

МОДЕЛЬ СТРУКТУРЫ НУКЛЕОСОМЫ, ОСНОВАННАЯ НА ЛОКАЛЬНЫХ ВРАЩЕНИЯХ НУКЛЕОГИСТОНОВОЙ НИТИ, ИНДУЦИРУЮЩИХ ЕЕ СКЛАДЫВАНИЕ

© Т. Н. Прияткина

*Кафедра биохимии С.-Петербургского государственного университета, 199034;
электронный адрес: tpriyatkina@mail.ru*

С развитием концепции нуклеосомной организации хроматина стали известны основные принципы упаковки ДНК в клеточных ядрах. Расшифровка механизмов обратных процессов — декомпактизации нуклеосомных цепей для реализации ее матричных функций — требует знания детальной организации нуклеосомы и ее структурной динамики. В рентгеноструктурном анализе достаточное разрешение (около 2 Å) было достигнуто только для частиц, реконструированных из компонентов *in vitro*. В результате была визуализирована структура из двух неполных супервитков ДНК, связанных с гистоновым октамером в 12—14 сайтах электростатического контакта. Однако артефактная частица не соответствует ни данным о защите гистонов и ДНК в составе нуклеосом от энзиматической дегградации (по характеру организации), ни экспериментально установленным ДНК-гистоновым контактам и топологическим характеристикам нуклеосомной ДНК. В этой связи проблема расшифровки нуклеосомной структуры все еще остается актуальной. В статье предлагается и обосновывается альтернативная представлениям о монотонной суперспирализации ДНК на гистоновом коре модель нуклеосомы. Согласно этой модели, в исходном состоянии структурные единицы нуклеогистона с симметричной последовательностью гистонов представлены в линейной форме. Компактная частица формируется в результате локальных вращений (изгибов) ДНК в центре и в двух симметричных сайтах каждого повторяющегося элемента, которые индуцируются пошаговым электростатическим связыванием ϵ -NH₂-групп лизина с сахарофосфатной цепью. В результате образуется ромбовидная структура, состоящая из двух симметричных складок ДНК, стабилизируемых гистон-гистоновыми взаимодействиями.

Ключевые слова: нуклеосома, топология ДНК, гистоновый октамер, ДНК-гистоновые взаимодействия.

Принятые сокращения: НГ — нуклеогистон, п. н. — пары нуклеотидов, РСА — рентгеноструктурный анализ, ЭМ — электронная микроскопия, ЭС — электростатические (связи), ЯМР — ядерно-магнитный резонанс, SBS-конформация — Side by Side (бок о бок) конформация цепей ДНК.

Концепция нуклеосомной организации хроматина

Со времени расшифровки структуры ДНК (Watson, Crick, 1953) на первый план вышла проблема ее организации в живых клетках, в частности в хроматиновых структурах на различных ступенях компактизации ДНК. Исследования структурно-функциональной организации хроматина на молекулярном уровне начались в 50-х годах прошлого века в связи с развитием методов его выделения и электронно-микроскопического анализа. В результате сформировались представления о нуклеогистоне (НГ) как форме существования ДНК в клетках эукариот (Bram, Ris, 1971; Johns, 1971; Bradbury et al., 1973) и о его организации в виде универсальной хроматиновой фибриллы с диаметром 30 нм и коэффициентом компактизации ДНК около 50 (DuPraw, 1969; Ris, Kubay, 1970; Ченцов, Поляков, 1974). В растворе с физиологической ионной силой и в присутствии двухвалентных катионов эта структура стабильна. При снижении ионной силы среды и при добавлении агентов, связывающих двухвалентные

катионы, она трансформируется в другую структуру с диаметром около 10 нм (DuPraw, 1969; Ris, Kubai, 1970) и разной степенью компактности — от уплощенной ленты (DuPraw, 1969) до более рыхлой, характеризующейся регулярной «дискретностью» своей плотности и диаметра (Bram, Ris, 1971; Slayter et al., 1972; Woodcock, 1973). Фибриллы обоих видов имеют в своем составе одинарную спираль ДНК (DuPraw, 1969), ассоциированную с примерно равными ей по массе основными ядерными белками — гистонами, представленными пятью каноническими типами — H1, H2A, H2B, H3 и H4 (Bradbury, Crane-Robinson, 1971; Johns, 1971; Van Der Westhuyzen, Von Holt, 1971; Kelley, 1973). Однако пространственные связи компонентов и внутренняя архитектура нуклеогистоновых фибрилл оставались неясными.

Прогресс в этой области наметился в связи с открытием принципа нуклеосомной организации ДНК в хроматине (Hewish, Burgoune, 1973; Kornberg, 1974; Olins, Olins, 1974; Landmore, Wooley, 1975; Oudet et al., 1975; Finch et al., 1977). Согласно нуклеосомной концепции, ансамбль из девяти гистоновых молекул, включающий в

себя все пять видов гистонов (по две молекулы H2A, H2B, H3, H4 и одна молекула H1), повторяясь вдоль нити ДНК, делят ее на идентичные единицы компактизации (структурные единицы хроматина, нуклеосомы). Каждая нуклеосома имеет в своем составе компактную (коровую) частицу, или минимальную нуклеосому, содержащую, по разным оценкам, 145—150 п. н. ДНК (Noll, Kornberg, 1977; Simpson et al., 1978; Shick et al., 1980; Бавыкин и др., 1988) и связанную с октамером гистонов, состоящим из четырех димерных комплексов — 2(H3H4) и 2(H2AH2B) (D'Anna, Isenberg, 1974; Kornberg, Thomas, 1974; Thomas, Kornberg, 1975), а также два линкерных сегмента, включающих в себя примерно по 30 п. н. ДНК, один из которых связан с гистоном H1 (Varshavsky et al., 1976; Whitlock, Simpson, 1976; Simpson, 1978a; Thoma et al., 1979).

Таким образом, компактизация ДНК в нуклеогистоновых фибриллах является суммарным результатом множества идентичных актов, происходящих в пределах каждого 200-парного отрезка ДНК. Стало ясно, что как обратимый процесс ступенчатой компактизации хроматина, так и механизмы его декомпактизации, роль и мишени белковых ансамблей, ремоделирующих нуклеосомную структуру хроматина, функционирование ДНК как матрицы в процессах репликации, транскрипции и регуляции генетической активности не могут быть поняты без знаний организации нуклеосомы и ее конформационных переходов.

Общепринятое представление о структуре нуклеосомы базируется преимущественно на данных рентгеноструктурного анализа (РСА) изолированных или реконструированных *in vitro* коровых частиц и гистоновых октамеров. Для кристаллов изолированных коровых частиц удалось достигнуть разрешения 5—7 Å (Finch et al., 1981; Richmond et al., 1983, 1984), а для частиц, реконструированных из фрагментов ДНК в 146—147 п. н., и преформированных *in vitro* гистоновых октамеров — 2.8 (Luger et al., 1997) и 1.9 Å (Davey et al., 2002; Richmond, Davey, 2003; Ong et al., 2007). Согласно полученным кристаллографическим данным, компактная частица размером 11 × 8.6 × 5.7 нм (минимальная нуклеосома) обладает осью симметрии второго порядка (Finch et al., 1977; Finch et al., 1981; Richmond et al., 1984). Октамер имеет форму клина или незамкнутой на вершине подковы. Вершина клина образована тетрамером 2(H3H4), который фланкирован с двух сторон не связанными между собой димерами H2AH2B (Finch et al., 1977; Klug et al., 1980; Burlingame et al., 1985). Полипептидные цепи всех молекул гистонов обладают сходным типом укладки в составе изолированных октамеров (Arents et al., 1991; Arents, Moudrianakis, 1993) и внутри компактных частиц (Luger et al., 1997). Центральный участок (из 27 аминокислот) представлен α-спиралью (α2), которая фланкирована с двух сторон петлями (L1 и L2) и короткими (из 10—15 аминокислотных звеньев) α-спиральными участками (α1 и α3) (Arents et al., 1991; Arents, Moudrianakis, 1993; Luger et al., 1997). 30—40 N-концевых и 10—15 C-концевых остатков, отличающихся высоким содержанием лизина, не структурированы и не входят в октамерный комплекс. В димерных комплексах α2-спирали двух гистоновых молекул перекрещиваются, образуя двуслойное петельное устройство (структурный мотив «рукопожатие») (Arents et al., 1991; Arents, Moudrianakis, 1993). На этой гистоновой структуре ДНК образует два неполных супервитка (Luger et al., 1997). Согласно теоретическим

расчетам, гистоновый октамер может быть связан с сахарофосфатной цепью ДНК в 12—14 сайтах электростатического контакта, локализованных в петлях L1 и L2 и двух коротких α-спиралях каждого гистонического димера (Arents et al., 1991; Arents, Moudrianakis, 1993; Luger et al., 1997). Над каждым димером ДНК образует двойную дугу по 2.5 витка двойной спирали. По 0.5 витка между димерами и 1 витку ДНК с каждой стороны частицы не связаны с гистонами. Высокозаряженные N-концевые сегменты всех гистонов отходят от поверхности октамера и не связаны с ДНК (Luger et al., 1997; Richmond, Davey, 2003; Ong et al., 2007).

Однако расшифровка нуклеосомной структуры, по-видимому, не является окончательной. Рентгеноструктурный анализ не позволяет точно определить положение флуктуирующих концов гистонов, составляющих более трети их полипептидной цепи, а также распределение сайтов связывания ДНК с гистоновым октамером. Важно также отметить, что расшифрованным с помощью РСА высокого разрешения «объектом» является частица, сконструированная из компонентов *in vitro* (Luger et al., 1997). Сравнение с естественной нуклеосомной структурой показывает, что она по характеру своей организации не соответствует данным о защите гистонов и ДНК в составе нуклеосом от энзиматической деградации, а также экспериментально установленным ДНК-гистоновым контактам и топологическим характеристикам нуклеосомной ДНК, которые рассматриваются ниже.

Взаимосвязи ДНК и гистонов в хроматине

Очевидно, что для компактизации ДНК до уровня основной 30 нанометровой хроматиновой фибриллы необходимо и достаточно пяти канонических видов гистоновых молекул. Это означает, что в основе структуры и динамики нуклеосомы лежат два основных типа взаимодействий — ДНК-гистоновые и гистон-гистоновые, которые в настоящее время достаточно хорошо изучены. Биохимический подход, позволяющий определить характер экранирования ДНК гистонами в составе нуклеосом, включает в себя анализ ее доступности к действию нуклеаз. Наиболее детально исследовано действие ДНКазы I и микрококковой нуклеазы (МНазы). ДНКазы I приводит к образованию в свободной ДНК одностранных надразрывов (ников). Расщепление двойной спирали является результатом их совпадений на комплементарных цепях (Bernardy, 1971). МНазы осуществляет симметричные двухнитевые разрывы (Drew, 1984). В нуклеосомной ДНК на протяжении всей области связывания гистонов (160—170 п. н.) отсутствуют сайты, доступные для МНазы (Noll, Kornberg, 1977; Simpson et al., 1978; Sollner-Webb et al., 1978). В результате действия ДНКазы I в каждой цепи ДНК образуется серия одностранных разрывов с интервалами приблизительно в 10 нуклеотидов, т. е. через 1 виток ДНК, но ДНКазы I не может осуществить двухнитевый разрыв (расщепление двойной спирали) ДНК, экранированной гистонами в составе компактных частиц (Noll, 1974; Lutter, 1978; Simpson et al., 1978; Klug, Lutter, 1981). Отсутствие футпринтов в ряду одностранных фрагментов (Noll, 1974; Simpson et al., 1978) свидетельствует о поверхностном расположении всей ДНК в компактной частице и о ее непрерывной связи с гистонами. Вариации длины фрагментов каждого пика (± 3 нуклеотида) (Lutter, 1978; Sollner-Webb et al., 1978; Cousins et al.,

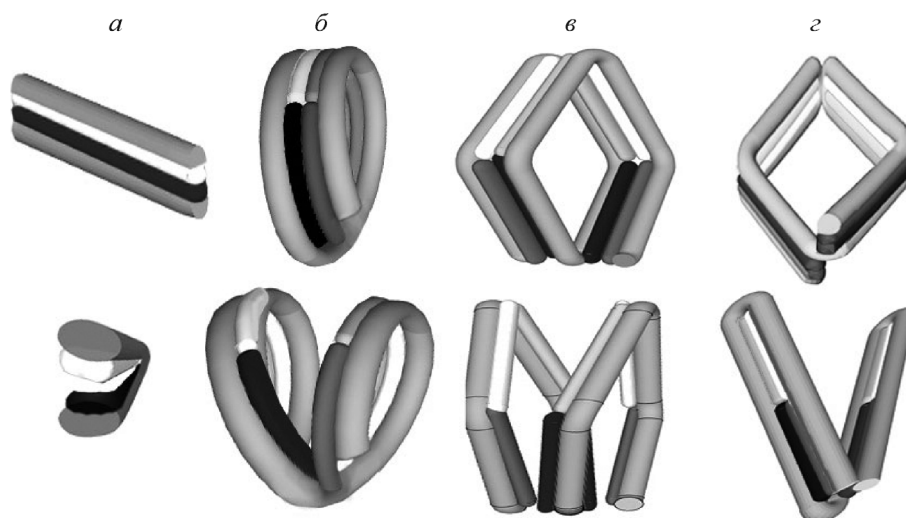


Рис. 1. Модели нуклеосомы в ромбовидной (верхний ряд) и клиновидной (нижний ряд) формах.

a — связь компонентов гистоновых димеров с ДНК. *б–г* — модели нуклеосомы: два монотонных супервитка ДНК на гистоновом октамере (*б*); двухслойный ромб (*в*); две изогнутые встречные складки нуклеогистоновой нити (*г*). Переход в клиновидную форму без диссоциации гистоновых димеров возможен лишь в модели двух складок (*г*).

2004) показывают, что половина двойной спирали (4—5 фосфодиэфирных связей на виток) доступна для действия ДНКазы I. Это может означать, что одна боковая сторона (половина) поверхности ДНК в нуклеосоме свободна от гистонов.

В хроматине, так же как и в изолированных гистоновых димерах в растворе, протяженные центральные части всех четырех гистонов (около 70 % полипептидной цепи) находятся в составе комплекса. 30—35 N-концевых и по 10—15 C-концевых аминокислотных остатков трех гистонов (за исключением H4), характеризующихся наиболее высокой плотностью распределения лизиновых остатков, несущих положительный заряд, не входят в области комплексов (Moss et al., 1976; Bohm et al., 1977). В составе хроматина только эти участки доступны для протеолитического переваривания (Chatterjee, Wolker, 1973; Sahasrabudde, Van Holde, 1974; Weintraub, Van Lente, 1974). Однако это, по-видимому, не означает, что концевые участки гистонов не связаны с ДНК (Weintraub, Van Lente, 1974). Из данных, полученных с помощью ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) и анализа реактивности аминокислотных групп в составе хроматина, следует, что все положительно заряженные остатки гистонов, не входящие в зону комплекса, нейтрализованы фосфатными группами ДНК и электростатически связаны с ними (Bradbury et al., 1973; Malchy, Kaplan, 1974).

Выводы, сделанные благодаря использованию рассмотренных выше подходов, были подтверждены с помощью уникального по информативности и точности метода анализа ДНК-гистоновых взаимодействий — ковалентного связывания свободных NH₂-групп гистонов в сайтах апуринизации ДНК, сопровождающегося разрывом 3'-фосфодиэфирной связи одной цепи (Левина, Мирзабеков, 1975; Мирзабеков и др., 1977). Метод позволяет картировать позиции электростатических (ЭС) контактов свободных положительно заряженных групп каждого гистона с фосфатными группами сахарофосфатной цепи по отношению к 5'-концам нуклеосомной ДНК. С помощью данного аналитического подхода установлено, что на всем протяжении полипептидной цепи каждого гистона положительно заряженные группы (лизина, аргинина и

гистидина) обнаруживаются в ЭС-связи с фосфатными группами ДНК (Mirzabekov, Rich, 1979; Mirzabekov, 1980; Shick et al., 1980; Nacheva et al., 1989). Эти данные показывают, что молекулы гистонов не содержат участков, флукутирующих от ДНК, т. е. они связаны с ней на всем протяжении своей полипептидной цепи (как в концевых, так и в центральных областях), образуя слой толщиной в одну полипептидную цепь (Mirzabekov, 1980). Каждый гистон занимает дискретный участок протяженностью около двух витков ДНК, где контактирует с основаниями, экранируя одну сторону поверхности двойной спирали (Mirzabekov, Rich, 1979; Mirzabekov, 1980; Shick et al., 1980). Если половина поверхности полипептидной цепи каждого гистона связана с ДНК, то вторая боковая сторона молекулы гистона (в ее центральной части, около 70 %) находится в контакте с аналогичным участком комплементарного гистона в составе димера (Moss et al., 1976; Böhm et al., 1977). Комплементарный гистон в свою очередь взаимодействует с ДНК, так же как и его партнер. Из наблюдаемого характера взаимодействий ДНК и гистонов следует, что в нуклеосоме 4 раза повторяется структурный мотив, включающий в себя два параллельных отрезка ДНК длиной около двух витков двойной спирали, соединенных гистоновым димером (рис. 1, *a*)

Октамер не является стабильным образованием. В отсутствие ДНК в физиологических условиях он распадается на два димера H2AH2B и тетрамер H3H4 или четыре димера (Roark et al., 1974; Eickbush, Moudrianakis, 1978; Ruiz-Carrillo, Jorgano, 1979). Более того, при снижении ионной силы среды, что приводит к солевой нейтрализации отрицательных зарядов, компактные частицы переходят в линейную форму без потери основных контактов между ДНК и гистонами (Zayets et al., 1981). Тот же процесс наблюдается в растворах мочевины с концентрацией выше 4 M, в которых происходит диссоциация белок-белковых связей (Carlson et al., 1975; Olins et al., 1977; Zama et al., 1978). Важно, что процесс разворачивания нуклеосом и дезинтеграции октамера в обоих случаях является обратимым. При обратном переходе к физиологическим условиям часть структурных единиц, находившихся в линейной форме, возвращается в компактную нуклеосом-

ную форму с воссозданием октамера (Olins et al., 1977; Zama et al., 1978). Такой характер обратимой декомпактизации частиц позволяет предполагать, что исходной повторяющейся структурой являются линейные отрезки ДНК, непрерывно связанные с гистонами (Прияткина, 1977; Trifonov, 1978; Mirzabekov, Rich, 1979). Октамер образуется в результате закручивания ДНК в составе НГ-тяжа в два суперспиральных витка (рис. 1, б) (Trifonov, 1978; Mirzabekov, Rich, 1979).

В период открытия нуклеосом (70-е годы XX в.) монотонную суперспирализацию ДНК рассматривали как единственно возможный путь ее компактизации (Chambon, 1978). С учетом известных параметров и геометрии компактных частиц модель двух (или около двух) витков ДНК на гистоновом коре представлялась безальтернативной (Chambon, 1978). Однако для замкнутой кольцевой мини-хромосомы вируса SV40, содержащей ковалентно замкнутую ДНК, организованную в нуклеосомы гистонами клетки-хозяина, установлено (Keller, 1975; Shure, Vinograd, 1976), что при образовании одной нуклеосомы формируется один, а не два витка сверхспирализации («парадокс числа витков») (Crick, 1976; Chambon, 1978). Согласно теории топологических состояний (Зенгер, 1987), при закручивании с малым (40—45 Å) радиусом кривизны (сверхспирализации) ДНК не может сохранить длину витка двойной спирали в 10.4 п. н., соответствующей прямой конфигурации (В-форме), которая следует из периодичности введения односторонних разрывов в обе цепи ДНК в составе коровых частиц ДНКазой I (преимущественно через 10.4 нуклеотида с небольшими локальными колебаниями от 10.0 до 10.6) (Lutter, 1978; McGhee, Felsenfeld, 1980; Klug, Lutter, 1981). Сохранение В-формы ДНК в составе коровых частиц было подтверждено в исследованиях с использованием РСА (при разрешениях 20 и 7 Å) (Finch et al., 1977, 1981; Richmond et al., 1984).

Топологические характеристики нуклеосомной ДНК позволяют полагать, что принцип монотонной суперспирализации не реализуется при компактизации структурных единиц хроматина. Другой путь — вращение смежных сегментов вокруг ее длинной оси, сопровождающееся изгибами в точках вращения (Зенгер, 1987), представля-



Рис. 2. Соответствие модели нуклеосомы, состоящей из двух складок нуклеогистоновой нити, и морфологии хроматосом на ультраструктурном уровне.

Верхний ряд — форма хроматосом по данным электронно-микроскопического анализа (по: Oudet et al., 1975; Varshavsky, Vakajev, 1975); линейный сегмент, связанный с гистонами Н1, совмещен с одной боковой гранью ромбоидной частицы (стрелки). Нижний ряд — структура нуклеосомы согласно модели двух складок в случае ромбоидной (слева) и клиновидной форм коровых частиц.

ется наиболее реальным. Прямое подтверждение реализации данного механизма было получено при визуализации резких изгибов нуклеосомной ДНК путем РСА нуклеосомных кристаллов при разрешении 7 Å (Richmond et al., 1984). Участки сильных искажений двойной спирали (радиус кривизны около 20 Å) (Richmond et al., 1988) локализованы вблизи диадной оси частицы и в середине каждой из симметричных половин. В зону искажения вовлечено около 5 п. н. Кривизна ДНК выражается в двукратном расширении бороздок на внешней и соответственно их сужении на внутренней стороне частицы в области изгиба. Прямая конфигурация всей остальной ДНК коровой частицы подтверждается не только ее соответствием В-форме, но и равенством ширины бороздок на обеих сторонах нуклеосомного диска (Richmond et al., 1984).

Характеру чередования изгибов и прямых сегментов ДНК в коровой частице и данным электронной микроскопии (ЭМ) нуклеосом (Oudet et al., 1975; Varshavsky, Vakajev, 1975) соответствует форма, близкая к ромбоидной (рис. 1, в). Однако структура двойного ромба, так же как и двух монотонных супервитков ДНК не соответствует динамике дезинтеграции нуклеосом, первой стадией которой является переход в клиновидную форму (v-тела; Olins, Olins, 1974). В клиновидных частицах сохраняются основные ДНК-гистоновые и гистон-гистоновые связи (Finch et al., 1977; Martinson et al., 1979a), обеспечивающие исходный уровень компактности ДНК. При переваривании участков гистонов, доступных для протеолиза (N- и C-концевых), все частицы переходят в клиновидную форму (Sahasrabudde, Van Holde, 1974; Finch et al., 1977). Первые кристаллы были получены из препаратов нуклеосом, обработанных протеазами (Finch et al., 1977). Гомогенность по морфологии позволяла достигнуть более высокого разрешения (около 20 Å). 3D-карты электронной плотности белков и ДНК, полученные с использованием метода «вариации контраста» (плотности растворителя), подтвердили клиновидную форму как частиц, так и связанного с ДНК октамера. Две ветви клина рассматривали как проекции двух супервитков нуклеосомной ДНК, разошедшихся в результате разделения октамерного кора на два идентичных гетеротипических тетрамера (Weintraub, Vorel, 1976; Finch et al., 1977). Однако, исходя из того, что каждый димер с обеих сторон связан с ДНК (рис. 1, а), расхождение двух витков (рис. 1, б), так же как и двух слоев двойного ромба (рис. 1, в), невозможно без диссоциации димеров, которые сохраняются в клиновидной форме (Finch et al., 1977).

Другой путь преобразования линейного отрезка нуклеогистона в 140—150 п. н. ДНК в ромбоидную форму — это образование двух изогнутых складок, сходящихся к общей оси (рис. 1, з) (Прияткина, 1977, 1978, 1990). Такая организация находится в соответствии с морфологией нуклеосом, визуализированных с помощью электронной микроскопии при высоком разрешении (рис. 2). Кроме того, две встречные складки являются единственной структурой, в случае которой переход между ромбоидной и клиновидной формами (линеаризации складок) не требует диссоциации димеров (рис. 1, з).

Сильным аргументом в пользу модели «складывания нити» являются данные РСА о локальных изгибах ДНК в центре каждой из двух симметричных половин нуклеосомного диска с радиусом кривизны около 20 Å (Richmond et al., 1984, 1988). Такой изгиб может сформироваться при тесном совмещении соседних сегментов нуклеогистонного тяжа, образующих складку из четырех

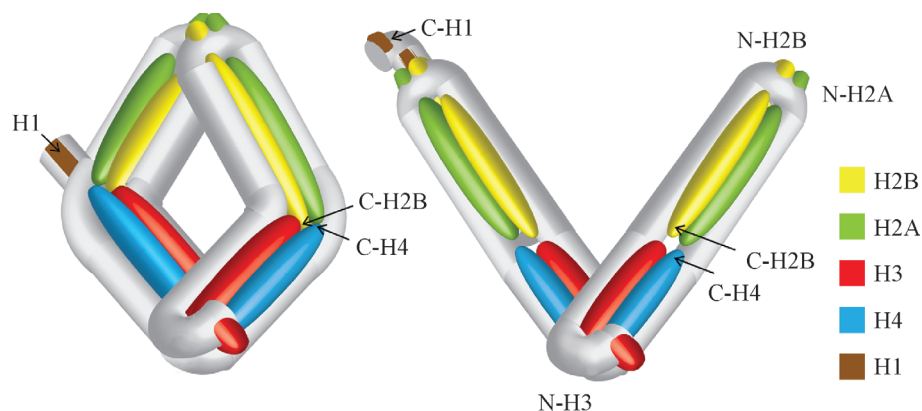


Рис. 3. Модель нуклеосомы, состоящей из двух симметричных складок нуклеогистоновой нити.

Ромбовидная (слева) и клиновидная (справа) формы коровой частицы, на схемах показана локализация N- и C-концевых сегментов гистонов. В соответствии с обсуждаемой моделью, переход в клиновидную форму сопровождается потерей контакта между C-концевыми участками H2B и H4 (стрелки).

взаимопроникающих нитей с диаметром по 17—20 Å: две полипептидные цепи и две ДНК спирали. Совмещением (или перекрытием) вершин двух встречных складок можно объяснить имитацию двойного витка и тот факт, что детектируемое с помощью РСА локальное искривление ДНК (Richmond et al., 1984) не проявляется на морфологическом уровне.

Ромбовидная форма нуклеосомы (рис. 1, з) подразумевает наличие тупых изгибов, которые не были идентифицированы в этой локализации при разрешении 7 Å (Richmond et al., 1984). На искривление ДНК на границах димеров H2AH2B с H3H4-тетрамером указывает форма октамера, визуализированного при РСА с разрешением 3.3 Å: димеры стоят под углом к клиновидному центральному тетрамеру (Burlingame et al., 1985), а не образуют дугу, наблюдаемую при меньшем разрешении (Finch et al., 1977; Klug et al., 1980). При этом димеры H2AH2B связаны с H3H4 благодаря тесному контакту C-концевых сегментов H2B и H4 (Arents et al., 1991).

Для понимания пути перехода нуклеосомного диска в структуру клина (линеаризации складок) представляют интерес данные о ковалентном связывании гистонов сшивками нулевой длины (тест на ЭС-контакт). При УФ-облучении клеток или изолированных ядер (хроматин в состоянии 30-нанометровой фибриллы) образуются гистоновые тримеры, содержащие H2A и H2B, связанные N-концами (H2B-tyr40-H2A-pro26), и H4, сшитый с C-концевым пептидом H2B (Martinson, McCarthy, 1976; Martinson et al., 1979b; Callawai et al., 1985). При декомпактизации хроматина сохраняется сшивка H2A и H2B, но исчезает связь (ЭС-контакт) H4 и H2B (Martinson, McCarthy, 1976; Martinson et al., 1979a). Это может означать, что переход нуклеосомного диска в клин инициируется разрывом связи H2AH2B-H4H3, сопровождающимся выпрямлением обеих ветвей октамера и линеаризацией ДНК на границе димеров с тетрамером (рис. 3). Данные по УФ-сшивке гистонов свидетельствуют также о совмещении N-концевых доменов H2A и H2B на поверхности нуклеосомного диска (вершинах складок) (рис. 3).

Еще одним структурным изменением, регистрируемым при переходе нуклеосом от туго скрученной (в состоянии 30-нанометровой фибриллы или зигзаг-конформации) до относительно релаксированной (клиновидной или переходной к ней) формы, является наличие или отсутствие внутринуклеосомного сайта ДНК, чувстви-

тельного к нуклеазному двухнитевому разрыву. В узком диапазоне ионных условий (около 1 mM Mg²⁺) хроматин фрагментируется ДНКазой II не по свободным межнуклеосомным линкерам (периодичность разрывов в 200 п. н.), а по участкам, локализованным на расстоянии 20 п. н. от концов коровой частицы (периодичность разрывов в 100 п. н.) (Horz, Zachau, 1980; Horz et al., 1980). При снижении или возрастании концентрации ионов Mg²⁺ наблюдается переход к типичной нуклеосомной фрагментации ДНК по межнуклеосомным линкерам. Если точки входа и выхода нуклеосомной ДНК в коровой частице соответствуют вершине клина, середине тетрамера H3H4 (Thoma et al., 1979), то расстояние 20 п. н. от ее концов представляет границу димеров H2AH2B и H3H4, участок предполагаемого в модели тупого изгиба ДНК в одной из ветвей складки в каждой из симметричных половин нуклеосомы (рис. 3). ДНКаза II, как и ДНКаза I, осуществляет двухнитевые разрывы при совпадении позиций однонитевых разрывов (ников) на комплементарных цепях ДНК. Для такого совпадения требуется высокая концентрация фермента или длительная обработка. Остается предположить, что в участках вращения двухнитевые нуклеазные разрывы ДНК происходят без накопления ников.

ДНК, представляющая, согласно обсуждаемой модели (рис. 3), границу H2AH2B-димеров с тетрамером во второй ветви складки, также обнаруживает более высокую в сравнении с общей ДНК коровой частицы чувствительность к двухнитевому нуклеазному разрыву, но, по-видимому, более низкую, чем на расстоянии 20 п. н. от ее концов. Так, Нельсон с соавторами (Nelson et al., 1977) обнаружили в нуклеазных гидролизатах хроматина субнуклеосомные частицы, образующиеся с достаточно высокой вероятностью, которые включают в себя непрерывный отрезок ДНК длиной 40 п. н., связанной с гистонами H2A и H2B, находящимися в димерном комплексе. При диссоциации димера в растворе 4 M мочевины наблюдалась декомпактизация субчастицы, переход в линейную форму без потери ДНК-гистоновых связей. Это свидетельствует о том, что комплекс H2AH2B в нуклеосомном диске образован гистонами, занимающими соседние позиции на исходной линейной ДНК (Nelson et al., 1977). Соединение двух следующих один за другим белков протяженными центральными областями возможно лишь при складывании ДНК по разделяющей их границе.

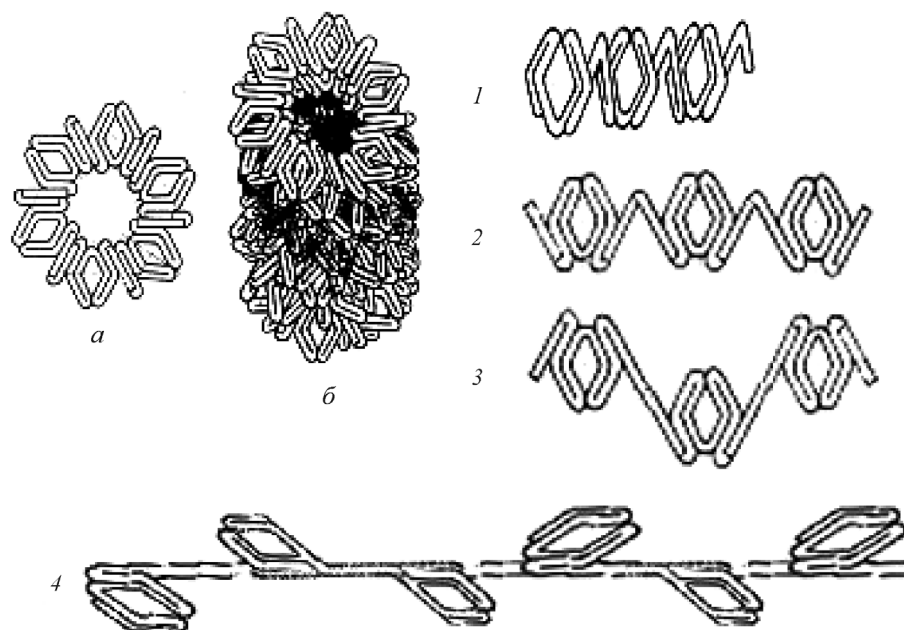


Рис. 4. Модель формирования и декомпактизации хроматиновой фибриллы с диаметром 30 нм.

a — циклический комплекс из шести нуклеосом — повторяющийся элемент структуры второго порядка; *b* — 30-нанометровая хроматиновая фибрилла. 1—3 — стадии перехода фибриллы в конформацию «зигзаг» при постепенном расхождении складки, образованной Н1-ДНК и свободной ДНК; 4 — конформация «струны бус», образуемая при расхождении линкерных сегментов и раскручивании концов коровой ДНК.

В кристаллографической модели компактной частицы каждый комплекс Н2АН2В «подвешен» в трех точках к сахарофосфатным цепям обоих супервитков ДНК (Luger et al., 1997; Davey et al., 2002). Разрывы по границам димеров Н2АН2В привели бы к освобождению частиц, содержащих два сегмента ДНК по 25—30 п. н., связанных димерным комплексом. При диссоциации димера в растворе мочевины следует ожидать их разделения на два ДНК-фрагмента, несущих по одному гистону димера. Однако выделенная частица не отвечает этим характеристикам. Таким образом, способ освобождения и свойства субнуклеосомной частицы (Nelson et al., 1977) являются убедительным свидетельством того, что две Н2АН2В-ветви, отходящие от тетрамера (Finch et al., 1977; Klug et al., 1980; Burlingame et al., 1985; Arents et al., 1991), представляют собой вершины двух складок нуклеогистоновой нити.

Важной чертой ромбоидной модели нуклеосомы является наличие прямых граней, стоящих под острым углом. Это структурная предпосылка для перехода к следующему уровню компактизации — формированию 30-нанометровой хроматиновой фибриллы. Объединение частиц боковыми гранями приведет к образованию циклического комплекса — повторяющегося элемента структуры второго порядка (Прияткина, 1977, 1978) (рис. 4). Исходя из ширины компактной частицы и диаметра основной хроматиновой фибриллы (около 30 нм) (Du Praw, 1969; Ris, Kubai, 1970; Ченцов, Поляков, 1974; Thoma et al., 1979) виток фибриллы может включать в себя около 6 нуклеосом (Thoma et al., 1979). Тогда угол, образованный двумя встречными складками, должен быть близок к 60°. Повторяющаяся структурная единица НГ содержит необходимый для такого объединения элемент — два следующих один за другим отрезка ДНК: свободный и связанный с Н1. Объединение линкерных сегментов — образование третьей складки — приведет к формированию основной хроматиновой фибриллы (Прияткина, 1977, 1978).

Последовательность гистонов вдоль нуклеосомной ДНК

Исходя из модели формирования фибриллы (рис. 4) концевые гистоны коровой частицы должны содержать домены, предназначенные для изгиба обоих концов ДНК, определяющих направленность третьей складки (Н1-ДНК — свободная ДНК) вдоль ее боковых граней (рис. 3—4). Элемент, выводящий ДНК на внешнюю сторону нуклеосомного диска, может быть представлен в гистоне Н3, который длиннее димеризующегося с ним партнера Н4 на 33 остатка (135 и 102 соответственно). Согласно данным о химической ДНК-гистоновой шивке, с концевой ДНК связывается гистон Н3, а с участками протяженностью 1.5 витка ДНК в обе стороны от диадной оси — только Н4 (Shick et al., 1980; Vavykin et al., 1985; Ebraldise et al., 1988). Таким образом, компоненты димера Н3Н4 разделены отрезком ДНК, связывающим Н2А и Н2В, которые следуют один за другим в обеих симметричных складках (Nelson et al., 1977). Исходя из этого возможны два варианта последовательности гистонов вдоль ДНК каждого из двух симметричных элементов нуклеогистона: Н3-Н2В-Н2А (или Н2А-Н2В)-Н4 (рис. 3) (Прияткина, 1977, 1978). При этом локализация ковалентных связей в гистоновом тримере, образующемся при фотосшивке компонентов в составе нуклеосом — в N-концевых пептидах Н2А-Н2В и в С-концевых Н2В и Н4 (Martinson, McCarthy, 1976; Martinson et al., 1979b; Callawai et al., 1985; Arents et al., 1991; Arents, Moudriakis, 1993), свидетельствует о противоположной (С>...N-N...<С) направленности полипептидных цепей чередующихся компонентов.

Согласно данным о ковалентном связывании гистонов с разрывом нуклеотидной цепи (Мирзабеков и др., 1977; Shick et al., 1980; Vavykin et al., 1985), каждому гистону соответствует преимущественно одна уникальная и протяженная (около двух витков) зона контакта с ДНК.

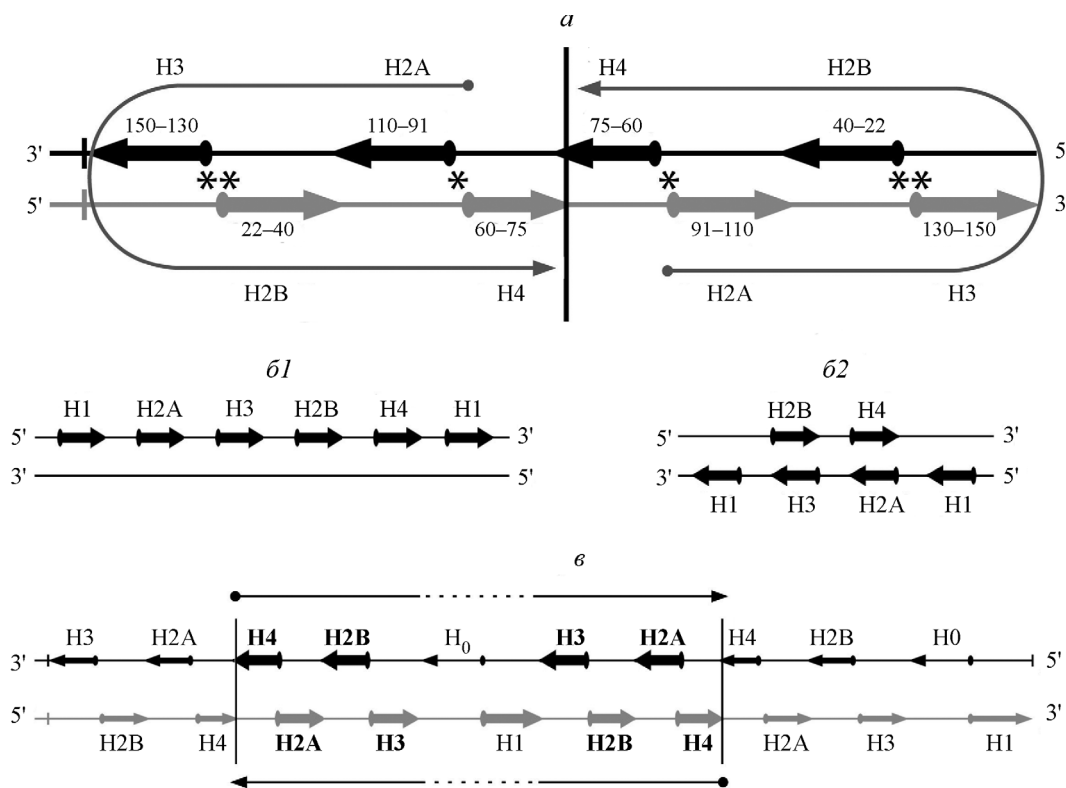


Рис. 5. Схема распределения гистонов на комплементарных цепях нуклеосомной ДНК, основанная на данных о формировании ДНК-гистоновых (Bavykin et al., 1985) и гистон-гистоновых (Martinson et al., 1979b) химических сшивок нулевой длины.

a — коровая частица в линейризованной форме; показаны протяженность и дистанция (в нуклеотидах от 5'-концов ДНК) областей связывания каждого гистона и локализация сайтов длиной в одну (*) и две (**) нуклеотидные пары, где обе цепи ДНК свободны от гистонов; *стрелки* показывают направление полипептидных цепей от С- к N-концу; *линии* связывают четыре гистона, следующих в одном направлении от диадной оси частицы (*вертикальная линия*) — N-конца Н4 до С-конца Н2А в каждой из ее симметричных половин. *б1, б2* — последовательности гистоновых генов в повторяющихся кластерах млекопитающих (по: Kedes, 1976) и дрозофилы (по: Lifton et al., 1978) соответственно. *в* — ряды однонаправленных гистонов (*стрелки*) на двух цепях ДНК на протяженных участках нуклеогистона, выделен повторяющийся (от N-Н4 до N-Н4) элемент.

Это свидетельствует о стерически идентичных (отвечающих диадной симметрии) позициях двух молекул каждого вида от концов нуклеосомной ДНК (Мирзабеков и др., 1977). Полипептидная цепь в области связывания перекрывает обе комплементарные нити ДНК, но свободные NH₂-группы гистонов образуют ЭС-связи преимущественно с одной из них (Мирзабеков и др., 1977; Shick et al., 1980). Об этом свидетельствует отсутствие «реципрокных» по длине фрагментов, за исключением одного гистона — Н2В (Shick et al., 1980; Bavykin et al., 1985). Так, Н3 обнаруживается в связи с одноцепочечными фрагментами, достигающими длины всей коровой ДНК (от 145 до 130 нуклеотидов), при отсутствии фрагментов длиной до 20 нуклеотидов (Shick et al., 1980; Bavykin et al., 1985; Gavin et al., 1998). Это, по-видимому, означает, что две молекулы Н3 занимают стерически идентичные позиции на нуклеосомной ДНК; они связаны с 3'-концами обеих комплементарных ДНК на противоположных сторонах поверхности двойной спирали. Самые короткие фрагменты (20—40 нуклеотидов от 5'-концов) обнаруживаются в комплексе с Н2В (Belyavsky et al., 1980; Shick et al., 1980; Bavykin et al., 1985). Они могут происходить из области, примыкающей к Н3-ДНК, но находящейся на противоположной относительно Н3 стороне двойной спирали. Длина фрагментов Н2А-ДНК (80—85 нуклеотидов), продуцируемых при сшивке, может означать, что Н2А следует за Н2В на противоположной ему стороне ДНК по 3'-цепи. Связывание только Н4 на расстояниях в 65 и 55 п. н. от

5'-концов ДНК — свидетельство того, что две молекулы Н4 совмещены N-концами (Martinson, McCarthy, 1976; Shick et al., 1980; Ebralidse et al., 1988) и расположены симметрично по обе стороны от диадной оси. Схема распределения гистонов на цепях нуклеосомной ДНК представлена на рис. 5.

Как видно из схемы, приведенной на рис. 5, чередование гистонов по направлению α -спирали, подтверждаемое данными о гистон-гистоновых сшивках в составе нуклеогистоновых фибрилл (Martinson, McCarthy, 1976) и результатами РС-анализа кристаллов изолированных октамеров (Arents et al., 1991), находит отражение в их чередовании по двум антипараллельным цепям ДНК. Расположение соседних гистонов и двух молекул каждого вида на противоположных сторонах поверхности двойной спирали удовлетворяет условию идентичности их позиций от концов нуклеосомной ДНК, диадной симметрии гистоновой последовательности в целом и формируемой ими нуклеосомной структуры.

Координаты гистонов от 5'-концов, представленные на рис 5, *a*, соответствуют локализации областей их эффективного связывания с цепями нуклеосомной ДНК в экспериментах по химической сшивке, но эти области не являются единственными для каждого гистона (Shick et al., 1980; Bavykin et al., 1985). Так, в коротком отрезке (130—110 нуклеотидов от 5'-концов) помимо Н3 с высокой вероятностью образуются связи с гистонами Н2А и Н2В. Для гистона Н4 выявлен дополнительный, перекры-

вающийся с H2A контакт на расстоянии около 90 нуклеотидов от 5'-концов (Mirzabekov, 1980; Shick et al., 1980; Vavykin et al., 1985; Gavin et al., 1998). Согласно модели складывания НГ-тяжа, эти участки соответствуют локализации изгибов нуклеосомной ДНК, где четыре гистона совмещены С-концами на внешней стороне частицы (рис. 3). Перекрывающиеся в этой узкой области контакты гистонов с ДНК можно объяснить вращением двойной спирали, при котором участки гистонсвязывающей цепи, свободные от гистона, могут взаимодействовать с позитивно заряженными остатками зоны их димеризации при совмещении двух ветвей складки.

Хотя визуализация позиций гистонов по разрывам полинуклеотидных цепей является прямым методом анализа их последовательности вдоль ДНК, его разрешение не является достаточным для точного определения протяженности участков взаимодействия из-за гетерогенности изолированных коровых частиц по длине ДНК (в пределах от 140 до 155 п. н.) и степени сохранения исходной структуры при длительных обработках (Shick et al., 1980; Бавыкин и др., 1988; Gavin et al., 1998). Кроме того, тесные взаимосвязи компонентов и различная доступность заряженных групп для химической сшивки в компактной структуре не позволяют провести точное разграничение между первичными, отражающими «первичную структуру» нуклеогистоновой тяжа, и вторичными ДНК-гистоновыми контактами, возникающими в результате его компактизации (Mirzabekov, 1980; Shick et al., 1980). На основании данных о ДНК-гистоновых сшивках рассматриваются различные варианты распределения гистонов вдоль нуклеосомной ДНК (Mirzabekov et al., 1979; Belyavsky et al., 1980; Shick et al., 1980; Richmond et al., 1983; Burlingame et al., 1985; Arents, Moundrianakis, 1993).

В этой связи важно отметить, что порядок чередования гистонов на цепях нуклеосомной ДНК, представленный на рис. 5, обнаруживает сильную корреляцию с эволюционно-консервативной последовательностью гистоновых генов в повторяющихся кластерах, транскрипция которых сопряжена с репликацией ДНК. У позвоночных все пять гистоновых генов представлены на одной цепи ДНК (рис. 5, б1) (Kedes, 1976). У дрозофилы единицы транскрипции распределены по двум комплементарным цепям (б2) (Lifton et al., 1978). Согласно приведенной схеме (рис. 5, в), гистоны образуют на двух сторонах (и соответственно цепях) нуклеосомной ДНК антипараллельные однонаправленные ряды. В повторе, начинающемся от H4, четыре гистона следуют в том же порядке, что и их гены в кластерах (но разделены участком связывания H1) (рис. 5, в). В каждой из симметричных половин коровой частицы гистоны распределены по двум цепям ДНК, так же как гистоновые гены дрозофилы (рис. 5, а). При этом следующая от диадной оси (N-конца H4) группа однонаправленных гистонов (рис. 5, а, объединены стрелкой) отвечает последовательности гистоновых генов в геномах высших организмов.

В отличие от последовательности гистонов на нуклеосомной ДНК позиции гистоновых генов — однозначно установленный экспериментальный факт. Совпадение последовательности генов в повторяющихся кластерах с эволюционно-консервативным распределением (Vavykin et al., 1985) кодируемых ими белков на ДНК, по всей вероятности, не является случайным и может рассматриваться как подтверждение характера чередования гистонов на цепях нуклеосомной ДНК (рис. 5). Хотя гистоновые гены могут инициироваться к транскрипции и

считываться одновременно (для сопряжения со скоростью репликации ДНК), их распределение в кластерах, возможно, определяет порядок связывания или укладки их продуктов — гистонов — в белковый ансамбль, предназначенный для взаимодействия с ДНК и формирования нуклеосомной структуры.

ДНК-зависимый фолдинг полипептидных цепей гистонов

Наиболее важными чертами ДНК-гистоновых взаимодействий, выявленных по разрывам нуклеотидных цепей при химической сшивке, являются наличие участков связывания 4 ± 2 следующих один за другим фосфатов одной цепи ДНК свободными NH_2 -группами каждой молекулы гистонов, перерыв в связывании при ее переходе на другую сторону двойной спирали и его возобновление с той же цепью через один и затем два витка спирали (Mirzabekov et al., 1978; Shick et al., 1980; Gavin et al., 1998). Такой характер ЭС-взаимодействий требует определенной регулярности распределения в молекулах гистонов лизиновых остатков, несущих свободные положительные заряды. Виток α -спирали включает в себя 3.6 аминокислотных (АК) звена с шагом 1.5 Å на один остаток. Все гистоны содержат в N-концевых участках кластеры из 3—5 лизинов, повторяющихся преимущественно через 3 или реже через 4 АК-звена, т. е., лежащих приблизительно на одной и той же стороне полипептидной цепи на расстоянии 6—7 Å, которое соответствует промежутку между двумя соседними фосфатами (отрицательными зарядами атомов кислорода) в нуклеотидной цепи (Зенгер, 1987; Ong et al., 2007). Их последовательное связывание возможно, если N-концевые участки гистонов следуют параллельно сахарофосфатной цепи, поочередно связывающей свободные NH_2 -группы гистоновых концов. Перерыв в связывании и его возобновление через один виток на той же стороне двойной спирали (через 4 ± 2 нуклеотида) (Shick et al., 1980), вероятно, означает, что полипептидная цепь складывается в петлю, которая (исходя из диаметра пептидной цепи — максимумом 16—17 Å) перекрывает расстояние между сахарофосфатными цепями одного витка (34 Å). Таким образом, гистоновая складка достаточно точно вписывается в ширину одного витка ДНК. Если ширина области связывания каждого гистона соответствует двум виткам ДНК (Shick et al., 1980), то каждая полипептидная цепь образует на боковой стороне ДНК две складки (рис. 6, б). Периодичность ЭС-связывания позитивно заряженных групп гистонов является первым указанием на их петельную укладку в хроматине, визуализированную в последующем при РСА высокого разрешения кристаллов изолированных октамеров (Burlingame et al., 1985; Arents et al., 1991).

Если для перекрывания сахарофосфатной цепи на протяжении половины витка двойной спирали требуется 25—27 аминокислотных звеньев (длина спиралей α -2 в гистоновом октамере) и 8—10 аминокислотных звеньев задействовано в повороте (Arents, Moundrianakis, 1993; Luger et al., 1997), то комплекс из двух гистоновых складок, включающий в себя четыре α -спирали и три поворота, может содержать 135 остатков, что соответствует длине гистона H3. Исходя из этой логики, при связывании H2A и H2B (129 и 125 АК) остаются свободными 1 и 2 фосфодиэфирные связи соответственно, а гистон H4

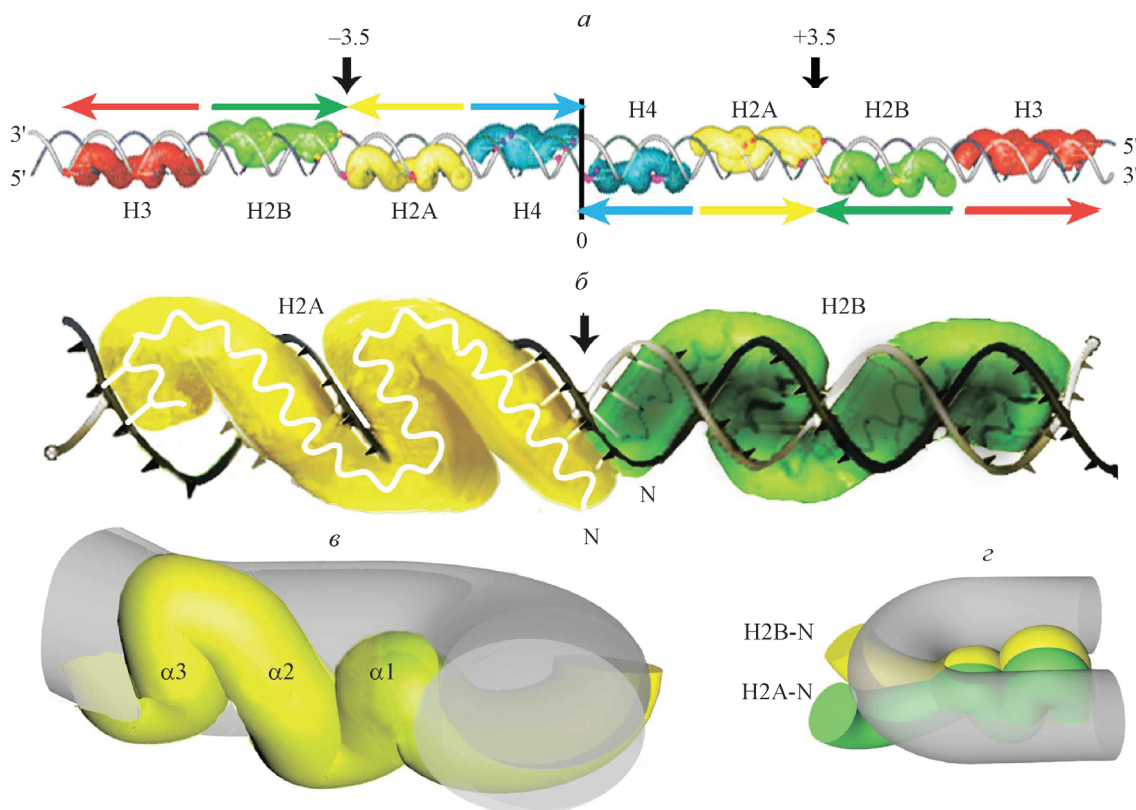


Рис. 6. Модель укладки гистонов на нуклеосомной ДНК.

a — чередование гистонов по двум комплементарным цепям и противоположным сторонам ДНК коровой частицы в линейаризованной форме; оси диадной и псевдодиадной (для участка, содержащего H2A и H2B) симметрии показаны вертикальной линией и стрелками соответственно. *б* — симметричное расположение на линейаризованной ДНК гистонов H2A и H2B, образующих димерный комплекс в результате противоположных вращений двух соседних сегментов, указано положение N-концов (N). *в*, *г* — формирование зоны димеризации, включающей в себя три связанные α -спирали разной длины (*в*) и совмещение двух вращающихся доменов (N-концевых) на противоположной доменам димеризации стороне ДНК (*г*).

(102 АК) образует на ДНК 1.5 складки (рис. 5, 6). При такой организации симметричная гистоновая последовательность перекроет 150 п. н. (рис. 5, *a*; 6, *a*). Это значение хорошо соответствует наблюдаемой максимальной длине ДНК в изолированных после нуклеазной обработки хроматина коровых частицах (около 150 п. н.) (Simpson, Whitlock, 1976; Shick et al., 1980; Бавыкин и др., 1988).

Локализация каждого гистона по отношению к 5'-концам ДНК (рис. 5, *a*) также достаточно точно (с учетом ограничений метода) отражает длину уникальных для каждого гистона фрагментов, продуцируемых при ДНК-гистоновых сшивках (Bavukin et al., 1985). Как видно на рис. 5, *a*, ДНК образует непрерывную связь с гистонами. За исключением двух нуклеотидных пар, следующих за H2B (18—20 п. н. от концов; рис 5, *a***), и одной — за H2A (61—60 п. н.; рис. 5, *a**), отсутствуют участки, где бы обе комплементарные цепи были свободны от гистонов. Удивительно, но преимущественные (по отношению к свободной ДНК линкеров) нуклеазные разрывы именно в этих сверхкоротких сайтах вращения двойной спирали и перерыва в гистоновой последовательности (согласно модели укладки гистонов; рис. 5) могут обеспечить фрагментацию ДНК в хроматине с периодичностью в 100 п. н. (Horz, Zachau, 1980) и продукцию субнуклеосомных частиц, содержащих димеры H2AH2B (Nelson et al., 1977). Более того, периодичность в 100 п. н. в распределении двухнитевых разрывов ДНК в хроматине при действии ДНКазы II (фрагментации по одному из двух сайтов) показывает, что разрывы на расстоянии

20 п. н. от концов (две свободные фосфодиэфирные связи; рис. 5, *a*) происходят с большей вероятностью, чем на расстоянии 60 п. н. (одна свободная связь). При этом нуклеазная чувствительность этих сайтов, так же как и электростатический контакт между С-концами H2B и H4, является в узком диапазоне условий, обеспечивающих максимальное сохранение нативной конформации нуклеосом (Martinson, McCarthy, 1976; Martinson et al., 1979a; Horz, Zachau, 1980).

Как показано на рис. 3 и 6, *a* (стрелки), N-концевые домены всех гистонов оказываются в области сильных искажений двойной спирали, а С-концы — в тупых углах ромбоидной структуры. Это позволяет предположить, что нейтрализация каждой фосфатной группы сопровождается поворотом нуклеотидных пар (вращением сахарофосфатной цепи) и их отклонением от параллельности (изгибом спирали). При последовательном связывании NH_2 -групп вращающий домен гистона окажется в гетероположении по отношению к области димеризации — перейдет на противоположную сторону ДНК вместе со связывающей его нуклеотидной цепью (рис. 6, *в*). При этом вершина N-концевой петли смещается в направлении С-конца. Каждый гистон индуцирует вращение на обоих своих концах. Зона димеризации с центральной ($\alpha 2$) спиралью, фланкированной короткими α -спиралями (Arents et al., 1991; Arents, Moudrianakis, 1993), может сформироваться, если вершина второй петли фиксирована и изгиб ДНК, индуцируемый С-концом гистона, происходит без смещения ее позиции на полипептидной цепи. Некото-

рым указанием на вероятность такого процесса является тот факт, что в нуклеосоме млекопитающих цистеины гистона H3 в положениях 96 и 110 (границы области поворота во второй складке) соединены бисульфидной связью (Prior et al., 1983; Bazett-Jones et al., 1996), обеспечивающей запрет на взаимное скольжение двух ветвей складки.

Предполагаемая динамика ДНК-зависимого фолдинга полипептидных цепей и искажение структуры обоих компонентов в результате их взаимодействия позволяют подразумевать, что повторяющийся элемент нуклеогистона не может существовать *in vivo* в той линейной форме, которая изображена на рис. 6, а. Скорее всего, имеет место сопряженная компактизация (и линейаризация) обеих составляющих нуклеогистона. На возможную линейаризацию октамера при разворачивании нуклеосом указывают изменение в характере нуклеазной фрагментации ДНК кодирующих областей при активации генов (Павлова и др., 2009; Прияткина и др., 2011), а также появление доступности цистеиновых групп гистона H3 к сульфидрил-специфичным реагентам в хроматине депрессированных генов (Prior et al., 1983; Bazett-Jones et al., 1996). Защищенные SH-группы гистона H3 отражают компактную конфигурацию нуклеосомного кора и обнаруживаются при флуоресцентном мечении лишь после разворачивания нуклеосом в 5 М растворе мочевины (Dieterich et al., 1978). Позиции цистеинов 96 и 110 в гистоне H3 соответствуют границам области L3-H3 (Arents et al., 1991). Бисульфидная связь в этом сайте, вероятно, связывает две ветви второй петли гистона H3, замыкая ее вершину. Потеря бисульфидной связи 96—110 может быть свидетельством ее линейаризации.

Сопоставление модели с данными РСА кристаллов коровых частиц

Структура двух совмещенных изогнутых складок (рис. 3, слева) морфологически отличается от двойного витка лишь наличием изгибов ДНК в каждой из симметричных половин нуклеосомного диска с радиусом кривизны около 20 Å (рис. 7). Такие изгибы (в сайтах ± 3.5 витка от диады) и были детектированы в результате РСА коровых частиц при разрешении 7 Å (Richmond et al., 1984, 1988). Не исключено, что две другие локализации искажений ДНК (± 1.5 витка от диадной оси) (Richmond et al., 1984) представляют собой либо изгибы внутренней ветви каждой складки, либо изогнутые концы коровой ДНК, примыкающие к диадной оси (рис. 7). Области ± 5.5 витка — изгиб внешней ветви каждой складки — не входят в зону высокого разрешения (Baker et al., 1993). Однако нуклеосомные сайты ± 1.5 , ± 3.5 и ± 5.5 (предполагаемые в модели области изгибов ДНК; рис. 3, 7) являются горячими точками интеграции ДНК вируса иммунодефицита (HIV) в хромосомах человека, опосредованной HIV-интегразой (Pruss et al., 1994). Сильное преимущество в связывании интегразы рассматривают как показатель локального искривления ДНК, сопровождающегося расширением бороздок на внешней стороне нуклеосомного диска (Pruss et al., 1994; Luger et al., 1997). Интересно, что редкие точки интеграции HIV наблюдаются по всей длине ДНК коровой частицы с периодичностью в 10 п. н., за исключением трех витков, примыкающих к ее диадной оси (от +1.5 до -1.5) (Pruss et al., 1994). Эта область, включающая в себя, согласно обсуждаемой модели (рис. 3, 7), изгиб ДНК в 60° (поворот на 120°), закрыта изогнутыми

концами ДНК и может быть недоступна как для интегразы, так и для РСА из-за высокой плотности структуры.

РСА не предоставляет данных об организации концов нуклеосомной ДНК (Richmond et al., 1984). Указанием на их изгиб, требующийся на основании модели формирования основной хроматиновой фибриллы (рис. 3, 4) для совмещения линкеров с боковыми гранями нуклеосомного диска, являются данные о связывании ^{32}P , введенного в конечный 5'-нуклеотид, с коровыми гистонами (Simpson, 1976, 1978b). Введенный фосфат образует ковалентную связь с гистонами H3 и H4 в ходе реакций ДНК-гистонного связывания с разрывом нуклеотидной цепи (Левина, Мирзабеков, 1975). Соотношение H3 и H4, включающих ^{32}P , варьирует в различных препаратах нуклеосом от 1 : 1 до 1 : 0 (Simpson, 1976, 1978b). При этом ни один из гистонов не обнаруживается в контакте с 5'-цепью на протяжении первых 20 нуклеотидов (Shick et al., 1980; Vavykin et al., 1985; Gavin et al., 1998). Связь конечного 5'- ^{32}P с гистонами H3H4-тетрамера легко объяснима, если конечный сегмент 5'-цепи ДНК (от 1 до 5 нуклеотидов), свободный от H3, накладывается на зону димеризации H3H4 (рис. 3, 7). В зависимости от того, какой нуклеотид 5'-цепи окажется последним в препаратах изолированных нуклеосом, гетерогенных по длине ДНК, возможно связывание с обоими гистонами, если в зоне комплекса окажутся свободные положительно заряженные группы. Гистон H1 химически сшивается со всеми коровыми гистонами (Ring, Cole, 1979; Georgiev et al., 1981). При сшивках нулевой длины наиболее интенсивно образуются связи с гистонами H2A (Boulikas et al., 1980). При этом сшивка детектируется в пептидах, включающих в себя от 74-го до 102-го остатка гистона H1 и С-концевую половину гисто-

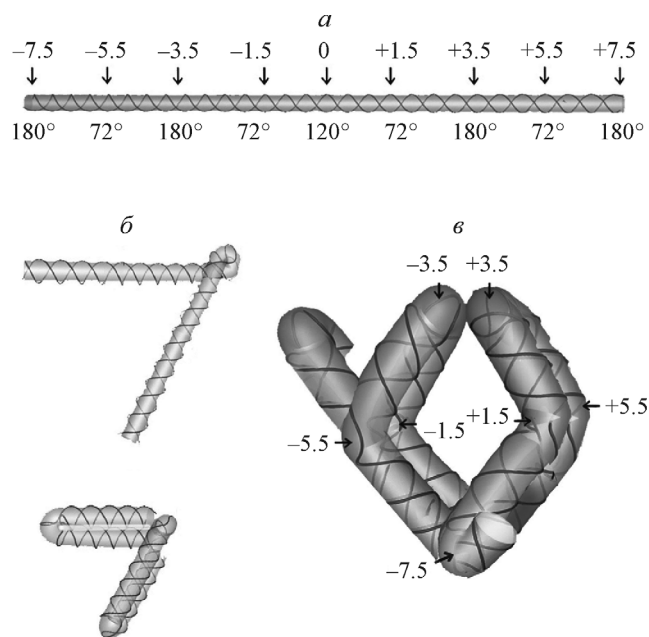


Рис. 7. Локализация и величина изгибов (углов вращения) на нуклеосомной ДНК, требующихся для формирования симметричной ромбовидной частицы из двух встречных складок.

а — локализация изгибов на нуклеосомной ДНК (стрелки); указаны число витков двойной спирали от оси симметрии и приблизительное значение углов вращения, основанное на допущении, что при повороте на 180° (изгиб с радиусом кривизны около 20 Å) участок искажения включает в себя около пяти нуклеотидных пар ДНК (Richmond et al., 1984). б, в — изгибы ДНК при формировании клиновидной (б) и ромбовидной (в) структур нуклеосомы.

на H2A (58—129) (Boulikas et al., 1980). Наблюдаемый характер межгистоновых ЭС-контактов позволяет предполагать, что сегмент H1-ДНК, связанный с одним из концов коровой ДНК (Simpson, 1978a; Thoma et al., 1979), следует за H3-ДНК между двумя ветвями складки вдоль нижней грани ромбоидной структуры (рис. 3, 7).

Для решения вопроса о механизмах, вызывающих резкие изгибы жесткой двойной спирали, представляют интерес данные детального анализа (Baker et al., 1993) 3D-карты электронной плотности коровых частиц при разрешении 7 Å, опубликованной Ричмондом и соавторами (Richmond et al., 1984). Согласно этим данным (Baker et al., 1993), в областях изгибов двойная спираль (ДН) ДНК переходит в конформацию SBS («Side by Side», «бок о бок»), характеризующуюся изгибанием сахарофосфатного скелета и нарушением всей системы связей: расстояния и угла вращения между парами, их отклонением от параллельности (Travers, 1989; Baker et al., 1993; Ong et al., 2007). SBS-структуры были выявлены при анализе олигонуклеотидов и впервые зарегистрированы в клеточной ДНК (Baker et al., 1993). Переход в SBS-конформацию наблюдается при объединении двух секций двойной спирали с противоположным знаком вращения (Rodley et al., 1976; Milane, Rodley, 1981). В зависимости от ориентации двух объединяемых секций зона искажения может включать в себя 1—5 и более ступеней спирали (Baker et al., 1993). Это наводит на мысль о том, что гистоновый ансамбль продуцирует серию противоположных вращений коротких (1.5—2 витка) сегментов двойной спирали, обеспечивая формирование углов разной величины и фиксацию метастабильной SBS-конформации. Симметричное расположение на противоположных сторонах и цепях ДНК двух гистонов (рис. 5, 6), находящихся в комплексе в конечной структуре (рис. 3), скорее не причина, а следствие взаимообусловленных вращений взаимодействующих компонентов. SBS — это конформация изгиба двойной спирали (Baker et al., 1993). Поворот на 180° (изгиб с радиусом кривизны около 20 Å) (Richmond et al., 1988) не может осуществиться при взаимодействии ДНК с поверхностью преформированного кольцевого или спирального октамера. Это еще один аргумент в пользу того, что структура нуклеосомы создается в результате локальных вращений нуклеогистоновой нити, приводящих к складыванию или сближению ее смежных сегментов.

Рассматриваемая модель согласуется со многими характеристиками нуклеосомной структуры, выявляемых с помощью РСА при исследовании кристаллов естественных нуклеосом и изолированных гистоновых октамеров (Finch et al., 1977, 1981; Klug et al., 1980; Richmond et al., 1984; Burlingame et al., 1985; Arents et al., 1991). Однако она находится в противоречии с данными об организации частиц, сконструированных *in vitro* (Luger et al., 1997; Richmond, Davey, 2003; Ong et al., 2007). Используемый способ реконструкции (Luger et al., 1997), по-видимому, не соответствует естественному процессу их формирования. В результате артефактные частицы отличаются от нуклеосом по их главным свойствам и деталям структуры, установленным в многолетних исследованиях хроматина уникальными методами биохимии, молекулярной биологии и цитологии.

В предлагаемой модели нуклеосомы представлена принципиальная схема компактизации ДНК гистонами, основанная на характеристиках сформированной ими макроструктуры (рис. 3). Однако механизмы, лежащие в

основе локальной смены конформаций и приводящие к движению полипептидные и ДНК-цепи, точная величина углов, образующихся при вращении сегментов, а также детальные характеристики вторичной и третичной структур ДНК и гистонов в участках искажения на субмолекулярном уровне требуют дальнейшего анализа с помощью физико-химических и кристаллографических методов и создания отдельных моделей.

Список литературы

- Бавыкин С. Г., Усаченко С. И., Заленский А. О., Мирзабеков А. Д. 1988. Структура нуклеосом и организация межнуклеосомной ДНК в хроматине. Молекуляр. биол. 22 (2): 517—530. (Bavykin S. G., Usachenko S. I., Zalensky A. O., Mirzabekov A. D. 1990. Structure of nucleosomes and organization of internucleosomal DNA in chromatin. J. Mol. Biol. 5 (3): 495—511.)
- Зенгер В. 1987. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. М.: Мир. 584 с. (Saenger W. 1987. Principles of nucleic acid structure. M.: Mir. 584 p.)
- Левина Е. С., Мирзабеков А. Д. 1975. Ковалентное связывание белков с ДНК в составе хроматина. ДАН СССР. 221 (5): 1222—1225. (Levina E. S., Mirzabekov A. D. 1975. Covalent binding of proteins with DNA in the chromatin structure. Dokl. Akad. Nauk SSSR. 11 (5): 1222—1225.)
- Мирзабеков А. Д., Шик В. В., Белявский А. В. 1977. Предварительная последовательность расположения гистонов на ДНК в нуклеосоме. Новый метод локализации молекул белков на ДНК. ДАН СССР. 235 (3): 710—718. (Mirzabekov A. D., Shik V. V., Belyavskii A. V. 1977. Preliminary sequence of histone distribution in nucleosome DNA. New method of localizing protein molecules in DNA. Dokl. Akad. Nauk SSSR. 235 (3): 710—718.)
- Павлова Е. Ю., Жебрун Д. А., Прияткина Т. Н. 2009. Особенности нуклеазной фрагментации ДНК в хроматине депрессированных генов. Вестник СПбГУ. Сер. 3. Вып. 1: 61—74. (Pavlova E. Yu., Zhebrun D. A., Priyatkina T. N. 2009. Distinctive character of nuclease DNA fragmentation in chromatin of derepressed genes. Vestn. St. Petersburg State University. Ser. 3. 1: 61—74.)
- Прияткина Т. Н. 1977. Плоскостная модель нуклеосомы и структуры хроматина высших порядков. Биохимия. 42 (11): 1923—1933. (Priyatkina T. N. 1977. Planar model of nucleosome and chromatin structure of high orders. Biochemistry (Moscow). 42 (11): 1923—1933.)
- Прияткина Т. Н. 1978. Модель нуклеосомы, соответствующая требованиям перестройки хроматина. Журн. эволюц. биохим. физиол. 14 (4): 317—326. (Priyatkina T. N. 1978. Nucleosome model satisfying the necessity of chromatin recombination. J. Evol. Biochem. Physiol. 14 (4): 317—326.)
- Прияткина Т. Н., Павлова Е. Ю., Воинова Н. Е., Дефорж Е. В. 2011. Фрагментация хроматина кодирующих областей *trp*-диоксигеназного (*to*) и *tyr*-аминотрансферазного (*tat*) генов в активном и репрессированном состояниях микрококковой нуклеазой. Цитология. 53 (4): 367—377. (Priyatkina T. N., Pavlova E. Ju., Voinova N. E., Deforges E. V. 2011. Fragmentation of coding region chromatin of *trp*-dioxygenase (*to*) and *tyr*-aminotransferase (*tat*) genes in their active and repressed states by micrococcal nuclease. Cell Tissue. Biol. 5 (4): 366—377.)
- Ченцов Ю. С., Поляков В. Ю. 1974. Ультраструктура клеточного ядра. М.: Наука. 200 с. (Chentsov Yu. S., Polyakov V. Yu. 1974. Ultrastructure of cell nucleus. M.: Science. 200 p.)
- Arents G., Burlingame R. F., Wang B. C., Love W. E., Moudrianakis E. N. 1991. The nucleosomal core histone octamer at 3.1 Å resolution: a tripartite protein assembly and a left-handed superhelix. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 88: 10 148—10 152.
- Arents G., Moudrianakis E. N. 1993. Topography of the histone octamer surface: repeating structural motifs utilized in the docking of nucleosomal DNA. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 90: 10 489—10 493.

- Baker A. T., Mckee V., Rodley G. A. 1993. The structure of duplex DNA in the nucleosome core particle: an alternative model. *J. Biosci.* 18 : 303—309.
- Bavykin S. G., Usachenko S. I., Lishanskaya A. L., Shick V. V., Belyavsky A. V., Undritsov I. M., Strokov A. A., Zalenskaya I. A., Mirzabekov A. D. 1985. Primary organization of nucleosomal core particles is invariable in repressed and active nuclei from animal, plant and yeast cells. *Nucl. Acids Res.* 13 : 3439—3459.
- Bazett-Jones D. P., Mendez E., Czarnota G. J., Ottensmeyer F. P., Allfrey V. G. 1996. Visualization and analysis of unfolded nucleosomes associated with transcribing chromatin. *Nucl. Acids Res.* 24 : 321—329.
- Belyavsky A. V., Bavykin S. G., Gogvadze E. G., Mirzabekov A. D. 1980. Primary organization of nucleosomes containing all five histones and DNA 175 and 165 base-pairs long. *J. Mol. Biol.* 139 : 519—536.
- Bernardy G. 1971. Spleen Acid deoxyribonuclease. *Enzymes.* 4 : 271—287.
- Böhm L., Hayashi H., Cary P. D. 1977. Sites of histone/histone interaction in the H3—H4 complex. *Eur. J. Biochem.* 77 : 487—493.
- Boulikas T., Wiseman J. M., Garrard W. T. 1980. Points of contact between histone H1 and the histone octamer. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 77 : 127—131.
- Bradbury E. M., Carpenter B. G., Rattle W. E. 1973. Magnetic resonance studies of deoxyribonucleoprotein. *Nature.* 241 : 123—126.
- Bram S., Ris H. 1971. On the structure of nucleohistone. *J. Mol. Biol.* 55 : 325—336.
- Burlingame R. F., Love W. E., Hamlin B. W. R., Xuong N. H., Moudrianakis E. N. 1985. Crystallographic structure of the octameric histone core of the nucleosome at a resolution of 3.3 Å. *Science.* 228 : 546—553.
- Callawai J. E., DeLange R. J., Martinson H. G. 1985. Contact site of histones 2A and 2B in chromatin and in solution. *Biochemistry.* 24 : 2686—2692.
- Carlson R. D., Olins A. L., Olins D. E. 1975. Urea denaturation of chromatin periodic structure. *Biochemistry.* 14 : 3122—3125.
- Chambon P. 1978. The molecular biology of the eukaryotic genome is coming of age. *Cold Spring Harbor Simp. Quant. Biol.* 42 : 1209—1234.
- Chatterjee S., Wolker J. O. 1973. The modification of deoxyribonucleohistone by trypsin and chymotrypsin. *Eur. J. Biochem.* 34 : 519—526.
- Cousins D. J., Islam S. A., Sanderson M. R., Proykova Y. G., Crane-Robinson C., Staynov D. Z. 2004. Redefinition of the cleavage sites of DNase I on the nucleosome core particle. *J. Mol. Biol.* 335 : 1199—1121.
- Crick F. N. S. 1976. Linking numbers and nucleosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 73 : 2639—2646.
- D'Anna J. A., Isenberg I. 1974. A histone cross-complexing pattern. *Biochemistry.* 13 : 4992—4997.
- Davey C. A., Sargent D. F., Luger K., Maeder A. W., Richmond T. J. 2002. Solvent mediated interactions in the structure of the nucleosome core particle at 1.9 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 319 : 1097—1113.
- Dieterich A. E., Axel R., Cantor C. R. 1978. Dynamics of nucleosome structure studied by fluorescence. *Cold Spring Harbor Simp. Quant. Biol.* 42 : 199—206.
- Drew H. R. 1984. Structural specificities of five commonly used DNA nucleases. *J. Mol. Biol.* 176 : 535—557.
- DuPraw E. J. 1969. Organisation of genetic material in eukaryotic chromosomes. In: *Cell and molecular biology.* New York; London: Acad. Press. 515—589.
- Ebraldise K. K., Grachev S. A., Mirzabekov A. D. 1988. A highly basic histone H4 domain bound to the sharply bent region of nucleosomal DNA. *Nature.* 331 : 365—367.
- Eickbush T. H., Moudrianakis E. N. 1978. The histone core complex: an octamer assembled by two sets of protein-protein interactions. *Biochemistry.* 17 : 4955—4964.
- Finch J. T., Brown R. S., Rhodes D., Richmond T., Rushton B., Lutter L. C., Klug A. 1981. X-ray diffraction study of a new crystal form of the nucleosome core showing higher resolution. *J. Mol. Biol.* 145 : 757—769.
- Finch J. T., Lutter L. C., Rhodes D., Brown R. S., Rushton B., Levitt M., Klug A. 1977. Structure of nucleosome core particles of chromatin. *Nature.* 269 : 29—36.
- Gavin I. M., Usachenko S. L., Bavykin S. G. 1998. Nucleosome structural transition during chromatin unfolding is caused by conformational changes in nucleosomal DNA. *J. Biol. Chem.* 273 : 2429—2434.
- Georgiev G. P., Bakayev V. V., Nedospasov S. A., Razin S. V., Mantieva V. L. 1981. Studies on structure and function of chromatin. *Mol. Cell. Biochem.* 40 : 29—48.
- Hewish L. R., Burgoune L. A. 1973. Chromatin-substructure. The digestion of chromatin DNA at regularly spaced sites by nuclear deoxyribonuclease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 52 : 504—510.
- Horz W., Miller F., Klobeck G., Zachau H. G. 1980. Deoxyribonuclease II as probe for chromatin structure. II. Mode of cleavage. *J. Mol. Biol.* 144 : 329—351.
- Horz W., Zachau H. G. 1980. Deoxyribonuclease II as probe for chromatin structure. I. Location of cleavage sites. *J. Mol. Biol.* 144 : 305—327.
- Johns E. W. 1971. The preparation and characterization of histones. In: *Histone and nucleohistones.* London; New York: Plenum Press. 1 : 1—45.
- Kedes L. H. 1976. Histone messengers and histone genes. *Cell.* 8 : 321—331.
- Keller W. 1975. Determination of the number of superhelical turns in simian virus 40 DNA by gel electrophoresis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 72 : 4876—4880.
- Kelley R. I. 1973. Isolation of histone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 54 : 1588—1593.
- Klug A., Lutter L. C. 1981. Organization of DNA in chromatin. *Nucl. Acids Res.* 9 : 4267—4283.
- Klug A., Rhodes D., Smith J., Finch J. T., Thomas J. O. 1980. A low resolution structure for the histone core of the nucleosome. *Nature.* 287 : 509—516.
- Kornberg R. D. 1974. Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA. Chromatin structure is based on a repeating unit of eight histone molecules and about 200 DNA base pairs. *Science.* 184 : 868—871.
- Kornberg R. D., Thomas J. O. 1974. Chromatin structure: oligomers of the histones. *Science.* 184 : 865—868.
- Landmore J. P., Wooley J. C. 1975. Chromatin architecture investigation of a subunits of chromatin by dark field electron microscopy. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 72 : 2691—2695.
- Lifton R. P., Goldberg M. L., Karp R. W., Hogness D. S. 1978. The organization of the histone genes in *Drosophila melanogaster*, functional and evolutionary implications. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 42 : 1047—1051.
- Luger K., Mäder A. W., Richmond R. K., Sargent D. F., Richmond T. J. 1997. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature.* 389 : 251—260.
- Lutter L. C. 1978. Precise location of DNase I cutting sites in the nucleosome core determined by high resolution gel electrophoresis. *Nucl. Acids Res.* 6 : 41—56.
- Malchy B., Kaplan H. 1974. Reactive properties of the amino groups of histones in calf thymus chromatin. *J. Mol. Biol.* 82 : 537—545.
- Martinson H. G., McCarthy B. J. 1976. Histone-histone interaction within chromatin. Preliminary characterization of presumptive H2A-H2B and H2B-H4 binding sites. *Biochemistry.* 15 : 4126—4138.
- Martinson H. G., True R. J., Bursh B. E. 1979a. Specific histone-histone contacts are ruptured when nucleosomes unfold at low ionic strength. *Biochemistry.* 18 : 1082—1089.
- Martinson H. G., True R. J., Lau C. K. 1979b. Histone-histone interaction in within chromatin. Preliminary location of multiple contact sites between histone H2A, H2B and H4. *Biochemistry.* 18 : 1075—1082.
- McGhee J. D., Felsenfeld G. 1980. Nucleosome structure. *Ann. Rev. Biochem.* 49 : 1115—1156.

- Milane R. P., Roddley G. A. 1981. Stereochemical details of the Side-by-Side model for DNA. *Nucl. Acids Res.* 9 : 1765—1773.
- Mirzabekov A. D. 1980. Nucleosome structure and its dynamic transitions. *Quart. Rev. Biophys.* 13 : 255—295.
- Mirzabekov A. D., Rich A. 1979. Asymmetric lateral distribution of unshielded phosphate groups in nucleosomal DNA and its role in DNA bending. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 76 : 1118—1121.
- Mirzabekov A. D., Shick V. V., Belyavsky A. V., Bavykin S. G. 1978. Primary organization of nucleosome core particle of chromatin: sequence of histone arrangement along DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 75 : 4185—4188.
- Moss T., Cary P. D., Abercrombie B. D., Crane-Robinson C., Bradbury E. M. 1976. A pH-dependent interaction between histones H2A and H2B involving secondary and tertiary folding. *Eur. J. Biochem.* 71 : 337—350.
- Nacheva G., Goushin D. Y., Karpov V. L., Ebralidse K. K., Preobrazhenskaya O. V., Mirzabekov A. D. 1989. Change in the pattern of histone binding to DNA upon transcriptional action. *Cell.* 58 : 27—36.
- Nelson D. A., Oosterhof D. K., Rill R. L. 1977. Histones H2A and H2B are neighbors along DNA in chromatin: characterization of subnucleosomal particles containing H2A and H2B. *Nucl. Acids Res.* 4 : 4223—4234.
- Noll M. 1974. Internal structure of the chromatin subunit. *Nucl. Acids Res.* 1 : 1573—1578.
- Noll M., Kornberg R. D. 1977. Action of micrococcal nuclease on chromatin and the location of histone H1. *J. Mol. Biol.* 109 : 393—404.
- Olins A. L., Olins D. E. 1974. Spheroid chromatin units (v-Bodies). *Science.* 183 : 330—332.
- Olins D. E., Bryan P. N., Harrington R. E., Hill W. E., Olins A. L. 1977. Conformational states of chromatin v-bodies induced by urea. *Nucl. Acids Res.* 4 : 1911—1933.
- Ong M. S., Richmond T. J., Davey C. A. 2007. DNA stretching and extreme kinking in the nucleosome core. *J. Mol. Biol.* 368 : 1067—1074.
- Oudet P., Gross-Bellard M., Chambon P. 1975. Electron microscopic and biochemical evidence that chromatin structure is a repeating unit. *Cell.* 4 : 281—300.
- Prior Ch. P., Cantor Ch. R., Johnson E. M., Littau V. C., Allfrey V. G. 1983. Reversible changes in nucleosome structure and histone accessibility in transcriptionally active and inactive states of rDNA chromatin. *Cell.* 34 : 1033—1042.
- Pruss D., Bushman F. D., Wolffe A. P. 1994. Human immunodeficiency virus integrase directs integration to sites of severe DNA distortion within the nucleosome core. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 91 : 5913—5917.
- Richmond T. J., Davey C. A. 2003. The structure of DNA in the nucleosome core. *Nature.* 423 : 145—150.
- Richmond T. J., Finch J. T., Klug A. 1983. Studies of nucleosome structure. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 47 (Pt 1) : 493—501.
- Richmond T. J., Finch J. T., Rushton B., Rhodes D., Klug A. 1984. Structure of the nucleosome core particle at 7 Å resolution. *Nature.* 311 : 532—537.
- Richmond T. J., Searles M. A., Simpson R. T. 1988. Crystals of a nucleosome core particle containing defined sequence DNA. *J. Mol. Biol.* 199 : 161—170.
- Ring D., Cole R. D. 1979. Chemical cross-linking of H1 histone to the nucleosomal histone. *J. Biol. Chem.* 254 : 11 688—11 695.
- Ris H., Kubai D. F. 1970. Chromosome structures. *Ann. Rev. Genet.* 4 : 263—294.
- Roark D. E., Geoghegan T. E., Keller G. H. 1974. A two-subunit histone complex from calf thymus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 59 : 542—547.
- Rodley G. A., Scobie R. S., Bates R. H. T., Levitt R. M. 1976. A possible structure for double-stranded polynucleotides. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 73 : 2959—2963.
- Ruiz-Carrillo A., Jorgano J. L. 1979. An octamer of core histones in solution: central role of the H3H4 tetramer in the self-assembly. *Biochemistry.* 18 : 760—768.
- Sahasrabudhe C. D., VanHolde K. E. 1974. The effect of trypsin on nuclease-resistant chromatin fragments. *J. Biol. Chem.* 249 : 152—156.
- Shick V. V., Beljavsky A. V., Bavykin S. G., Mirzabekov A. D. 1980. Primary organization of the nucleosome core particles. *J. Mol. Biol.* 139 : 491—517.
- Shure M., Vinograd J. 1976. The number of superhelical turns in native virion SV—40 DNA and minicol DNA determined by the band coating method. *Cell.* 8 : 215—224.
- Simpson R. T., Whitlock J. P. 1976. Chemical evidence that chromatin DNA exist as 160 base pair beads interspersed with 40 base pair bridges. *Nucl. Acids Res.* 3 : 117—127.
- Simpson R. T. 1976. Histones H3 and H4 interact with the ends of nucleosome DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 73 : 4400—4404.
- Simpson R. T. 1978a. Structure of chromatosome, a chromatin particle containing 160 base pairs of DNA and all histones. *Biochemistry.* 17 : 5524—5531.
- Simpson R. T. 1978b. Protein-kinase in HeLa nucleosomes: a reevaluation of the interactions of histones with the ends of core particle DNA. *Nucl. Acids Res.* 5 : 1109—1119.
- Simpson R. T., Whitlock J. P., Bina-Stein J. M., Stein A. 1978. Histone-DNA interaction in chromatin core particles. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 42 : 127—136.
- Slayter H. S., Shin T. Y., Adler A. J., Fasman G. D. 1972. Electron microscopy and circular dichroism studies on chromatin. *Biochemistry.* 11 : 3044—3054.
- Sollner-Webb B., Melchior W., Felsenfeld G. 1978. DNAase I, DNAase II and staphylococcal nuclease cut at different, yet symmetrically located, sites in the nucleosome core. *Cell.* 14 : 611—627.
- Thoma F., Koller Th., Klug A. 1979. Involvement of histone H1 in the organization of the nucleosome and of the salt-dependent superstructures of chromatin. *J. Cell Biol.* 83 : 403—427.
- Thomas J. O., Kornberg R. D. 1975. An octamer of histones in chromatin and free in solution. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 72 : 2626—2630.
- Travers A. A. 1989. DNA conformation and protein binding. *Annu. Rev. Biochem.* 58 : 427—452.
- Trifonov E. 1978. The helical model of nucleosome core. *Nucl. Acids Res.* 5 : 1371—1379.
- Van Der Westhuyzen D. R., Von Holt C. 1971. A new procedure for isolation and fractionation of histones. *FEBS Lett.* 14 : 333—337.
- Varshavsky A. J., Bakajev V. V. 1975. Studies of chromatin. III v-bodies and free DNA in chromatin lacking histone H1. *Mol. Biol. Reports.* 2 : 209—217.
- Varshavsky A. J., Bakajev V. V., Georgiev G. P. 1976. Heterogeneity of chromatin subunits *in vitro* and location of histone H1. *Nucl. Acids Res.* 3 : 477—485.
- Watson J. D., Crick F. H. S. 1953. The structure of DNA. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 18 : 123—131.
- Weintraub H., Van Lente F. 1974. Dissection of chromosome structure with trypsin and nucleases. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 71 : 4249—4253.
- Weintraub H., Vorcel A. 1976. A model for chromatin based upon two symmetrically paired half nucleosomes. *Cell.* 9 : 409—414.
- Whitlock J. P., Simpson R. T. 1976. Removal of histone H1 exposes a fifty base pair DNA segment between nucleosomes. *Biochemistry.* 15 : 3307—3312.
- Woodcock C. L. F. 1973. Ultrastructure of inactive chromatin. *J. Cell Biol.* 59 : 737.
- Zama M., Olins D. E., Wilkinson-Singley E., Olins A. L. 1978. Reversibility of nucleosome conformation perturbed by urea. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 85 : 1446—1452.
- Zayets V. W., Bavykin S. G., Karpov V. P. 1981. Organization of histones along nucleosome DNA. *Nucl. Acids Res.* 9 : 1053—1067.

THE MODEL OF NUCLEOSOME STRUCTURE BASED ON THE LOCAL ROTATION
OF THE NUCLEOHISTONE CHAIN, WHICH INDUCES ITS FOLDING*T. N. Priyatkina*St. Petersburg State University, Department of Biochemistry, 199034;
e-mail: tpriyatkina@mail.ru

An alternative model to the «double turn of DNA on the histone core» approach is forwarded based on the biochemical, cytological, and crystallographic data on the structural organization of the chromatin units — nucleosomes. The model assumes that the initial structure is a linear nucleohistone cord with a repeating symmetrical histone sequence. The compact (core) particle (a minimal nucleosome) is forming upon a stepwise rotation of DNA (kinks) at the centre and at two symmetrical sites into each repeating fragment stemming from the electrostatic binding of the lysine ϵ -NH₂-groups with the followed one by one phosphates of the sugar-phosphate chain. As a result, we have a rhomboid structure composed of two counter-symmetrical DNA folds stabilized by histone-histone interactions. Based on disposable data, the histone sequence along nucleosome DNA is deduced. The following characteristics of the sequence are considered: continuity, non-overlapping, versatility, and dyadic symmetry in dispose of two every kind histone molecules and the sequence on the whole. The model is in agreement with a topology of nucleosome DNA, as well as the pattern of DNA-histone and histone-histone interactions in chromatin.

Key words: nucleosome, the histone octamer, DNA topology, DNA-histone and histone-histone interactions.
