



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

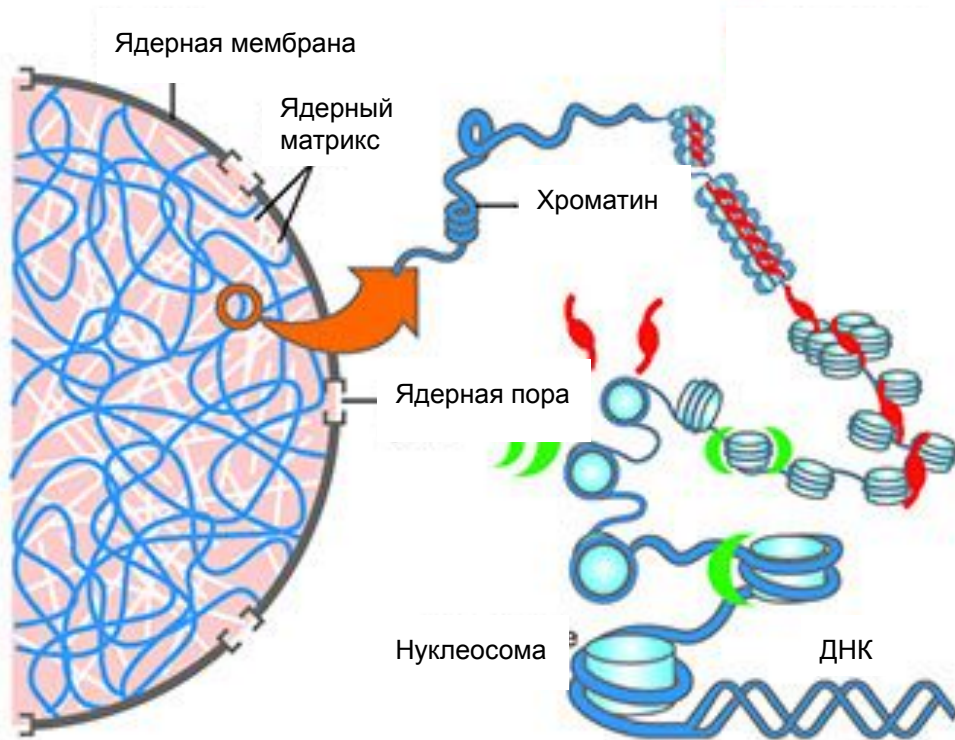


МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДИНАМИКИ КАНОНИЧЕСКИХ И H2A.Z-НУКЛЕОСОМ

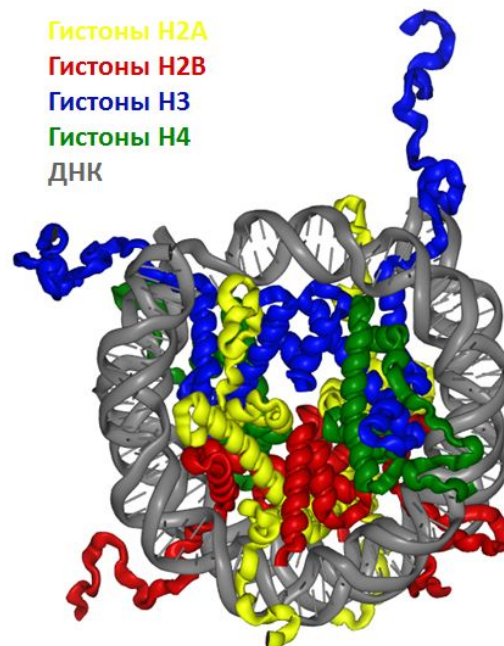
Князева Анастасия Сергеевна
к. ф.-м. н. Шайтан Алексей Константинович
к. ф.-м. н. Армеев Григорий Алексеевич

Москва
2020

Проблема понимания динамики хроматина



Структура хроматина

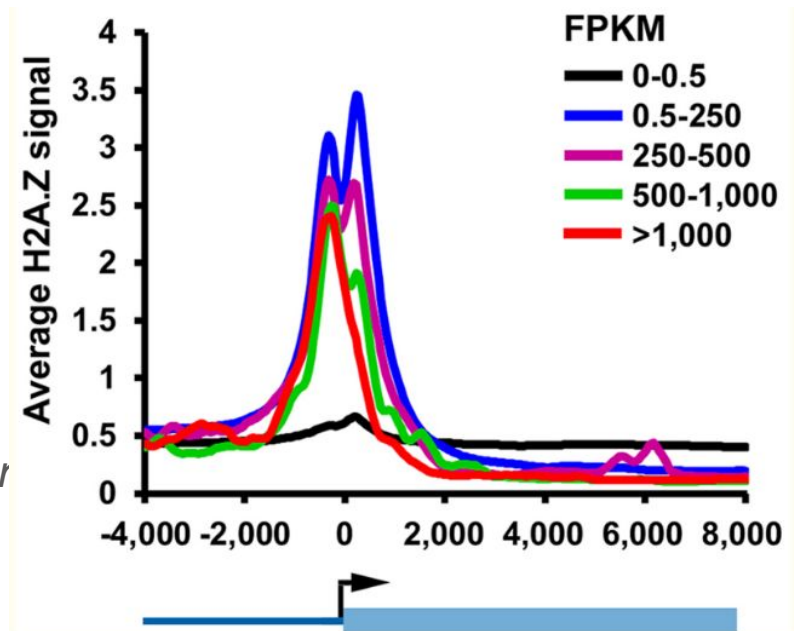


Структура нуклеосомы (PDB ID 1KX5)

Luger K, Mäder AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ.. Nature. 1997 389(6648):251-60.

Вариантный гистон H2A.Z играет важную роль в регуляции ядерных процессов

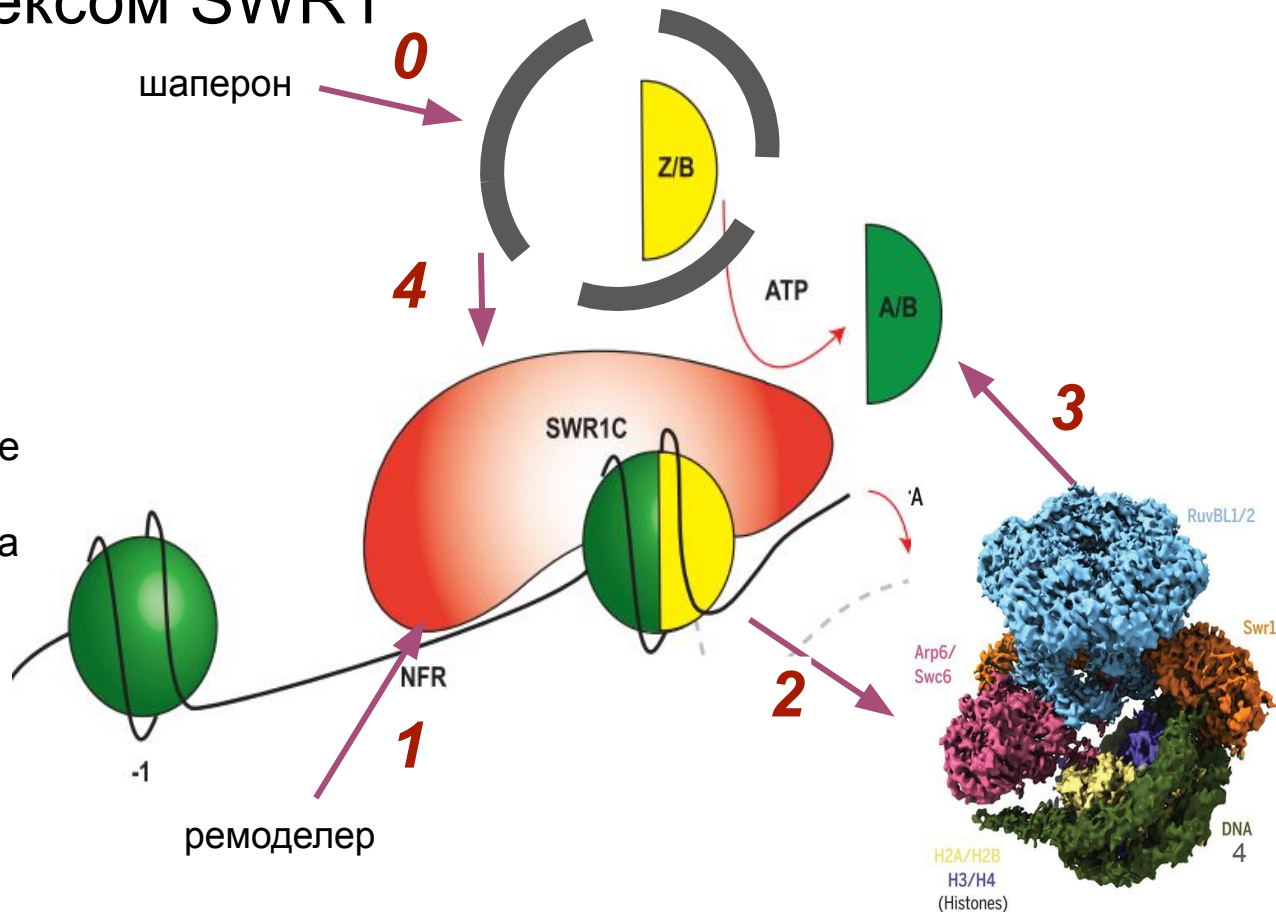
- фланкирует сайт начала транскрипции
- разграничивает области генома с разной доступностью
- участие в репарации двунитевых разрывов
- необходим для правильного формирования функционирующих ядер после митоза (*Moreno-Andrés et.al., Cells, 2020*)
- регулирует связывание CTCF- фактора, который делает петлевые домены в ДНК (*Wer et.al., Nucleic Acids Res, 2020*)
- подавляет память о страхе и боли (изучается в контексте развития посттравматического синдрома и склонности к нему) (*Ramzan et.al., Sci Rep, 2020*)



Lashgari et.al., Nucleic Acids Res. 2017

Схема встраивания вариантного гистона H2A.Z в состав нуклеосомы комплексом SWR1

0. Связывание H2A.Z/H2B димера с шапероном, который потом его подносит к общему комплексу
1. Сборка SWR1 комплекса и связывание канонической нуклеосомы, связывание АТФ
2. Гидролиз АТФ и сопряженное откручивание ДНК
3. Выход канонического димера
4. Встраивание вариантного димера



Экспериментальные данные об отличиях H2A и H2A.Z

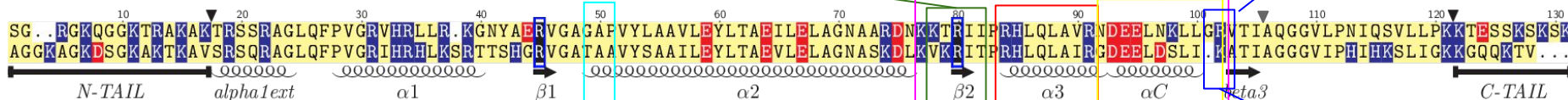


H2A.Z увеличивает
динамику откручивания
ДНК (*Singh et al., Cell
Reports, 2019*)

Участок связывания
канонического димера с swc5
субъединицей ремоделера
за эту часть “хватает” димеры
swc5 субъединица
(обеспечивает выход димера из
нуклеосомы) (*Huang et al.,
PNAS, 2020*)

Участок связывания
вариантного гистона
шапероном Anp32e (*Mao
et al., CellRes, 2014*)

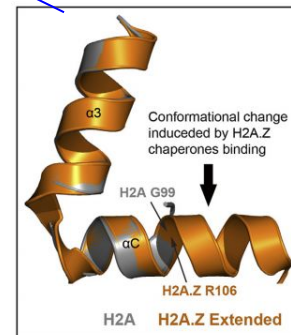
Область удлинения αC спирали
вариантного гистона (в
каноническом гистоне спираль
заканчивается раньше) (*Dai et al.,
BiochemBiophysResCommun, 2019*)



Необходим для связывания
канонического гистона
ремоделером SWR1
(*Ranjan et al., eLife, 2015*)

Необходим для стабильности
нуклеосомы (показано для
канонической нуклеосомы)
(*Lehmann et al., SciRep, 2017*)

Петля, гиперкислотный
локус в α3 и растянутая
αC **вариантного** гистона
связываются
шапероновой единицей
ремоделера (*Liang,
NatStructMolBiol, 2016*)



*'Dai, Xu, Zhou. Biochem Biophys R
Commun., 2019*

Цель

Изучение особенностей динамики канонических и H2A.Z-нуклеосом, связанных с их функциональными особенностями и специфичностью узнавания шаперонами и ремоделирующими комплексами

Задачи

1. Сравнительная динамика полноразмерных нуклеосом с каноническим и вариантным гистоном
2. Сравнительная динамика димеров H2A-H2B и H2A.Z-H2B
3. Анализ динамики ДНК в канонических и вариантных системах
4. Анализ ДНК-гистоновых контактов
5. Анализ пластичности элементов гистонового фолда ($\alpha 2$ и αC спиралей)
6. Построение комплексной модели, описывающей специфичность динамики вариантного и канонического гистонов в контексте взаимодействия с ремоделерами и шаперонами

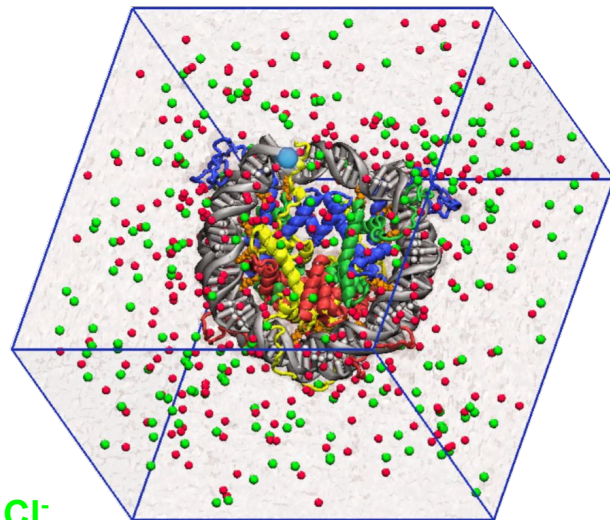
Детали построения моделей и параметры МД

- Исходные кристаллические структуры: 1F66 (вариантная система), 3LZ0 (каноническая)
- Вариантная нуклеосома была получена объединением (с помощью программы Chomera) гистонов из вариантной структуры 1F66 и ДНК из канонической 3LZ0 (601 последовательность)
- Укороченные подвижные хвосты во всех системах
- Длины траекторий: вариантная нуклеосома - 5 мкс, каноническая - 15 мкс
- Также проводилось моделирование димеров, выделенных из соответствующих кристаллических структур нуклеосом (траектории по 1 мкс)
- Водное окружение (модель воды TIP3P) и ионы Na⁺ и Cl⁻ (концентрация 150 мМ)
- Температура 300 К
- Наименьшее расстояние до края ячейки - 2 нм
- Силовое поле AMBER14SB + parmbsc1 + cufix

Гистоны
H3 H4
H2A H2B

ДНК
Верхняя цепь
Нижняя цепь

Ионы: Na⁺ Cl⁻

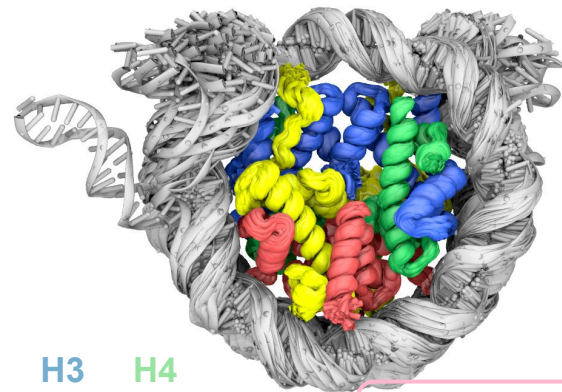
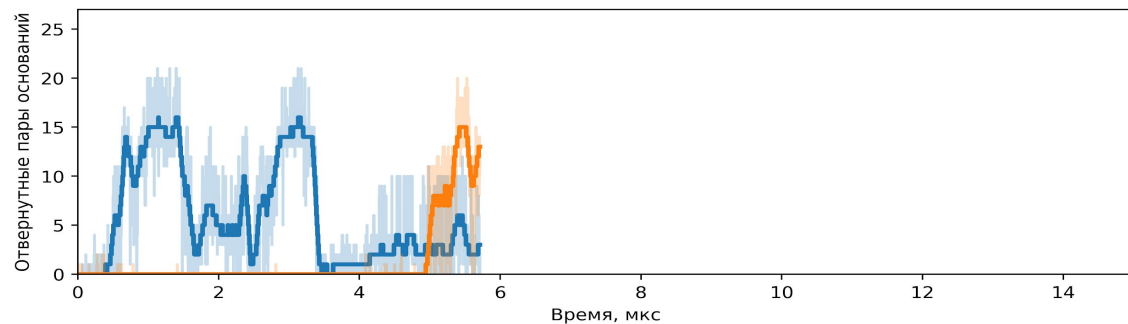
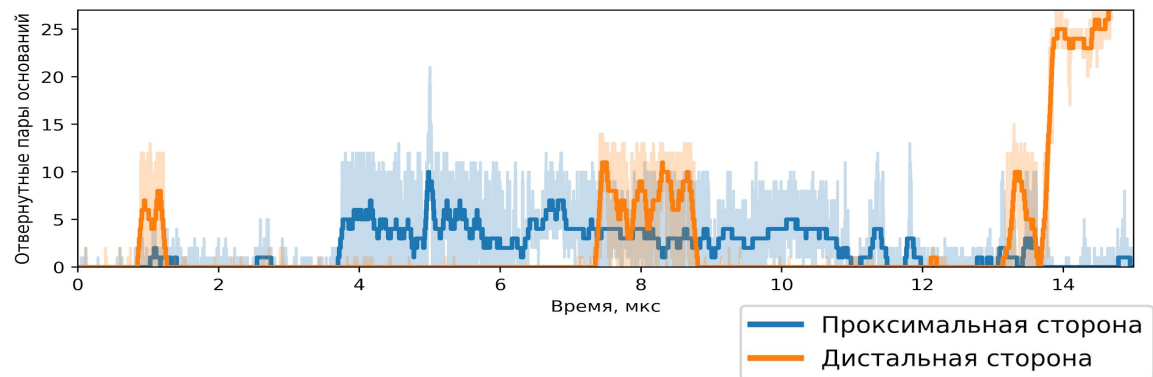


МД нуклеосом и динамика откручивания ДНК

$H_{145}^{канон.}$

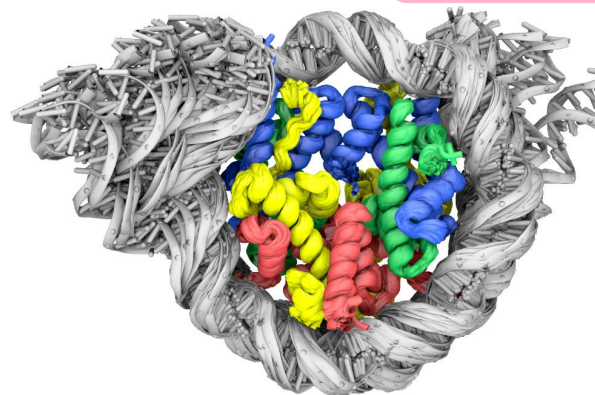
В ходе моделирования обе системы демонстрировали **обратимое** движение откручивания ДНК

Время появления откручивания, глубина откручивания и последовательность стадий **отличалось** в канонической и вариантной системах



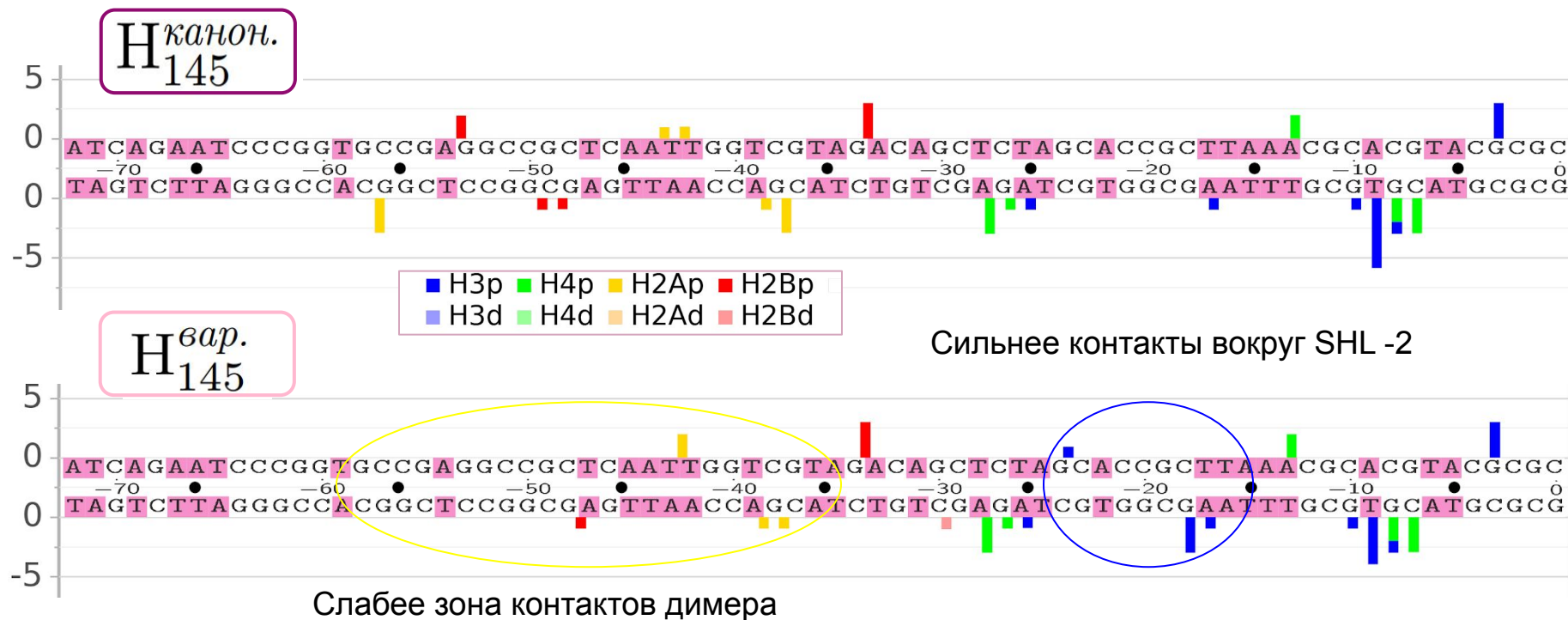
H3 H4
H2A H2B
ДНК

$H_{145}^{вар.}$



Карты якорных контактов

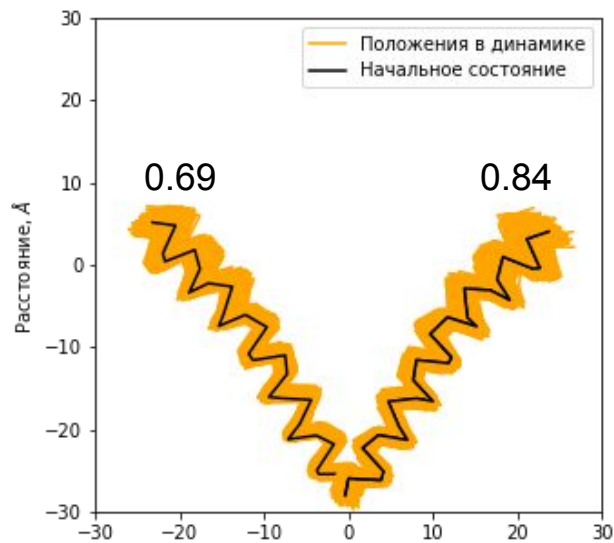
(присутствуют 90% времени в течение первой мкс, симметризованные для дистальной и проксимальной половины ДНК)



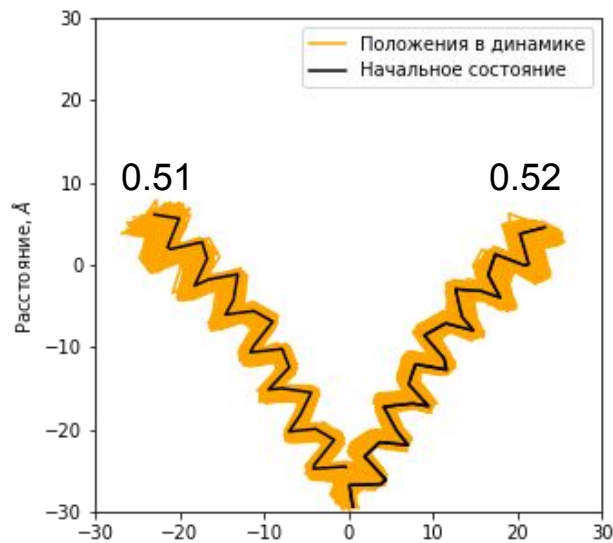
Пластичность $\alpha 2$ -спирали гистонов H2A(.Z) отлична

Центральная спираль играет важную роль при откручивании ДНК и динамике твист-дефектов

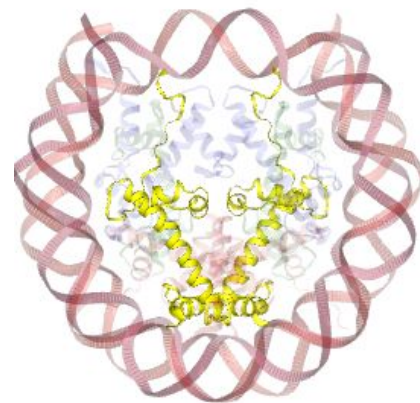
Проекции координат $C\alpha$ атомов спирали $\alpha 2$ гистона H2A на плоскость в кристаллической структуре и в ходе динамики

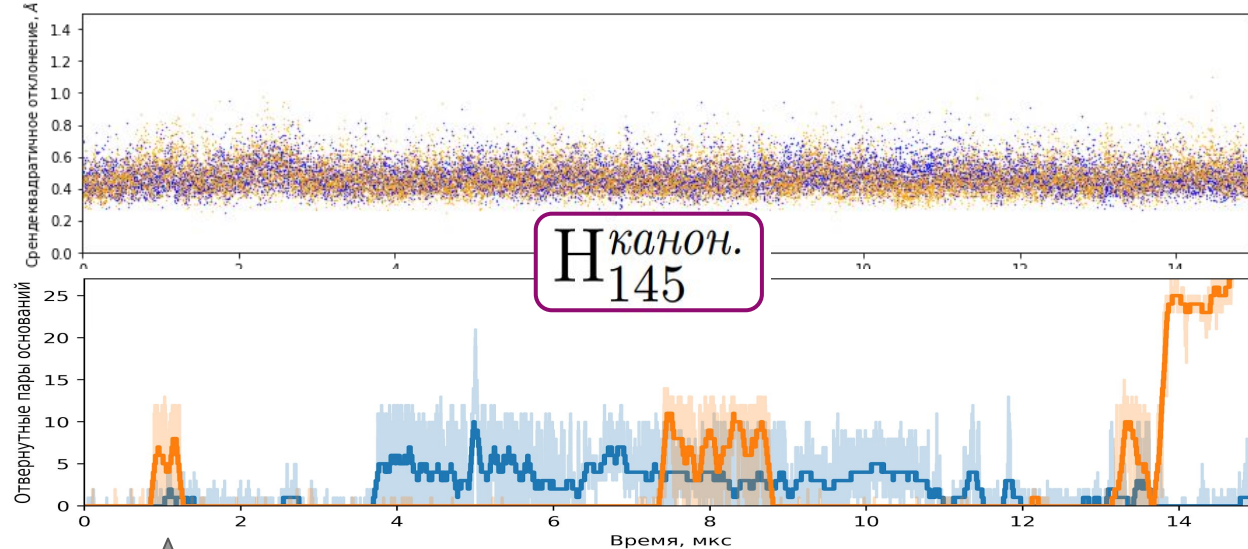


Канонический октамер



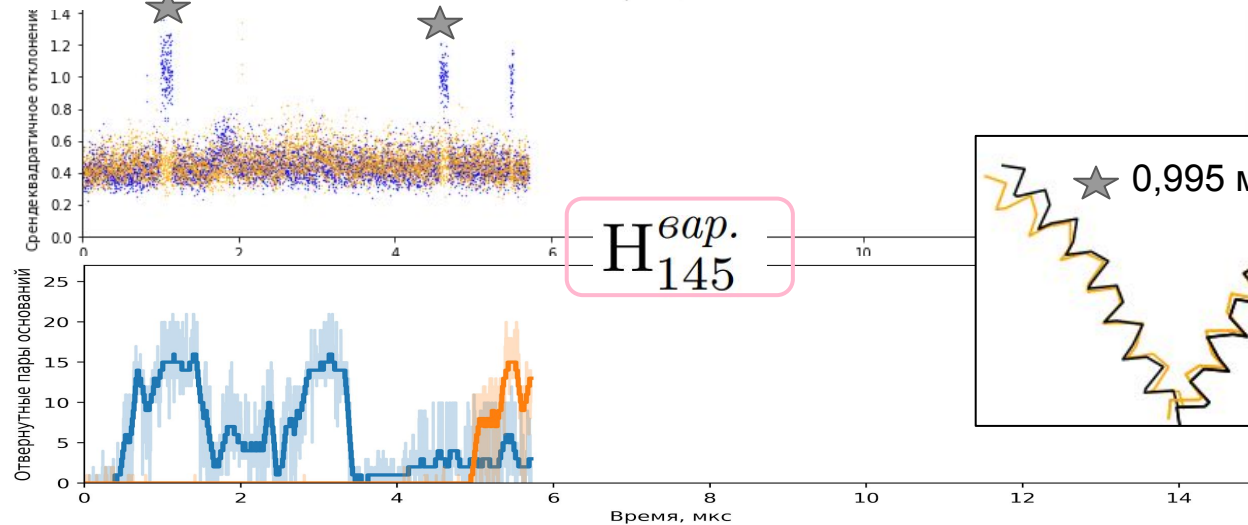
Октамер с вариантной формой





Изменение формы а2 спирали в сравнении с откручиванием ДНК

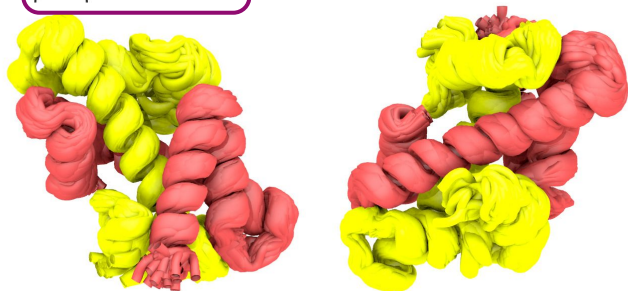
Характер “реагирования” спирали на откручивание отличается в канонической и вариантной системах



— Проксимальная сторона
— Дистальная сторона

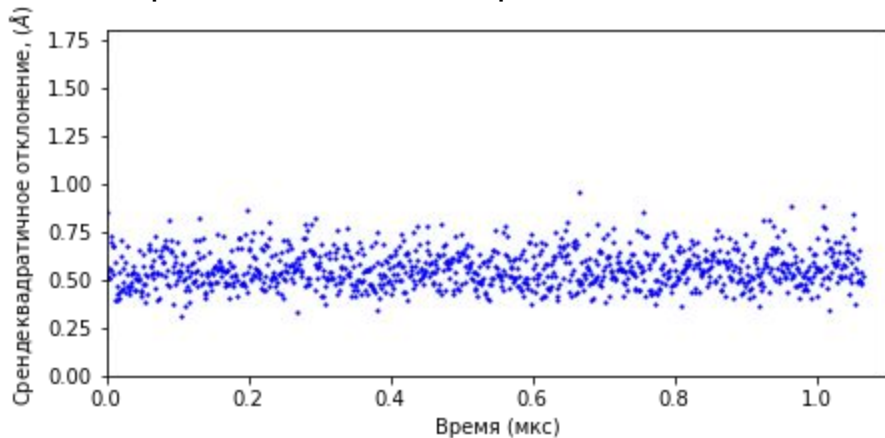
Обзор МД димеров и пластичность $\alpha 2$ спирали

$D_{\text{канон.}}$

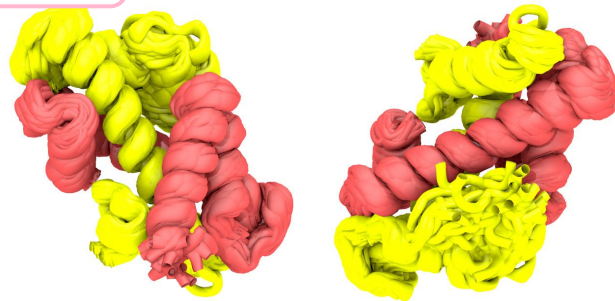


Фронтальная
сторона

Обратная
сторона

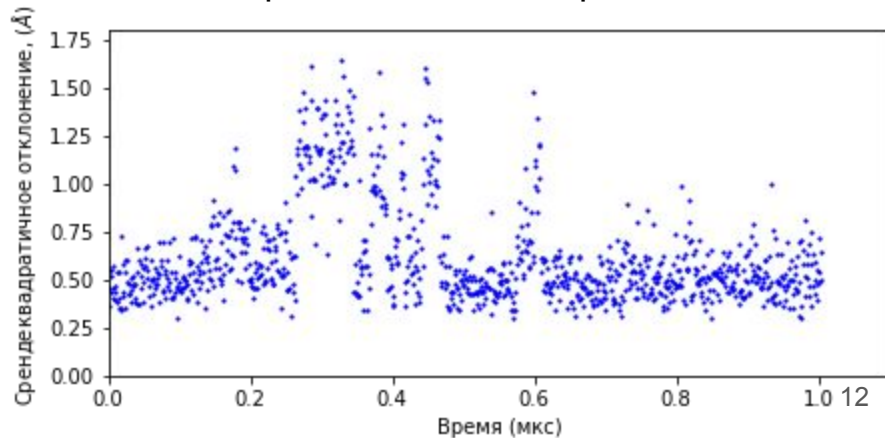


$D_{\text{вар.}}$

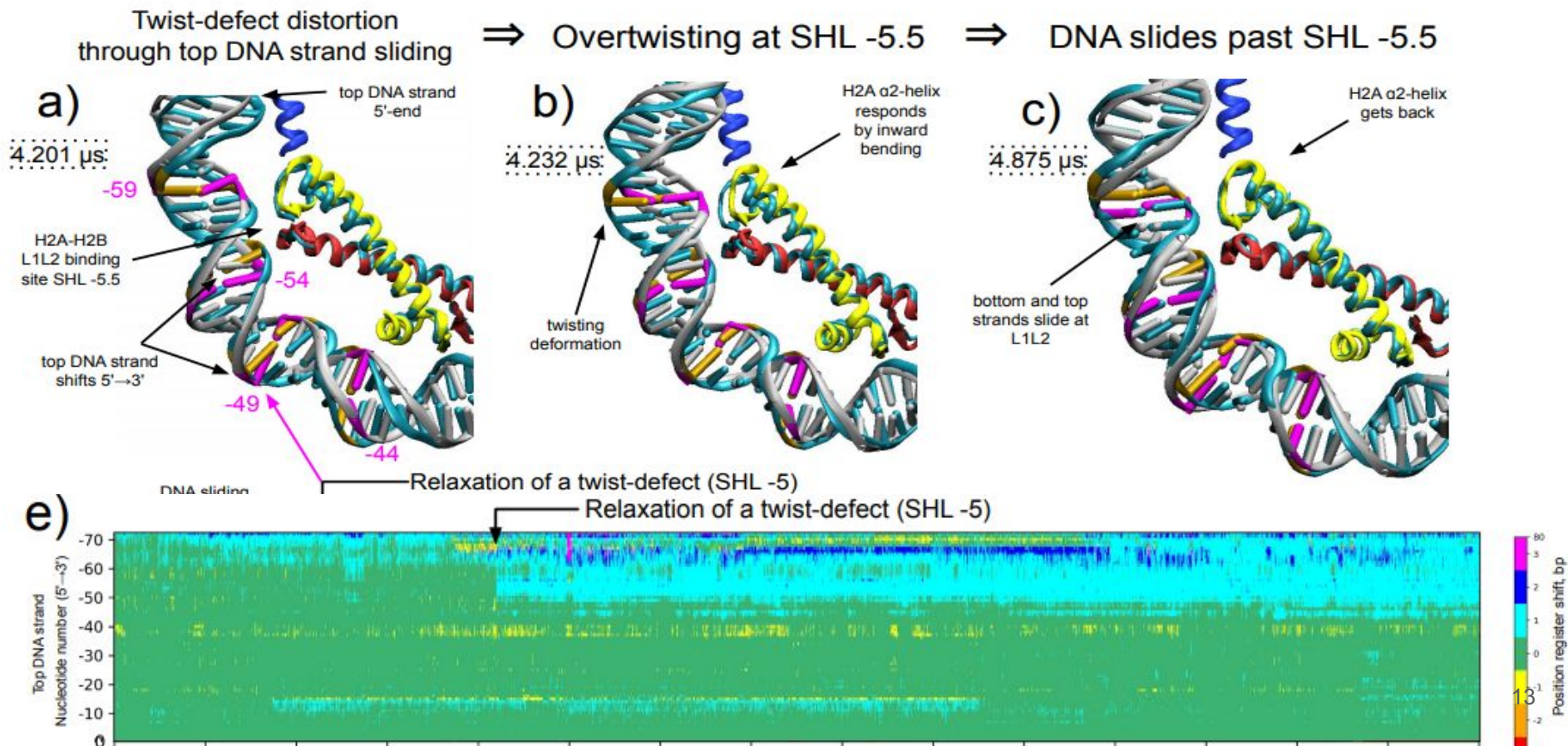


Фронтальная
сторона

Обратная
сторона

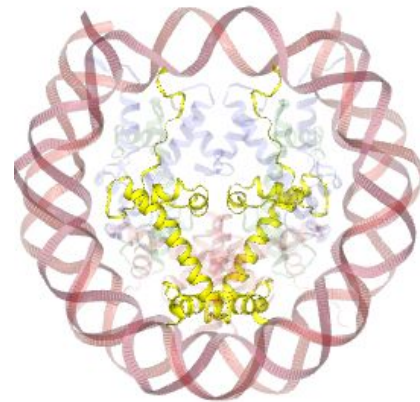


Движение конца спирали к центру нуклеосомы играет роль в формировании твис-дефектов

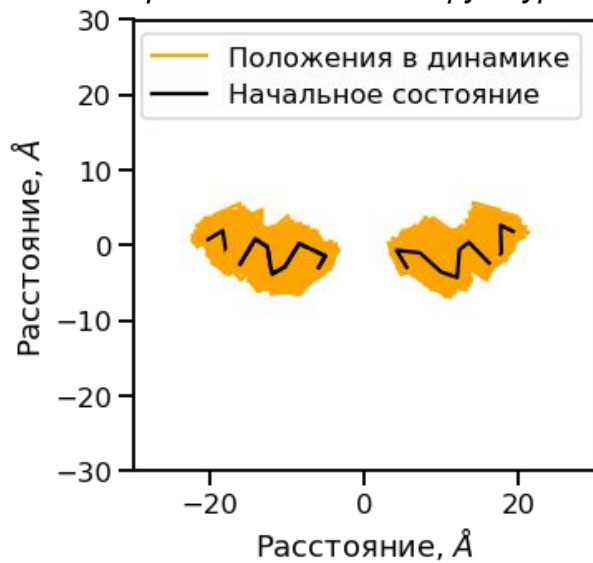


Пластичность α C-спирали гистона H2A

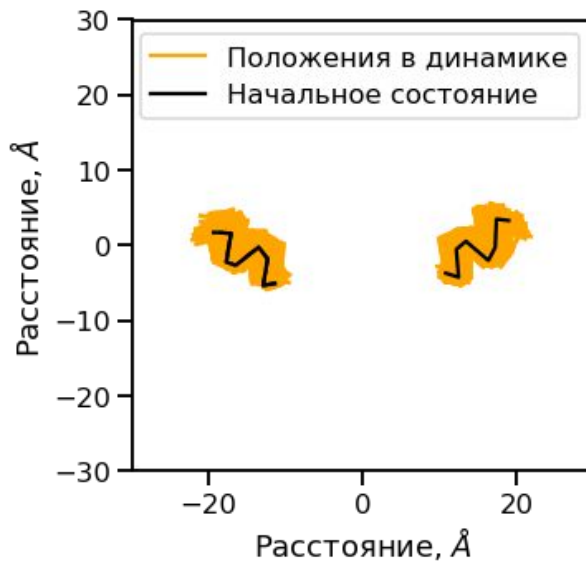
α C спираль в канонической системе более подвижна



Проекции координат $C\alpha$ атомов спирали $\alpha 2$ гистона H2A на плоскость в кристаллической структуре и в ходе динамики

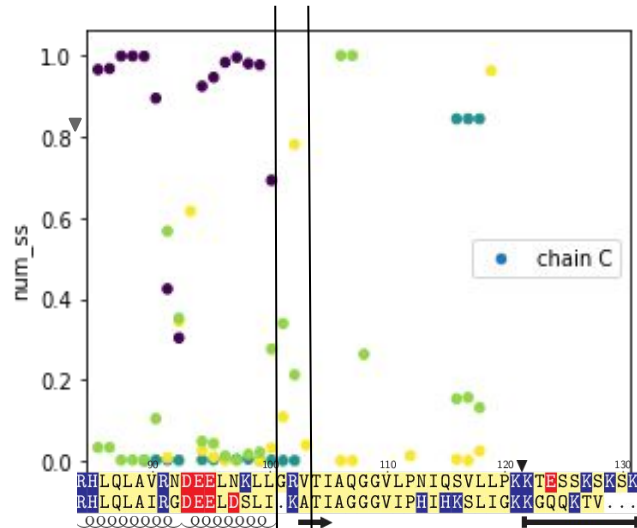


Канонический октамер



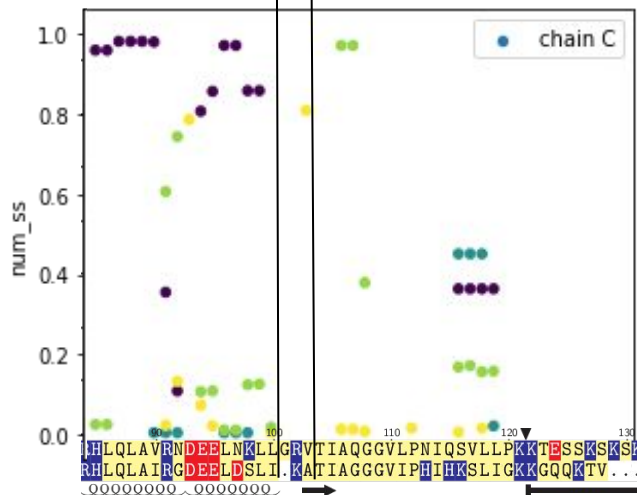
Октамер с вариантной формой

Вероятности появления в МД элементов вторичной структуры



$H_{145}^{\text{канон.}}$

- α-спираль (4-12)
- 3-10 спираль
- поворот
- полуповорот

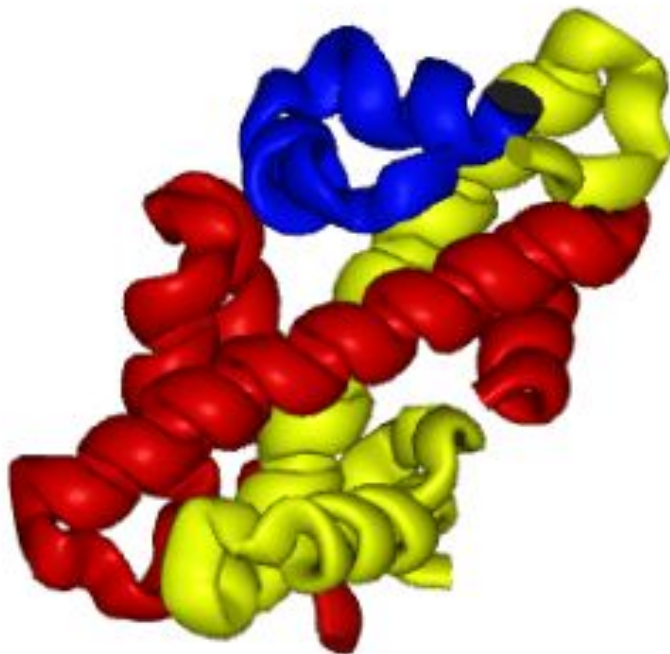


$H_{145}^{\text{вар.}}$

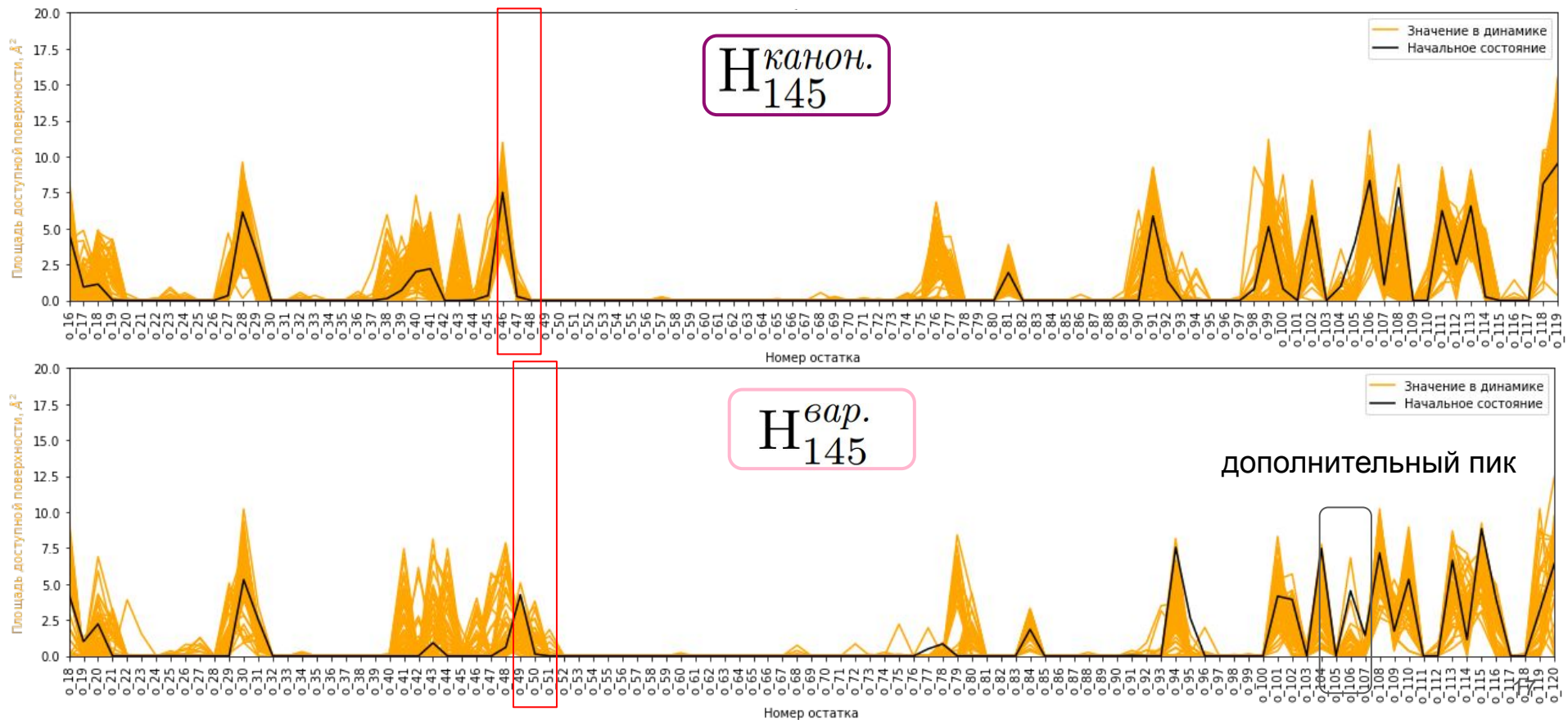
В области предполагаемого эксперимента продолжения αC спирали не удалось обнаружить формирование соответствующих элементов вторичной структуры. Однако, в этой области заметно преобладают повороты и полуповороты в канонической системе, в то время как в вариантной преобладает неупорядоченность.

Интересно формирование спиралей вблизи хвоста, причем в вариантной форме формируется два вида спиралей близкой вероятностью.

Анализ динамики С-конца Н2А(.Z) - планы



В области значимых при узнавании SWR1 остатков есть отличия в доступности растворителю водорода пептидной связи



Выводы

1. Вариантные нуклеосомы характеризуются усиленным откручиванием ДНК (по времени возникновения в траекториях и по амплитуде);
2. Процессы конформационных изменений $\alpha 2$ спирали и динамики ДНК связаны;
3. И на димерах, и на полноразмерных нуклеосомах показано различие динамики $\alpha 2$ спирали; соответственно, это черта является собственной характеристикой вариантных систем и, предположительно, является причиной изменения динамики ДНК;
4. Подвижность αC спирали в канонической нуклеосоме выше;
5. На C-конце гистонов показано формирование элементов вторичной структуры; среди возможных элементов формирование альфа-спирали характерно только для вариантной системы;