

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 577.21

ОБРАТИМОСТЬ ИНДУЦИРОВАННЫХ ИОННОЙ СИЛОЙ СТРУКТУРНЫХ ПЕРЕ-
СТРОЕК В МОНОНУКЛЕОСОМАХА.В. Феофанов^{1,2,*}, Т.В. Андреева¹, В.М. Студитский^{1,3}, М.П. Кирпичников^{1,2}¹Кафедра биоинженерии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;²Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, РАН, Россия, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10;³Fox Chase Cancer Center, Cottman Avenue 333, Philadelphia, 19111 Pennsylvania, USA

*e-mail: avfeofanov@yandex.ru

Методом флуоресцентной микроскопии одиночных частиц с регистрацией фёрстеровского резонансного переноса энергии исследованы структурные перестройки, происходящие под действием высокой ионной силы в нуклеосомах на основе ДНК-матрицы 603. Установлено, что в диапазоне концентраций KCl 0,7–1,3 М в нуклеосомах происходят масштабные изменения структуры, сопровождающиеся образованием по меньшей мере двух состояний, отличающихся степенью отворачивания ДНК от октамера гистонов, и затрагивающие от 13 до 35 и более пар нуклеотидов. Доля нуклеосом с измененной структурой варьирует от 60% при 0,7 М KCl до 100% при 1,3 М KCl. Сохранение ассоциации между коровыми гистонами и ДНК в новых конформационных состояниях обеспечивает обратимость структурных изменений при снижении концентрации KCl до физиологического уровня. Обратимость достигает ~100% при переходе от 0,7 М к 0,15 М KCl и снижается до ~50% при переходе от 1,3 М к 0,15 М KCl.

Ключевые слова: хроматин, нуклеосома, ионная сила, флуоресценция, микроскопия, одиночная молекула

Нуклеосомы являются важным структурным элементом хранения генетической информации в составе хроматина. ДНК в нуклеосомах намотана на октамер коровых гистонов, а считывание с нее информации требует перестройки нуклеосом (как правило, обратимой), облегчающей доступ к ДНК различным ферментам, таким как, например, РНК- и ДНК-полимеразы. Изучение факторов, вызывающих контролируемые изменения в структуре нуклеосом, и условий обратимости этих изменений, является важным для прояснения механизмов функционирования генома и развития биоинженерных систем, воспроизводящих и использующих элементы машинерии клеточного ядра.

Ионная сила раствора является одним из таких факторов, который, например, используется при сборке в растворе мононуклеосом заданной структуры из коровых гистонов и ДНК-матриц (таких как матрицы 601 и 603 [1, 2]) с короткими (147 п.н.) нуклеосом-позиционирующими последовательностями [3–6]. Ионы в растворе участвуют как в стабилизации комплексов поликатионных гистонов в коровой области нуклеосомы и снижении электростатического отталкивания соседних витков полианионной ДНК, так и в регуляции ДНК-гистоновых взаимодействий в нуклеосоме [4, 5]. Если в состав нуклеосомы ввести две флуоресцентные метки, образующие донор-акцепторную пару, то для изучения деталей ДНК-гистоновых взаимодействий можно использовать метод флуоресцентной микро-

скопии одиночных частиц на основе фёрстеровского резонансного переноса энергии (single particle Förster Resonance Energy Transfer microscopy, далее spFRET-микроскопия), который позволяет обнаруживать и характеризовать отличающиеся по структуре субпопуляции нуклеосом, одновременно присутствующие в растворе [4–9].

При исследовании методом spFRET-микроскопии влияния концентрации NaCl на структуру мононуклеосом, собранных с использованием ДНК-матрицы 601 (нуклеосомы-601), обнаружена дестабилизация их структуры при физиологических концентрациях соли (0,15–0,3 М) [5, 7]. Дестабилизация нуклеосом-601 не наблюдается при меньших (0–0,1 М) и больших (0,4–0,65 М) концентрациях NaCl. Предполагается, что эта дестабилизация связана с частичным отворачиванием ДНК от октамера гистонов или со сдвигом ДНК относительно октамера гистонов. Увеличение концентрации NaCl от 0,7 до 1,2 М, как показано, вызывает масштабные структурные изменения в нуклеосоме-601 с образованием нескольких конформационных состояний [4, 5, 7]. Структурные изменения могут сопровождаться частичной потерей контактов между димерами H2A-H2B и тетрамером (H3-H4)₂ при сохранении ассоциации гистонов с раскрученной ДНК [4]. Однако после 0,5 М [10] или 0,6 М [4] NaCl начинается диссоциация димера H2A-H2B, которая завершается при 1 М NaCl [4]. При 1,1 М NaCl наблюдается диссоциация гистона H4 [4]. Для ну-

клеосом-601 установлено, что структурные изменения, вызываемые 1 М NaCl, являются лишь частично обратимыми при снижении ионной силы [11].

ДНК-матрица 603 является альтернативой матрице 601 и широко используется в биоинженерных моноклеосомных системах для изучения процессов транскрипции и взаимодействия с различными ядерными белковыми факторами в солевых буферах на основе KCl [2, 6, 8, 9, 12, 13]. Структурные перестройки, происходящие в нуклеосомах на основе матрицы 603 (нуклеосомах-603) под действием повышенной ионной силы, и их обратимость не исследовались и требуют изучения. Кроме того, ранее было показано, что ионы калия отличаются от ионов натрия по взаимодействию с нуклеосомами – в том числе, по влиянию на конформацию линкерных участков ДНК в нуклеосомах-603 [14].

В настоящей работе описаны особенности структурных изменений в нуклеосомах-603, обнаруженные методом spFRET-микроскопии в диапазоне концентраций KCl 0,7–1,3 М, а также результаты анализа обратимости этих изменений.

Материалы и методы

Для получения нуклеосом использовали два типа флуоресцентно-меченых ДНК-матриц, включавших в себя нуклеосом-позиционируемую последовательность 603 длиной 147 п.н. и свободный от гистонов участок ДНК длиной 20 п.н., а также отличавшихся положением флуоресцентных меток. В матрице для сборки нуклеосом N(13,91) метки Cy3 и Cy5 были введены соответственно в положения 13 и 91 п.н. от начала позиционирующей последовательности 603; в матрице для сборки нуклеосом N(35,112) они находились в положениях 35 и 112 п.н. от начала последовательности 603.

Матрицы получали при помощи полимеразной цепной реакции с использованием флуоресцентно-меченых праймеров, описанных в предыдущей работе [15]. Выделение и очистку ДНК-матриц проводили, как описано ранее [6, 9]. Концентрацию ДНК определяли методом спектрофотометрии. Источником коровых гистонов служил хроматин без гистона H1, выделенный из эритроцитов цыплят [3]. Сборку нуклеосом-603 на ДНК-матрице выполняли по ранее описанному протоколу [3] в процессе диализа против уменьшающейся концентрации NaCl.

Для измерений методом spFRET-микроскопии нуклеосомы разбавляли в 50–100 раз до концентрации ~1 нМ в буфере 10 мМ Tris-HCl (pH = 8,0), 0,5 мМ ЭДТА, 2 мМ β-меркаптоэтанола с концентрацией KCl 0,15, 0,7, 1,0 или 1,3 М. При изучении обратимости структурных изменений нуклеосомы N(13,91) сначала инкубировали в буфере с 0,7, 1,0 или 1,3 М KCl в течение 10 мин при концентрации 10 нМ, а затем разбавляли до 1 нМ в буфере с той же концентрацией KCl или с конечной концентрацией KCl 0,15 М.

Образец нуклеосом помещали для анализа в лунку 12-луночной силиконовой камеры flexiPERM

(Greiner Bio-One, Германия), закрепленной на покровном стекле. Для измерений использовали лазерный сканирующий конфокальный микроскоп LSM710-Confocor3 (Carl Zeiss, Германия) с водонепроницаемым объективом C-Apochromat (40×, числовая апертура 1,2). Детали методики измерений описаны ранее [6]. Флуоресценцию возбуждали излучением Ag⁺-лазера (мощность 0,2 мкВт) с длиной волны 514,5 нм и регистрировали в областях 530–635 нм (Cy3) и 635–800 нм (Cy5) лавинными фотодиодами. Диаметр конфокальной диафрагмы соответствовал 1 диску Эйри.

Для каждого образца интенсивность флуоресценции от одиночных нуклеосом, свободно диффундирующих через фокус лазерного луча, измеряли в течение 10 мин с константой интегрирования 3 мс. Измеренные показатели интенсивности флуоресценции Cy3 и Cy5 в составе одиночных нуклеосом пересчитывали после коррекции на величину фона в коэффициент близости (K) согласно уравнению [6, 9]:

$$K = (I_5 - 0,19 \times I_3) / (I_5 + 0,81 \times I_3),$$

где I_3 и I_5 – это интенсивности сигналов Cy3 и Cy5, а коэффициенты 0,19 и 0,81 обеспечивают учет частичного перекрытия спектров флуоресценции Cy3 и Cy5 в области 635–800 нм. Коэффициент близости K является аналогом эффективности FRET, но не равен ей, так как расчет K не учитывает поправки на квантовые выходы флуорофоров и отличия в чувствительности прибора в двух измеряемых спектральных диапазонах.

Расчитанную для измеренных одиночных нуклеосом выборку значений K представляли в виде гистограммы относительной частоты распределения величины K и описывали в виде суперпозиции полос Гауссовой формы, соответствующих различным конформационным состояниям нуклеосом. Для нуклеосом N(13,91) гистограммы представляли в виде суперпозиции двух полос (состояний) с максимумами 0,02 и 0,6 (при 0,15 М KCl). При 0,7, 1 и 1,3 М KCl в разложение вводили третью полосу с максимумом 0,5. Аналогично для нуклеосом N(35,112) гистограммы представляли в виде суперпозиции двух полос с максимумами 0,02 и 0,61 (при 0,15 и 0,7 М KCl), а при 1 и 1,3 М KCl в разложение вводили третью полосу с максимумом 0,42. Доли нуклеосом в различных конформационных состояниях рассчитывали как отношение площадей под соответствующими гауссовыми полосами к общей площади под K-гистограммой (в процентах). Результаты получены в трех независимых экспериментах с размером выборки не менее 8000 нуклеосом.

Результаты и обсуждение

Исследование влияния ионной силы на структуру моноклеосом проводили методом spFRET-микроскопии с использованием нуклеосом N(13,91)

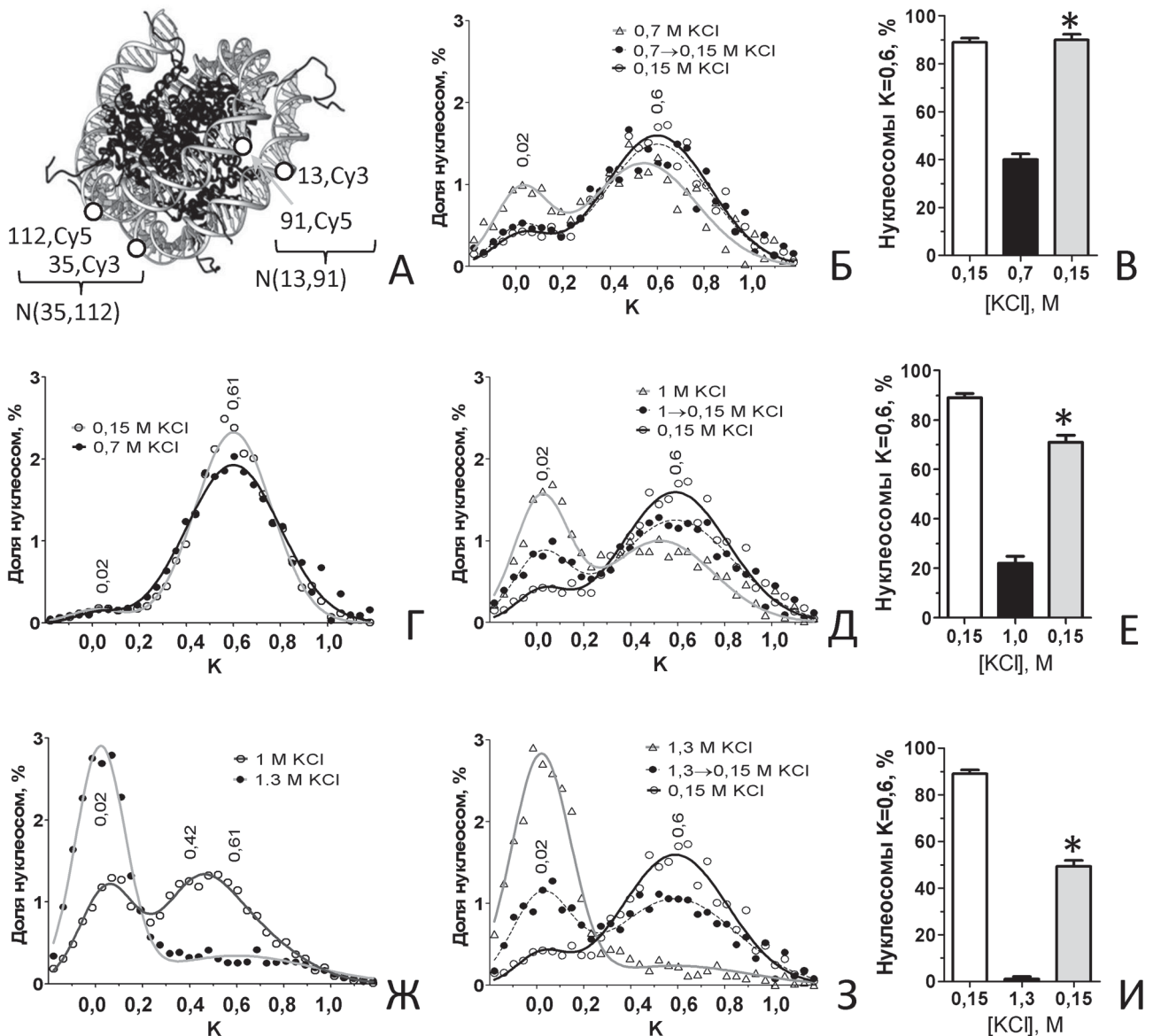


Рисунок. Анализ изменений структуры мононуклеосом при различных концентрациях KCl по данным spFRET-микроскопии. (А) Структура коровой части нуклеосомы (pdb 1EQZ) и схема расположения меток Су3 и Су5 в мононуклеосомах N(13,91), у которых метки находятся в положениях 13 и 91 п.н. от начала нуклеосом-позиционирующей ДНК-матрицы 603 и в мононуклеосомах N(35,112) с метками в положениях 35 и 112 п.н. от начала нуклеосом-позиционирующей ДНК-матрицы 603. Октамер гистонов показан черным цветом. Б, Г, Д, Ж, З – Гистограммы относительной частоты распределения величины К для нуклеосом N(35,112) (Г, Ж) и нуклеосом N(13,91) (Б, Д, З) при различной концентрации KCl в буфере или после снижения концентрации KCl (0,7→0,15 М KCl, 1→0,15 М KCl, 1,3→0,15 М KCl) в экспериментах по обратимости структурных изменений (Б, Д, З). Символами обозначены рассчитанные по экспериментальным данным значения К. Линии – результат представления распределений величины К в виде суммы гауссовых полос, положения максимумов которых указаны над графиками. В, Е, И – доли нуклеосом N(13,91) с интактной структурой (субпопуляции с К=0,6) при 0,15 М KCl, при повышенной концентрации KCl и после ее снижения до 0,15 М в экспериментах по обратимости структурных изменений (*)

и N(35,112), отличающихся по положению донор-акцепторной пары флуоресцентных меток в кор-нуклеосоме (рисунок, А). В нуклеосомах N(13,91) расположение меток позволяет по изменению величины К обнаруживать структурные перестройки вблизи входа ДНК в нуклеосому. В нуклеосомах N(35,112) расположение меток обеспечивает регистрацию изменений в укладке ДНК в центральной части нуклеосомы.

Согласно данным spFRET-микроскопии нуклеосомы N(13,91) при физиологической концентрации KCl (0,15 М) представлены в растворе двумя

субпопуляциями: минорной (14±3%) с максимумом нормального распределения К=0,02 и основной (86±2%) с максимумом распределения К=0,6 (рисунок, Б). У нуклеосом N(35, 112) при 0,15 М KCl также обнаружено две субпопуляции: минорная (5±1%) с К=0,02 и основная (95±2%) с К=0,61 (рисунок, Г). В обоих случаях субпопуляция с К≈0,6 – это интактные нуклеосомы с плотной укладкой нуклеосомной ДНК на октамере гистонов [8]. Субпопуляция с К=0,02 – это нуклеосомы с нарушенной укладкой ДНК, возникающей, по-видимому, из-за потери гистонов в разбавленных

растворах, а в случае N(13,91) – еще и вследствие так называемого “дыхания нуклеосом”, то есть временного спонтанного отворачивания небольшого участка ДНК от октамера гистонов в области входа ДНК в нуклеосому [8].

Проведенные методом *sp*FRET-микроскопии исследования показали, что значительные изменения в структуре нуклеосом происходят при концентрации KCl больше 0,7 М. При 0,7 М KCl эти изменения регистрируются для нуклеосом N(13,91) как снижение субпопуляции частиц с $K=0,6$ до $40\pm 3\%$, возрастание субпопуляции с $K=0,02$ до $27\pm 2\%$ и появление новой субпопуляции нуклеосом с $K=0,5$, доля которой составляет $33\pm 3\%$ (рисунок, Б). При 0,7 М KCl структурные перестройки практически не распространяются на центральную область нуклеосом, где расположены метки в нуклеосомах N(35, 112) (рисунок, Г). Таким образом, изменения в укладке ДНК происходят вблизи входа ДНК в нуклеосому и затрагивают не менее 13, но меньше 35 п.н. в коровой области. При образовании субпопуляции нуклеосом с $K=0,5$ происходит изменение укладки нуклеосомной ДНК, при котором расстояние между метками в положениях 13 и 91 п.н. возрастает согласно теории Фёрстера менее чем на 1 нм. Возрастание заселенности состояния с $K=0,02$ у N(13,91) свидетельствует об увеличении доли частиц, в которых ДНК значительно отвернута от октамера гистонов вблизи входа в нуклеосому. Структурные перестройки, обнаруженные в N(13,91) при 0,7 М KCl, практически полностью обратимы, если вновь снизить концентрацию соли до 0,15 М (рисунок, В). Можно заключить, что изменения структуры нуклеосом при 0,7 М KCl не сопровождаются диссоциацией коровых гистонов даже в состоянии с $K=0,02$, что обеспечивает обратимость наблюдаемых конформационных переходов.

При увеличении концентрации KCl до 1 и 1,3 М перестройки в структуре нуклеосом значительно усиливаются и распространяются на участок нуклеосомной ДНК длиной не менее 35 п.н., на что указывают изменения в K -распределениях нуклеосом N(13,91) и N(35, 112) (рисунок, Ж, Д, З).

При 1 М KCl появляются значительные субпопуляции нуклеосом N(35, 112) в состояниях с $K=0,42$ и $K=0,05$ ($36\pm 3\%$ и $31\pm 4\%$ соответственно), и лишь $33\pm 3\%$ нуклеосом сохраняют исходную структуру в области положения меток (состояние с $K=0,61$). Еще меньшая доля частиц N(13,91) сохраняет исходную структуру в области входа ДНК в нуклеосому (состояние с $K=0,6$, $22\pm 4\%$), а доли частиц со значительно ($K=0,02$) и

умеренно ($K=0,5$) измененной укладкой ДНК достигают соответственно 43 ± 4 и $35\pm 3\%$. Структурные перестройки, наблюдаемые в N(13,91) при 1 М KCl, в значительной степени обратимы. При снижении концентрации соли до 0,15 М $71\pm 5\%$ нуклеосом восстанавливают исходную структуру с максимумом распределения $K=0,6$ (рисунок, Е).

При 1,3 М KCl в большинстве нуклеосом укладка ДНК значительно нарушена, и это нарушение затрагивает не менее 35 п.н. в коровой области. Доли нуклеосом N(35, 112) в состояниях $K=0,61$, $K=0,42$ и $K=0,02$ составляют соответственно $15\pm 5\%$, $14\pm 4\%$ и $71\pm 4\%$, а дисперсия распределений в состояниях $K=0,42$ и $K=0,6$ значительно возрастает. Нуклеосом N(13,91) с интактной структурой не остается, и в растворе доминирует ($81\pm 4\%$) субпопуляция с $K=0,02$. Несмотря на столь масштабное изменение в укладке ДНК, $49\pm 4\%$ нуклеосом все еще способны восстановить исходную структуру с максимумом распределения $K=0,6$ после снижения концентрации соли до 0,15 М (рисунок, И). Обратимость структурных изменений указывает на то, что в состоянии с $K=0,02$ отворачивание ДНК от октамера гистонов у половины нуклеосом происходит с сохранением ассоциации между коровыми гистонами и ДНК. Как показано для нуклеосом-601 [4], такое возможно, если ДНК разворачивается вместе с гистонами H2A-H2V, у которых при этом нарушается часть взаимодействий с тетрамером (H3-H4)₂. Потеря способности к восстановлению интактной структуры у части нуклеосом может быть связана с диссоциацией гистонов H2A-H2V и H4 [4, 10]. Эта диссоциация практически необратима при низких концентрациях нуклеосом. Для нуклеосом-601 диссоциация димера H2A-H2V начинается при 0,5–0,6 М и завершается при 1 М NaCl [4, 10]. По результатам анализа обратимости структурных изменений (рисунок, В, Е, И) можно заключить, что нуклеосомы-603 обладают повышенной способностью сохранять ассоциацию между ДНК и гистонами в аналогичном диапазоне концентраций KCl.

Таким образом, высокая ионная сила является еще одним фактором в дополнение к белковому комплексу FACT (от английского *FA*cilitates *Ch*romatin *T*ranscription), обеспечивающим АТФ-независимую обратимую перестройку структуры нуклеосом-603, сопровождающуюся масштабным отворачиванием нуклеосомной ДНК от октамера гистонов [8].

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-24-00031, соглашение № 14-24-00031-П).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Thastrom A., Lowary P.T., Widlund H.R., Cao H., Kubista M., Widom J.* Sequence motifs and free energies of selected natural and non-natural nucleosome positioning DNA sequences // *J. Mol. Biol.* 1999. Vol. 288. N 2. P. 213–229.

2. *Bondarenko V.A., Steele L.M., Ujvari A., Gaykalova D.A., Kulaeva O.I., Polikanov Y.S., Luse D.S., Studitsky V.M.* Nucleosomes can form a polar barrier to transcript elongation by RNA polymerase II // *Mol. Cell.* 2006. Vol. 24. N 3. P. 469–479.

3. Gaykalova D.A., Kulaeva O.I., Bondarenko V.A., Studitsky V.M. Preparation and analysis of uniquely positioned mononucleosomes // *Chromatin Protocols. Methods Mol. Biol.* Vol. 523 / Ed. S.P. Chellappan. Humana Press, 2009. P. 109–123.
4. Böhm V., Hieb A.R., Andrews A.J., Gansen A., Rocker A., Tóth K., Luger K., Langowski J. Nucleosome accessibility governed by the dimer/tetramer interface // *Nucleic Acids Res.* 2011. Vol. 39. N 1. P. 3093–3102.
5. Hazan N.P., Tomov T.E., Tsukanov R., Liber M., Berger Y., Masoud R., Toth K., Langowski J., Nir E. Nucleosome core particle disassembly and assembly kinetics studied using single-molecule fluorescence // *Biophys. J.* 2015. Vol. 109. N 8. P. 1676–1685.
6. Kudryashova K.S., Chertkov O.V., Nikitin D.V., Pestov N.A., Kulaeva O.I., Efremenko A.V., Solonin A.S., Kirpichnikov M.P., Studitsky V.M., Feofanov A.V. Preparation of mononucleosomal templates for analysis of transcription with RNA polymerase using spFRET // *Methods in Molecular Biology. Vol. 1288. Chromatin Protocols / Ed. S.P. Chellappan. Humana Press, 2015. P. 395–412.*
7. Gansen A., Hieb A.R., Böhm V., Tóth K., Langowski J. Closing the gap between single molecule and bulk FRET analysis of nucleosomes // *PLoS One.* 2013. Vol. 8. N 4. e57018.
8. Valieva M.E., Armeev G.A., Kudryashova K.S., Gerasimova N.S., Shaytan A.K., Kulaeva O.I., McCullough L.L., Formosa T., Georgiev P.G., Kirpichnikov M.P., Studitsky V.M., Feofanov A.V. Large-scale ATP-independent nucleosome unfolding by a histone chaperone // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2016. Vol. 23. N 12. P. 1111–1116.
9. Kudryashova K.S., Nikitin D.V., Chertkov O.V., Gerasimova N.S., Valieva M.E., Studitsky V.M., Feofanov A.V. Development of fluorescently labeled mononucleosomes for the investigation of transcription mechanisms by single complex microscopy // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2015. Vol. 70. N 4. P. 189–193.
10. Chen Y., Tokuda J.M., Topping T., Meisburger S.P., Pabit S.A., Gloss L.M., Pollack L. Asymmetric unwrapping of nucleosomal DNA propagates asymmetric opening and dissociation of the histone core // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2017. Vol. 114. N 2. P. 334–339.
11. Ngo T.T.M., Ha T. Nucleosomes undergo slow spontaneous gaping // *Nucleic Acids Res.* 2015. Vol. 43. N 8. P. 3964–3971.
12. Chang H.W., Kulaeva O.I., Shaytan A.K., Kibanov M., Kuznedelov K., Severinov K.V., Kirpichnikov M.P., Clark D.J., Studitsky V.M. Analysis of the mechanism of nucleosome survival during transcription // *Nucleic Acids Res.* 2014. Vol. 42. N 3. P. 1619–1627.
13. Gaykalova D.A., Kulaeva O.I., Pestov N.A., Hsieh F.K., Studitsky V.M. Experimental analysis of the mechanism of chromatin remodeling by RNA polymerase II // *Methods Enzymol.* 2012. Vol. 512. P. 293–314.
14. Lyubitelev A.V., Studitsky V.M., Feofanov A.V., Kirpichnikov M.P. Effect of sodium and potassium ions on conformation of linker parts of nucleosomes // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2017. Vol. 72. N 3. P. 146–150.
15. Chertkov O.V., Valieva M.E., Malyuchenko N.V., Feofanov A.V. Analysis of nucleosome structure in polyacrylamide gel by the Förster resonance energy transfer method // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2017. Vol. 72. N 4. P. 196–200.

Поступила в редакцию

15.05.2018 г.

Принята к печати

18.06.2018 г.

MOLECULAR BIOLOGY

REVERSIBILITY OF STRUCTURAL REARRANGEMENTS IN MONONUCLEOSOMES INDUCED BY IONIC STRENGTH

A.V. Feofanov^{1,3,*}, T.V. Andreeva¹, V.M. Studitsky^{1,3}, M.P. Kirpichnikov^{1,2}

¹Bioengineering Department, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;

²Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, 117997, Moscow, Russia;

³Fox Chase Cancer Center, Cottman Avenue 333, Philadelphia, 19111 Pennsylvania, USA

*e-mail: avfeofanov@yandex.ru

Using fluorescence microscopy of single particles with Förster resonance energy transfer recording, the structural rearrangements were studied that occurred in nucleosomes formed on the 603 DNA template at a high ionic strength. It is found that within the range of 0.7–1.3 M KCl, large-scale changes occur in the nucleosome structure that are accompanied by the formation of at least two states differing in the degree of DNA unwrapping from the histone octamer and affecting from 13 to 35 and more pairs of nucleotides. A fraction of nucleosomes with modified structure varies from 60% at 0.7 M KCl to 100% at 1.3 M KCl. Preservation of the association between core histones and DNA in the new conformational states ensures reversibility of structural changes when KCl concentration is reduced to a physiological level. Reversibility is ~100% after the transition from 0.7 M to 0.15 M KCl and decreases to ~50% after the transition from 1.3 M to 0.15 M KCl.

Keywords: chromatin, nucleosome, ionic strength, fluorescence, microscopy, single molecule

Сведения об авторах

Феофанов Алексей Валерьевич – докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ, руководитель лаборатории оптической микроскопии и спектроскопии биомолекул ИБХ РАН. Тел. 8-495-938-22-91; e-mail: avfeofanov@yandex.ru

Андреева Татьяна Викторовна – студентка кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел. 8-495-938-22-91; e-mail: tanyafromtver@yandex.ru

Студитский Василий Михайлович – докт. биол. наук, гл. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел. 8-495-938-22-91; e-mail: vasily.studitsky@fcc.edu

Кирпичников Михаил Петрович – акад. РАН, проф., докт. биол. наук, зав. кафедрой биоинженерии биологического факультета МГУ, зав. отделом биоинженерии ИБХ РАН. Тел.: 8-495-939-27-76; e-mail: kirpichnikov@inbox.ru