

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

*На правах рукописи*

**Федулова Анастасия Сергеевна**

**Исследование механизмов динамики ДНК-гистоновых комплексов  
методами молекулярного моделирования**

Специальность 1.5.8

Математическая биология, биоинформатика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Москва – 2026

Диссертация подготовлена на кафедре биоинженерии биологического факультета  
МГУ имени М.В.Ломоносова

**Научный руководитель** – *Шайтан Алексей Константинович, доктор физико-математических наук, член-корреспондент РАН*

**Официальные оппоненты** – *Коваленко Илья Борисович, доктор физико-математических наук, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра биофизики, ведущий научный сотрудник*

*Скрынников Николай Русланович, кандидат химических наук (Ph. D.), Санкт-Петербургский государственный университет, Лаборатория биомолекулярного ЯМР, руководитель лаборатории*

*Храмеева Екатерина Евгеньевна, доктор биологических наук, Сколковский институт науки и технологий, Центр Биомедицинских технологий, доцент*

Защита диссертации состоится «9» апреля 2026 г. в 14 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МГУ.015.5 Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова по адресу: 119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.24, МГУ, биологический факультет, кафедра биофизики, аудитория «Новая».

E-mail: [fursova@biophys.msu.ru](mailto:fursova@biophys.msu.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3765>.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат физико-математических наук

П.В. Фурсова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность темы исследования и степень ее разработанности.**

Генетический материал эукариот, представленный в виде последовательности нуклеотидов ДНК, упакован в ядрах клеток в форме хроматина. В основе структуры хроматина лежит взаимодействие ДНК с белками-гистонами. Повторяющейся единицей хроматина является нуклеосома – комплекс ДНК с октамером гистонов (по две копии четырех типов: H3, H4, H2A и H2B). Согласно современному представлению, хроматин выполняет роль не только компактной упаковки ДНК в ядре, но и регулирует основные геномные процессы, такие как транскрипция, репликация, репарация ДНК. Ключевым фактором, определяющим возможность прохождения геномных процессов, является пространственная организация генома в ядре, а также доступность ДНК для связывания не гистоновыми белками. Более того, нуклеосомы являются физическим барьером для работы некоторых молекулярных машин. Например, для перемещения РНК-полимеразы вдоль ДНК при транскрипции требуется динамическая разборка и последующая сборка нуклеосом.

Хроматин и нуклеосома являются динамичными структурами. Динамика ДНК в нуклеосоме влияет на доступность сайтов связывания ДНК, экранируемых белками-гистонами, и на плотность упаковки ДНК. Важнейшими модами динамики ДНК в нуклеосоме являются откручивание ДНК от поверхности нуклеосомы и скольжение ДНК внутри нуклеосом. В клетке существует ряд факторов, определяющих кинетику и направление динамики откручивания и скольжения ДНК. В частности, скольжение ДНК, определяющее позиционирование нуклеосом в геноме, осуществляется направленно благодаря работе АТФ-зависимых молекулярных ремоделирующих факторов. Из литературы также известны свидетельства спонтанной ненаправленной динамики скольжения и откручивания ДНК в рамках теплового движения. Эпигенетические модификации нуклеосом во многом влияют на их стабильность и характеристики их динамики, также как и

изменение состава нуклеосом – замена канонических форм белков-гистонов на варианты формы, отличающиеся аминокислотной последовательностью. Таким образом, нуклеосомы являются регулируемыми динамическими платформами, через динамику которых реализуется регуляция активности генов.

Однако исследование молекулярных механизмов, определяющих динамические свойства ДНК-гистоновых комплексов и лежащие в основе регуляции работы хроматина, является трудной задачей. Классические методы структурной биологии дают статическое представление. Другие экспериментальные методы, позволяющие исследовать динамику нуклеосом, дают в основном косвенные данные о структуре и применимы в рамках интегративного подхода (комбинации экспериментальных методов с методами компьютерного моделирования). Методы молекулярного моделирования, в частности молекулярной динамики (МД), позволяют в ходе вычислительных экспериментов получать уникальную информацию о физических механизмах и кинетических параметрах динамических процессов, происходящих в рамках теплового движения ДНК-гистоновых комплексов. Современный уровень развития суперкомпьютерных технологий позволяет моделировать функционально значимые движения ДНК-гистоновых комплексов в мульти-микросекундном масштабе времен, что открывает путь к пониманию молекулярных механизмов регуляции работы генома. В диссертации представлена работа по определению молекулярных механизмов динамических мод ДНК-гистоновых комплексов, существующих в равновесной динамике и определяющих их функции в геномных процессах, такие как откручивание и скольжение ДНК в нуклеосомах, переходы между правой и левой суперспирализацией ДНК в тетраosome, изгиб гистонов и динамические изменения в области контактов между гистонами в составе нуклеосом.

**Целью** диссертационной работы является раскрытие молекулярных механизмов динамики ДНК-гистоновых комплексов и их роли в регуляции функционирования хроматина на нуклеосомном уровне.

Для достижения цели работы были поставлены следующие **задачи**:

1. Выявление функционально важных мод динамики нуклеосом, возникающих на мульти-микросекундных масштабах времен в рамках тепловых колебаний.
2. Характеризация «пластичности» гистонов и ее роли в функционально важной подвижности нуклеосом.
3. Определение зависимости динамики нуклеосом от характера аминокислотной последовательности в структуре гистонов.
4. Определение параметров динамической подвижности  $(H3-H4)_2$ -тетрасом и ее роли в снижении транскрипционного барьера.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Атомистическое моделирование методом молекулярной динамики на микросекундных временах дает информацию о механизмах, лежащих в основе функционирования хроматина и его регуляции на уровне ДНК-гистоновых комплексов.
2. Функционирование хроматина неразрывно связано со спонтанной динамикой ДНК-гистоновых комплексов.
3. Функционально-важная динамика ДНК в составе ДНК-гистоновых комплексов опосредована структурной пластичностью димеров гистонов.

**Научная новизна**

В ходе вычислительных экспериментов по моделированию нуклеосом были определены молекулярные механизмы функционально важных движений ДНК – спонтанного откручивания и скольжения ДНК. Проявленность этих типов движений определяется динамичностью контактов между ДНК и гистонами, претерпевающими разрыв с последующим восстановлением старых или образованием новых контактов.

Показана роль пластичности гистонов, которая заключается в том, что прохождение скольжения ДНК становится возможным в момент, когда спонтанный изгиб гистона происходит в сторону центра нуклеосомы.

Обнаруженная динамическая мода изгиба является характерной модой динамики димеров гистонов, образование которых происходит благодаря структурному мотиву «рукопожатие». Характер пластичности гистонов зависит от их аминокислотной последовательности. На примере вариантного гистона H2A.Z показано, что гистон может приобретать большую пластичность, что представляет собой молекулярно-динамический механизм эпигенетической регуляции хроматина при изменении состава нуклеосом. В работе предложен молекулярный механизм влияния аминокислотных замен в области L1-петли гистона H2A на эффективность взаимодействия между гистонами и, тем самым, на стабильность нуклеосом, определяющую эффективность прохождения РНК-полимеразы II через нуклеосомы в ходе транскрипции. Охарактеризованы динамические свойства (H3-H4)<sub>2</sub>-тетрасом, обуславливающие возможность изменения суперспирализации ДНК и облегчение прохождения РНК-полимеразы II через тетрасомы.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

В компьютерном моделировании реализованы моды динамики ДНК в ДНК-гистоновых комплексах, играющие важную роль в регуляции работы хроматина. Выявлена связь динамики белков-гистонов хроматина и динамики ДНК. Предложены молекулярные механизмы регуляции динамики ДНК при изменении аминокислотной последовательности в структуре гистонов. Обнаруженные моды динамики гистонов позволяют предположить механизм действия мутаций в гистонах в развитии онкологических заболеваний.

Практическая значимость результатов заключается в возможном использовании полученных результатов для рационального подхода к разработке методов регуляции активности генов путем направленного изменения аминокислотного состава и модификаций гистонов, а тем самым и динамических

свойств ДНК-гистоновых комплексов в рамках разработки эпигенетической терапии наследственных и вирусных заболеваний.

**Методология и методы исследования.** Основным методом, использованным в работе, является метод моделирования молекулярной динамики в полноатомном приближении. Расчеты проводились с применением суперкомпьютерных технологий. Полученные в вычислительных экспериментах результаты интерпретированы совместно с анализом открытых баз данных структур и результатов *in vitro* экспериментов, выполненных коллегами.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Основные результаты по теме диссертации опубликованы в 6 статьях в рецензируемые научные издания, индексируемые в базе ядра Российского индекса научного цитирования "eLibrary Science Index". Общий объем публикаций составляет 15,1 п.л. Полученные результаты согласуются с результатами других научных групп. Изложенные результаты работы и материалы диссертации были представлены и обсуждались на 10 всероссийских и международных конференциях (Russian international conference on cryoelectron microscopy (2023, 2025 г.г.), Международная конференция «Математика. Компьютер. Образование» (2022, 2023, 2024, 2025 г.г.), Международная Мультиконференция «Биоинформатика регуляции и структуры геномов / системная биология» (2024 г.), Съезд биофизиков России (2023 г.), Biophysical Society 66th Annual Meeting (2022 г.), Ломоносовские чтения, МГУ им.М.В. Ломоносова (2021 г.)).

### **Личный вклад автора**

Подготовка атомистических моделей и выполнение расчетов молекулярной динамики осуществлялись автором самостоятельно в главах 3, 4, 6, 7 и в разделе 5.1.1.

Результаты, представленные в разделе 3.1.3, были получены в ходе комплексного исследования с использованием методов молекулярного моделирования, биоинформатики и ФРЕТ-микроскопии (Oleinikov, Fedulova и др.,

IJMS, 2023). Расчеты и анализ в области молекулярного моделирования были выполнены автором диссертации.

Часть расчетов, относящихся к разделу 5.1.2 (траектории молекулярной динамики нуклеосом с вариантным гистоном H2A.J), проводились Н.А. Косаримом; дополнительные расчеты и результаты анализа, представленные в разделе диссертации, были получены автором диссертации. Результаты раздела 5.1.2 соответствуют разделу статьи Kosarim, Fedulova и др., IJMS, 2024 («Влияние замены Ser40Ala на конформацию L1-петли и на взаимодействия внутри и между димерами в нуклеосоме»).

Результаты главы 6 являются частью совместного исследования с использованием методов *in vitro* и ЯМР-спектроскопии (статья Shi, Fedulova и др., NAR, 2025); результаты, касающиеся моделирования, были получены автором и представлены в диссертации.

Результаты, изложенные в диссертации, и их обсуждение входят в обзор по молекулярному моделированию нуклеосом (Fedulova et al., 2024, разделы 2 «Выявление механизмов внутренней динамики нуклеосом с помощью молекулярного моделирования» и раздел 6 «Молекулярное моделирование нуклеосом: проблемы и перспективы»).

**Структура и объем работы диссертации.** Диссертация состоит из введения, семи глав, заключения, списка сокращений, списка литературы (239 наименований). Работа изложена на 172 страницах, включает 44 рисунка и 5 таблиц.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** обоснована актуальность темы, сформулированы цель, задачи, научная новизна, положения, выносимые на защиту, теоретическая и практическая значимость работы, личный вклад автора.

**В первой главе** приведены историческая справка и обзор современного состояния исследований в области структуры и динамики ДНК-гистоновых комплексов. В разделе 1.1.1 рассмотрены строение хроматина и функциональное значение его динамики. В разделе 1.1.2 описаны экспериментальные подходы к изучению структуры и динамики ДНК-гистоновых комплексов и приведены примеры ключевых работ, выполненных с использованием этих методов. В разделах 1.1.3–1.1.5 детально описаны особенности структуры нуклеосомы (Рисунок 1), включая раздел, посвящённый роли неупорядоченных хвостов гистонов. В разделе 1.1.6 описаны варианты формы гистонов и данные об их влиянии на структуру и динамику нуклеосом. В разделе 1.1.7 рассмотрен путь сборки и разборки нуклеосом, в результате которого образуются гексасомы и тетрасомы, а также приведены свидетельства присутствия тетрасом в ядрах в ходе геномных процессов.

Раздел 1.2 посвящен описанию методов молекулярного моделирования в исследовании структуры и динамики ДНК-гистоновых комплексов (раздел 1.2.1), приведены теоретические основы метода атомистической МД (раздел 1.2.2) и описаны новейшие разработки в области моделирования ДНК и неупорядоченных белков (раздел 1.2.3). В разделах 1.2.4 и 1.2.5 приведены историческая справка о пионерских работах по моделированию нуклеосом и обзор основных результатов по моделированию динамики нуклеосом в современных работах.

**Во второй главе** детально изложены материалы и методы исследования. Описаны протоколы построения стартовых атомистических моделей нуклеосом, тетрасом и димеров гистонов на основе кристаллических структур из базы данных Protein Data Bank. Описаны протоколы проведения расчетов МД в программных

пакетах GROMACS и AMBER с использованием современных силовых полей (AMBER ff14SB, ff19SB) и коррекций (parmbsc1, CUFIX) для ДНК и белков, а также моделей воды (TIP3P, OPC). Детально описаны методы анализа траекторий МД, такие как определение систем координат нуклеосомы и димеров, анализ контактов, откручивания ДНК, внутренней динамики гистонов и структуры ДНК.

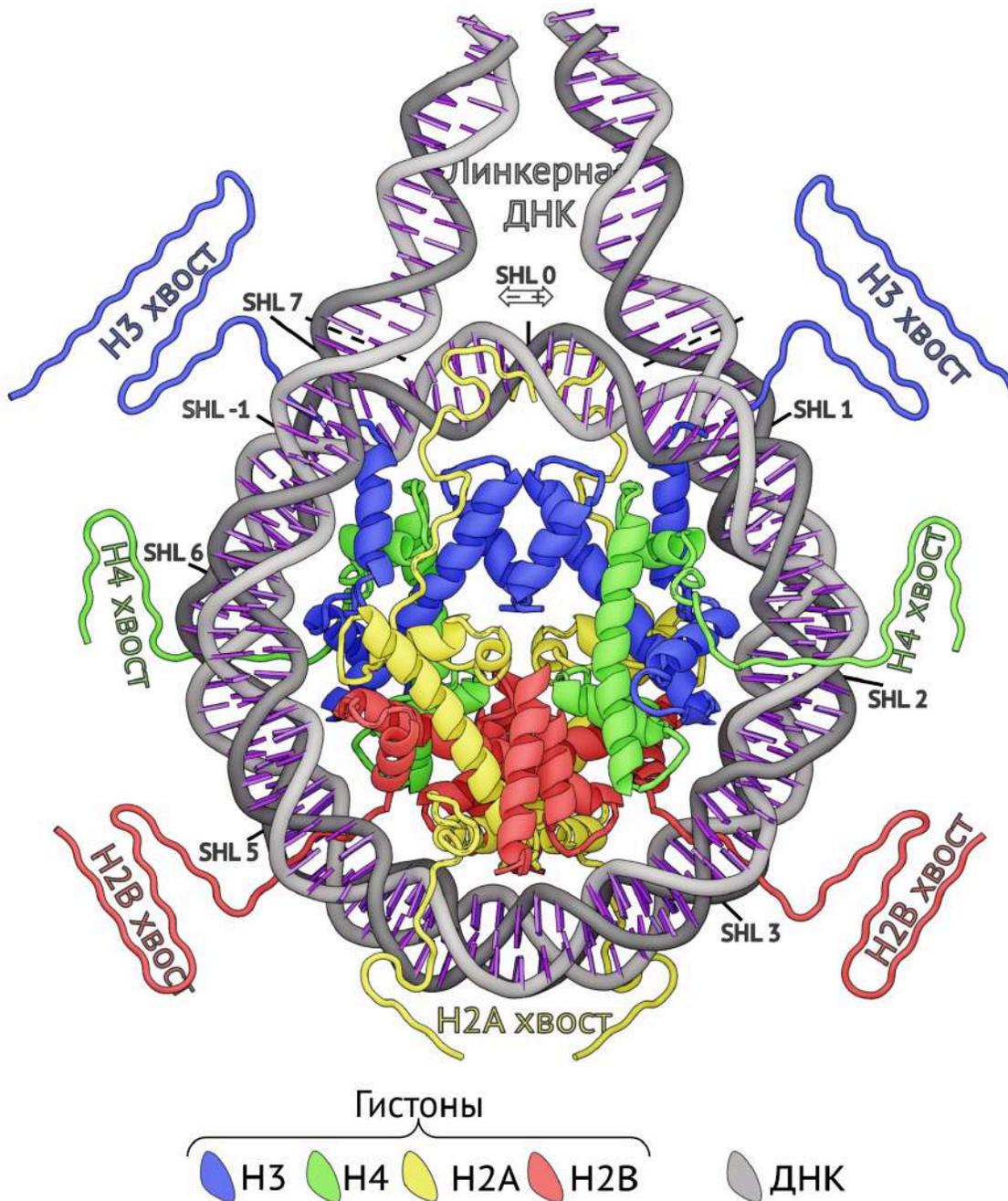


Рисунок 1. Структура нуклеосомы.

**В третьей главе** представлены результаты моделирования равновесной динамики нуклеосом на мульти-микросекундном масштабе времен. В компьютерном моделировании удалось реализовать спонтанное проявление функционально важных мод динамики нуклеосомной ДНК: движений откручивания и скольжения (Рисунок 2). Были выявлены группы контактов между ДНК и гистонами, динамическое нарушение которых приводит к откручиванию нуклеосомной ДНК. Группы контактов, соответствующие двум стадиям откручивания (10–12 п.н. и до 30 п.н. ДНК) были определены как первый и второй барьеры откручивания.

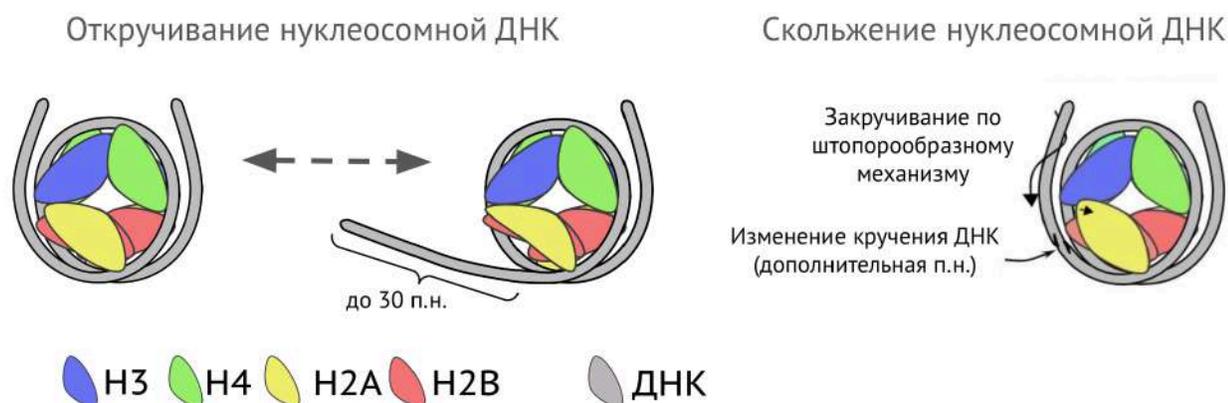


Рисунок 2. Схематическое представление функционально важных мод динамики нуклеосомной ДНК, продемонстрированных в главе 3.

Появление спонтанного скольжения ДНК в нуклеосоме сопровождалось перестройкой ДНК-гистоновых контактов и динамическим изгибом  $\alpha 2$ -спирали гистона H2A в сторону центра нуклеосомы. Наблюдаемая связь между изгибом гистона H2A и функционально важной модой динамики ДНК (скольжением) послужила отправной точкой для систематического исследования пластичности гистонов и определения путей аллостерической регуляции динамики белковой части нуклеосомы и ДНК.

**В четвертой главе** представлены результаты систематического исследования пластичности глобулярного домена гистонов. Показано, что димеры гистонов H2A-H2B и H3-H4, сформированные по принципу структурного мотива

«рукопожатие» (Рисунок 3 А), обладают значительной внутренней динамикой (амплитуда смещений Са-атомов  $\alpha 2$ -спирали гистона Н2А в нуклеосоме достигала 7 Å).

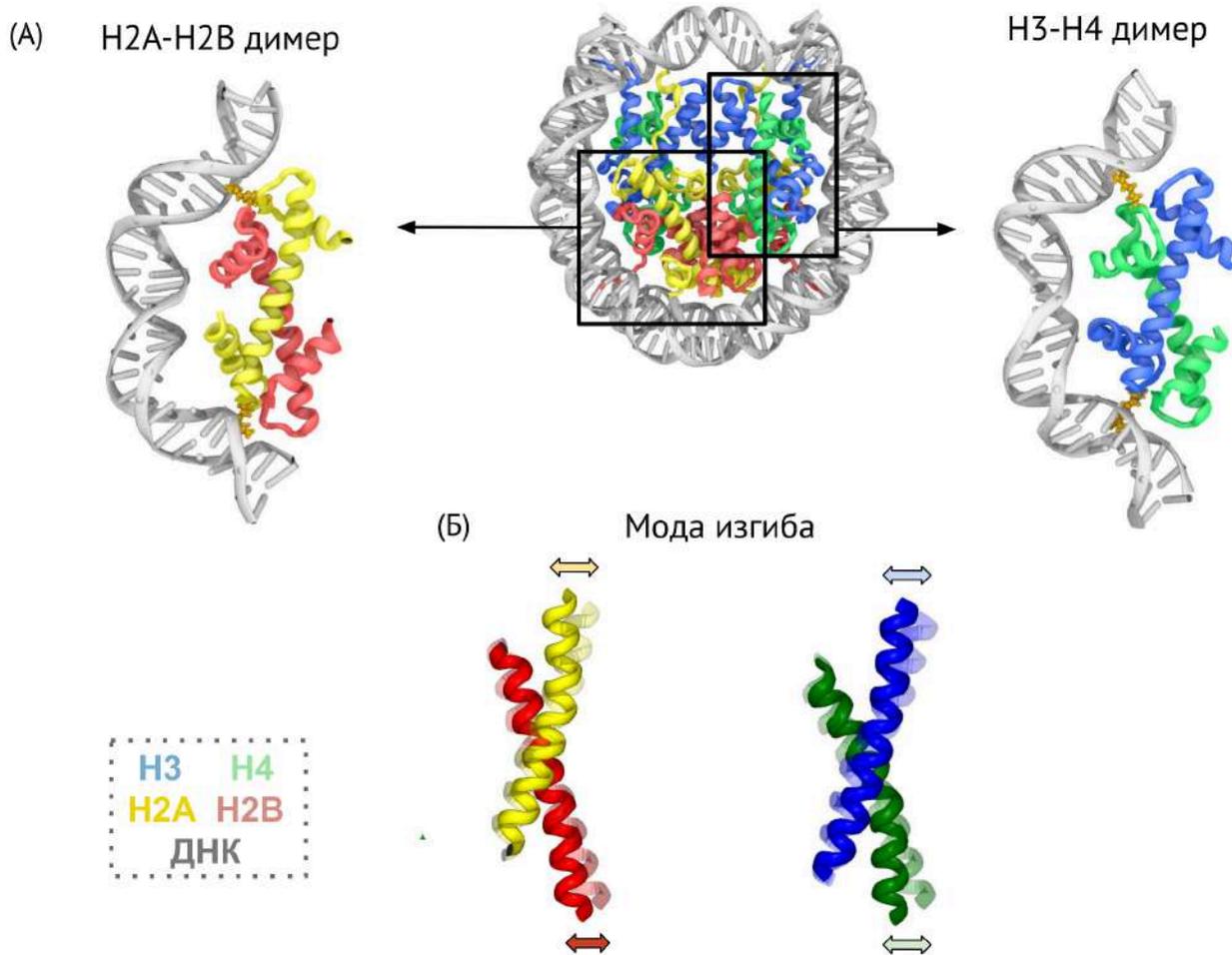


Рисунок 3. Структура и пластичность димеров гистонов. (А) Положение димеров Н2А-Н2В и Н3-Н4 в нуклеосоме. Слева и справа показан крупный вид глобулярного домена гистонов, взаимодействующих в виде структурного мотива «рукопожатие», со связанным фрагментом ДНК. (Б) Ключевая мода спонтанной динамики димеров гистонов – мода изгиба. Показано наложение конформаций  $\alpha 2$ -спиралей гистонов с разным состоянием изгиба, наблюдаемым в расчетах молекулярной динамики.

С использованием метода анализа главных компонент была выделена ключевая мода пластичности димеров гистонов – изгиб длинных  $\alpha$ 2-спиралей (Рисунок 3 Б). Такая мода изгиба характерна как для интактных димеров, так и для димеров в составе нуклеосомы, однако последние демонстрируют меньшую амплитуду и смещенное среднее состояние изгиба. Результаты подкреплены описанием экспериментальных свидетельств пластичности гистонов, в том числе анализом тепловых факторов структур, полученных методом рентгеноструктурного анализа.

На основе анализа изгиба димера гистонов H2A-H2B в мульти-микросекундном моделировании нуклеосом, описанном в главе 3, был предложен механизм, связывающий пластичность гистонов с функционально важной динамикой ДНК (Рисунок 4).

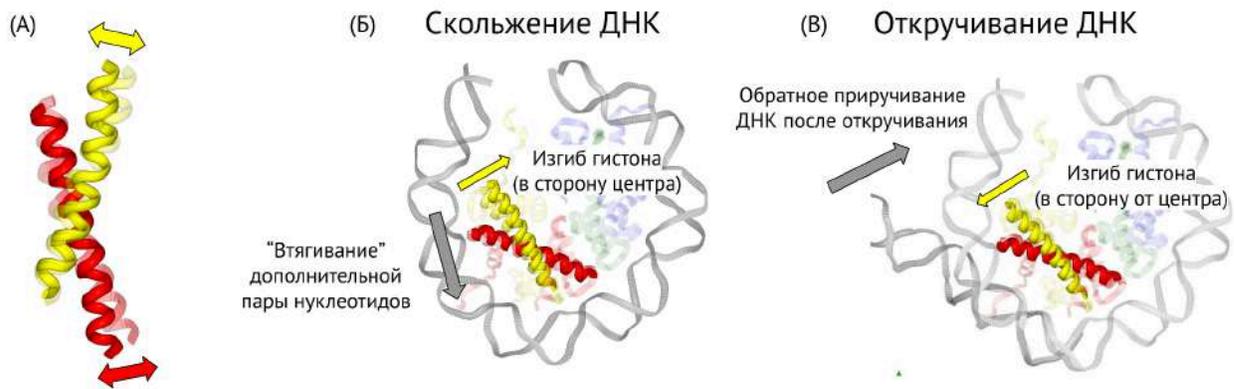


Рисунок 4. Участие моды изгиба димера гистонов H2A-H2B в функционально важной динамике нуклеосомной ДНК. (А) Схематическое представление моды изгиба димера, показанное в виде наложения двух конформаций, наблюдаемых в молекулярной динамике. (Б) Изгиб гистона H2A, наблюдаемый при прохождении локального скольжения ДНК. (В) Изгиб гистона H2A, способствующий восстановлению контактов между ДНК и гистонами после откручивания.

Было установлено, что большее или меньшее число пар нуклеотидов ДНК, связанных с гистонами, в разной степени смещает среднее состояние изгиба (продемонстрировано на нуклеосомах с разной длиной ДНК: 145–147 п.н.). При этом, спонтанное скольжение ДНК (которое выражается в увеличении числа

связанных пар нуклеотидов) требует значительного изгиба гистона H2A, который делает стерически возможным смещение ДНК (Рисунок 4 Б). Далее была определена роль изгиба гистона H2A при откручивании ДНК: был смоделирован процесс обратного прикручивания фрагмента ДНК после его откручивания, в ходе которого изгиб димера в сторону ДНК приводит к уменьшению расстояния между заряженными группами ДНК и гистона и способствует восстановлению контактов (Рисунок 4 В).

**В пятой главе** выявлено влияние аминокислотной последовательности гистонов на динамику нуклеосом на примере вариантных форм гистона H2A: H2A.Z и H2A.J. Известно, что оба варианта влияют на термическую стабильность нуклеосом, в состав которых они включаются. Поскольку при увеличении температуры происходит поочерёдный выход двух димеров H2A-H2B из состава нуклеосомы, в работе проводился детальный анализ области взаимодействия двух копий гистона H2A в нуклеосоме. Структурно-динамические особенности этой области при изменении аминокислотной последовательности гистонов могут объяснять различия в термостабильности нуклеосом. Две копии гистона H2A и его вариантов взаимодействуют в нуклеосоме через L1-петли (с формированием L1-L1 контакта, Рисунок 5 А).

Для вариантного гистона H2A.J, придающего нуклеосоме повышенную термостабильность, установлено, что замена в вариантном гистоне H2A.J S40A приводит к потере водородной связи внутри L1-петли, стабилизирующей конформацию петли в каноническом гистоне H2A. В то же время, это делает возможным переход L1-петли вариантного гистона в альтернативную конформацию, обеспечивающую более эффективное взаимодействие между двумя димерами H2A.J-H2B в нуклеосоме (Рисунок 5 Б). Показанное в расчетах увеличение числа контактов между L1-петлями гистона H2A.J в нуклеосоме объясняет повышенную термостабильность H2A.J-нуклеосом.

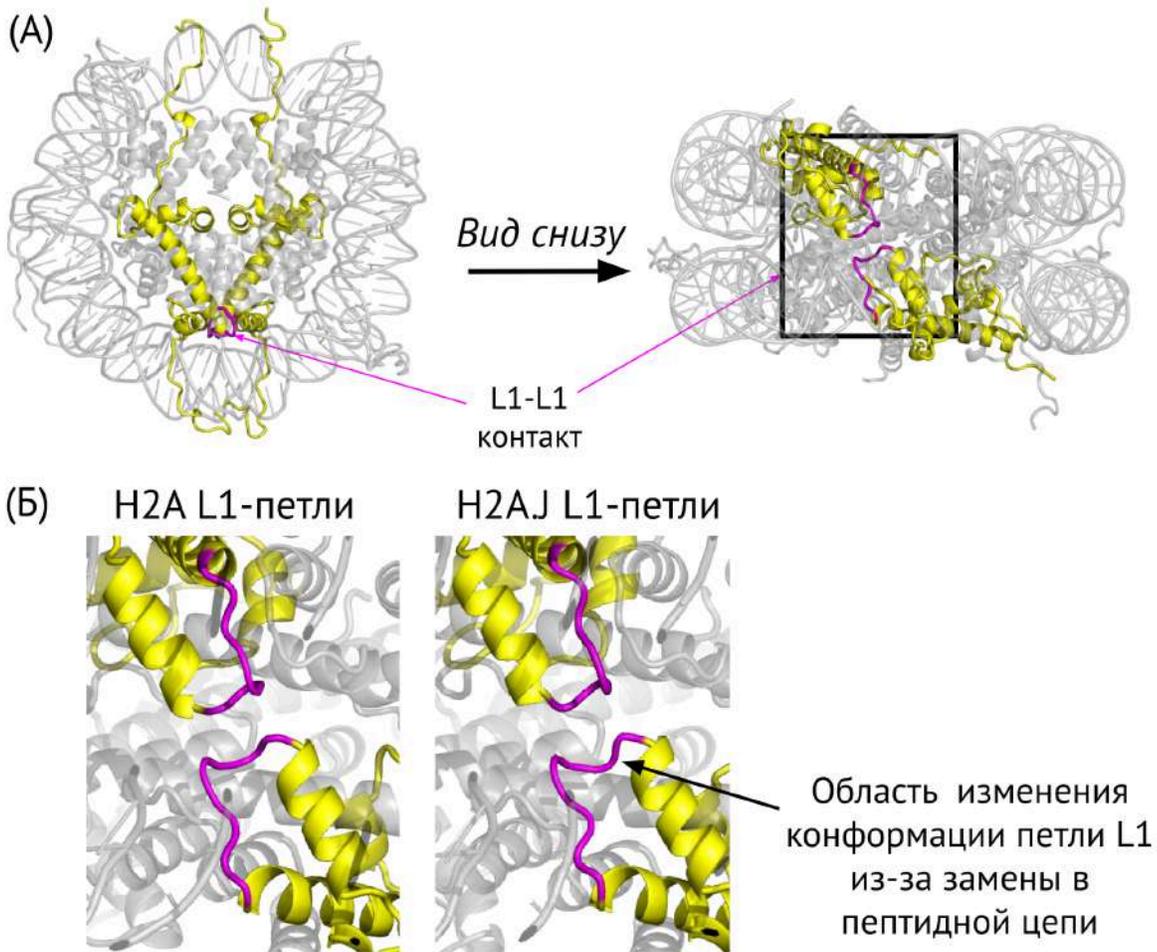


Рисунок 5. (A) Область взаимодействия L1-петель между двумя копиями гистона H2A в нуклеосоме. Гистоны H2A показаны желтым. L1-петли показаны фиолетовым. (B) Изменение конформации L1-петли гистона H2A.J в молекулярной динамике.

Существуют примеры молекулярных комплексов, способных «чувствовать» нуклеосомы с вариантными гистонами. Например, ремоделер SWR1, осуществляющий замену димера H2A-H2B в составе нуклеосомы на димер H2A.Z-H2B, специфически «узнает» определенные аминокислотные остатки канонического гистона H2A, расположенные во внутренней части нуклеосомы и не участвующие в прямом взаимодействии с ремоделером (участок показан на Рисунке 6 А). В работе удалось выявить структурно-динамические отличия нуклеосом при

включении в их состав варианта H2A.Z. А именно, показана повышенная пластичность  $\alpha 2$ -спирали и большая амплитуда изгиба в сравнении с канонической формой гистона. Также выяснено, что существует динамическое равновесие между двумя конформациями N-конца  $\alpha 2$ -спирали (Рисунок 6 Б); при этом равновесие смещено в сторону конформации с удлиненной спиралью для гистона H2A.Z и в сторону укорочения спирали для гистона H2A. Связь между пластичностью гистонов и динамикой нуклеосомной ДНК, описанной в предыдущей главе, позволила предположить молекулярный механизм, объясняющий различное узнавание H2A- и H2A.Z-содержащих нуклеосом ремоделером SWR1 через различия стабильности нуклеосом и динамики ДНК.

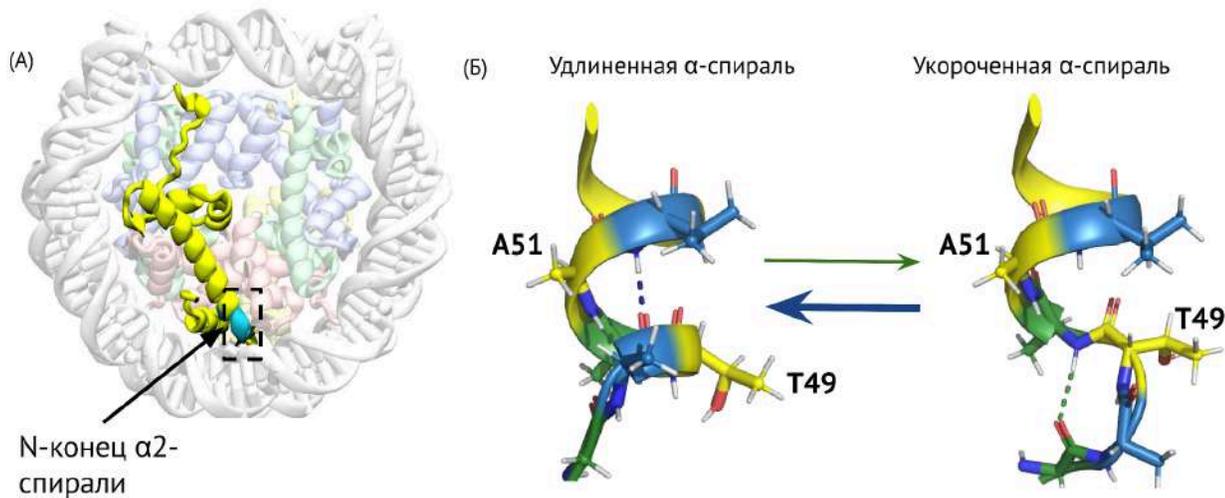


Рисунок 6. (А) Положение гистона H2A.Z в нуклеосоме. Циановым выделен N-конец  $\alpha 2$ -спирали, который важен для узнавания H2A-содержащих нуклеосом ремоделером SWR1. (Б) Альтернативные конформации N-конца  $\alpha 2$ -спирали гистона H2A.Z. Подписаны аминокислотные остатки, замены в которых критически влияют на различное узнавание H2A- и H2A.Z-содержащих нуклеосом ремоделером SWR1.

**В шестой главе** приведены результаты моделирования тетрамера гистонов (H3-H4)<sub>2</sub> и тетрасомы (комплекса тетрамера с ДНК). Тетрасомы образуются в результате выхода димеров H2A-H2B из состава нуклеосомы при активном прохождении геномных процессов, что приводит к значительному разворачиванию

фланкирующих тетрамер участков ДНК (Рисунок 7 А). Дальнейшее повышение подвижности ДНК в тетрасоме обусловлено динамическим разворачиванием ДНК в динамике на микросекундном масштабе времен (Рисунок 7 Б), которое сопровождается потерей ДНК-гистоновых контактов. Возможность такого разворачивания согласуется с данными экспериментов по FRET-микроскопии.

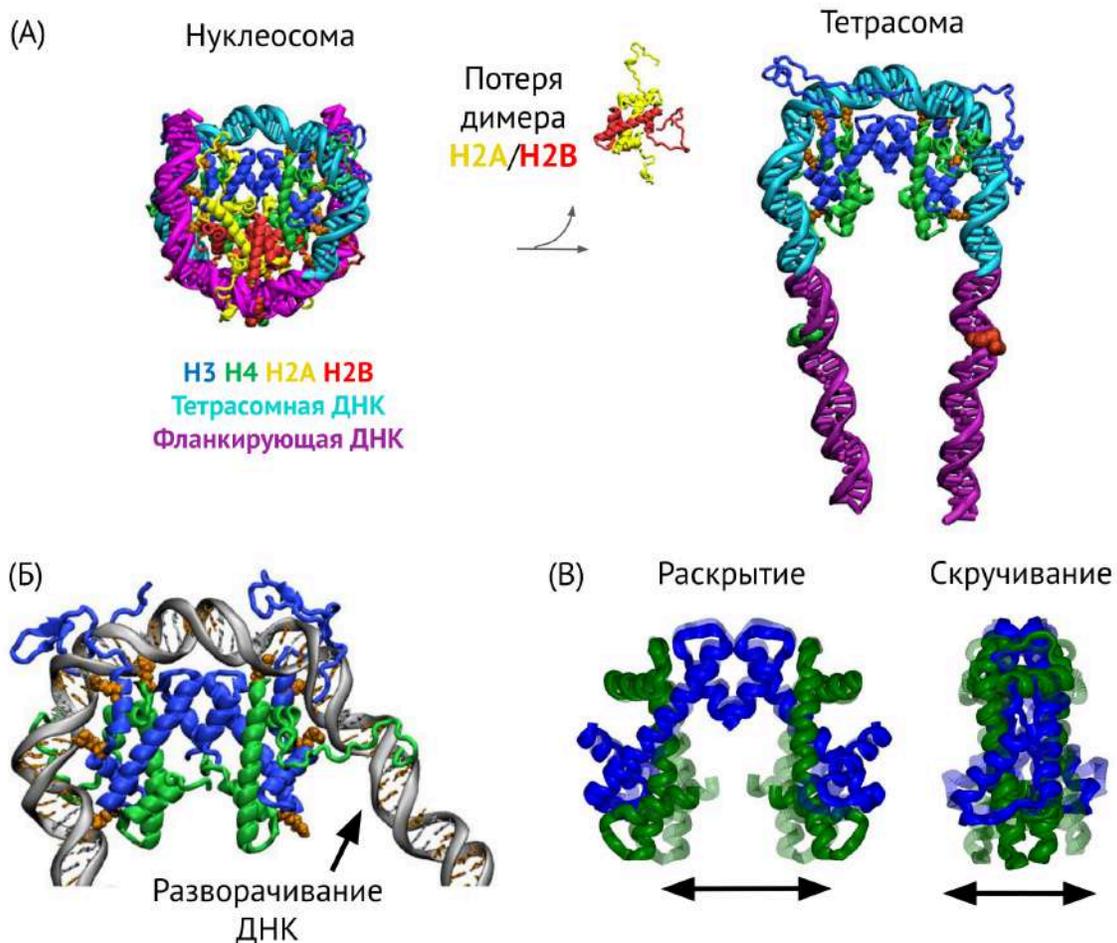


Рисунок 7. Структура и динамика  $(\text{H3-H4})_2$  тетрасом. (А) Формирование и структура тетрасомы. (Б–В) Ключевые моды динамики тетрасомы. (Б) Пример конформации, демонстрирующий разворачивание тетрасомной ДНК. (В) Характерные моды изгиба тетрамера гистонов  $(\text{H3-H4})_2$ . Динамические моды показаны в виде наложения двух конформационных состояний, наблюдаемых в расчете молекулярной динамики.

Тетрамер гистонов в тетрасоме более динамичен, чем в нуклеосоме; охарактеризованы моды внутренней пластичности тетрамера («раскрытие» и «скручивание», Рисунок 7 В). Установлено, что мода динамики «скручивание» позволяет тетрасоме совершать переходы в состояние с положительной суперспирализацией в рамках тепловых флуктуаций. Возможность изменения суперспирализации ДНК в тетрасоме с сохранением ее стабильной структуры представляет собой молекулярный механизм, объясняющий большую устойчивость тетрасом в процессах транскрипции и репликации в отличие от нуклеосом, ДНК в составе которых имеет строго отрицательную суперспирализацию. Динамическое разворачивание ДНК и повышенная пластичность тетрамера гистонов согласуются с результатами экспериментов, выполненных коллегами (по ЯМР-спектроскопии и ФРЕТ-микроскопии). Результаты интегративного исследования раскрывают механизм облегчения прохождения РНК-полимеразы II в процессе транскрипции генов.

**В седьмой главе** представлены результаты моделирования динамики внутренне неупорядоченных участков гистонов (хвостов гистонов) с использованием усовершенствованных протоколов МД, разработанных для описания поведения неупорядоченных участков белков. В работе детально охарактеризован ансамбль конформаций хвостов (Рисунок 8 А), а также описаны группы ДНК-гистоновых контактов (Рисунок 8 Б). Так, важным наблюдением оказалось значительно большее количество контактов хвостов гистонов с бороздками ДНК, по сравнению с глобулярным доменом гистонов. Это может приводить к формированию контактов, специфичных для определенной последовательности ДНК, что может объяснять неравномерное распределение типов нуклеотидов, входящих в состав нуклеосомной ДНК, в геноме.

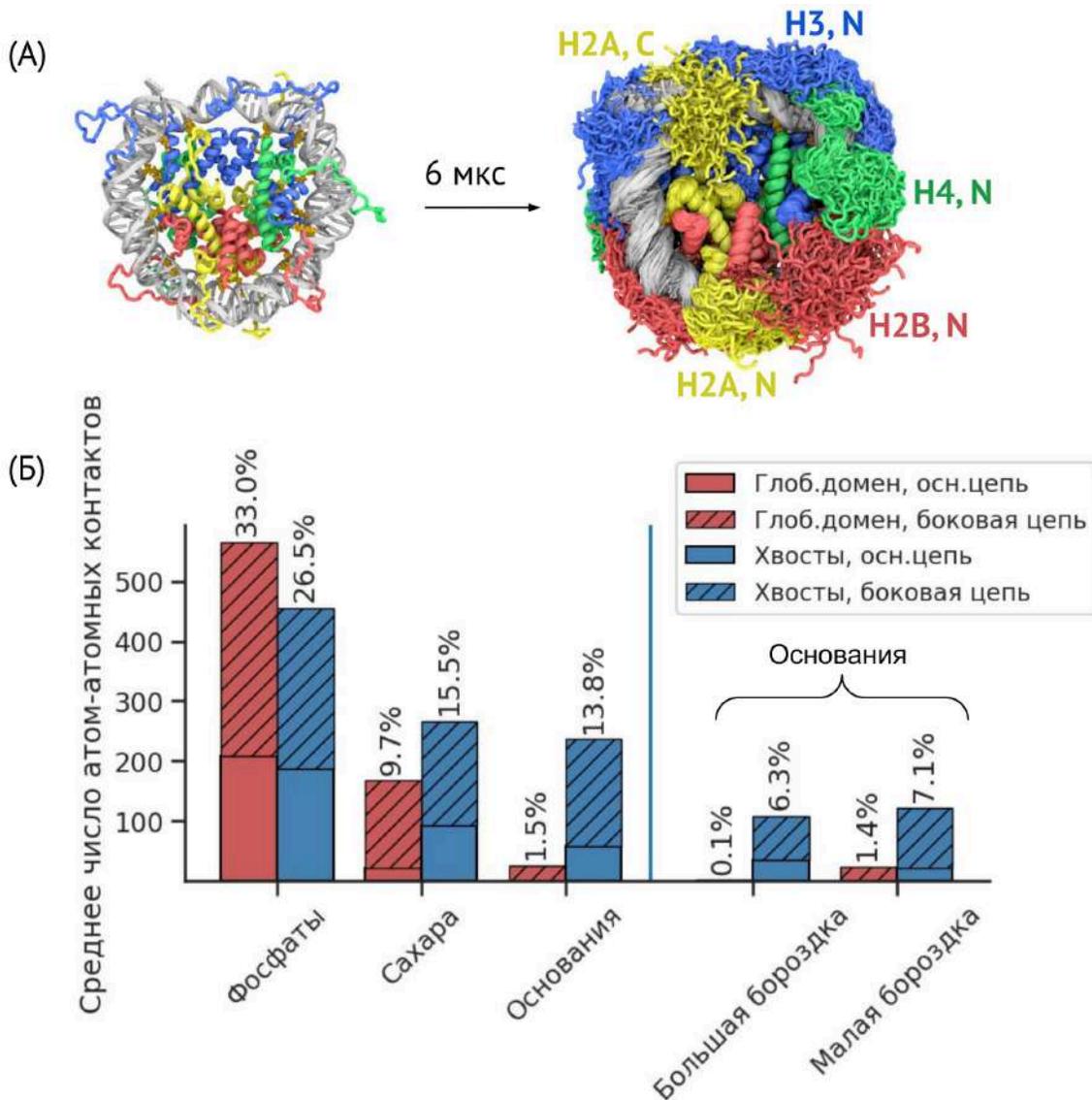


Рисунок 8. (А) Динамика неупорядоченных хвостов гистонов в составе нуклеосомы. Показаны конформационные ансамбли состояний хвостов в виде наложения кадров молекулярной динамики. (Б) Статистика ДНК-гистоновых контактов в моделировании молекулярной динамики.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе методом молекулярного моделирования раскрыты ключевые моды конформационной пластичности гистонов и установлена их непосредственная связь с функционально важными движениями ДНК, такими как откручивание, скольжение и изменение суперспирализации. Определена характерная мода изгиба димеров гистонов, которая, по-видимому, является важнейшим эволюционным приобретением консервативного структурного мотива «рукопожатие». Считается, что этот мотив появился в эволюции при димеризации гистонов по механизму обмена доменами (domain swapping), что привело не только к увеличению числа сайтов связывания ДНК, но и к появлению уникальных динамических свойств димеров гистонов.

Изложенные результаты предлагают молекулярный механизм связи динамики гистонов с динамикой откручивания и прикручивания ДНК. Была выдвинута гипотеза о том, что изгиб димера H2A-H2B важен для обеспечения стабильности нуклеосомных частиц. В пользу этой гипотезы свидетельствуют известные эксперименты с введением межмолекулярных сшивок между гистонами H2A и H2B, приводящие к невозможности сборки стабильных нуклеосомных частиц. Связь изгиба гистона H2A и скольжения ДНК позволяет предположить важное значение пластичности гистонов и в процессе репозиционирования нуклеосом в геноме благодаря работе АТФ-зависимых ремоделирующих факторов, обеспечивающих направленное скольжение нуклеосом.

Также можно предположить, что пластичность вариантных форм гистонов с разной аминокислотной последовательностью определяет их различную роль в функционировании хроматина. На примере вариантного гистона H2A.Z было продемонстрировано повышение пластичности гистона при изменении аминокислотной последовательности, что согласуется с его ролью в формировании нуклеосомы, расположенной вблизи точки старта транскрипции. Пластичность других вариантных форм гистонов требует дальнейшего изучения.

Пластичность гистонов в тетрасоме также имеет большое значение для ее функционирования. Возможность изменения направления суперспирализации ДНК в тетрасоме в рамках тепловых колебаний была известна из ранних *in vitro* экспериментов, однако в траекториях молекулярной динамики переход между левой и правой суперспирализацией был обнаружен и описан впервые. Моделирование позволило выявить ключевую роль изгиба гистонов («скручивания» тетрамера гистонов) в изменении суперспирализации, а также опровергнуть предположение о необходимости перестройки контакта между гистонами H3 при этом изменении.

### **Основные выводы диссертации:**

1. В компьютерном моделировании равновесной динамики нуклеосом реализована динамика функционально важных мод: откручивание и скольжение нуклеосомной ДНК.
2. Определены параметры внутренней пластичности димеров гистонов H2A-H2B и H3-H4. Установлено, что ключевой модой их динамики является изгиб  $\alpha 2$ -спиралей, образующих мотив «рукопожатие». Амплитуда и среднее значение изгиба различаются у свободных димеров и димеров в составе нуклеосомы.
3. Обнаружена связь пластичности димера гистонов H2A-H2B с динамикой ДНК. Показано, что скольжение ДНК требует изгиба димера в сторону центра нуклеосомы. Изгиб димера в сторону от центра нуклеосомы способствует восстановлению контактов с ДНК при обратном прикручивании после её откручивания.
4. Установлено, что аминокислотная последовательность гистонов влияет на их пластичность. Для вариантного гистона H2A.Z показана повышенная гибкость  $\alpha 2$ -спирали и смещение конформационного равновесия в области N-конца  $\alpha 2$ -спирали. Для вариантного гистона H2A.J показано, что замена S40A

позволяет L1-петле гистона переключаться в альтернативную конформацию, повышающую стабильность взаимодействий между гистонами в нуклеосоме.

5. Охарактеризованы структура и динамика тетрасом. Показано, что потеря димеров H2A-H2B приводит к значительному разворачиванию ДНК и усилению динамики тетрамера гистонов. Выявлены характерные моды динамики тетрамера («раскрытие» и «скручивание»). Установлено, что ДНК в тетрасоме характеризуется пониженной отрицательной суперспирализацией и способна к переходам в состояние с положительной суперспирализацией в рамках тепловых флуктуаций, что обусловлено пластичностью глобулярного домена гистонов H3 и H4.

**Основные публикации Федуловой Анастасии Сергеевны по теме диссертационной работы в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базе ядра Российского индекса научного цитирования "eLibrary Science Index", рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.8 Математическая биология, биоинформатика (физико-математические науки) (в скобках приведен импакт-фактор журнала, объём публикации в печатных листах/вклад автора в печатных листах):**

1. Armeev G. A.\*, **Kniazeva (Fedulova) A. S.\***, Komarova G. A., Kirpichnikov M. P., Shaytan A. K. Histone dynamics mediate DNA unwrapping and sliding in nucleosomes // *Nature communications*. — 2021. — Vol. 12. — 2387. EDN: UTCTBX. (Импакт-фактор 15,7 (JIF), 1,73/0,60 п.л., \* – равный вклад).
2. **Kniazeva (Fedulova) A. S.**, Armeev G. A., Shaytan A. K. H2A-H2B Histone Dimer Plasticity and Its Functional Implications // *Cells*. — 2022. — Vol. 11. — № 18. — 2837. EDN: TVNIYF. (Импакт-фактор 5,2 (JIF), 2,31/1,38 п.л.).
3. Oleinikov P. D.\*, **Fedulova A. S.\***, Armeev G. A., Motorin N. A., Singh-Palchevskaia L., Sivkina A. L., Feskin P. G., Glukhov G. S., Afonin D. A., Komarova G. A., Kirpichnikov M. P., Studitsky V. M., Feofanov A. V., Shaytan A. K. Interactions of Nucleosomes with Acidic Patch-Binding Peptides: A Combined Structural Bioinformatics, Molecular Modeling, Fluorescence Polarization, and Single-Molecule FRET Study: 20 // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2023. — Vol. 24. — № 20. — 15194. EDN: QYXSUQ. (Импакт-фактор 4,9 (JIF), 3,23/0,96 п.л., \* – равный вклад).
4. **Fedulova A. S.**, Armeev G. A., Romanova T. A., Singh-Palchevskaia L., Kosarim N. A., Motorin N. A., Komarova G. A., Shaytan A. K. Molecular dynamics simulations of nucleosomes are coming of age // *Wiley interdisciplinary reviews. Computational molecular science*. — 2024. — Vol. 14. — № 4. — e1728. EDN: GXCUYD. (Импакт-фактор 3,08 (JCI), 3,93/1,96 п.л.).
5. Kosarim N. A., **Fedulova A. S.**, Shariafetdinova A. S., Armeev G. A., Shaytan A. K. Molecular Dynamics Simulations of Nucleosomes Containing Histone Variant H2A.J // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2024. — Vol. 25. — № 22. — 12136. EDN: AMFEDQ. (Импакт-фактор 4,9 (JIF), 2,19/0,43 п.л.).
6. Shi X.\*, **Fedulova A. S.\***, Kotova E. Y., Maluchenko N. V., Armeev G. A., Chen Q., Prasanna C., Sivkina A. L., Feofanov A. V., Kirpichnikov M. P., Nordensköld L., Shaytan A. K., Studitsky V. M. Histone tetrasome dynamics affects chromatin transcription // *Nucleic Acids Research* — 2025. — Vol. 53. — № 8. — gkaf356. DOI: 10.1093/nar/gkaf356. (Импакт-фактор 13,1 (JIF), 1,73/0,69 п.л., \* – равный вклад).