

Математическое моделирование образования гистонового октамера

© Т.В. Кошлан,¹ К.Г. Куликов^{2,*}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет,
199034 Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
195251 Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: kulikov.kirill.g@gmail.com

(Поступило в Редакцию 21 сентября 2016 г.)

Разработана физическая модель взаимодействия белковых молекул и их способности образовывать сложные биологические комплексы для случая *in vitro* в растворе одновалентной соли. Изучены их реакционные способности с использованием методов электростатики на примере пошагового образования гистонового октамера из белков H2A, H2B, H3, H4. Для анализа способности белковых молекул образовывать соединения, проанализирована матрица потенциальной энергии взаимодействия белковых молекул в растворах с различной концентрацией одновалентной соли.

DOI: 10.21883/JTF.2017.05.44437.2041

Введение

Настоящая работа посвящена разработке математической модели, которая позволит описать поведение сложных биологических комплексов: димеров, тетрамеров, гексамеров, октамеров *in vitro* в растворах с различной концентрацией одновалентной соли при образовании гистонового ядра нуклеосомы.

В настоящей работе мы изучали стабильность биологических комплексов в растворах с различной ионной силой с учетом эффекта экранирования заряженных аминокислотных остатков: лизина, аргинина, гистидина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты.

Следует отметить, что в представленной работе не учитывалось поведение неполярных, полярных, ароматических аминокислот в растворах с различной ионной силой, так же наша модель не учитывала конформацию белковых молекул.

Отметим ряд работ, связанных с анализом формирования ядра нуклеосомы. В [1] изучали кристаллические структуры четырех мутантных нуклеосом, в которых один из четырех гистонов H2A, H2B, H3, H4 был без N-концевого участка. На основании проведенных исследований были получены данные о влиянии данного участка у различных гистонов на стабильность нуклеосомы.

Работа [2] посвящена вопросу устойчивости биологических комплексов (H2A–H2B) и (H3–H4)₂ *in vitro* при различных физических условиях в присутствии солей и денатурирующих агентов. Показано, что тетрамер (H3–H4)₂ менее устойчив, чем димер (H2A–H2B).

В [3] приведен анализ внутри нуклеосомных взаимодействий между различными вариантами гистонов и указаны участки связывания между гистонами при образовании нуклеосомы.

Однако следует отметить, что в приведенных работах не приведен критерий для количественной оценки сил электростатического взаимодействия между белковыми

единицами, приводящими к сборке или диссоциации гистонового октамера при различных концентрациях одновалентной соли.

Настоящая работа в отличие от вышеприведенных позволяет дать количественную оценку сил электростатического взаимодействия между гистоновыми белками в растворах с различной концентрацией одновалентной соли с учетом эффекта экранирования заряженных аминокислотных остатков.

Работа состоит из нескольких частей: в первой части описана структура гистонового ядра, основные принципы его формирования. Во второй части выведено уравнение для расчета эффекта экранирования. В третьей части рассмотрена задача пошагового образования гистонового октамера с учетом эффекта экранирования в солевом растворе с различной концентрацией одновалентной соли.

1. Общие принципы формирования гистонового октамера

Нуклеосома представляет собой октамер белков гистонов, который несет на себе 145–147 пар нуклеотидов ДНК, которая закручивается вокруг гистонового ядра, образуя 1.65 витка левозакрученной суперспирали. В ядро нуклеосомы входит четыре семейства гистонов H3 и H4, H2A и H2B, каждый из которых представлен дважды. Восемь гистонов нуклеосомы собраны в четыре гетеродимера [3]: два (H2A–H2B) и два (H3–H4).

Процесс сборки октамера начинается с присоединения димера (H3–H4) к такому же димеру (H3–H4), при этом образуется тетрамер (H3–H4)₂, далее к тетрамеру присоединяется димер (H2A–H2B) в результате образуется гексамер (H3–H4)₂(H2A–H2B). К гексамеру присоединяется еще один димер (H2A–H2B) и завершает образование биологического комплекса формирование октамера (H3–H4)₂(H2A–H2B)₂.

В представленной работе построена физическая модель, которая моделирует стадии образования гистонового октамера для случая *in vitro* при различных концентрациях одновалентной соли, а именно [4]:

- образование димеров (H2A–H2B) и (H3–H4),
- образование тетрамера (H3–H4)₂,
- образование гексамера (H3–H4)₂(H2A–H2B),
- образование октамера (H3–H4)₂(H2A–H2B)₂.

Нами были промоделированы следующие взаимодействия:

- образование димеров из мономеров (H3 + H4) → (H3–H4), (H2A + H2B) → (H2A–H2B),
- связывание димеров в тетрамеры (H3–H4) + (H3–H4) → (H3–H4)₂,
- присоединение димера к тетрамеру с образованием гексамера (H3–H4)₂ + (H2A–H2B) → (H3–H4)₂(H2A–H2B),
- присоединение димера к гексамеру с образованием гистонового октамера (H3–H4)₂(H2A–H2B) + (H2A–H2B) → (H3–H4)₂(H2A–H2B)₂.

Отметим, что биологические объекты взаимодействуют в растворе, который может обладать различной ионной силой, т. е. содержать различные растворенные ионы. В таких биологических системах большое значение имеют взаимодействия между ионами, которые сильно зависят от ионной силы раствора. Данная величина является мерой интенсивности электрического поля, создаваемого ионами в растворе. Чтобы учесть влияние величины ионной силы в растворе на устойчивость изучаемых нами биологических соединений, мы использовали теорию Гуи–Чепмена для расчета экранирующего потенциала заряженной аминокислотной последовательности белка при различных концентрациях одновалентной соли в растворе с биологическими объектами.

1.1. Учет эффекта экранирования в солевом растворе

Для учета механизма формирования компенсирующего слоя ионов в растворе (эффект экранирования), который формируется за счет сил электростатического притяжения к распределенному на поверхности заряду, мы использовали теорию Гуи–Чепмена [5–7]. В данной теории ионы электролита описываются точечными зарядами обоих знаков в водной среде с определенной диэлектрической проницаемостью.

Если энергия ионов в поле притяжения к поверхности заряда порядка kT (где k — постоянная Больцмана, T — абсолютная температура), то тепловое движение должно сделать такой слой диффузным. Таким образом, пространственное распределение противоионов (ионы, имеющие противоположный заряд) определяется тем, что они находятся в состоянии теплового движения и одновременно притягиваются к поверхностному заряду, в результате чего образуют диффузный слой определенной протяженности. Отметим, что протяженность при

низких концентрациях электролита может быть весьма значительной.

Напряженность электрического поля в двойном слое должна монотонно убывать при удалении от заряженной поверхности, поскольку ее заряд экранируется зарядом противоионов, размещенных между данной удаленной точкой и заряженной поверхностью.

У внешней границы двойного электрического слоя электрическое поле должно исчезать. Таким образом, единственной переменной, от которой зависит функция спада потенциала, является расстояние от заряженной поверхности. Отметим, что радиус частицы сонаправлен с вектором расстояния от заряженной поверхности.

В соответствии с этой моделью функции электрического потенциала и соответствующего среднего распределения заряда вычисляются в окрестности заряженной поверхности. Расчет электрического двойного слоя для заряженной поверхности сферы был выполнен для пяти заряженных аминокислот: аспарагиновая кислота (D), глутаминовая кислота (E), лизин (K), аргинин (R), гистидин (H).

Запишем уравнение Пуассона для плоской поверхности

$$\frac{d^2\varphi(x)}{dx^2} = -\frac{\rho}{\varepsilon\varepsilon_0}, \quad (1)$$

где ρ — плотность заряда, определенная на расстоянии x от поверхности и $\varphi(x)$ — потенциал, ε — диэлектрическая проницаемость среды, ε_0 — электрическая постоянная.

В соответствии с [5–7] запишем общую плотность заряда на единицу объема для определенного иона

$$\rho = \sum_{i=1}^N n_i z_i e = \sum_{i=1}^N n_i^0 z_i e \exp\left[\frac{-z_i e \varphi(x)}{kT}\right], \quad (2)$$

где n_i^0 — концентрация иона в растворе, e — заряд электрона, z — заряд иона.

Комбинируя (1) и (2), мы получаем уравнение Пуассона–Больцмана

$$\frac{d^2\varphi(x)}{dx^2} = -\frac{e}{\varepsilon\varepsilon_0} \sum_{i=1}^N n_i^0 z_i \exp\left[\frac{-z_i e \varphi(x)}{kT}\right]. \quad (3)$$

Приведенное уравнение необходимо дополнить граничными условиями [7]

$$\varphi(0) = \varphi_0, \quad \varphi|_{x \rightarrow \infty} = 0. \quad (4)$$

Умножив уравнение (3) на $\frac{d\varphi}{dx}$ слева и справа, получим

$$\frac{1}{2} \frac{d}{dx} \left(\frac{d\varphi}{dx} \right)^2 = -\frac{e}{\varepsilon\varepsilon_0} \sum_{i=1}^N n_i^0 z_i \exp\left[\frac{-z_i e \varphi(x)}{kT}\right] \left(\frac{d\varphi}{dx} \right),$$

$$\frac{1}{2} \frac{d}{dx} \left(\frac{d\varphi}{dx} \right)^2 = \frac{d}{dx} \frac{kT}{\varepsilon\varepsilon_0} \sum_{i=1}^N n_i^0 \exp\left[\frac{-z_i e \varphi(x)}{kT}\right]. \quad (5)$$

После интегрирования уравнения (5) и с учетом обращения в нуль производной потенциала вдали от поверхности, с помощью которой определяется постоянная интегрирования, имеем

$$\frac{1}{2} \left(\frac{d\varphi}{dx} \right)^2 = \frac{kT}{\varepsilon\varepsilon_0} \sum_{i=1}^N n_i^0 \exp \left[\left[\frac{-z_i e \varphi(x)}{kT} \right] - 1 \right], \quad (6)$$

$$\frac{d\varphi}{dx} = \pm \left[\frac{2kT}{\varepsilon\varepsilon_0} \sum_{i=1}^N n_i^0 \exp \left[\left[\frac{-z_i e \varphi(x)}{kT} \right] - 1 \right] \right]^{1/2}. \quad (7)$$

Отметим, что полученное уравнение (7) можно интегрировать в случае произвольных потенциалов поверхности, но только для симметричного электролита

$$z_+ = -z_- = z, \quad n_+^0 = n_-^0 = n^0.$$

Преобразуем выражение, входящее в правую часть уравнения (7):

$$\sum_{i=1}^N n_i^0 \exp \left[\left[\frac{-z_i e \varphi(x)}{kT} \right] - 1 \right]$$

следующим образом:

$$\begin{aligned} \sum_{i=1}^N n_i^0 \exp \left[\left[\frac{-z_i e \varphi(x)}{kT} \right] - 1 \right] &= 2n^0 \left[\operatorname{ch} \left[\frac{ze\varphi(x)}{kT} \right] - 1 \right] \\ &= 4n^0 \operatorname{sh}^2 \left[\frac{ze\varphi(x)}{2kT} \right]. \end{aligned} \quad (8)$$

Тогда с учетом выражения (8) уравнение (7) примет вид

$$\frac{d\varphi}{dx} = -\sqrt{\frac{8n^0 kT}{\varepsilon\varepsilon_0}} \operatorname{sh} \left[\frac{ze\varphi(x)}{2kT} \right]. \quad (9)$$

После интегрирования уравнения (9) с учетом граничных условий (4) получим

$$\varphi(x) = \frac{4kT}{ze} \operatorname{Arth}(\operatorname{th}(ze\varphi_0/4kT) \exp(-xd)), \quad (10)$$

где d — характерная длина радиуса Дебая. Она определяется следующим образом [7]:

$$d^{-1} = \left[\frac{\varepsilon\varepsilon_0 kT}{\sum_{i=1}^N n_i^0 z_i^2 e^2} \right]^{1/2}. \quad (11)$$

Отметим, что на данном расстоянии экранируется поле заряженной частицы за счет накапливающегося вокруг нее заряда противоположного знака.

Мы предполагаем, что при помещении заряженного аминокислотного остатка белка в раствор с заданной ионной силой происходит экранирование заряда его сферы, т.е. уменьшение ее потенциала и увеличение ее эффективного радиуса за счет характерной длины радиуса Дебая.

Таким образом, из (10) получаем значения потенциала сферы на границе экранирования, а из выражения (11) радиус Дебая. Используя эти данные, мы находим новое значение заряда для каждой сферы, помещенной в солевой раствор.

Ниже приведены результаты расчетов характерного радиуса сферы, заряда на поверхности сферы, моделируемый аминокислотный остаток и его электростатический потенциал в солевом растворе при различной ионной силе с учетом эффекта экранирования (табл. 1)

Проведенные ранее эксперименты [8] свидетельствуют о том, что взаимодействие белковых молекул обусловлено потенциальной энергией электростатического взаимодействия. Таким образом нами была также рассмотрена задача электростатического взаимодействия между белковыми молекулами и их укороченных аналогов в рамках классической электростатической теории.

Опишем кратко физическую модель электростатического взаимодействия между аминокислотными последовательностями различных белков. Каждая аминокислота представлена в виде равномерно заряженной сферы со своим значением радиуса. В данной модели мы не учитываем сворачивания полипептидной цепи белка в правильную пространственную структуру. Белок мы представляем как свободно-сочлененную полиаминокислотную последовательность. Отметим, что более подробное описание модели приводится в [9]. Далее решается задача электростатического взаимодействия двух заряженных шаров [10–12] с учетом эффекта экранирования в солевом растворе и, полученные в результате решения этой задачи, значения потенциальной энергии электростатического взаимодействия между соответствующими аминокислотными остатками записываются в соответствующую матрицу.

Для анализа биохимических процессов используем понятие числа обусловленности, которое будет характеризовать в данной физической постановке степень устойчивости конфигурации биологического комплекса. При этом для выбора более устойчивого биохимического соединения между белками мы выбираем матрицу потенциальной энергии электростатического взаимодействия с наименьшим значением числа обусловленности.

2. Численное моделирование взаимодействия аминокислотных остатков

2.1. Моделирование пошагового образования гистоновых димеров (H3–H4) и (H2A–H2B)

В данной разделе нами были выполнены расчеты и проведен анализ устойчивости образования димеров (H3–H4) и (H2A–H2B) при различных концентрациях ионной силы одновалентной соли путем анализа их

Таблица 1. Результаты расчетов радиуса сферы, заряда для аминокислотных остатков в солевом растворе

| n^0 , mol | Аминокислотные остатки | R | D | E | H | K |
|-------------|------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 0.01 | Радиус сферы, nm Заряд, C | 0.8308 $1.306 \cdot 10^{-19}$ | 0.86 $0.85 \cdot 10^{-19}$ | 0.735 $1.01 \cdot 10^{-19}$ | 0.759 $1.07 \cdot 10^{-19}$ | 0.758 $1.08 \cdot 10^{-19}$ |
| 0.05 | То же | 0.857 $1.275 \cdot 10^{-19}$ | 0.713 $0.867 \cdot 10^{-19}$ | 0.762 $0.998 \cdot 10^{-19}$ | 0.78 $1.04 \cdot 10^{-19}$ | 0.785 $1.062 \cdot 10^{-19}$ |
| 0.1 | « » | 0.878 $1.251 \cdot 10^{-19}$ | 0.734 $0.854 \cdot 10^{-19}$ | 0.783 $0.981 \cdot 10^{-19}$ | 0.801 $1.03 \cdot 10^{-19}$ | 0.806 $1.0442 \cdot 10^{-19}$ |
| 0.25 | « » | 0.918 $1.203 \cdot 10^{-19}$ | 0.774 $0.825 \cdot 10^{-19}$ | 0.823 $0.946 \cdot 10^{-19}$ | 0.841 $0.993 \cdot 10^{-19}$ | 0.846 $1.00 \cdot 10^{-19}$ |
| 0.5 | « » | 0.963 $1.14 \cdot 10^{-19}$ | 0.819 $0.791 \cdot 10^{-19}$ | 0.868 $0.905 \cdot 10^{-19}$ | 0.886 $0.949 \cdot 10^{-19}$ | 0.891 $0.961 \cdot 10^{-19}$ |
| 0.75 | « » | 0.998 $1.1 \cdot 10^{-19}$ | 0.854 $0.764 \cdot 10^{-19}$ | 0.903 $0.873 \cdot 10^{-19}$ | 0.921 $0.914 \cdot 10^{-19}$ | 0.926 $0.926 \cdot 10^{-19}$ |
| 1.0 | « » | 1.027 $1.062 \cdot 10^{-19}$ | 0.883 $0.74 \cdot 10^{-19}$ | 0.923 $0.844 \cdot 10^{-19}$ | 0.95 $0.884 \cdot 10^{-19}$ | 0.955 $0.895 \cdot 10^{-19}$ |
| 1.25 | « » | 1.053 $1.02 \cdot 10^{-19}$ | 0.909 $0.719 \cdot 10^{-19}$ | 0.958 $0.819 \cdot 10^{-19}$ | 0.976 $0.857 \cdot 10^{-19}$ | 0.981 $0.868 \cdot 10^{-19}$ |
| 1.5 | « » | 1.0767 $0.996 \cdot 10^{-19}$ | 0.9327 $0.700 \cdot 10^{-19}$ | 0.9817 $0.796 \cdot 10^{-19}$ | 0.9997 $0.833 \cdot 10^{-19}$ | 1.0047 $0.843 \cdot 10^{-19}$ |
| 1.75 | « » | 1.09 $0.968 \cdot 10^{-19}$ | 0.954 $0.681 \cdot 10^{-19}$ | 1.00 $0.775 \cdot 10^{-19}$ | 1.02 $0.81 \cdot 10^{-19}$ | 1.03 $0.76 \cdot 10^{-19}$ |
| 2.00 | « » | 1.118 $0.941 \cdot 10^{-19}$ | 0.974 $0.649 \cdot 10^{-19}$ | 1.023 $0.755 \cdot 10^{-19}$ | 1.041 $0.789 \cdot 10^{-19}$ | 1.046 $0.798 \cdot 10^{-19}$ |

Таблица 2. Числа обусловленности матриц потенциальной энергии электростатического взаимодействия для димера (H3–H4)

| n^0 , mol | 0.01 | 0.05 | 0.1 | 0.25 | 0.5 | 0.75 | 1.0 |
|-------------|---------------------|---------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| cond | $3.8 \cdot 10^{11}$ | $4.2 \cdot 10^{11}$ | $1.05 \cdot 10^{11}$ | $2.66 \cdot 10^9$ | $2.02 \cdot 10^9$ | $1.55 \cdot 10^9$ | $2.73 \cdot 10^8$ |

Таблица 3. Числа обусловленности матриц потенциальной энергии электростатического взаимодействия для димера (H2A–H2B)

| n^0 , mol | 0.01 | 0.05 | 0.1 | 0.25 | 0.5 | 0.75 | 1.0 |
|-------------|---------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------|-------------------|
| cond | $2.8 \cdot 10^{10}$ | $6.19 \cdot 10^{10}$ | $8.79 \cdot 10^8$ | $9.06 \cdot 10^8$ | $1.55 \cdot 10^9$ | $9.12 \cdot 10^{10}$ | $3.12 \cdot 10^8$ |

потенциальной энергии электростатического взаимодействия. Для выполнения расчетов были сформированы блочные матрицы потенциальной энергии взаимодействия аминокислотных остатков, которую составили соответствующие матрицы взаимодействия различных комбинаций белков: (H3–H4), (H4–H3) и (H2A–H2B), (H2B–H2A). Результаты выполненных расчетов приведены в табл. 2 и 3.

Примечание: cond — число обусловленности матрицы потенциальной энергии электростатического взаимодействия.

Следует отметить, что результаты ранее выполненных экспериментальных работ [13] показали, что образование димера (H2A–H2B) происходит за счет большого количества контактов между аминокислотными остатками двух гистонов, причем область наименьшего взаимодействия приходится на гибкие концы молекул [13]. В [14] указывается, что взаимодействия димеров (H2A–H2B) и (H3–H4) происходят по большому количеству аминокислотных остатков в центральном участке мономеров H2A и H2B, H3 и H4.

Численные результаты расчетов и анализ матрицы потенциальной энергии электростатического взаимодей-

ствия белков H2A и H2B, H3 и H4 показали, что с увеличением концентрации одновалентной соли в растворе происходит стабилизация димеров (H3–H4) и (H2A–H2B) при их образовании из мономеров H3 и H4, H2A и H2B соответственно.

При более подробном рассмотрении результатов, приведенных в табл. 3, видно, что наблюдается значительное увеличение числа обусловленности для димера (H2A–H2B) при концентрации одновалентной соли 0.75 mol и резкое уменьшение числа обусловленности при следующем значении концентрации 1 mol. Мы предполагаем, что данный эффект связан с изменением структуры молекул мономеров при связывании их в димер, т.е. при вращении звеньев молекул вокруг связи [15,16].

Числа обусловленности матрицы потенциальной энергии электростатического взаимодействия могут периодически изменяться в зависимости от транс-конформации (скрещенная конформация) и цис-конформации (заслоненные конформации, т.е. когда проекции связей на плоскость совпадают). При этом минимуму числа обусловленности потенциальной энергии будут отвечать транс-конформации, а максимум — цис-конформации.

Наша модель дает результат одного из возможных вариантов формирования биологического комплекса димеров из мономеров.

Как мы видим из результатов, приведенных в табл. 3, димер (H2A–H2B) является более устойчивым соединением, чем димер (H3–H4). Данный результат согласуется с ранее выполненной экспериментальной работой [2]. Отметим, что предыдущие исследования показали, что оба гетеродимера (H3–H4) и (H2A–H2B) стабилизируются при увеличении ионной силы раствора [2,14,17,18].

2.2. Образование гистонового тетрамера (H3–H4)₂

Нами было выполнено моделирование образования гистонового тетрамера (H3–H4)₂ в растворах с различной концентрацией одновалентной соли.

Согласно ранее выполненным экспериментальным работам, за взаимодействие двух одинаковых димеров (H3–H4) при образовании тетрамера отвечают несколько аминокислотных остатков гистонов H3 [2]. Нами была составлена блочная матрица потенциальной энергии взаимодействия аминокислотных остатков, которую составили соответствующие матрицы образования различных комбинаций белков: (H3–H3), (H3–H4), (H4–H3), (H4–H4).

Мы проанализировали полученную блочную матрицу потенциальной энергии взаимодействия аминокислотных остатков и выбрали в ней участок с наибольшими значениями потенциальной энергии электростатического взаимодействия, отбросив участки матрицы, в которых значения потенциальной энергии были минимальными. В результате мы получили новую матрицу

Таблица 4. Числа обусловленности матриц потенциальной энергии электростатического взаимодействия для тетрамера (H3–H4)₂.

| n^0, mol | 0.1 | 0.25 | 0.5 | 0.75 | 1.0 |
|-------------------|----------------------|-------------------|----------------------|-------------------|-------------------|
| cond | $6.87 \cdot 10^{11}$ | $7.66 \cdot 10^8$ | $2.84 \cdot 10^{10}$ | $3.68 \cdot 10^9$ | $8.77 \cdot 10^9$ |

Таблица 5. Числа обусловленности матриц потенциальной энергии электростатического взаимодействия для гексамера (H3–H4)₂(H2A–H2B)

| n^0, mol | 1.0 | 1.25 | 1.5 | 1.75 | 2.0 |
|-------------------|-------|-------|-----|------|------|
| cond | 13900 | 11700 | 915 | 611 | 3250 |

потенциальной энергии электростатического взаимодействия при этом в новую матрицу полностью вошли взаимодействия гистонов (H3–H3) и частично (H4–H4). Результаты выполненных расчетов приведены в табл. 4.

Как видно из данных табл. 4, с увеличением ионной силы происходит увеличение силы взаимодействия между димерами (H3–H4) и (H3–H4).

Отметим, что результаты таблиц 2, 3 и 4 свидетельствуют о том, что димеры (H2A–H2B) и (H3–H4) в растворах с ионной силой от 0.1 mol до 1 mol являются более стабильными биологическими комплексами, чем тетрамер (H3–H4)₂ при тех же концентрациях раствора одновалентной соли.

Данный результат согласуется с работой [2], в которой указывается на менее устойчивое объединение двух димеров (H3–H4) в тетрамер, чем связывание мономеров H3, H4 и H2A, H2B в димеры.

2.3. Образование гексамера и октамера

Нами было выполнено моделирование сборки гексамера (H3–H4)₂(H2A–H2B) и октамера (H3–H4)₂(H2A–H2B)₂ при различных концентрациях раствора одновалентной соли. Отметим, что в [3] указывается на многочисленные контакты между гистонами в данных структурах.

Нами была составлена блочная матрица потенциальной энергии взаимодействия аминокислотных остатков, которую составили соответствующие матрицы образования различных комбинаций белков: (H3–H3), (H3–H4), (H4–H4), (H2A–H2B), (H2A–H2A), (H2B–H2B), (H2A–H3), (H2A–H4), (H2B–H3), (H2B–H4). Анализ таких матриц приведен в табл. 5 и 6.

Из данных табл. 5 и 6 видно, что увеличение стабильности биологических комплексов происходит по мере увеличения ионной силы, при этом в растворе с концентрацией 2 mol гексамер может достичь более устойчивого положения при присоединении еще одного

Таблица 6. Числа обусловленности матриц потенциальной энергии электростатического взаимодействия для октамера $(H3-H4)_2(H2A-H2B)_2$

| n^0 , mol | 1.0 | 1.25 | 1.5 | 1.75 | 2.0 |
|-------------|-------|------|-----|------|-----|
| cond | 20400 | 2230 | 634 | 463 | 385 |

димера ($H2A-H2B$) и переходом таким образом в октамер.

Выполненные ранее работы [4,19] так же отмечают стабильность гексамера и октамера при высоких значениях ионной силы и последующей диссоциацией комплексов до тетрамеров $(H3-H4)_2$ и димеров ($H2A-H2B$) при уменьшении ионной силы раствора.

Заключение

Математическое моделирование, выполненное в настоящей работе на биологических объектах с использованием гистоновых белков $H2A$, $H2B$, $H3$ и $H4$, продемонстрировало возможность прогнозирования устойчивости биологического комплекса для случая *in vitro* в растворах с различной ионной силой.

Анализ выполненных расчетов показал, что формированию более устойчивых биологических комплексов отвечают различные концентрации одновалентной соли растворов.

Введенный нами критерий (число обусловленности) позволяет прогнозировать уменьшение и увеличение силы связывания гистоновых белков при образовании гистонового октамера на всех стадиях образования комплекса с учетом экранирования заряда заряженных аминокислотных остатков белков.

Так, при образовании димеров $(H3-H4)$ из мономеров, увеличение концентрации одновалентной соли от 0.01 до 1 mol приводит к образованию более стабильного комплекса.

При образовании димера ($H2A-H2B$), как мы видим из табл. 2 и 3, увеличение концентрации одновалентной соли также приводит к увеличению стабилизации комплекса, за исключением результата, полученного нами для концентрации 0.75 mol.

Данное увеличение числа обусловленности мы объясняем тем, что наша модель не учитывала конформации гистонов при образовании биологических комплексов, когда могут осуществляться как цис-конформации, так и транс-конформации. Анализ формирования тетрамера $(H3-H4)_2$ указывает на увеличение стабилизации биологического комплекса при увеличении ионной силы раствора с 0.1 до 1.0 mol, а также на то, что тетрамерный комплекс гораздо менее стабилен, чем димеры $(H3-H4)$ и ($H2A-H2B$), поскольку осуществление связывания димеров $(H3-H4)$ в тетрамер осуществляется за счет

небольшого количества взаимодействующих аминокислот между одинаковыми белками $H3$ в отличие от механизма формирования димеров ($H2A-H2B$) и $(H3-H4)$, у которых связывание мономеров в димеров осуществляется за счет большого количества аминокислотных остатков центральных участков молекулы.

Данные результаты хорошо согласуются с ранее выполненными экспериментальными работами [2,14,18]. Моделирование формирования гексамера и октамера мы проводили с учетом концентрации растворов одновалентной соли в пределах от 1.0 до 2.0 mol.

Полученные результаты демонстрируют увеличение стабилизации комплекса октамера при концентрации одновалентной соли до 2.0 mol. При этом увеличение стабилизации гексамера происходит от величины концентрации одновалентной соли 1.0 до 1.75 mol, в пределах выполненных нами расчетов. При концентрации 2.0 mol, как вы видим из табл. 5, устойчивость комплекса гексамера несколько снижается. При присоединении к данному комплексу четвертого димера ($H2A-H2B$) гексамер переходит в более устойчивое состояние октамера с восемью гистоновыми белками, что также согласуется с работами [4,19], где экспериментально исследовался вопрос, связанный с увеличением стабильности комплексов гексамера и октамера в растворах с большой ионной силой.

Список литературы

- [1] *Iwasaki W., Miya Y., Horikoshi N., Osakabe A., Taguchi H., Tachiwana H., Shibata T., Kagawa W., Kurumizaka H.* // FEBS Open Bio. 2013 Vol. 3. P. 363–369.
- [2] *Banks D.D., Gloss L.M.* // Biochemistry. 2003. Vol. 42. N 22. P. 6827–6839.
- [3] *Marico-Ramirez L., Kann M.G., Shoemaker B.A., Landsman D.* // Expert Rev. Proteomics. 2005. Vol. 2. N 5. P. 719–729.
- [4] *Dias R., Lindman B.* DNA Interactions with Polymers and Surfactants. John Wiley & Sons, Inc. 2008.
- [5] *Духин С.С.* Диэлектрические явления и двойной слой в дисперсных системах и полиэлектролитах. Киев: Наукова думка, 1972.
- [6] *Keith B. Oldham* // J. Electroanal. Chem. 2008. Vol. 613. P. 131–138.
- [7] *Masliyah J.H., Bhattacharjee S.* Electrokinetic and Colloid Transport Phenomena. John Wiley & Sons, Inc. 2006.
- [8] *Fenley A.T., Adams D.A., Onufriev A.V.* // Biophys. J. 2010. Vol. 99. P. 1577–1585.
- [9] *Куликов К.Г., Кошлан Т.В.* // ЖТФ. 2016. Т. 86. Вып. 10. С. 131–138.
- [10] *Саранин В.А.* // УФН. 1999. Т. 169. № 4. С. 453–458.
- [11] *Саранин В.А.* // УФН. 2002. Т. 172. № 12. С. 1449–1454.
- [12] *Смайт В.* Электростатика и электродинамика. М.: ИЛ, 1954.
- [13] *Moriwaki Y., Yamane T., Ohtomo H., Ikeguchi M., Kurita J., Sato M., Nagadoi A., Shimojo H., Nishimura Y.* // Scientific Reports. 2016. Vol. 6. N 24999. P. 1–11.
- [14] *Karantza V., Freire E., Moudrianakis E.N.* // Biochemistry. 2001. Vol. 40. N 43. P. 13114–13123.

- [15] *Волькенштейн В.М.* Молекулы и жизнь. М.: Наука, 1965.
- [16] *Семчиков Ю.Д.* Высокомолекулярные соединения. М.: Академия, 2010.
- [17] *Khrapunov S.N., Dragan A.I., Protas A.F., Berdyshev G.D.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1984. Vol. 787. N 1. P. 97–104.
- [18] *Karantza V., Freire E., Moudrianakis E.N.* // *Biochemistry.* 1996. Vol. 35. N 6. P. 2037–2046.
- [19] *Eickbush T.H., Moudrianakis E.N.* // *Biochemistry.* 1978. Vol. 17. N 23. P. 4955–4964.