

Влияние ионной силы раствора на конформационную подвижность нуклеосом

Научный руководитель – Феофанов Алексей Валерьевич

Андреева Татьяна Викторовна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

E-mail: tanyafromtver@yandex.ru

Нуклеосомы являются первым уровнем компактизации хроматина [2]. Каждая из них состоит из гистонового кодра и ДНК, образующей примерно 1,75 оборота вокруг этого кодра [1]. На конформацию нуклеосомы оказывают влияние множество факторов. Исследование конформационной подвижности нуклеосом при различных физиологических условиях важно для более глубокого понимания преобразований хроматина в клеточном цикле в нормальных и раковых клетках. Для этого могут быть использованы современные экспериментальные подходы, основанные на методе микроскопии одиночных молекул на основе Фёрстеровского резонансного переноса энергии (ФРПЭ). С его помощью получают данные для тысяч нуклеосом, причём каждая нуклеосома характеризуется индивидуально. Это позволяет изучать структурно различные субпопуляции нуклеосом, которые часто присутствуют в сложных процессах функционирования хроматина [2].

Известно, что нуклеосомы меняют свою конформацию при изменении ионной силы раствора, но характер этих изменений требует детального изучения. В данной работе мы исследовали влияние концентрации КСI в диапазоне от 0 до 1300 мМ на структуру нуклеосом с помощью метода микроскопии одиночных молекул на основе ФРПЭ. Исследования проводили с использованием нуклеосом меченых красителями Су3 и Су5 в положениях +13 и +91 пар нуклеотидов от входа в нуклеосому. Маленькое расстояние между метками Су3 и Су5 в соседних витках ДНК на гистоновом коре делает возможным перенос энергии между метками с высокой эффективностью, а при конформационных перестройках это расстояние увеличивается, снижая эффективность ФРПЭ.

Мы обнаружили, что расстояние между метками в соседних витках ДНК на гистоновом коре уменьшается при увеличении концентрации соли от 0 до 80 мМ и увеличивается в диапазоне 700-1300 мМ. Мы полагаем, что повышение ионной силы раствора до 80 мМ КСI приводит к стабилизации компактной структуры нуклеосом в связи с уменьшением отталкивания между соседними витками ДНК. Однако, при концентрации КСI выше 700 мМ ионы соли мешают взаимодействию между отрицательно заряженной ДНК и положительно заряженными гистонами, что приводит к разворачиванию нуклеосомной ДНК, которое сопровождается постепенной утратой коровых гистонов.

Источники и литература

- 1) Cutter A. R., Hayes J. J. A brief review of nucleosome structure// FEBS Lett. 2015; 589:2914-22
- 2) Kudryashova K. S., Chertkov O. V., Nikitin D. V., Pestov N. A., Kulaeva O. I., Efremenko A. V., Solonin A. S., Kirpichnikov M. P., Studitsky V. M., and Feofanov A. V. Preparation of Mononucleosomal Templates for Analysis of Transcription with RNA Polymerase Using spFRET// Methods Mol Biol. 2015;1288:395-412