

**Исследование факторов, влияющих на укладку нуклеосомной ДНК, методом флуоресцентной микроскопии одиночных частиц**

**Андреева Татьяна Викторовна**

*Аспирант*

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

*E-mail: andreeva.tatyana.2014@post.bio.msu.ru*

Мононуклеосомы, собранные на октамере гистонов с использованием ДНК-матриц, имеющих нуклеосом-позиционирующую последовательность, широко применяются в молекулярно-биологических исследованиях. Строение таких нуклеосом может отличаться отсутствием или наличием линкерных участков ДНК различной длины. Влияние наличия и длины линкерной ДНК на конформацию нуклеосомной ДНК требует детального исследования и учета в проводимых исследованиях. Дополнительными факторами, влияющие на структуру нуклеосом необходимо исследовать, являются величина ионной силы и присутствие в растворе двухвалентных катионов. В настоящей работе докладываются результаты изучения методом флуоресцентной микроскопии одиночных частиц влияния линкерной ДНК, ионной силы и ионов магния на структуру мононуклеосом [1].

В работе исследованы два типа нуклеосом с флуоресцентно-меченой ДНК-матрицей: без линкеров (CN), и с двумя линкерами по 20 п.н. каждый (2LN). В обоих типах нуклеосом метки Су3 и Су5, образующие донор-акцепторную пару, располагались соответственно в положениях 13 и 91 п.н. от начала нуклеосом-позиционирующей последовательности 603. Исследования проводили методом флуоресцентной микроскопии одиночных частиц на основе Фёрстеровского резонансного переноса энергии (FRET) в буфере 20 мМ Tris-HCl (pH = 8,0), 0,15 М KCl, 1 мМ β-меркаптоэтанола с добавлением 5 мМ MgCl<sub>2</sub> или без него. В экспериментах по влиянию ионной силы увеличивали концентрацию KCl до 0,5 или 0,7 М. Для каждой отдельной нуклеосомы в составе измеренной выборки была рассчитана эффективность FRET (*K*), и построены частотные распределения нуклеосом по величине *K*. Эти распределения были описаны, как суперпозиции трех полос Гауссовой формы, соответствующих трем субпопуляциям нуклеосом, отличающимся по величине *K*.

Установлено, что оба типа нуклеосом представлены в растворе тремя субпопуляциями, отличающимися по конформации нуклеосомной ДНК. Для CN и 2LN показано, что их *K*-профили незначительно меняются в присутствии и отсутствии ионов магния. Сравнение *K*-профилей показало, что CN и 2LN отличаются распределением нуклеосом по субпопуляциям в области высоких значений *K*. При увеличении концентрации KCl до 0,5 М структурные изменения, происходящие в CN и 2LN, отличаются, а при 0,7 М KCl характер изменений в CN и 2LN становится сходным.

Установлено, что, несмотря на сходство конформаций CN и 2LN, действие одних и тех же факторов приводит к различным эффектам на разных типах нуклеосом, что следует учитывать при планировании и постановке экспериментов *in vitro*.

**Источники и литература**

- 1) Андреева Т. В., Любителев А.В., Малюченко Н.В., Студитский В.М., Кирпичников М.П., Феофанов А. В. Влияние линкерной ДНК на структуру нуклеосом по данным флуоресцентной микроскопии одиночных частиц // ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 16. БИОЛОГИЯ. 2021. Т. 76. № 3. С. 142–147.