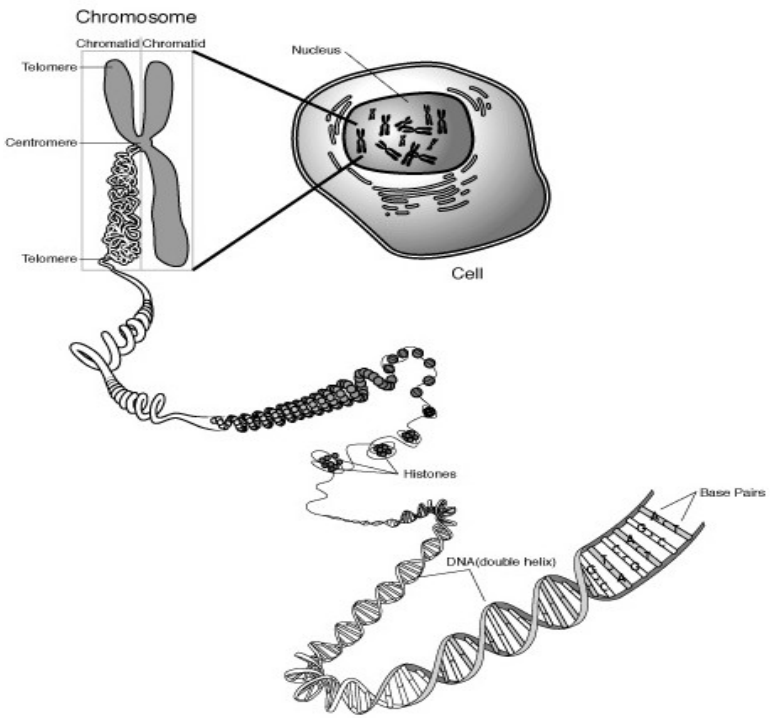
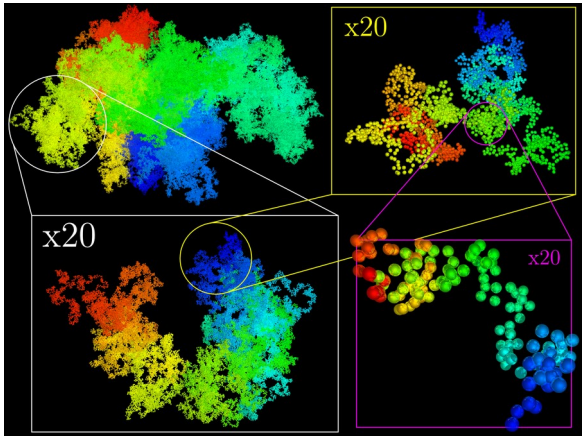
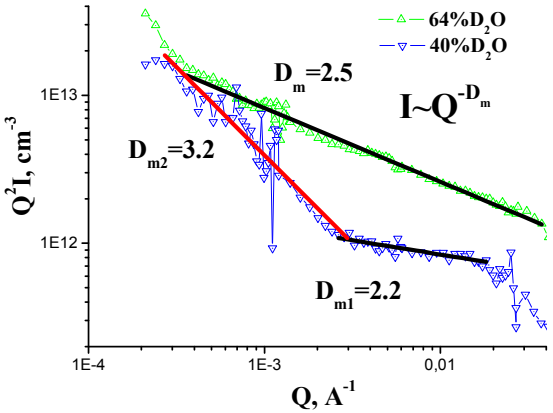
Влияние модуляторов молекулярного краудинга на структуру хроматина клеток

Д. Лебедев

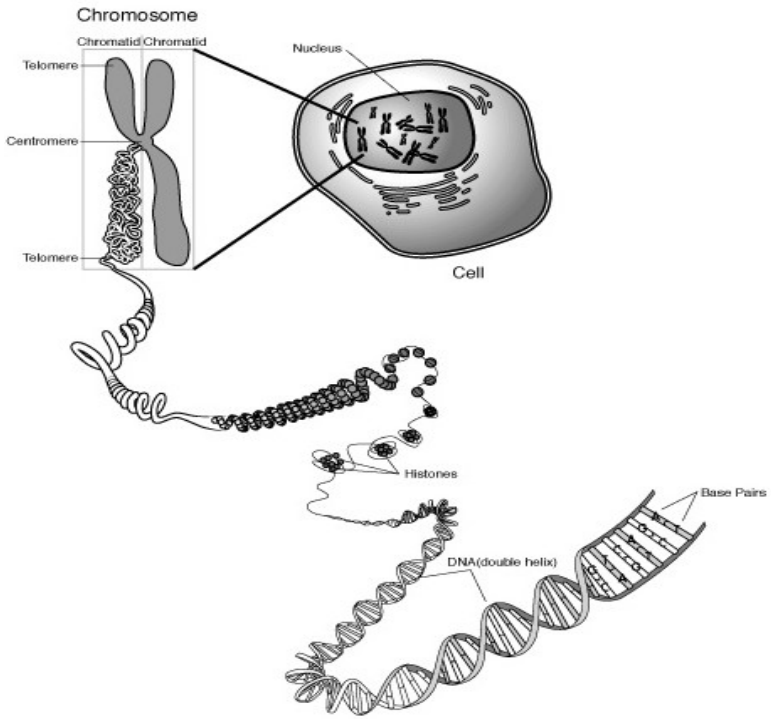
Петербургский Институт Ядерной Физики им. Б.П. Константинова НИЦ “Курчатовский Институт”
Отделение молекулярной радиационной биофизики

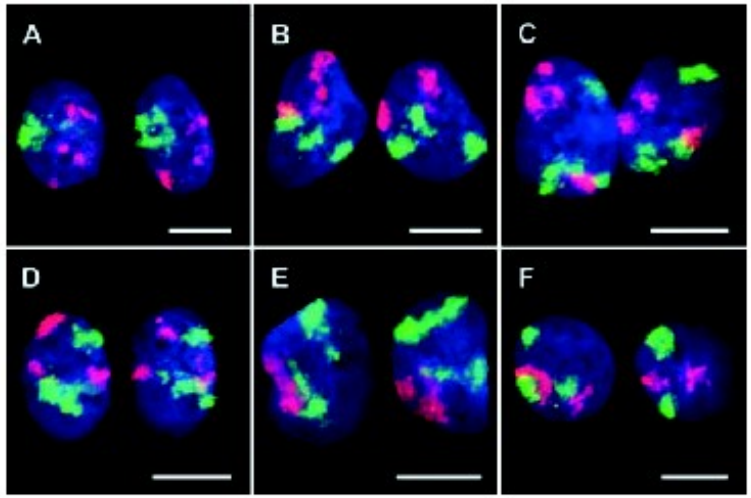


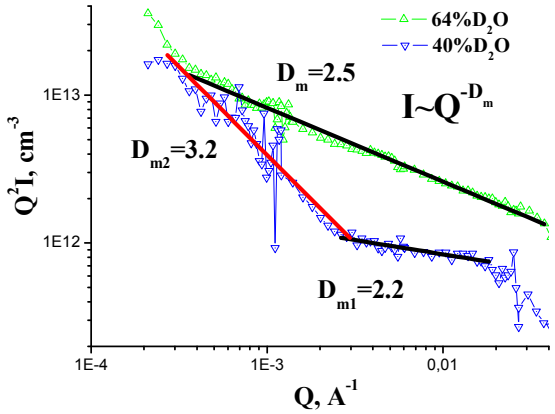




Уровни упаковки ДНК, хромосомные территории и фрактальность структуры







На малых размерах структура Гауссова полимера (показатель Флори ½), на размерах от нескольких сотен нм показатель Флори 1/3. Плотная упаковка; высокая диффузия на малых размерах; территориальный принцип на субмикронной шкале.

Моделирование фрактальной структуры хроматина: модель случайных блужданий

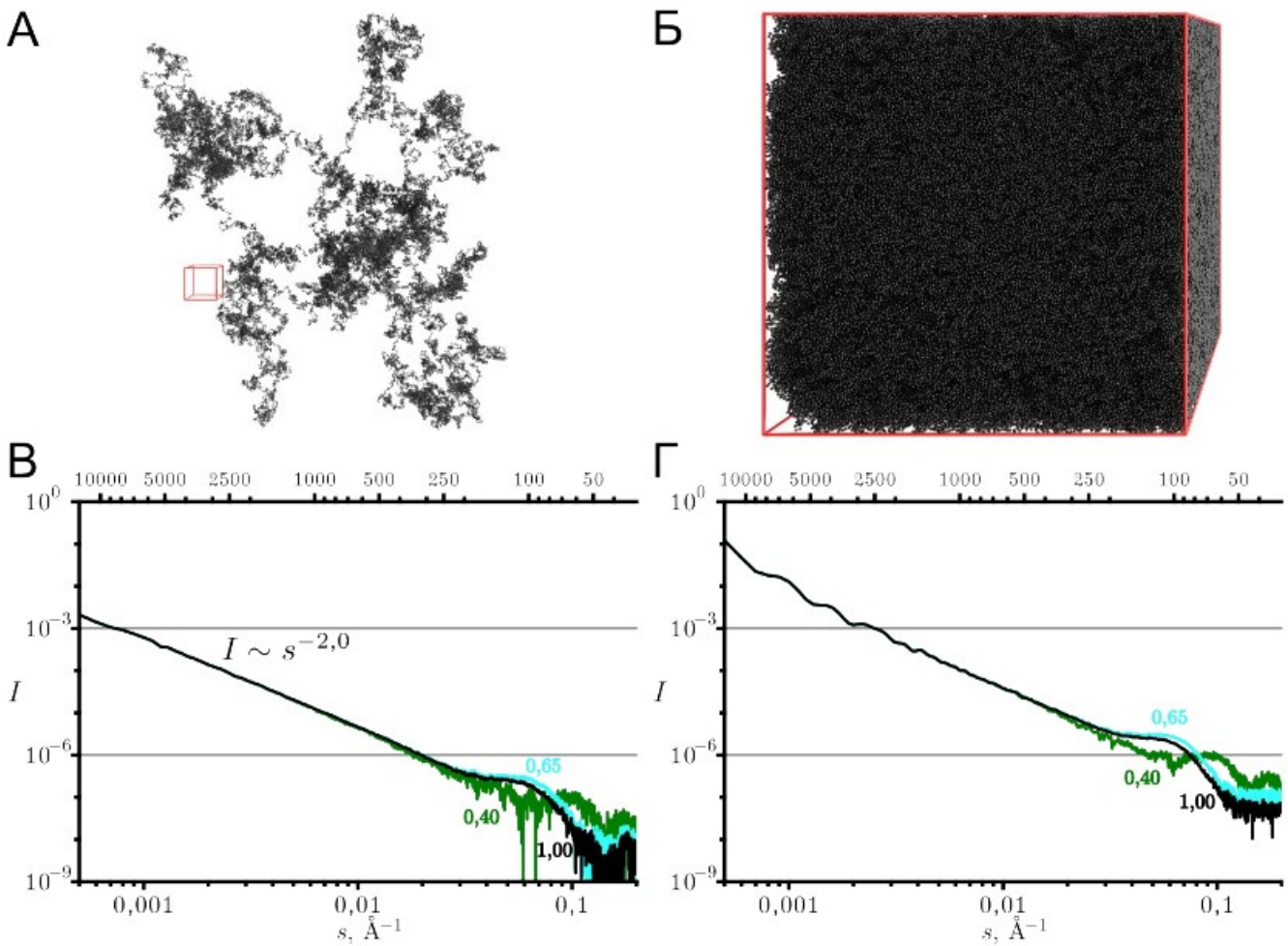
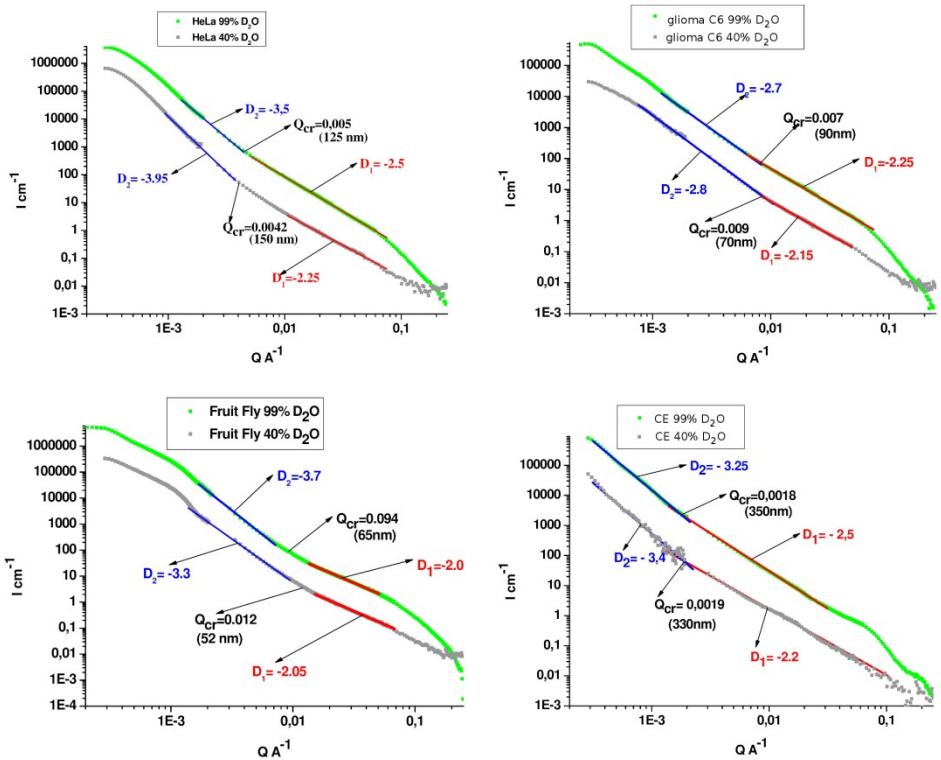
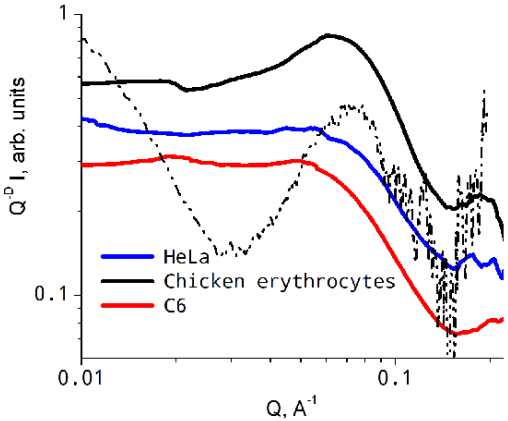


Рисунок 9. Типичные наднуклеосомные структуры и их спектры МУРН. **А, Б.** Трехмерные модели двух наднуклеосомных структур, состоящих из 10^6 нуклеосом, которые получены (А) в режиме свободной генерации и (Б) в режиме генерации в объеме (куб с ребром 10^4 Å, для сравнения также приведен на (А). Длины линкеров находились в интервале [0; 50] Å. Каждая нуклеосома представлена сферой диаметром 75 Å. **В, Г.** Спектры МУРН двух наднуклеосомных структур для указанных на графике значений концентрации тяжелой воды в растворе W_D: (В) для структуры (А) и (Г) для структуры из 10^5 нуклеосом в кубе с ребром 10^4 Å (аналогично структуре (Б). Количество МК итераций в обоих случаях было равно 10^{10}, в то время как пространственное разрешение составляло 0,05 и 0,01 Å, соответственно

Сравнение структурных свойств хроматина нескольких типов клеток

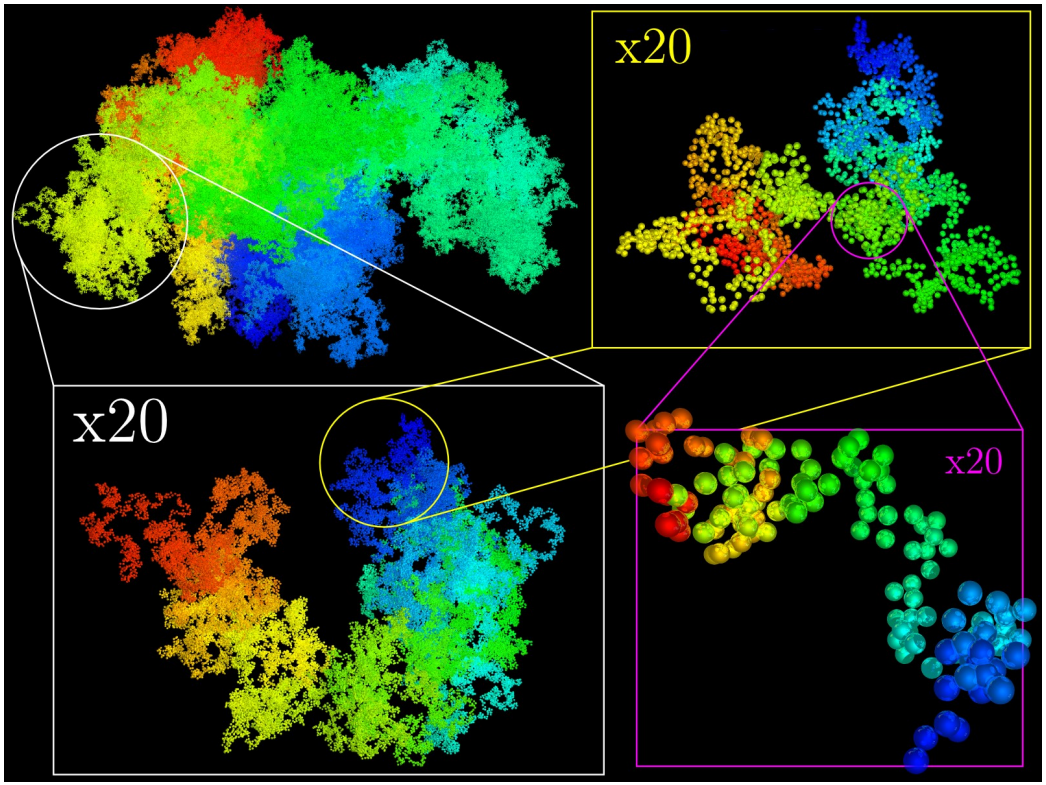


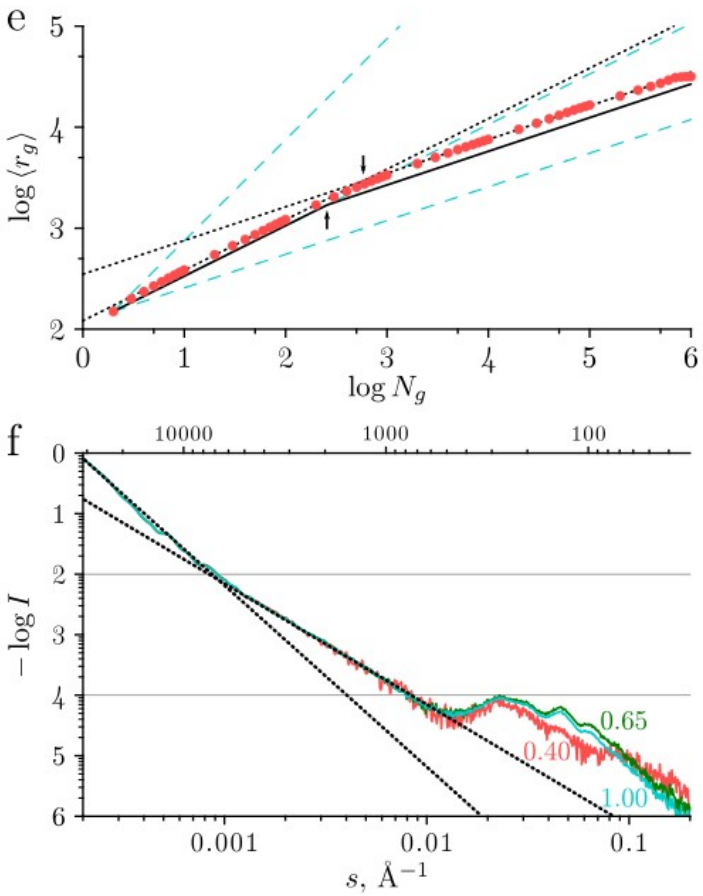


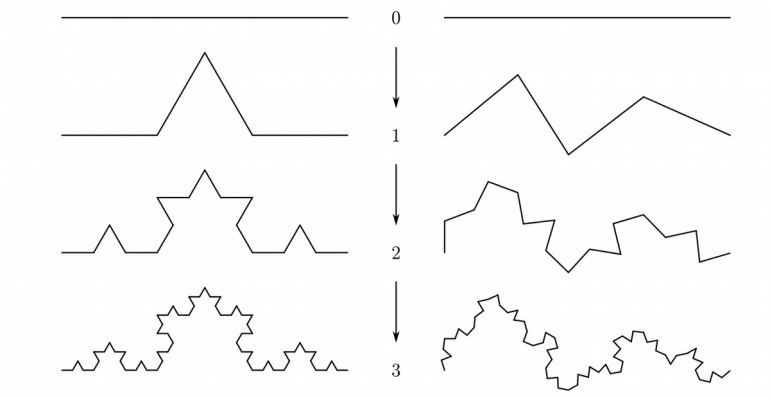
Участки спектров МУРН, соответствующие нуклеосомной структуре и соответствующий расчетный спектр для неупорядоченных нуклеосом.

Спектры МУРН на ядрах клеток HeLa, C6, эмбрионов дрозофилы и эритроцитов кур. Фрактальная структура хроматина на малых размерах сходна во всех системах; структура, близкая к фрактальной глобуле видна только у эритроцитов кур и клеток C6

Моделирование фрактальной структуры хроматина

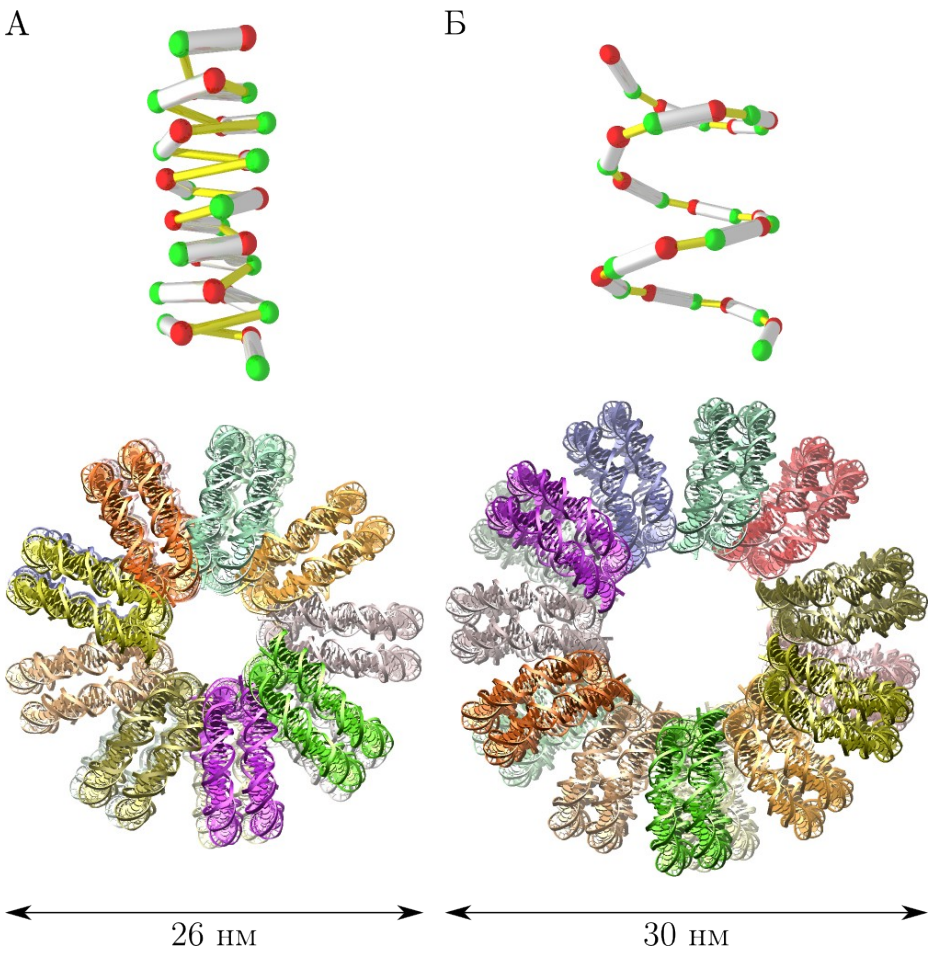


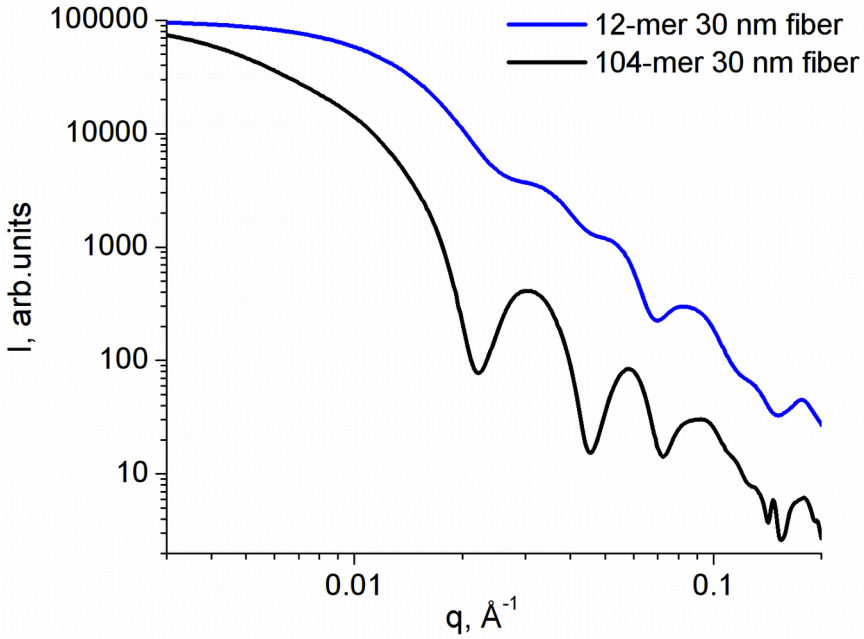




Генерация фрактала с помощью преобразования самоподобия в пространстве. Слева показан рост классической троичной кривой Коха, порождаемой n = 4 отрезками длиной 1/f = 1/3 (откуда её фрактальная размерность d = ln 4/ ln 3 ≈ 1.26). Справа показан рост случайного фрактала, образованного генераторами, эквивалентными (в смысле n и f) генераторам кривой Коха. (из А.Илатовский, 2011)

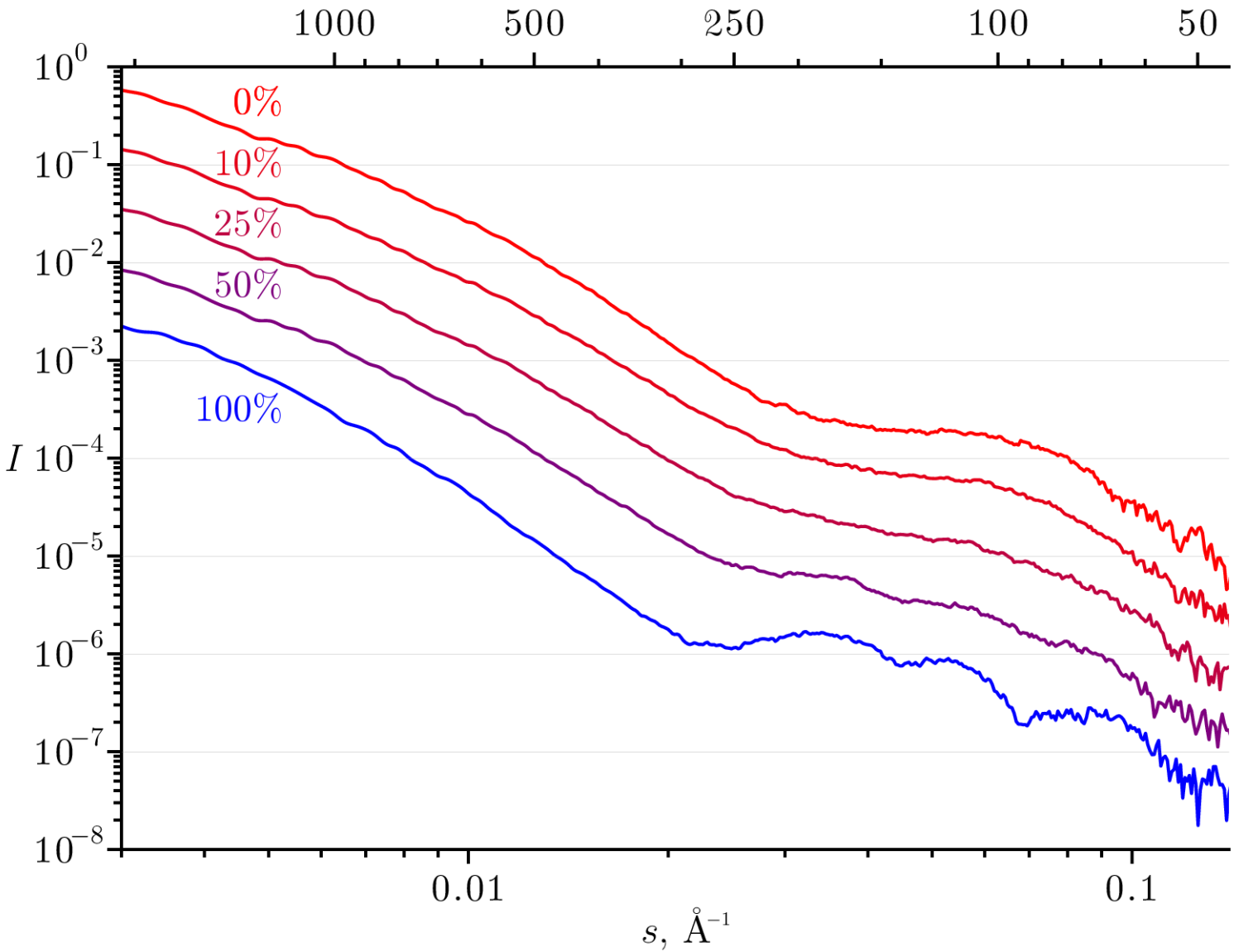
Моделирование нуклеосомных и наднуклеосомных структур



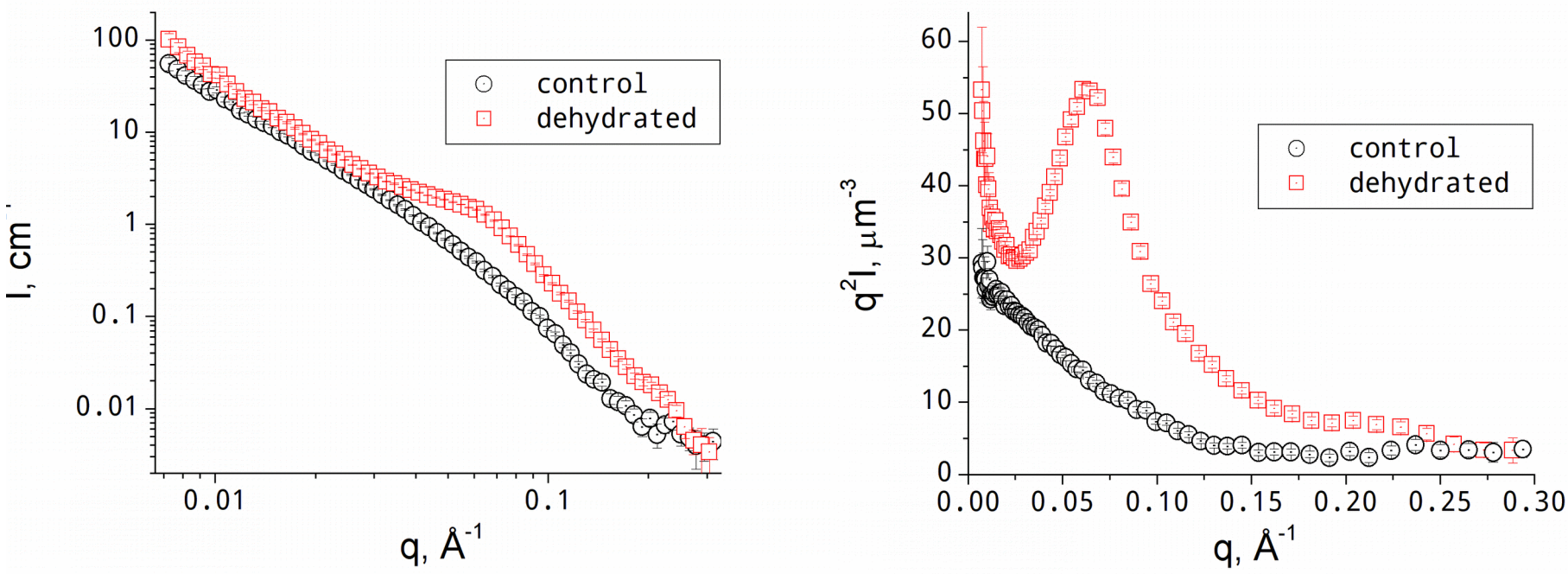


Модель и расчетные спектры для 30 нм фибрилл.

Расчетные спектры МУРН для серии фрактальных моделей с различным процентным содержанием (0, 10, 25, 50 и 100 %) нуклеосом в составе фрагментов 30 нм фибрилл



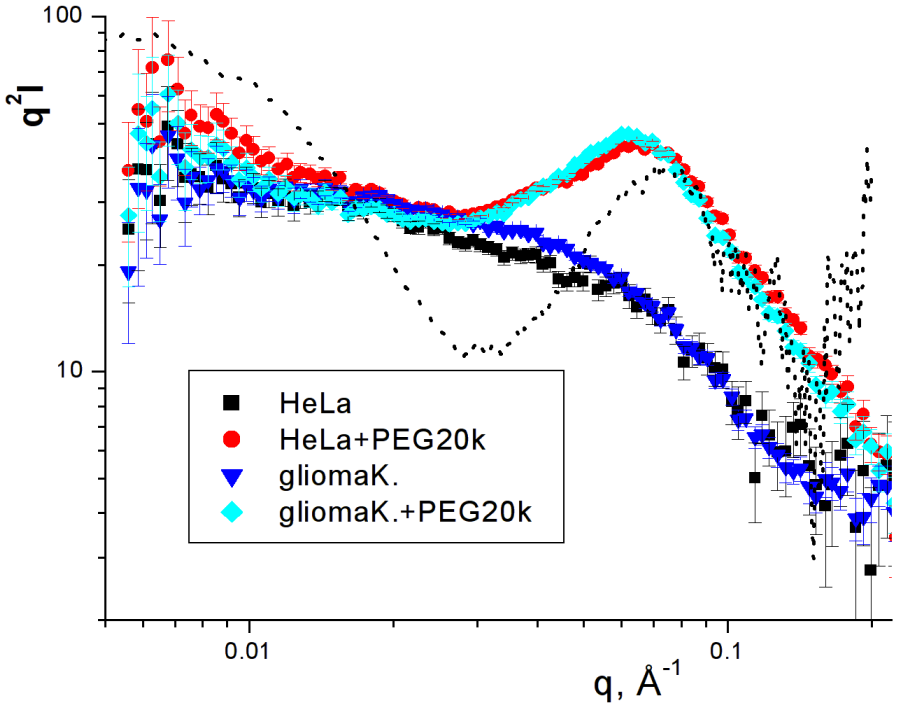
Полиэтиленгликоль меняет структуру хроматина на нуклеосомном уровне



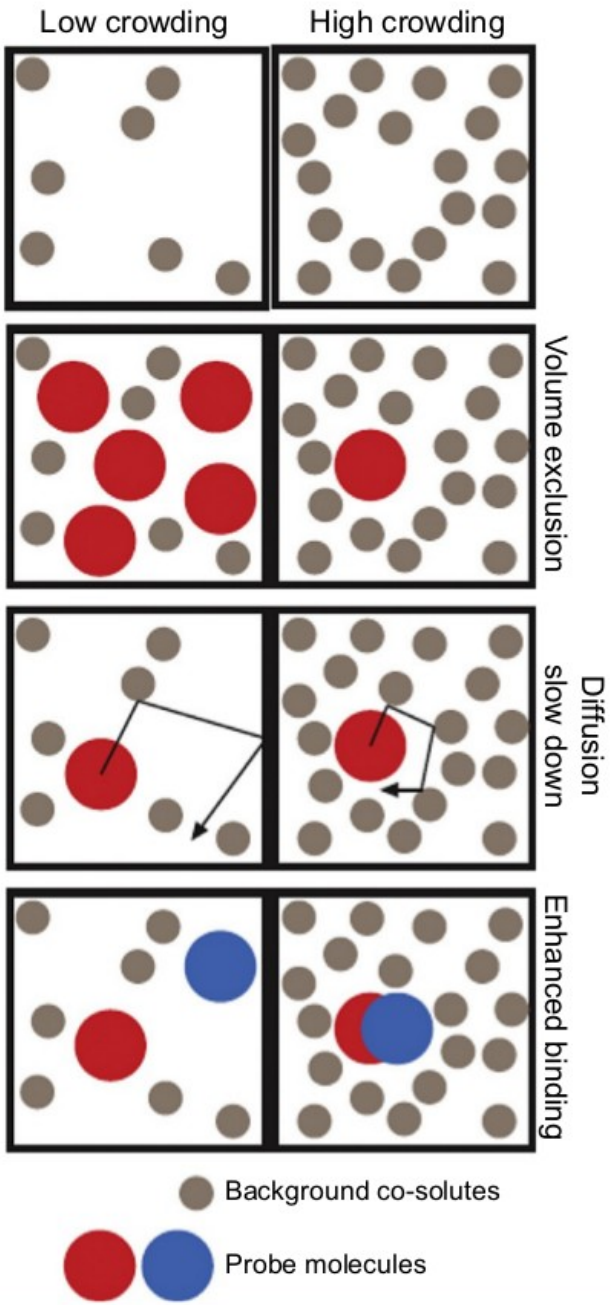
Спектры МУРН на ядрах клеток линии С6, подвергнутых гиперосмотическому стрессу (ЮМО, Дубна)

Размер молекулы ПЭГ-3000 (клубок) <4 нм.
Размер макромолекул, способных к диффузии в клеточном ядре – до 90 нм.
ПЭГ свободно проникает в большинство ядерных компартментов.

Макромолекулярный краудинг

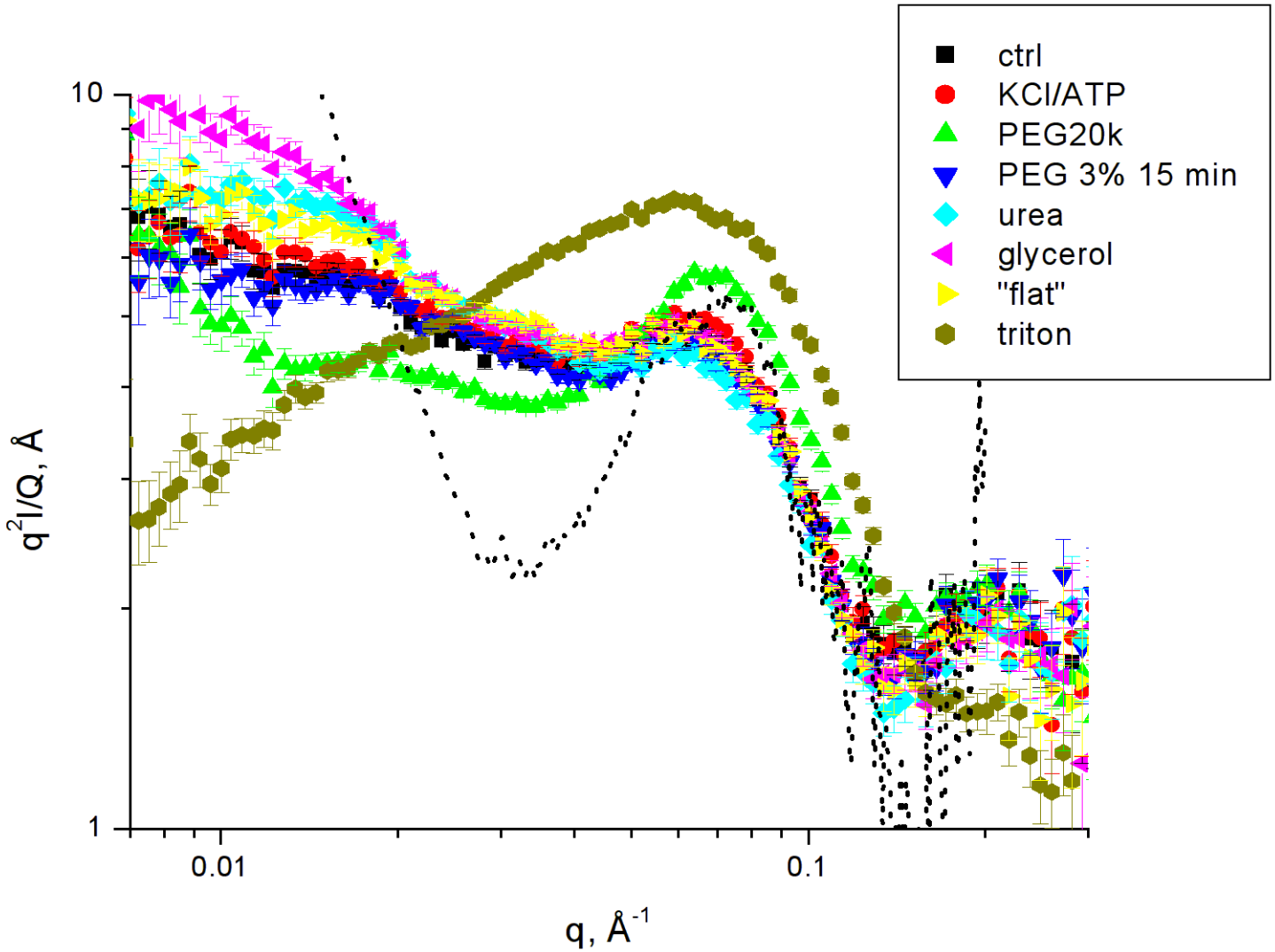


Влияние ПЭГ на спектры МУРН в области нуклеосомных размеров для человеческих линий HeLa и глиомы"К" (ЮМО, Дубна)

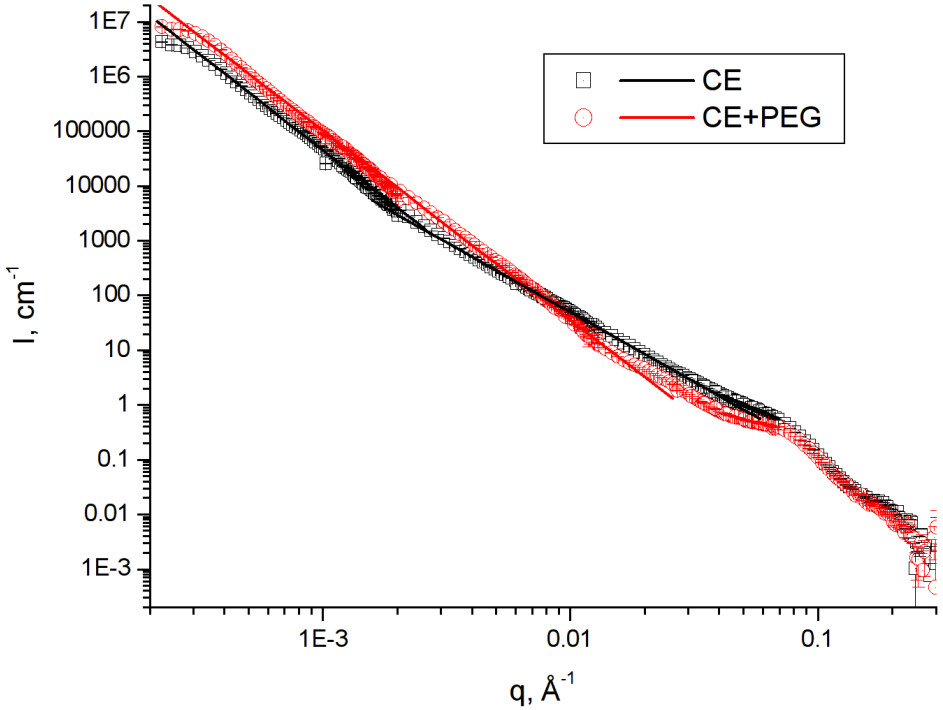


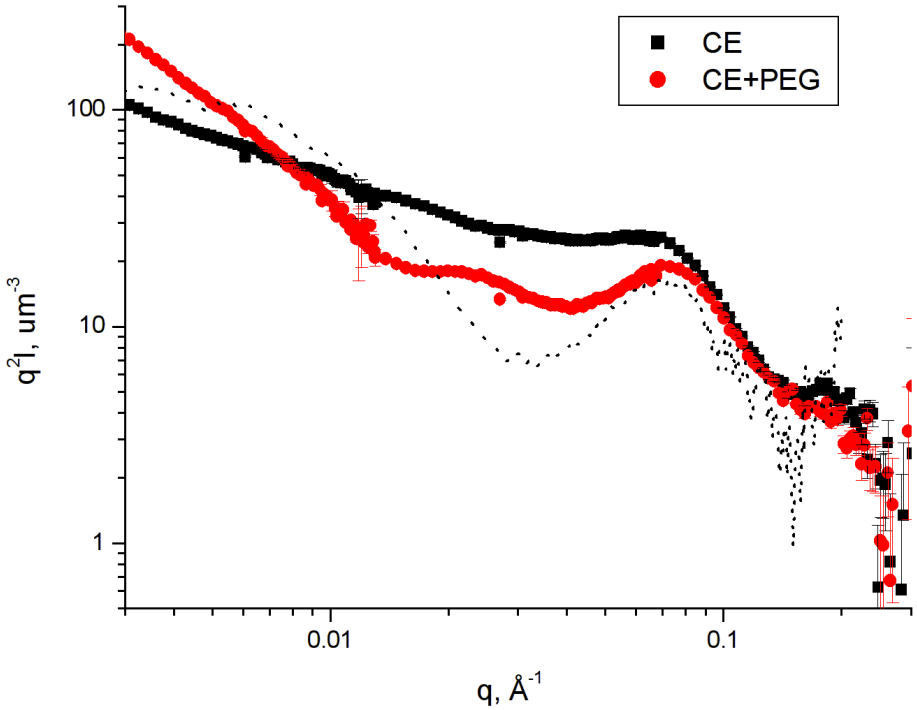
Sébastien et al. International Review of Cell and Molecular Biology, Volume 307

Влияние модуляторов макромолекулярного краудинга на спектры МУРН в области нуклеосомных размеров для ЯЭК (ЮМО, Дубна)



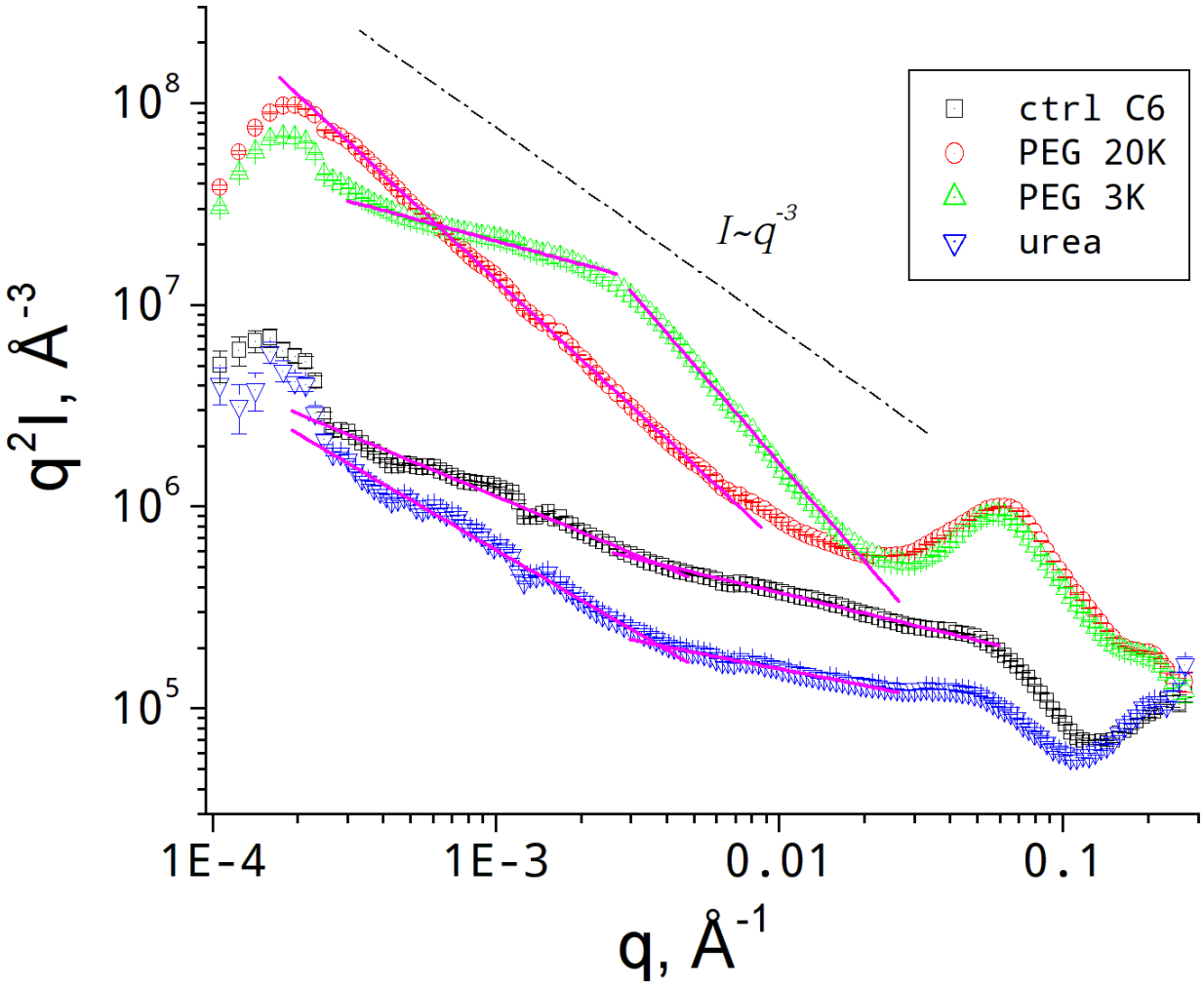
Полиэтиленгликоль меняет структуру хроматина как на хромосомных размерах, так и на нуклеосомном уровне





Спектры МУРН на эритроцитах курицы, подвергнутых обработке ПЭГ-20К (KWS-2 и KWS-3, Мюнхен)

Влияние модуляторов макромолекулярного краудинга на спектры МУРН для ядер клеток C6 (KWS-2+KWS3, JCNS)



sample	range, Å^{-1}	power exp.	range, Å^{-1}	power exp.
control	0.004 - 0.04	2.34	3e-4 - 3e-3	2.59
urea	0.004 - 0.02	2.28	3e-4 - 3e-3	2.82
PEG3K	0.004 - 0.02	3.62	4e-4 - 2e-3	2.38
PEG20K			3e-4 - 5e-3	3.31

Выводы

- Полиэтиленгликоль оказывает существенное влияние на характер распределения хроматина в клеточном ядре на масштабах от нуклеосомных до хромосомных, что может быть связано с изменением условий краудинга в ядре.

- Влияние других агентов – модуляторов краудинга (мочевина, глицерин) на упаковку хроматина незначительно и по-видимому ограничивается изменением крупномасштабной структуры

Благодарности

Андрей Илатовский
Георгий Рычков
Алексей Швецов

Рима Пантина

Александр Конев
Алексей Онуфриев
Михаил Филатов
Владимир Исаев-Иванов

Александр Куклин
Татьяна Муругова
Vitaliy Pipich
Aurel Radulescu