Полноатомные модели частично собранных нуклеосом и их применение для интерпретации экспериментальных данных

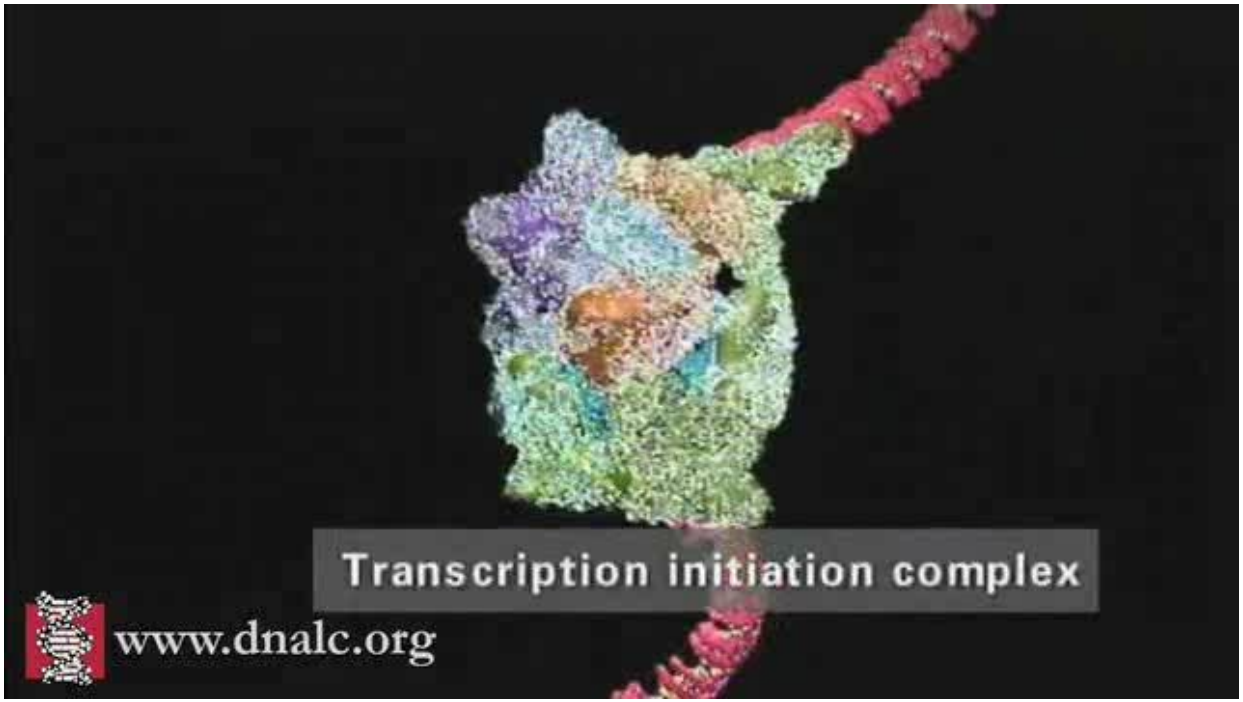
Г.Н. Рычков[1], А.В. Илатовский[1], И.Б. Назаров[2], А.В. Швецов[1], Д.В. Лебедев[1], А.Ю. Конев[1], В.В. Исаев-Иванов[1], А.В. Онуфриев[3]

[1]Петербургский институт ядерной физики, НИЦ «Курчатовский институт»
[2]Институт цитологии РАН
[3]Вирджинский политехнический университет

«МУРомец 2015»,
Гатчина, ПИЯФ
2015

Механизм компактизации ДНК в ядре
(анимация сделана в Howard Hughes Medical Institute)

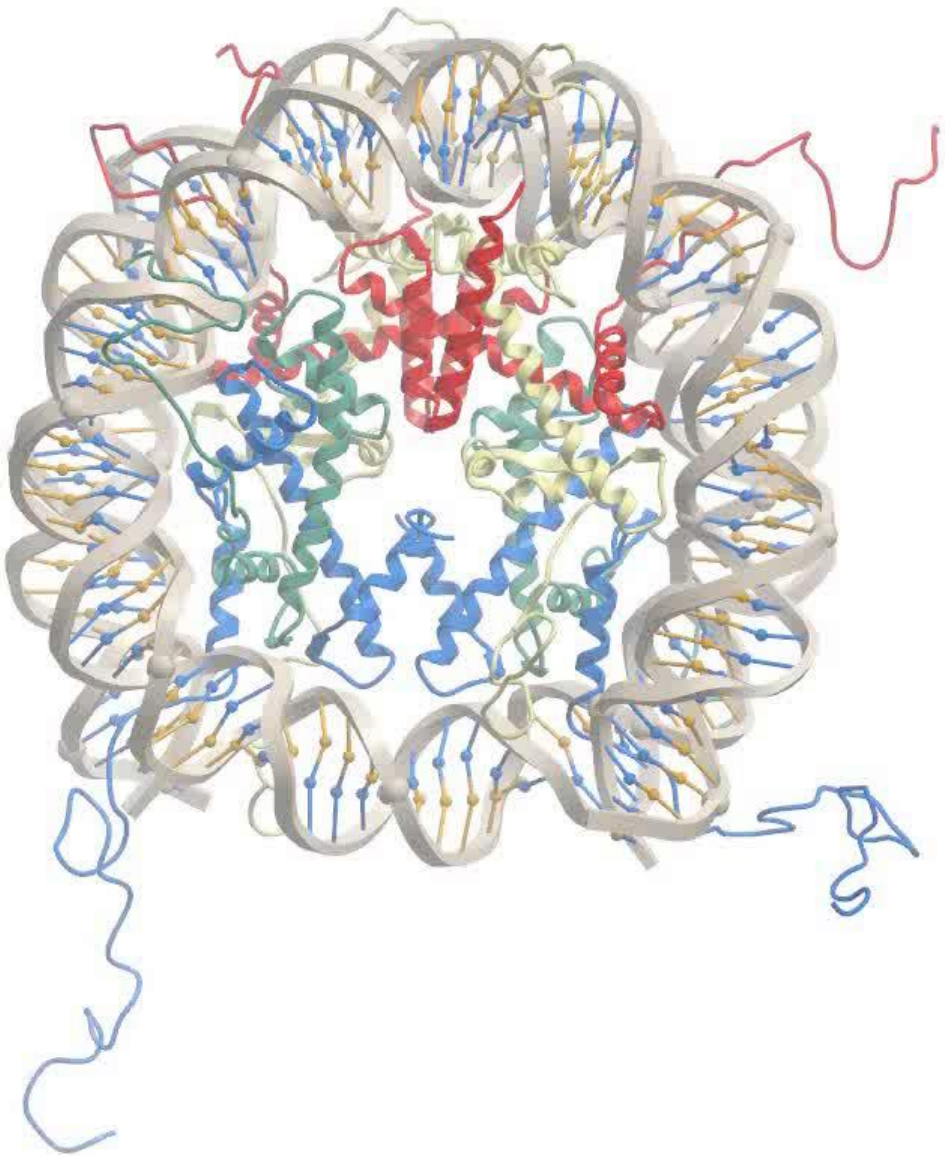
Транскрипция



Репликация

Анимация сделана в Cold Spring Harbor Laboratory

Нуклеосома. Протранственная структура. (PDB:1kx5)



147 п.н.

1.65 оборота

Гистоны в составе нуклеосомы

$2\cdot(H2A\cdot H2B)(H3\cdot H4)_2$

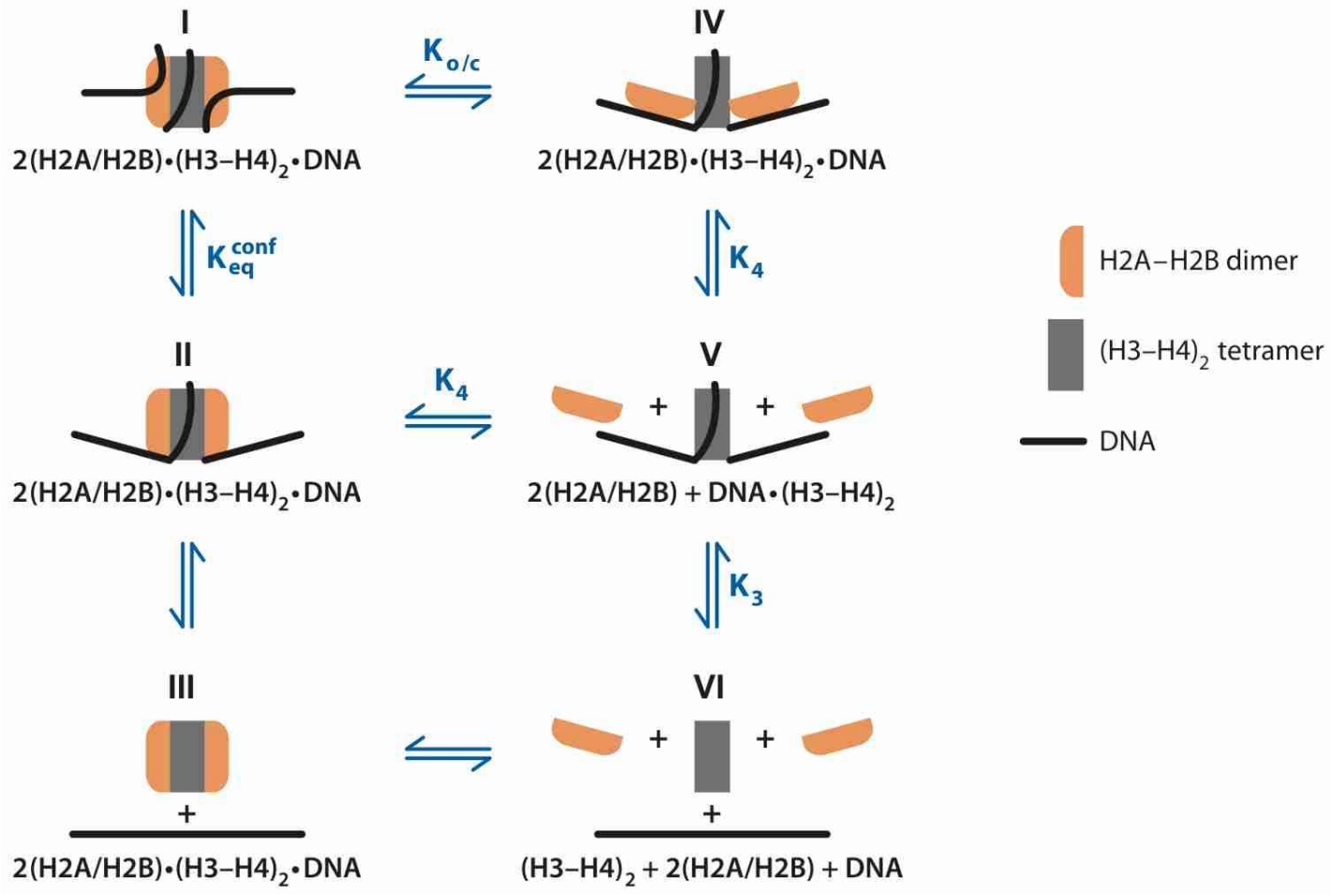
H3

H4

H2A

H2B

Пути сборки/разборки нуклеосом



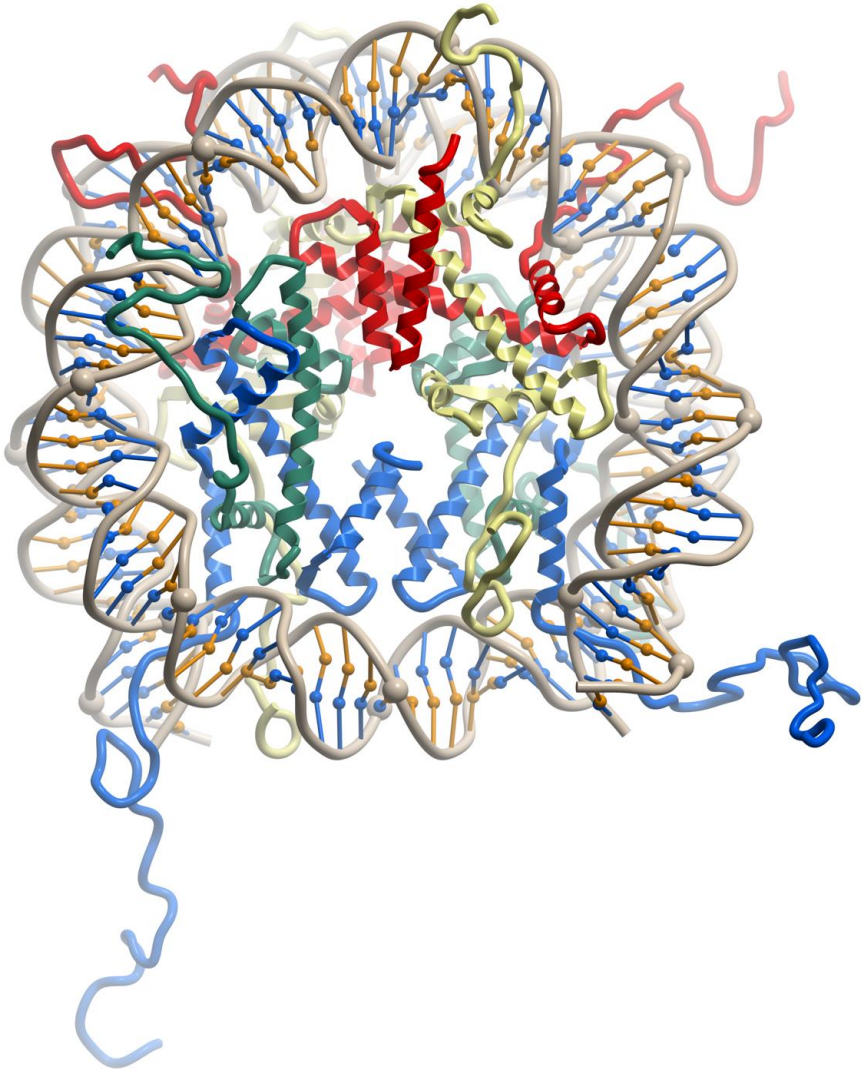
На данный момент считаются возможными два пути:

VI → V → (IV or II) → I

Andrews A. and Luger K. Annu. Rev. Biophys. 2011. 40:99–117

Иллюстрация последовательной сборки нуклеосомы

Octasome



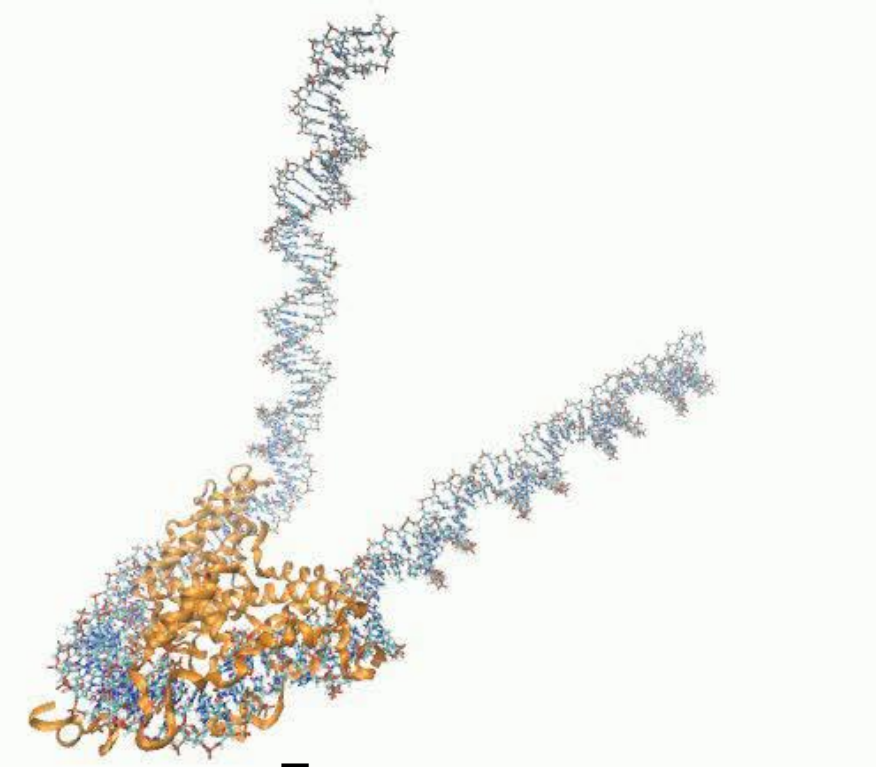
План изложения результатов

1. Конструирование полноатомных моделей частично собранных нуеклеосомных структур и исследование их подвижности методами молекулярной динамики
2. Экспериментальная реконструкция нуклеосомных частиц и исследование их морфологии методами атомной силовой микроскопии (АСМ)
3. Интерпретация опубликованных данных на основе полученных результатов:

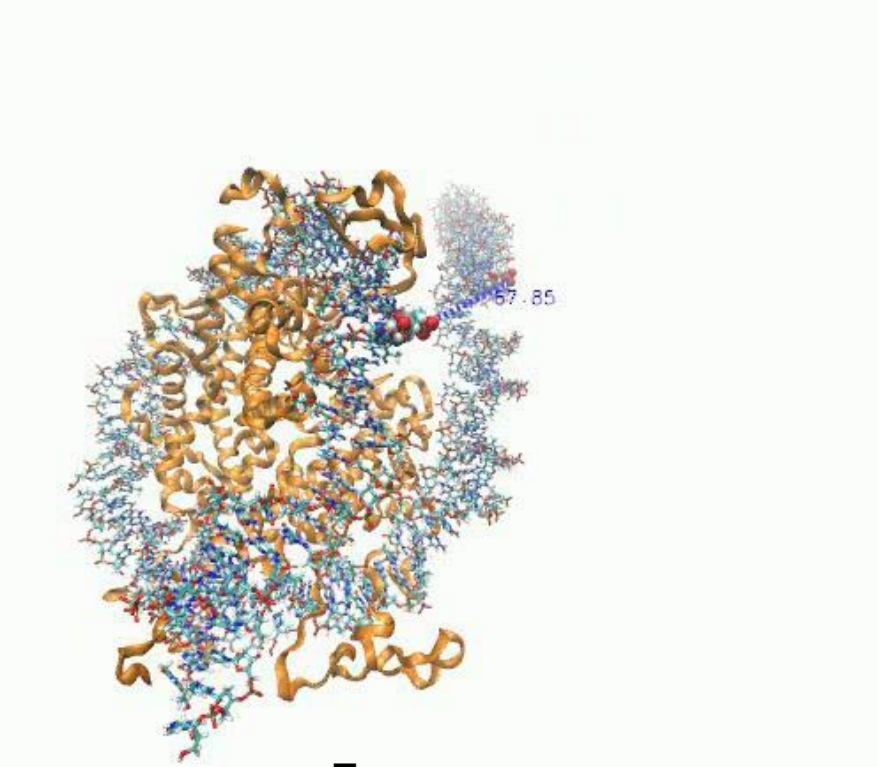
3.1. Доступность ДНК в хроматине для белковых факторов

3.2. Интерпретация спектров МУРР смеси частично собранных нуклеосом

Визуализация молекулярной динамики тетрасомы и гексасомы



Тетрасома



Гексасома

Условия МД

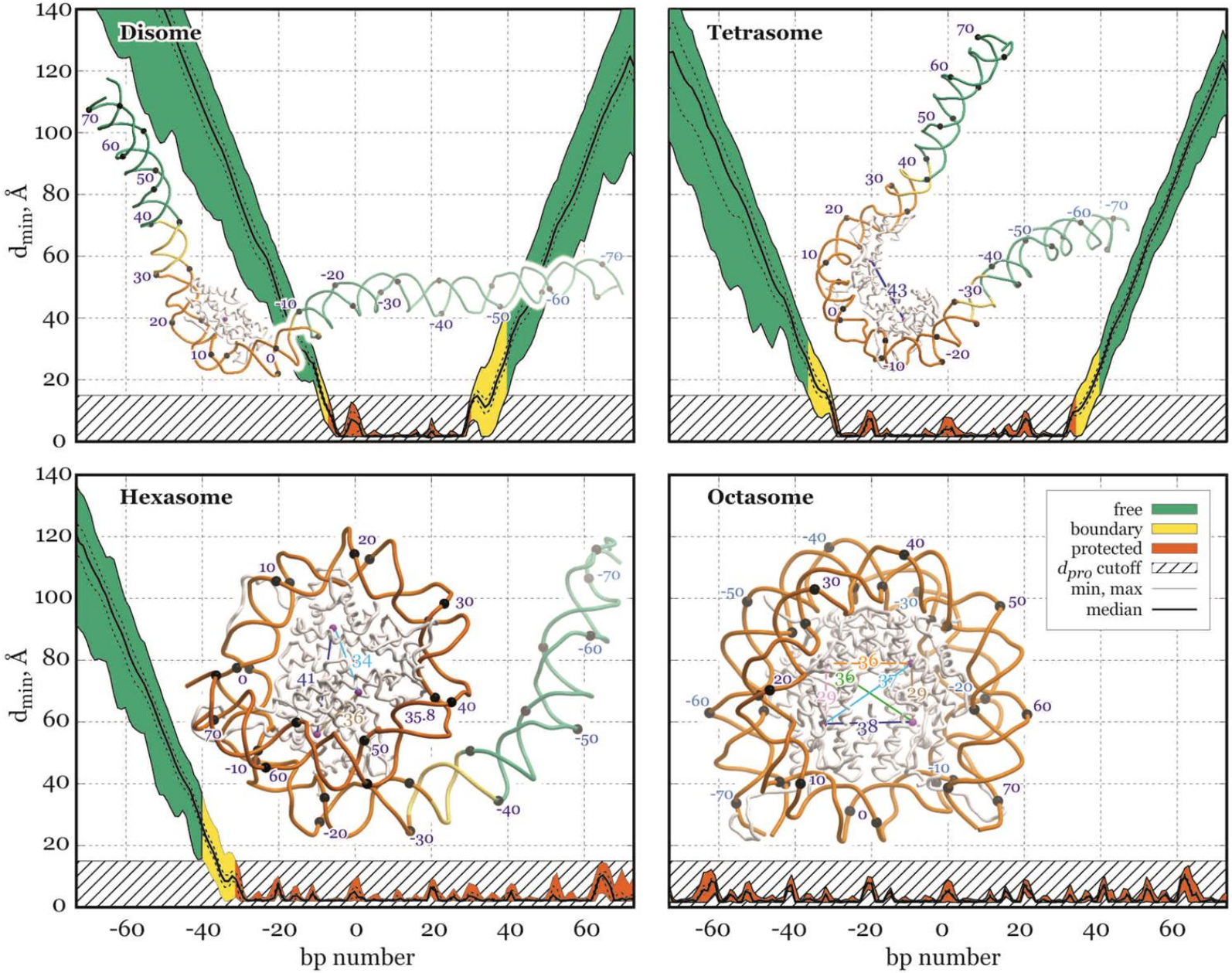
Неявно заданный растворитель.

Модель растворителя: обобщённая борновская модель в модификации igb5 без ограничения на расстояния взаимодействий; термостат Ланжевена 300 K;
Продуктивная динамика в течении 2x75 нс

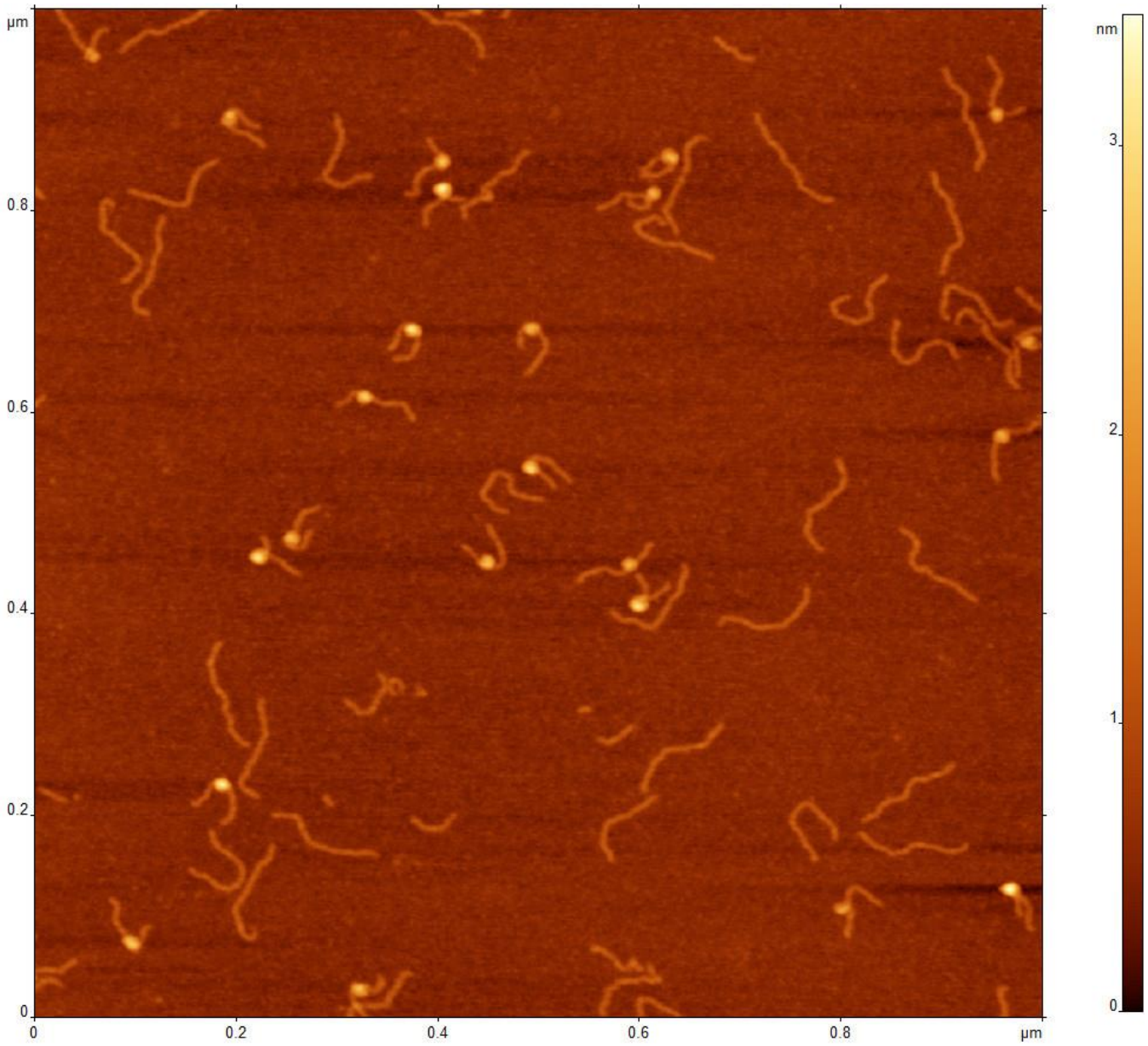
Явно заданный растворитель.

Силовое поле: amber99SB ILDN bcs0; модель воды: TIP3P, 0,15M NaCl; NPT, 1 бар, 300K; размер бокса: 0,6M-1M атомов; продуктивная динамика 100 нс

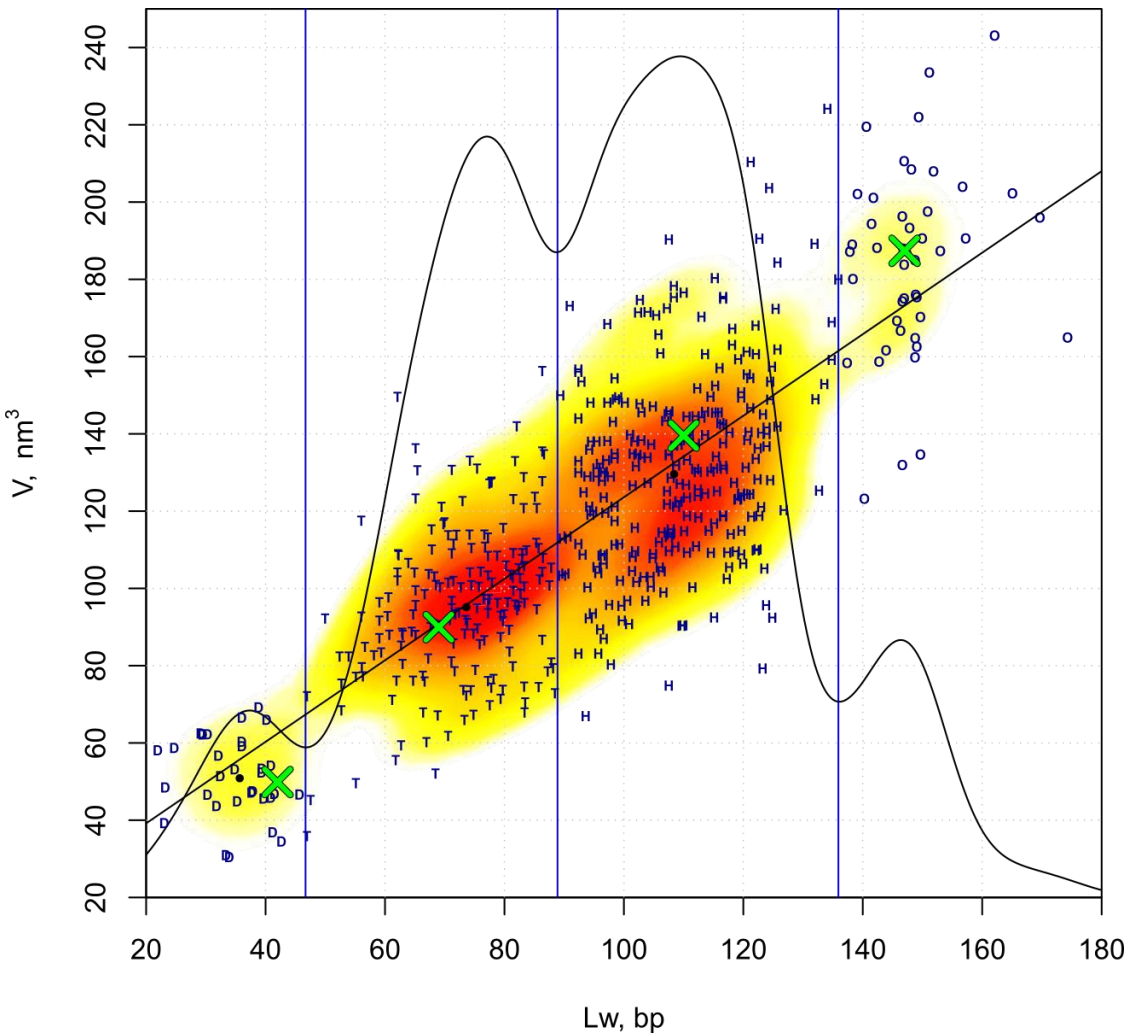
Динамика доступности ДНК



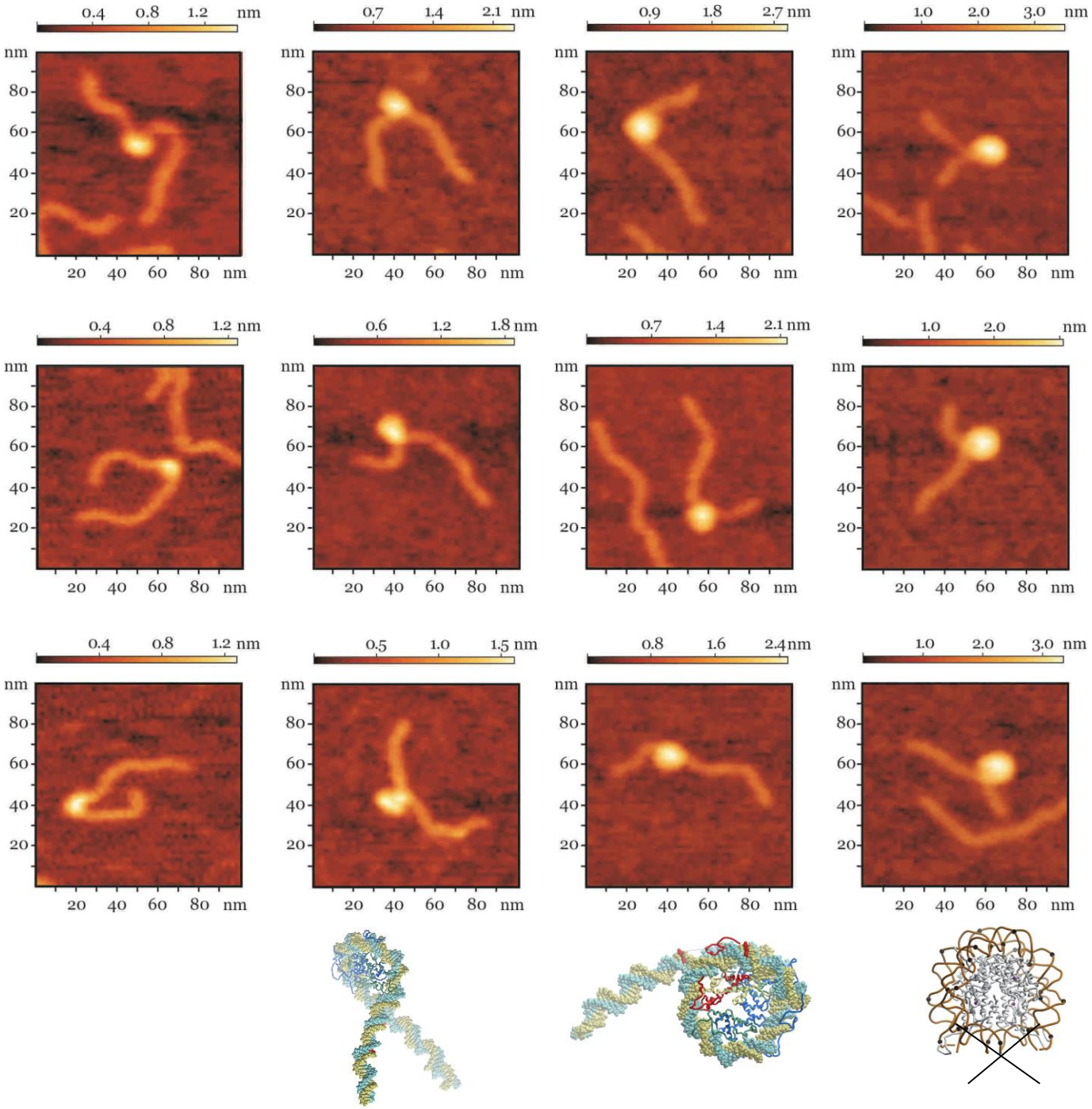
АСМ снимок реконструированных образцов нуклеосомных частиц



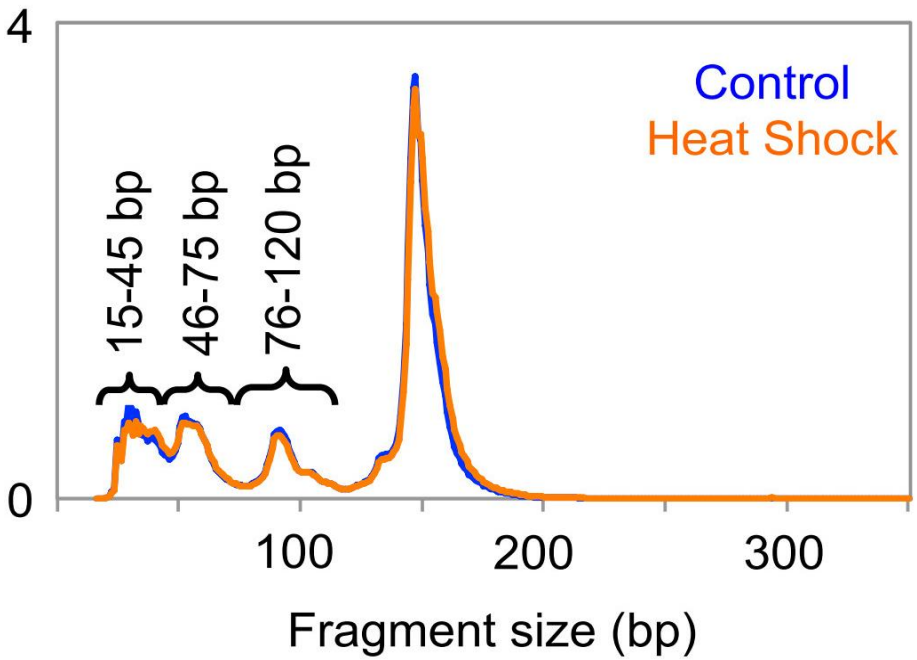
Распределение геометрических параметров нуклеосомных частиц



Карта плотности распределения частиц по объёму V,
и длине фрагмента ДНК, обёрнутого вокруг гистонового кора, Lw,
а также график распределения частиц по Lw.


0.4 0.8 1.2 nm
0.7 1.4 2.1 nm
0.9 1.8 2.7 nm
1.0 2.0 3.0 nm
0.4 0.8 1.2 nm
0.6 1.2 1.8 nm
0.7 1.4 2.1 nm
1.0 2.0 nm
0.4 0.8 1.2 nm
0.5 1.0 1.5 nm
0.8 1.6 2.4 nm
1.0 2.0 3.0 nm
nm
20 40 60 80 nm

Сравнение длин защищённых участков ДНК



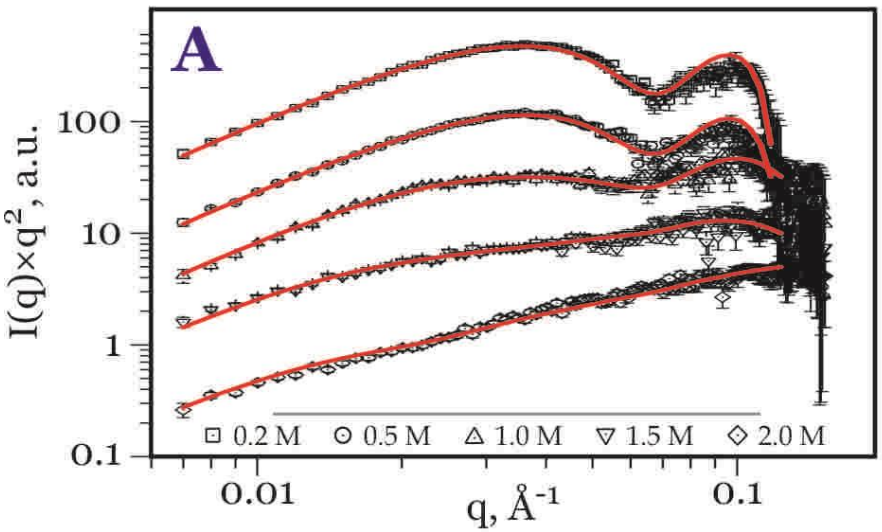
Фрагменты ДНК, полученные в результате экстракции хроматина в 80 мМ NaCl с последующим расщеплением ДНК микрококковой нуклеазой

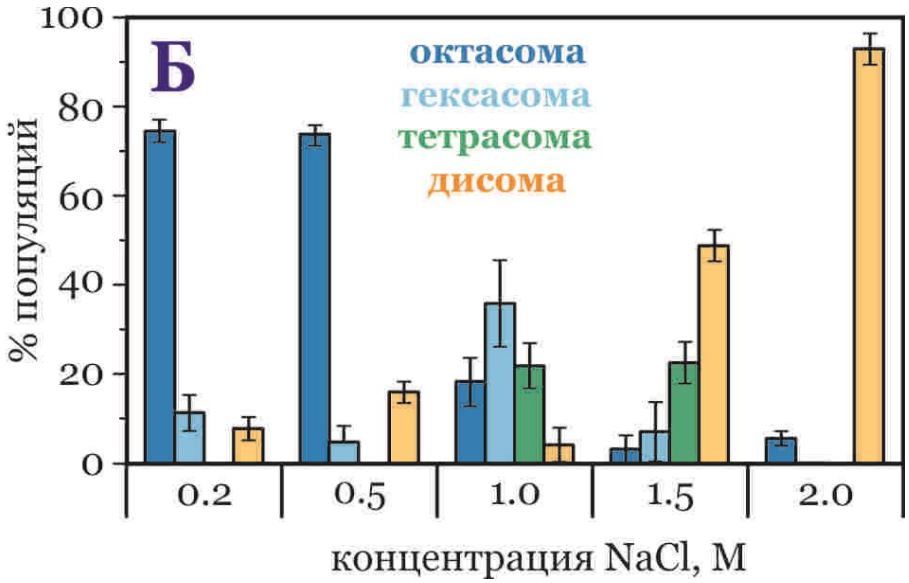
Teves S. S., Henikoff S. Heat shock reduces stalled RNA polymerase II and nucleosome turnover genome-wide //Genes & development. – 2011. – Т. 25. – №. 22. – С. 2387-2397.

Защищённая ДНК	Данные АСМ		Моделирование МД	
	Сред-нее	СКВО	Сред-нее	Откло-нение
Дисома	36.0	8.5	42	14
Тетрасома	74.0	15.6	69	10
Гексасома	108.7	18.5	106	7
Октасома	147.8	6.5	147	0

Результаты обработки снимков АСМ и данные, рассчитанные из молекулярной динамики

Анализ спектров МУРР гетерогенной смеси частично собранных нуклеосом в 50% сахарозе





Аппроксимация спектров МУРР линейной комбинацией набора расчётных интенсивностей рассеяния частично собранных нуклеосом: χ^2 1.56, 2.07, 0.83, 0.87, и 1.14

Процентный состав четырёх популяций нуклеосомных частиц при различных концентрациях NaCl по результатам аппроксимации

Chen,Y., Tokuda,J., Topping,T., Sutton,J., Meisburger,S., Pabit,S., Gloss,L., and Pollack,L. (2014). Nucleic Acids Res., 42, 8767

Заключение

- Были сконструированы полноатомные модели частично собранных нуклеосом: включая гексасому, тетрасому и дисому. Проведена оценка доступности ДНК в каждой такой структуре для белковых факторов.
- Анализ АСМ снимков позволяет разделить нуклеосмоные частицы на четыре класса, отличающиеся объёмом и длинной защищённых фрагментов ДНК: октасомы, гексасомы, тетрасомы и дисомы.
- Источником фрагментов ДНК, наблюдаемых в результате расщепления хроматина микрококковой нуклеазой (Teves S. Henikoff S., 2011) могут быть частично собранные нуклеосомные структуры.
- Модели позволяют установить процентное отношение популяций частично собранных нуклеосом в образцах, исследуемых методом SAXS

Вклад участников в работу

Г.Н. Рычков: создание моделей частично собранных нуклеосом, МД в неявно заданном растворителе, обработка результатов

А.В. Илатовский: обработка и визуализация данных

И.Б. Назаров: исследование структуры нуклеосом методом АСМ

А.В. Швецов: МД в явно заданном водном растворителе, расчёт спектров МУРН

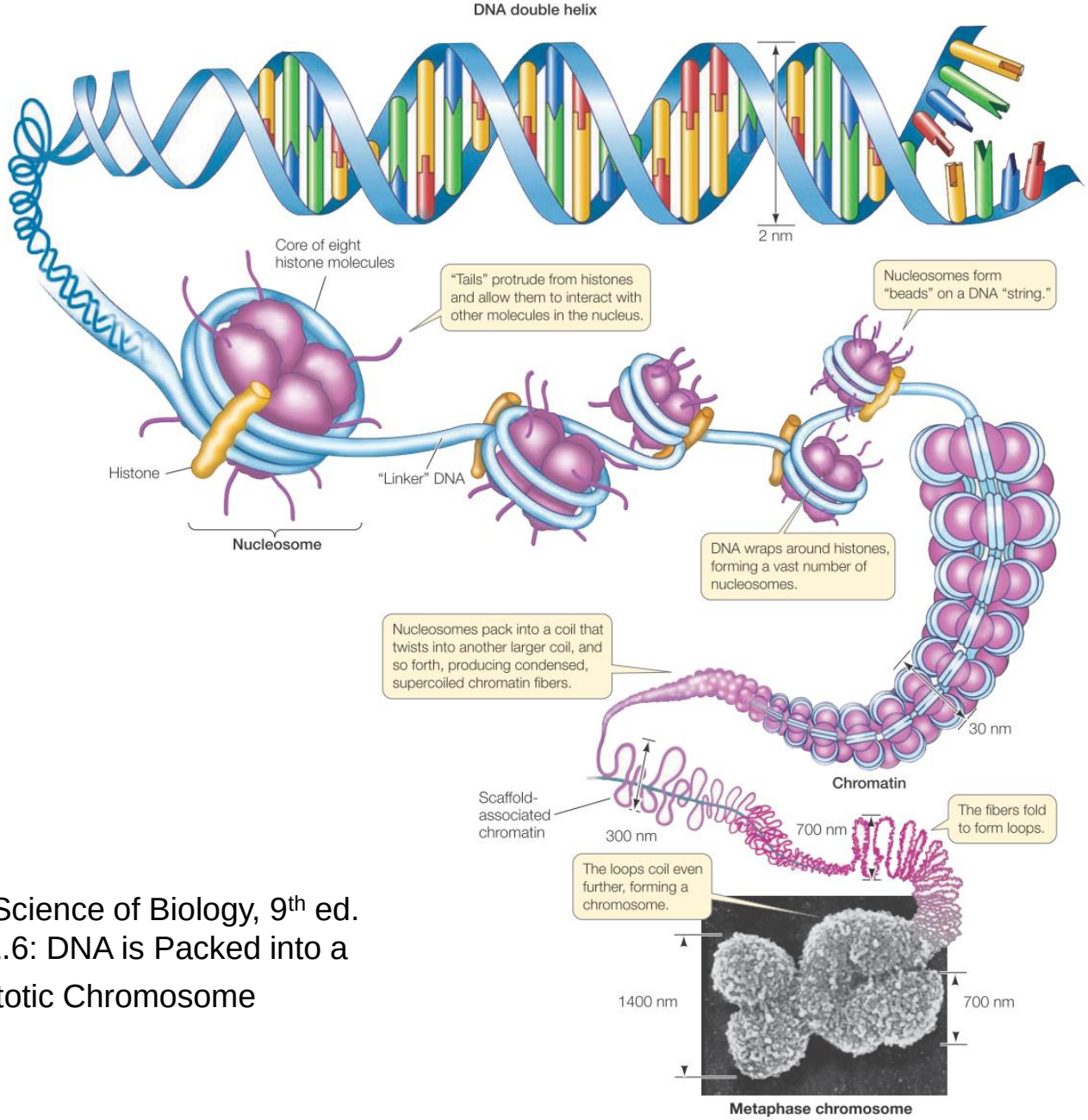
Д.В. Лебедев: интерпретация данных, обсуждение результатов

А.Ю. Конев: интерпретация данных, обсуждение результатов

В.В. Исаев-Иванов: консультирование, обсуждение результатов, общее руководство

А.В. Онуфриев: интерпретация данных, общее руководство

Уровни компактизации хроматина



Life: The Science of Biology, 9th ed.
Figure 11.6: DNA is Packed into a Mitotic Chromosome