC**, так как она способствует более динамичному движению гистоновых хвостов

1) Время жизни “связанного” с ДНК состояния (residence time)



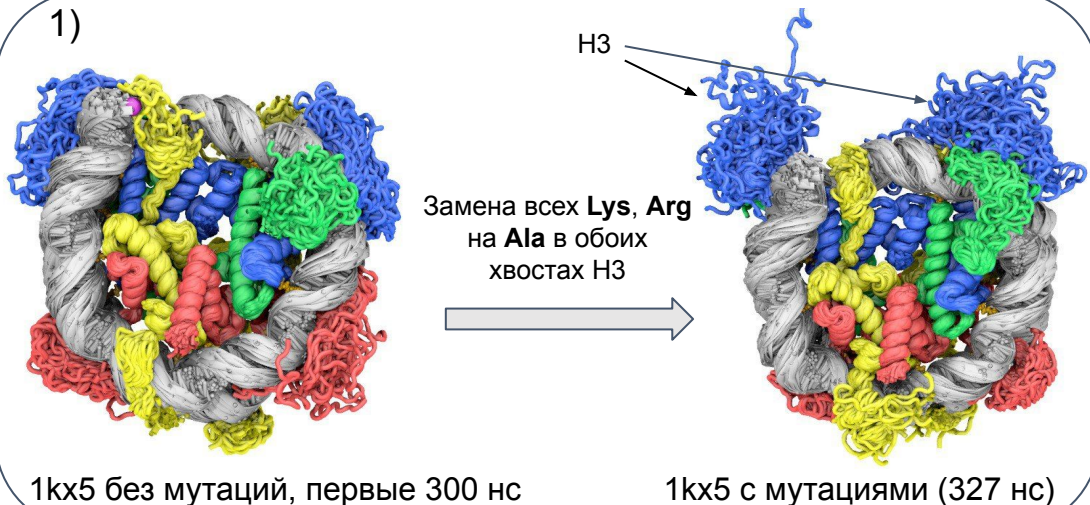
2) Коэффициент диффузии



Подходы к моделированию ПТМ

- 1) Мимики заряд-экранирующих ПТМ
- 2) Оценка энергетического эффекта фосфорилирования гистонов на стабильность нуклеосомы (FoldX)
- 3) Параметризация аминокислотных остатков с ПТМ, внедрение в силовое поле, валидация моделей и дальнейшее использование в МД

1)



2)

Сайт Изменение энергии,
ккал/моль

*H3S57ph	-9,22
H4T71ph	-7,93
*H2BS88ph	-7,82
*H3S86ph	-7,58
H2BT29ph	-7,2
H3T58ph	-6,94

Пример сайтов фосфорилирования, уменьшающих свободную энергию нуклеосомы

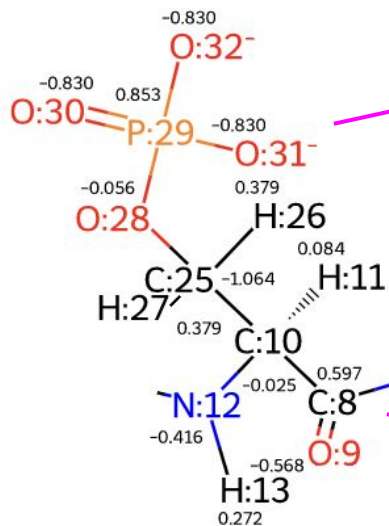
H4Y72ph	10,34
H2BS61ph	10,56
H4Y98ph	12,35
H2AY57ph	13,21
*H3T107ph	18,7
H2AT59ph	24,97

Пример сайтов фосфорилирования, увеличивающих свободную энергию нуклеосомы

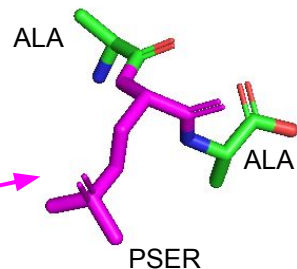


Параметризация ПТМ на примере фосфосерина

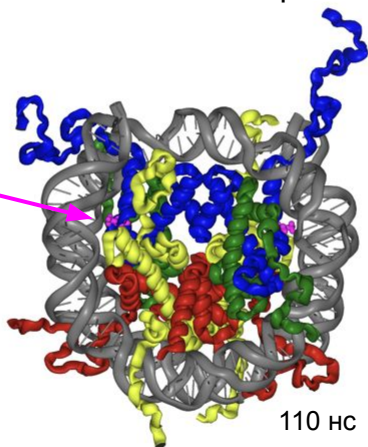
Фосфосерин



Трипептид с фосфосерином

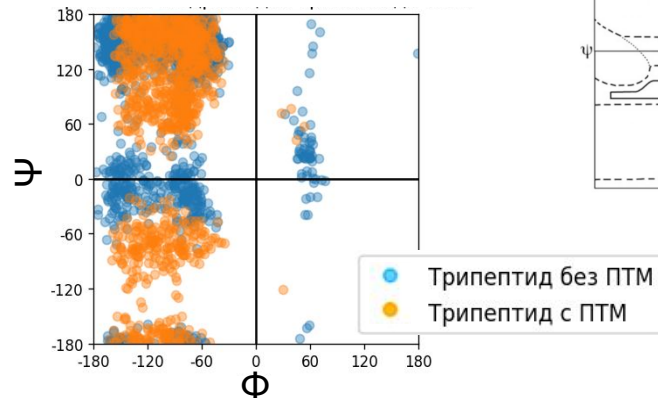


Нуклеосома с H3S57ph

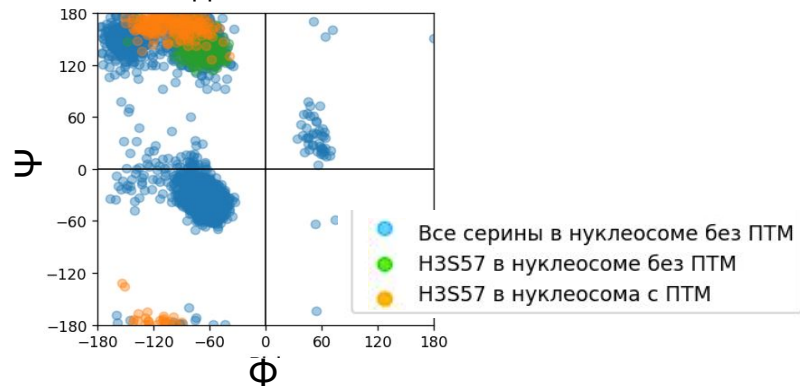


110 нс

Карта Рамачандрана для трипептида



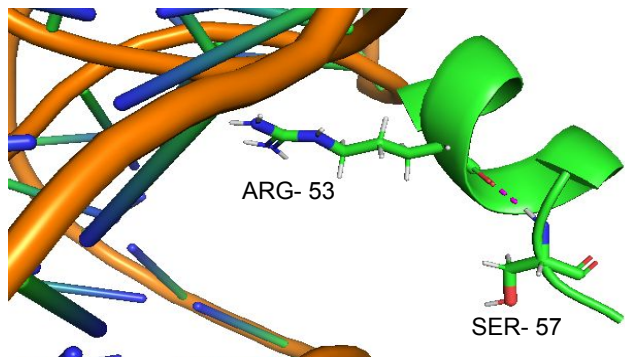
Карта Рамачандрана для H3S57



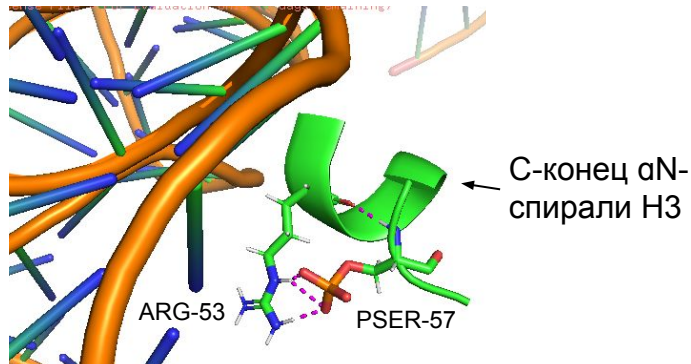
*разрешенные области значений Ψ и Φ

Параметризация ПТМ на примере фосфосерина (PSER)

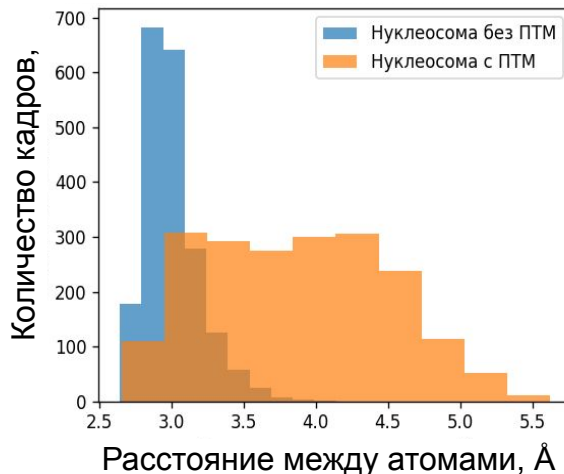
Взаимодействие **SER-57** с ARG-53



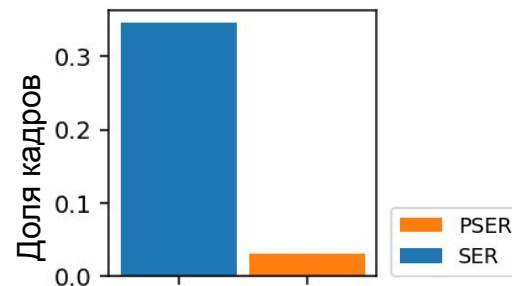
Взаимодействие **PSER-57** с ARG-53



Связь между N фосфосерина 57 и O аргинина 53



Частота взаимодействий ARG-53 с ДНК



Внесение ПТМ H3S57ph приводит к:

- изменению структуры αN-спирали H3
- уменьшению количества взаимодействия между ARG-53 и ДНК

Результаты и выводы:

1. Показано, что при моделировании нуклеосомы в воде модели ОРС, гистоновые хвосты более свободно перемещаются в пространстве, то есть меньше “залипают” на нуклеосоме, чем при моделировании нуклеосомы в воде TIP3P.
2. Рассчитаны энергетические эффекты фосфорилирования сайтов при последовательном фосфорилировании серинов, тирозинов и треонинов нуклеосомы, создан сайт для интерактивной визуализации этих сайтов в структуре нуклеосомы.
3. Внесение заряд-экранирующих мимиков ПТМ в хвосты гистонов H3 приводит к увеличению их конформационной лабильности.
4. Создан набор параметров для моделирования фосфосерина в силовом поле AMBER14SB, была произведена его валидация.
5. Показано что фосфорилирование серина 57 в гистоне H3 приводит к изменению структуры α N-спирали и нарушению локальных контактов с ДНК.

Список литературы

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

3) Принцип работы FoldX

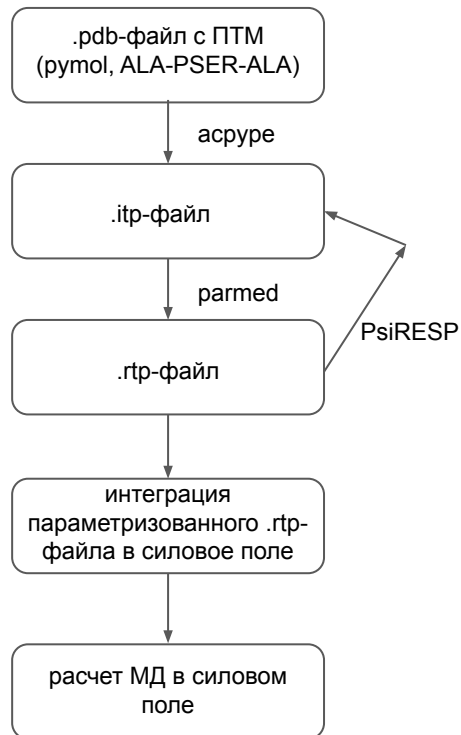
Свободная энергия макромолекулы рассчитывается по формуле:

$$\Delta G = W_{vdw} \cdot \Delta G_{vdw} + W_{solvH} \cdot \Delta G_{solvH} + W_{solvP} \cdot \Delta G_{solvP} + \Delta G_{wb} + \Delta G_{hbond} + \Delta G_{el} + \Delta G_{kon} + W_{mc} \cdot T \cdot \Delta S_{mc} + W_{sc} \cdot T \cdot \Delta S_{sc}, \text{ где}$$

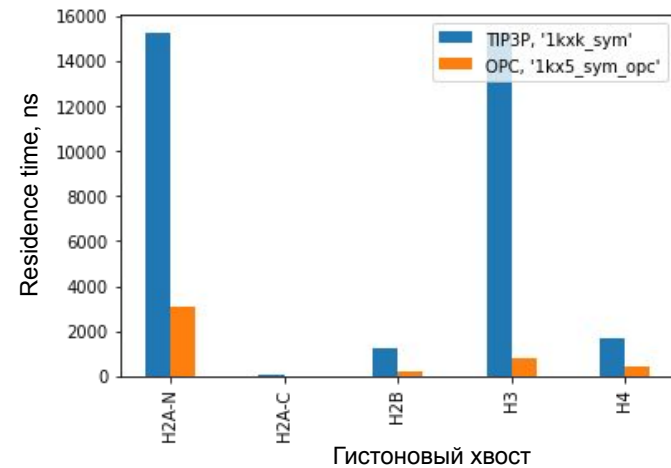
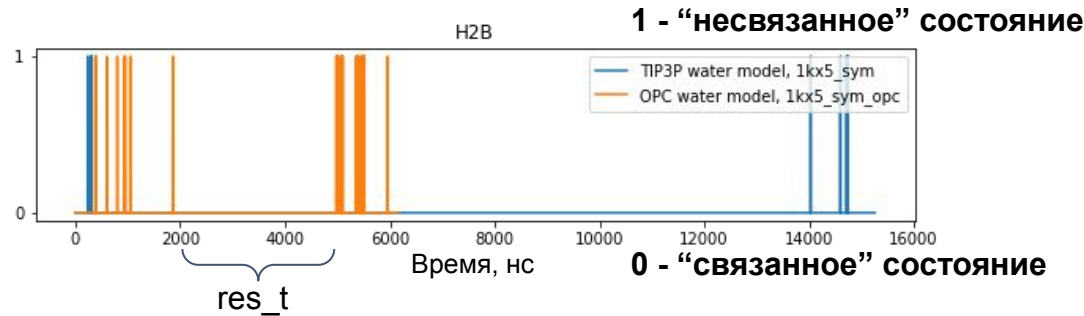
ΔG_{vdw} - сумма вкладов Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий всех молекул применительно к таким же взаимодействиям с растворителем, ΔG_{solvH} и ΔG_{solvP} - расхождения в энергии сольватации для неполярный и полярных групп атомов соответственно, когда они переходят от первоначального состояния в комплекс, ΔG_{hbond} - разница в свободной энергии между образованием внутримолекулярной водородной связи и образованием межмолекулярной водородной связи (с растворителем), ΔG_{wb} - дополнительная стабилизирующая свободная энергия, обеспечиваемая молекулами воды, которые образуют более одной водородной связи с белком (водные мостики), ΔG_{el} - электростатический вклад заряженных групп, включая спиральный диполь, ΔS_{mc} - энтропийные затраты на фиксацию каркаса в свернутом состоянии, ΔS_{sc} - энтропийные затраты на фиксацию боковой цепи в конкретной конформации.

4) Для моделирования был выбран AMBER14SB т.к. он хорошо подходит для моделирования белков и ДНК, также использовались поправки `parmbsc1` для динамики ДНК и `sfix` для динамики ионов. Уравновешивание молекул растворителя проводилось на 1ом этапе эквilibрации. Расчеты проводились в додекаэдрической коробке с размером ячейки 12x15x7 нм. В них была помещена система из ~630000 атомов, включая 564 молекул натрия, 416 молекул хлора и 153071 молекулы воды.

Алгоритм параметризации PSER



Время жизни “связанного” состояния (residence time)



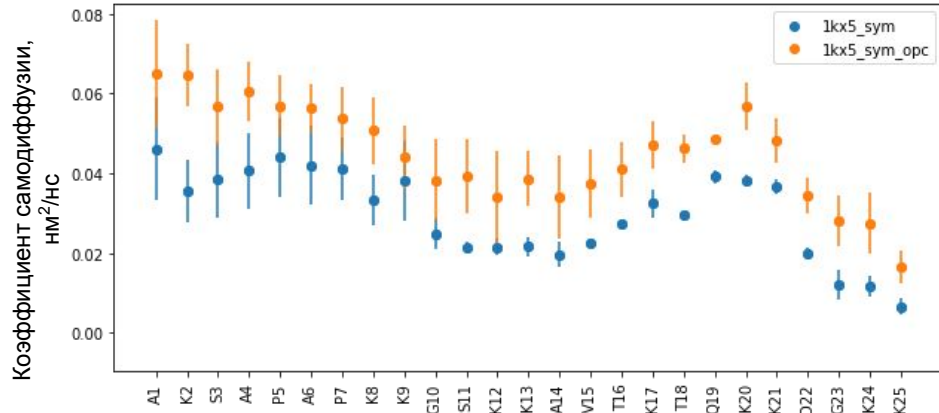
Время жизни “связанного” состояния (residence time) - среднее время пребывания хвоста в “связанном” с ДНК состоянии, т.е. средняя длина участка res_t.

Для расчета времени жизни “связанного” состояния нужно определить, на каких кадрах траектории хвосты “связаны” с ДНК, на каких - нет.

Кадр показывает “связанное” состояние, если минимум 10% аминокислотных остатков хвоста взаимодействуют с ДНК (хотя бы один тяжелый атом остатка находится на расстоянии $\geq 4\text{\AA}$ от ДНК).

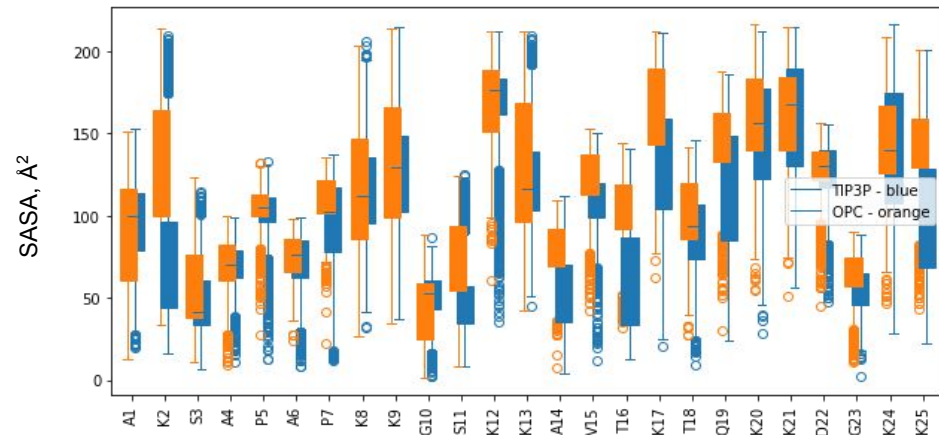
Коэффициент диффузии и SASA

Хвост гистона H2B



- Наблюдается общая тенденция увеличения коэффициента диффузии в воде OPC по сравнению с водой TIP3P. Чем он выше, тем остатку легче передвигаться в пространстве. Результаты можно считать статистически значимыми, так как расчет ошибки производился по результатам от двух хвостов.
- Также мы можем видеть, что коэффициент диффузии уменьшается с приближением аминокислотного остатка к коре нуклеосомы

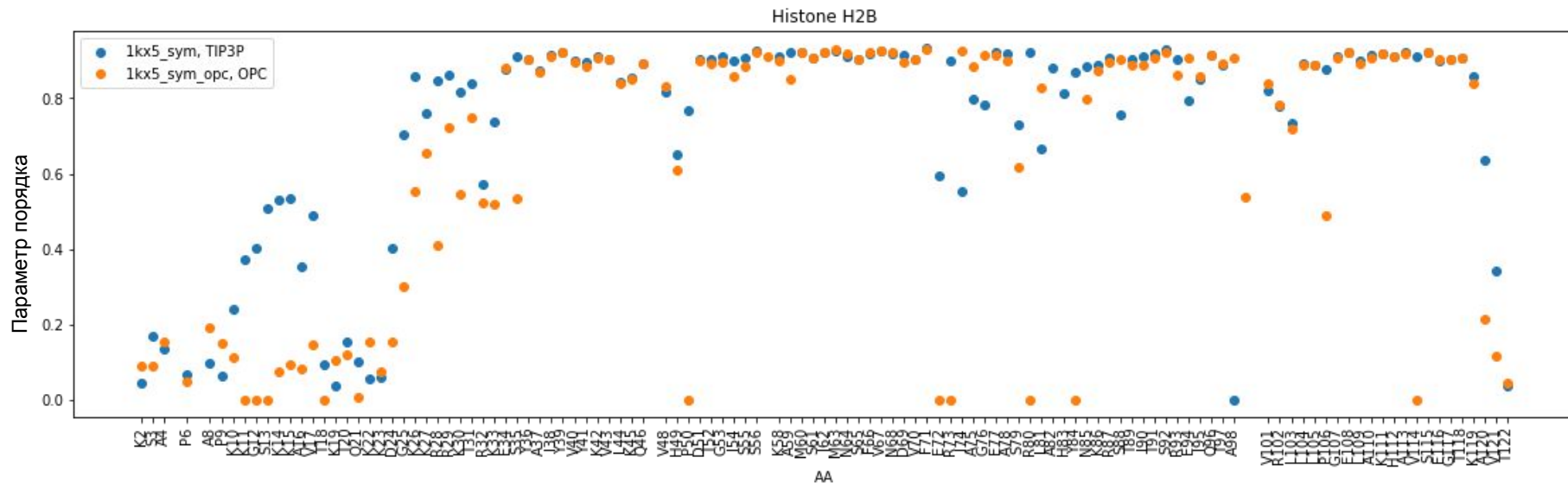
Хвост гистона H2B



Из графика зависимости SASA от номера аминокислотного остатка мы видим, что у гистона H2B: A14, K17 (пики раздвоились), Q19 (пики раздвоились), K25 (пики раздвоились) - остатки, SASA которых в воде OPC больше, чем в TIP3P

Параметр порядка

Параметр порядка характеризует то, насколько вектор намагниченности может свободно вращаться в пространстве. Когда вектор может занимать любые положения $S^2 = 0$, а когда белок плотно упакован $S^2 = 1$



По значениям параметра порядка для гистона H2B затруднительно судить об изменении динамики по отношению к разным типам воды, но из графика можно заметить, что аминокислотные остатки с 10 по 17 залипают на нуклеосоме