ISSN 0233-7657. Biopolymers and Cell. 2010. Vol. 26. N 5

REVIEWS

Конформационная подвижность нуклеосом в экспериментах с индивидуальными хроматиновыми фибриллами

А. В. Сиволоб

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
Ул. Владимирская, 64, Киев, Украина, 01033

sivolob@univ.kiev.ua

Исследование нуклеосомной организации хроматина приобретаетет все большее значение для понимания механизмов регуляции генетической активности. В настоящем обзоре описаны результаты изучения конформационной подвижности нуклеосом, полученные в экспериментах с магнитным пинцетом – устройством, при помощи которого можно сообщать торсионные деформации олигонуклеосомным фибриллам, реконструированным на индивидуальных молекулах ДНК. Такой подход позволяет обнаружить новую структурную форму нуклеосомы – реверсому, в которой ДНК образует правую суперспираль на поверхности перестроенного октамера гистонов. Обсуждаются молекулярные механизмы и биологическую важность структурной подвижности нуклеосом.

Ключевые слова: нуклеосома, сверхспирализация ДНК, хроматиновая фибрилла, конформационная подвижность.

Введение. На первом уровне своей организации хроматин представляет собой цепочку нуклеосом – частиц, состоящих из октамера гистонов Н3, Н4, Н2А и Н2В (по две молекулы каждого типа) и ДНК длиной ~145 п. н., образующей на поверхности октамера ~1,7 витка левой суперспирали (рис. 1) [1–4]. Структура нуклеосомы характеризуется симметрией второго порядка, ось симметрии проходит через интерфейс между двумя молекулами гистона Н3 и центральную пару оснований нуклеосомной ДНК. Гистоновый октамер состоит из трех структурных элементов – тетрамера $(H3–H4)_2$ и двух димеров Н2А–Н2В. Тетрамер $(H3–H4)_2$ организует центральные ~0,7 витка суперспирали нуклеосомной ДНК, два димера Н2А-Н2В обеспечивают дополнительную укладку ДНК в нуклеосоме, увеличивая количество витков суперспирали до ~1,45 (~125 п. н.). Взаимодействие концевых сегментов нуклеосомной ДНК с N-концевыми α-спиралями гистонов Н3 (так называемые αN-спирали, рис. 1) «завершает» закрутку ДНК вокруг октамера гистонов. Комплекс ДНК с тетрамером – тетрасома (рис. 2), а также промежуточный комплекс – гексасома, содержащая только один димер Н2А–Н2В, возникают в хроматине вследствие временного удаления димеров Н2А–Н2В в процессе АТР-зависимого ремоделирования хроматина [5] или элонгации транскрипции [6–9].

Структурная динамика хроматина является ключевым элементом системы регуляции транскрипционной активности, определяющим изменения доступности регуляторных *цис*-элементов для

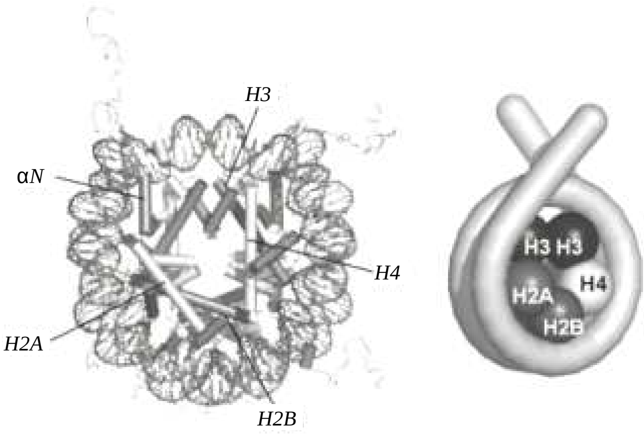

Рис. 1. Структура нуклеосомы (код PDB 1KX5, справа – схематическое изображение). Обозначены молекулы гистонов и αN-спираль гистона H3

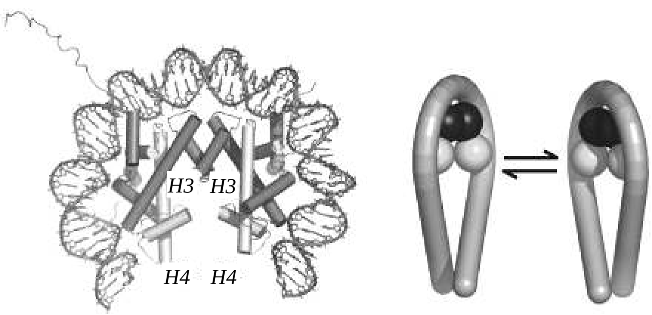

Рис. 2. Тетрасома – тетрамер гистонов H3 и H4 в составе нуклеосомы (со структуры на рис. 1). Справа – схема структурного перехода в тетрасоме с изменением ее хиральности

транскрипционных факторов. Главными механизмами реализации такой динамики являются: 1) ATP-зависимое ремоделирование хроматина – использование энергии гидролиза ATP для индуцирования промежуточных измененных структурных состояний нуклеосом, их репозиционирования и временного удаления гистоновых комплексов [10–14]; 2) посттрансляционные ковалентные модификации неупорядоченных концевых участков гистонов (хвостов), влияющие и на эффективность ремоделирования, и на характер взаимодействия нуклеосом с многочисленными негистоновыми белками [14–19]. При этом любое внешнее воздействие на нуклеосому использует ее внутренние свойства – «собственную» структурную динамику, обусловленную особенностями межмолекулярных взаимодействий, стабилизирующих/дестабилизирующих структуру этой частицы.

Наименьшей стабильностью в структуре нуклеосомы отличается область входа/выхода ДНК: здесь реализуются менее прочные, нежели внутри нуклеосомы, ДНК-гистоновые контакты (с αN-спиралями гистонов H3 и димерами H2A–H2B) [20–23]. Кроме того, дополнительным дестабилизирующим фактором является электростатическое расталкивание между соседними витками суперспирали ДНК. Соответственно для нуклеосомных частиц, реконструированных на линейной ДНК, наблюдается спонтанное временное разворачивание концевых участков нуклеосомной ДНК, детектируемое по доступности нуклеосомной ДНК для ДНК-связывающих белков [24–27] и по изменениям эффективности флуоресцентного резонансного переноса энергии (FRET) между донорными и акцепторными флуорофорами, пришитыми к определенным сайтам нуклеосомной ДНК и/или гистонов [28–30].

В клеточном ядре хроматиновая фибрилла формирует петли, концы которых жестко закреплены на ядерном матриксе [31–33], и, следовательно, на такой петлевой домен и на каждую нуклеосому в его составе наложены топологические ограничения. В серии работ по исследованию модельной системы – нуклеосомы в составе кольцевой ДНК маленького размера (миницикла контурной длины ~350 п. н.) – получены результаты по конформационной подвижности нуклеосомных, а также суб- и наднуклеосомных частиц в условиях, близких к физиологическим [20, 34–42]. В частности, продемонстрировано наличие нескольких структурных форм нуклеосомы: «открытой», содержащей ~1,45 витка суперспирали, и двух «закрытых» – 1,7 витка суперспирали с отрицательным или положительным пересечением линкеров на выходе из нуклеосомы (см. рис. 4 ниже) [20, 35, 36, 40, 42]. Каждая из форм фиксирует свою определенную величину отрицательной сверхспирализации в кольце, снимая тем самым часть торсионных напряжений с ДНК, не связанной с гистонами. При этом небольшая по сравнению с энергией тепловых флуктуаций (на уровне 1–2 единиц kT, k – константа Больцмана; T – абсолютная температура) разница в свободных энергиях между структурными формами обеспечивает возможность конформационного равновесия.

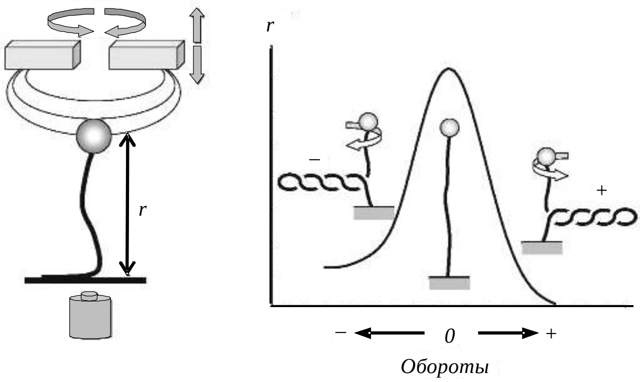

Рис. 3. Схема магнитного пинцета (пояснения в тексте) и типичная картина относительного удлинения молекулы ДНК *r* как функции количества оборотов пинцета. Схематически показаны отрицательные и положительные плектонемические витки

Это равновесие сдвигается в ту или иную сторону в зависимости от уровня сверхспирализации – можно сказать, что нуклеосомные структурные состояния играют роль буфера, позволяющего кольцу легче накапливать торсионные напряжения того или иного знака.

Конформационное равновесие между структурными формами нуклеосом зависит от последовательности пар нуклеотидов нуклеосомной ДНК [40], входящих в состав нуклеосомы вариантов гистонов [42] и посттрансляционных модификаций гистоновых хвостов [35, 36, 38, 39]. Так, при гиперацетилировании гистонов преимущественной становится открытая форма нуклеосомы: снижение положительного заряда хвостов приводит к возрастанию электростатического расталкивания между соседними витками суперспирали на концах нуклеосомной ДНК. Поскольку ацетилирование гистонов всегда коррелирует с транскрипционной активностью, значение открытой формы очевидно: во-первых, частичное разворачивание нуклеосомной ДНК повышает ее доступность для регуляторных белков; во-вторых, такое разворачивание дестабилизирует димеры H2A–H2B в нуклеосоме, облегчая их временный перенос на промежуточные акцепторы (гистоновые шапероны), который всегда усиливается во время транскрипции [43, 44].

Временное удаление димеров оставляет на ДНК тетрасому, которая также характеризуется нетривиальной конформационной подвижностью: тетрасомная суперспираль достаточно легко изменяет свою хиральность – левозакрученная «подкова» тетрасомы становится правозакрученной в составе положительно сверхспирализованной кольцевой ДНК (рис. 2) [34, 37–39]. В целом результаты, полученные на миницикла (см. обзоры [45–47]), приводят к достаточно неожиданному выводу: присутствие гистоновых комплексов делает молекулу ДНК значительно более пластичной, т. е. способной легче накапливать сверхспирализацию (торсионное напряжение) того или иного знака.

Подобный вывод получил полное подтверждение и развитие в экспериментах, проведенных на индивидуальных полинуклеосомных фибриллах при помощи магнитного пинцета (magnetic tweezers) – устройства, позволяющего вводить торсионные напряжения в молекулу ДНК.

Магнитный пинцет [48–50] дает возможность совершать наноманипуляции с молекулой ДНК в реальном времени. При использовании магнитного пинцета молекулы ДНК (обычно длиной от ~5 до ~50 тыс. п. н.) пришивают за один конец к поверхности предметного стекла в небольшой камере – в камеру может подаваться раствор любого состава, под камерой находится объектив оптического микроскопа (рис. 3). Пришивание обеспечивается за счет присоединения рекомбинантными методами к одному из концов специального линкера, в составе которого азотистые основания модифицированы дигоксигенином (DIG). Предметное стекло, покрытое антителами к DIG, жестко фиксирует этот конец. К другому концу молекулы ДНК присоединен линкер, модифицированный биотином, который прочно взаимодействует со стрептавидином, покрывающим поверхность шарика диаметром 2–3 мкм. Шарик, который таким образом пришивается к концу ДНК, является парамагнетиком и находится под действием постоянного магнитного поля, создаваемого электромагнитом (рис. 3). Магнит может смещаться и вращаться, как показано на рис. 3. Смещение магнита создает растягивающую силу, прикладываемую к концу ДНК, – величина силы зависит от высоты магнита над камерой. Количество оборотов магнита задает определенный вращательный момент, прикладываемый к концу молекулы. Таким образом осуществляется торсионное кручение одного конца относительно другого в том или ином направлении. При помощи микроскопа регистрируются два параметра. Первый из них – средняя амплитуда осцилляций шарика в плоскости, перпендикулярной направлению растягивающей силы, – позволяет определить величину силы (в диапазоне от нескольких сотых до нескольких сотен пиконьютонов): чем выше амплитуда осцилляций, тем меньше сила. Второй параметр – расстояние *r* от шарика до предметного стекла: изменение расстояния относительно известного фокусного расстояния объектива микроскопа создает интерференционную картину вокруг шарика, по характеру которой можно определить *r* с точностью до нескольких нанометров.

Типичная картина зависимости расстояния *r* от количества оборотов магнита (при незначительной растягивающей силе ~0,3 пН) показана на рис. 3. Когда число оборотов равно нулю, ДНК находится в торсионно релаксированном состоянии – с наиболее выгодным в данных условиях твистом двойной спирали. Один оборот магнита в положительном направлении закручивает, а в отрицательном – раскручивает ДНК на один виток: в двойной спирали возникает торсионное напряжение соответствующего знака. Довольно быстрое сокращение длины *r* при нарастании количества оборотов в обоих направлениях объясняется тем, что вращение магнита индуцирует торсионное кручение ДНК лишь до определенного предела – двойная спираль может накопить торсионное напряжение только до некоторой небольшой величины. По достижении критической точки энергия торсионных деформаций становится слишком высокой и происходит потеря стойкости: ДНК закручивается в сверхспиральные плектонемические витки (рис. 3). В том, что торсионное кручение должно преобразовываться в какой-то момент в плектонемические витки, можно легко убедиться, закручивая резиновую трубку или обычный шнурок. Количество оборотов, с которого начинается формирование плектонемы, зависит от соотношения констант торсионной и изгибной жесткости. Анализ зависимостей длины от числа оборотов дает оценку константы торсионной жесткости ДНК C/kT ~ 75 нм [48, 49] в полном согласии с данными других методов.

Некоторая асимметрия кривой на рис. 3 (степень асимметрии возрастает при увеличении растягивающей силы) объясняется локальным плавлением двойной спирали при большом количестве отрицательных оборотов [51]: энергетические затраты на плавление в наименее стабильных участках дают, тем не менее, общий энергетический выигрыш, поскольку разрушение одного витка дуплекса «поглощает» один отрицательный оборот. В результате снимается часть торсионных напряжений и снижается эффективность формирования плектонемы – кривая относительного удлинения выходит на некоторое ненулевое плато.

Торсионная пластичность полинуклеосомной фибриллы. В работах [52, 53] полинуклеосомные фибриллы, содержащие разное количество регулярно расположенных нуклеосом, были реконструированы на 36 тандемных повторах по 208 (или 190) п. н. последовательности гена 5S морского ежа (повтор обладает высоким потенциалом позиционирования нуклеосомы). Зависимость длины *r* от числа оборотов магнитного пинцета для такой фибриллы имеет ту же форму, что и для свободной ДНК – накопление торсионных напряжений при максимальном удлинении сменяется сокращением длины при формировании плектонемы. По сравнению со свободной ДНК (соответствующую кривую получают после удаления гистонов высокими концентрациями соли) фибрилла существенно короче и точка ее максимального удлинения сдвинута в отрицательную область. Оба эффекта (их величина пропорциональна количеству нуклеосом в составе фибриллы) являются прямым следствием закручивания нуклеосомной ДНК в левую суперспираль – нуклеосомой «поглощается» примерно один отрицательный супервиток, а сокращение длины составляет ~50 нм (~150 п. н.) на нуклеосому.

Между двумя зависимостями длины от количества оборотов имеется еще одно (менее тривиальное) различие: фибрилла характеризуется значительно более высокой торсионной пластичностью, т. е. способна накапливать существенно большее число оборотов без значительного сокращения длины. Формальный анализ дает оценку константы «торсионной жесткости» полинуклеосомной фиб-

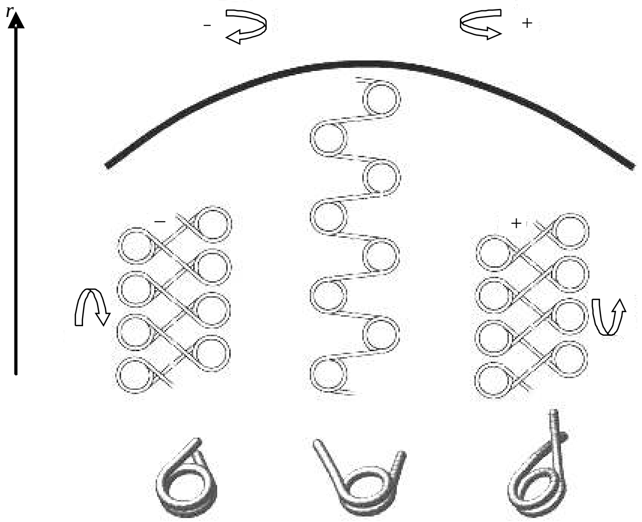

Рис. 4. Ответ полинуклеосомной фибриллы на торсионную деформацию: кривая схематически показывает изменение длины *r* как функции количества оборотов в окрестности максимума (дальнейшее накопление торсионных витков обоих знаков приводит к более резкому сокращению вследствие образования плектонемы, см. рис. 3). Три структурные формы нуклеосомы (внизу, слева направо: закрытая отрицательная; открытая; закрытая положительная) способствуют «поглощению» торсионного напряжения за счет вращения нуклеосом вокруг своих осей симметрии в том или ином направлении. Адаптировано из [52]

риллы C/kT ~5 нм – в 15 раз ниже, чем для свободной ДНК.

Такая высокая пластичность отражает конформационное равновесие между описанными ранее для миникольцев структурными формами нуклеосом (рис. 4). Максимальное удлинение фибриллы соответствует открытой форме нуклеосомы – в условиях эксперимента с магнитным пинцетом (низкая ионная сила) эта форма является преимущественной вследствие высокого электростатического расталкивания между витками нуклеосомной суперспирали. Вращение нуклеосом вокруг своих осей симметрии и их переход в закрытые формы со скрещенными линкерами – отрицательную или положительную в зависимости от направления вращения пинцета – позволяет адсорбировать часть торсионных напряжений и тем самым тормозить образование плектонемы, которое начинается только после завершения структурных переходов. Молекулярная модель фибриллы, учитывающая возможность структурных переходов в нуклеосоме и их энергетической стоимости (1–2 единицы kT), позволяет количественно описать верхнюю часть кривой, схематически изображенную на рис. 4.

Изменение хиральности нуклеосомы. Наиболее интересная структурная перестройка происходит в нуклеосоме при создании высокого уровня положительных торсионных напряжений – после формирования плектонемы. При этом изменяется хиральность нуклеосомной суперспирали, которая становится правой в составе частицы, получившей название реверсомы (<u>rever</u>se nucleo<u>some</u>) [53].

Если количество оборотов пинцета в положительном направлении не слишком велико, обратное вращение приводит к удлинению фибриллы по той же траектории – прямая и обратная кривые зависимости длины от числа оборотов совпадают. Однако спустя примерно 20 положительных оборотов после того как длина снизилась до нуля вследствие образования плектонемы, обратное движение характеризуется гистерезисом: сбрасывание плектонемических витков (удлинение фибриллы) начинается раньше, и при том же количестве оборотов относительно нулевой точки длина *r* становится больше таковой при прямом закручивании (рис. 5).

Такое поведение позволяет сделать два вывода. Во-первых, при высоком уровне торсионных напряжений в нуклеосоме происходит структурное изменение, в результате которого новая частица – реверсома – фиксирует на себе некую долю положительной сверхспирализации. Амплитуда гистерезиса (величина относительного сдвига двух кривых на рис. 5) прямо пропорциональна количеству нуклеосом в составе фибриллы – из наклона этой зависимости следует оценка о примерно одном положительном супервитке, «поглощаемом» реверсомой. Очевидно, что ДНК в составе реверсомы образует правую суперспираль, являющуюся, вероятно, примерно зеркальным отображением обычной левой нуклеосомной суперспирали. Во-вторых, наличие гистерезиса указывает на то, что две структуры разделены высоким активационным барьером – при обратном вращательном движении пинцета реверсома не успевает быстро перестроиться в более энергетически выгодную нуклеосому.

Если обратное вращение остановить при некотором количестве оборотов, наблюдается долгое (за десятки минут) сокращение длины (пунктирная

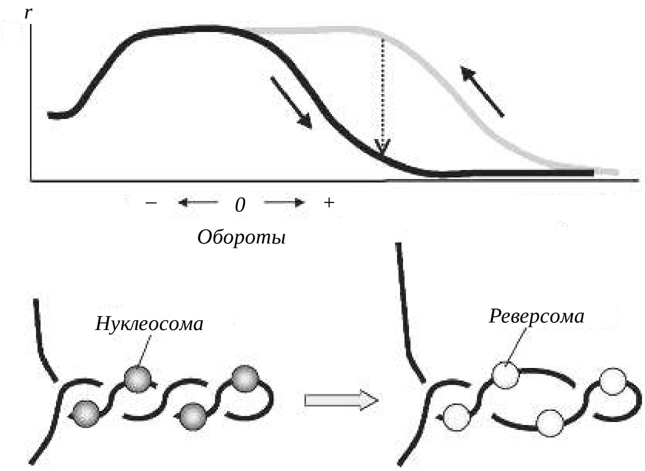

Рис. 5. Схема гистерезиса при накоплении и обратном сбрасывании положительного торсионного напряжения в полинуклеосомной фибрилле. Сплошные стрелки указывают направление вращения, пунктирная – направление медленного сокращения фибриллы, если обратное вращение останавливается в некоторой точке. Внизу представлена схема структурного преобразования в нуклеосоме, в результате которого реверсома поглощает часть положительной сверхспирализации. Адаптировано из [53]

стрелка на рис. 5), т. е. осуществляется переход реверсомы в нуклеосому. Анализ кинетики перехода позволяет оценить высоту активационного барьера и разницу свободных энергий между двумя состояниями: свободная энергия реверсомы по отношению к нуклеосоме ~10 *kT*, энергия активации ~30 *kT*. Последняя величина примерно совпадает со свободной энергией взаимодействия двух димеров H2A–H2B с тетрамером $(H3–H4)_2$ в 2 М NaCl [54] – наличие активационного барьера связано с необходимостью разрушить энергетически выгодные контакты между димерами и тетрамером в промежуточном состоянии на пути структурного преобразования.

Действительно, изменить знак нуклеосомной суперспирали можно только таким путем: нарушив взаимодействие димеров с тетрамером, развернув суперспираль вместе со связанными с ДНК димерами, затем изменив хиральность тетрасомы и установив новые контакты димеров с тетрамером (рис. 6). Соответственно удаление димеров H2A–H2B из полинуклеосомной фибриллы (за счет обработки гепарином или гистоновым шапероном NAP-1) приводит к исчезновению гистерезиса: остающаяся тетрасома при вращениях пинцета легко изменяет

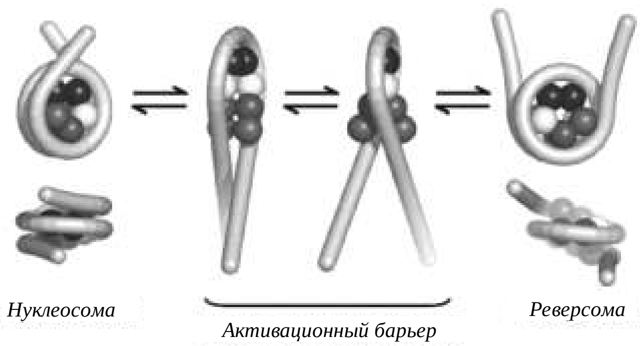

Рис. 6. Схема структурного перехода в нуклеосоме с изменением хиральности суперспирали. Гистоны изображены в виде шариков, как на рис. 1 и 2

свою хиральность без каких-либо активационных барьеров [53].

Гистон-гистоновые контакты в реверсоме отличаются от таковых в нуклеосоме – димеры H2A–H2B связываются с другой стороны от тетрамера $(H3–H4)_2$, что, вероятно, и делает основной вклад в разницу свободных энергий между двумя структурами. Кроме того, закручивание ДНК в правую суперспираль приводит к непригодности αN-спиралей гистонов H3 для взаимодействия с концевыми сегментами – реверсома является, скорее всего, примерно правым отображением открытой формы левозакрученной нуклеосомы.

Биологическое значение конформационной динамики нуклеосом в ответ на торсионные деформации ДНК должно в первую очередь иметь отношение к сверхспирализации, генерируемой ДНК-транслоказами. Так, самыми очевидными источниками упругих напряжений в хроматиновой петле являются элонгация транскрипции и репликации, вызывающие положительную и отрицательную «волны» сверхспирализации соответственно впереди и позади полимеразного комплекса [55–60]. Торсионная пластичность хроматина, обусловленная его конформационной подвижностью, служит своеобразным «амортизатором», гасящим указанные волны. При этом такой конформационный амортизатор срабатывает практически мгновенно – значительно быстрее, чем эндогенные релаксирующие активности ДНК-топоизомераз [60–62].

Например, генерируемую транскрипцией отрицательную сверхспирализацию измеряли *in vivo* в специальной репортерной конструкции между двумя разнонаправленными промоторами [60]. Обусловленное топоизомеразами затухание сверхспирализации происходит очень медленно (в течение ~30 мин), за это время сверхспирализация успевает индуцировать неканонические структурные формы двойной спирали, рекрутирующие специфические транскрипционнные факторы. Таким образом, конформационная подвижность нуклеосом, модулирующая уровень торсионных напряжений и конкурирующая с эндогенными релаксирующими активностями и структурными переходами в ДНК, должна быть вовлечена в динамический контроль генной активности.

Роль конформационной динамики нуклеосом в регуляции транскрипционной активности становится более очевидной, если вспомнить о модуляции этой динамики такими факторами, как нуклеотидная последовательность нуклеосомной ДНК [40], присутствие в нуклеосоме гистоновых вариантов [42] и ацетилирование гистонов. В частности, ацетилирование способствует реализации открытой формы нуклеосомы [35, 36], которая, в свою очередь, облегчает временный перенос димеров H2A–H2B на гистоновые шапероны [42]. При этом образуется тетрасома, в которой при условии ее ацетилирования существенно облегчен переход в правозакрученную форму [38, 39].

Что касается реверсомы, то она, очевидно, является наиболее эффективным средством поглощения волны положительной сверхспирализации по ходу движения РНК-полимеразы. Полимераза создает вращательный момент более 8 *kT* на один виток двойной спирали [63] – энергия, вполне достаточная для индуцирования структурного перехода в реверсому. При этом реверсома не только эффективно гасит положительную сверхспирализацию, обеспечивая возможность продолжения процесса элонгации транскрипции, а ее можно рассматривать как высокоэнергетическую «активированную» форму нуклеосомы *par excellence*. Существенно дестабилизированные в реверсоме димеры H2A–H2B – первые блокаторы на пути РНК-полимеразы через нуклеосому [6–9] – могут легче сниматься промежуточными акцепторами [43, 44] или просто переноситься на смежные участки ДНК [27]. Иначе говоря, после того как реверсомы сформированы на большом расстоянии, они должны легче транскрибироваться благодаря дестабилизированным димерам.

Таким образом, две волны сверхспирализации, создаваемые самой РНК-полимеразой, помогают осуществить две операции, необходимые для эффективной элонгации транскрипции при сохранении нуклеосомной упаковки хроматина: впереди облегчается временное удаление гистоновых комплексов, позади – отрицательная сверхспирализация способствует восстановлению левозакрученной нуклеосомной структуры.

A. V. Sivolob

Nucleosome conformational flexibility in experiments with single chromatin fibers

Taras Shevchenko National University of Kyiv
64, Volodymyrska Str, Kyiv, Ukraine, 01033

Summary

Studies on the chromatin nucleosome organization play an ever increasing role in our comprehension of mechanisms of the gene activity regulation. This minireview describes the results on the nucleosome conformational flexibility, which were obtained using magnetic tweezers to apply torsion to oligonucleosome fibers reconstituted on single DNA molecules. Such an approach revealed a new structural form of the nucleosome, the reversome, in which DNA is wrapped in a right-handed superhelix around a distorted histone octamer. Molecular mechanisms of the nucleosome structural flexibility and its biological relevance are discussed.

Keywords: nucleosome, DNA supercoiling, chromatin fiber, conformational flexibility.

А. В. Сиволоб

Конформаційна рухливість нуклеосом в експериментах з індивідуальними хроматиновими фібрилами

Резюме

Дослідження нуклеосомної організації хроматину відіграє все більшу роль у розумінні механізмів регуляції генетичної активності. У представленому огляді описано результати вивчення конформаційної рухливості нуклеосом, отримані в експериментах з магнітним пінцетом – приладом, за допомогою якого можна індукувати торсійні деформації в олігонуклеосомних фібрилах, реконструйованих на індивідуальних молекулах ДНК. Такий підхід дозволяє виявити нову структурну форму нуклеосоми – реверсому, у складі якої ДНК формує праву суперспіраль на поверхні перебудованого октамеру гістонів. Обговорюються молекулярні механізми та біологічне значення структурної рухливості нуклеосом.

Ключові слова: нуклеосома, надспіралізація ДНК, хроматинова фібрила, конформаційна рухливість.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Luger K., Mader A. W., Richmond R. K., Sargent D. F., Richmond T. J.* Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution // Nature.–1997.–**389**, N 6648.–P. 251–260.

2. *Davey C. A., Sargent D. F., Luger K., Mader A. W., Richmond T. J.* Solvent mediated interactions in the structure of the nucleosome core particle at 1.9 Å resolution // J. Mol. Biol.–2002.–**319**, N 5.– P. 1097–1113.
3. *Richmond T. J., Davey C. A.* The structure of DNA in the nucleosome core // Nature.–2003.–**423**, N 6936.–P. 145–150.
4. *Ong M. S., Richmond T. J., Davey C. A.* DNA stretching and extreme kinking in the nucleosome core // J. Mol. Biol.–2007.–**368**, N 4.–P. 1067–1074.
5. *Boyer L. A., Shao X., Ebright R. H., Peterson C. L.* Roles of the histone H2A-H2B dimers and the (H3-H4)(2) tetramer in nucleosome remodeling by the SWI-SNF complex // J. Biol. Chem.–2000.–**275**, N 16.–P. 11545–11552.
6. *Kireeva M. L., Walter W., Tchernajenko V., Bondarenko V., Kashlev M., Studitsky V. M.* Nucleosome remodeling induced by RNA polymerase II: loss of the H2A/H2B dimer during transcription // Mol. Cell.–2002.–**9**, N 3.–P. 541–552.
7. *Studitsky V. M., Walter W., Kireeva M., Kashlev M., Felsenfeld G.* Chromatin remodeling by RNA polymerases // Trends Biochem. Sci.–2004.–**29**, N 3.–P. 127–135.
8. *Li B., Carey M., Workman J. L.* The role of chromatin during transcription // Cell.–2007.–**128**, N 4.–P. 707–719.
9. *Kulaeva O. I., Gaykalova D. A., Studitsky V. M.* Transcription through chromatin by RNA polymerase II: histone displacement and exchange // Mutat. Res.–2007.–**618**, N 1–2.–P. 116–129.
10. *Cairns B. R.* Chromatin remodeling: insights and intrigue from single-molecule studies // Nat. Struct. Mol. Biol.–2007.–**14**, N 11.–P. 989–996.
11. *Choudhary P., Varga-Weisz P.* ATP-dependent chromatin remodelling: action and reaction // Subcell. Biochem.–2007.–**41**.–P. 29–43.
12. *Cairns B. R.* The logic of chromatin architecture and remodelling at promoters // Nature.–2009.–**461**, N 7261.–P. 193–198.
13. *Clapier C. R., Cairns B. R.* The biology of chromatin remodeling complexes // Annu. Rev. Biochem.–2009.–**78**.–P. 273–304.
14. *Rando O. J., Chang H. Y.* Genome-wide views of chromatin structure // Annu. Rev. Biochem.–2009.–**78**.–P. 245–271.
15. *Marmorstein R.* Protein modules that manipulate histone tails for chromatin regulation // Nat. Rev. Mol. Cell Biol.–2001.–**2**, N 6.–P. 422–432.
16. *Narlikar G. J., Fan H. Y., Kingston R. E.* Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription // Cell.–2002.–**108**, N 4.–P. 475–487.
17. *Turner B. M.* Cellular memory and the histone code // Cell.–2002.–**111**, N 3.–P. 285–291.
18. *An W.* Histone acetylation and methylation: combinatorial players for transcriptional regulation // Subcell. Biochem.–2007.–**41**.–P. 351–369.
19. *Shahbazian M. D., Grunstein M.* Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation // Annu. Rev. Biochem.–2007.–**76**.–P. 75–100.
20. *Goulet I., Zivanovic Y., Prunell A., Revet B.* Chromatin reconstitution on small DNA rings // J. Mol. Biol.– 1988.–**200**, N 2.–P. 253–266.
21. *Toth K., Brun N., Langowski J.* Chromatin compaction at the mononucleosome level // Biochemistry.–2006.–**45**, N 6.–P. 1591–1598.
22. *Mihardja S., Spakowitz A. J., Zhang Y., Bustamante C.* Effect of force on mononucleosomal dynamics // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–2006.–**103**, N 43.–P. 15871–15876.
23. *Hall M. A., Shundrovsky A., Bai L., Fulbright R. M., Lis J. T., Wang M. D.* High-resolution dynamic mapping of histone-DNA interactions in a nucleosome // Nat. Struct. Mol. Biol.–2009.–**16**, N 2.–P.124–129.
24. *Polach K. J., Widom J.* Mechanism of protein access to specific DNA sequences in chromatin: a dynamic equilibrium model for gene regulation // J. Mol. Biol.–1995.–**254**, N 2.–P. 130–149.
25. *Anderson J. D., Thastrom A., Widom J.* Spontaneous access of proteins to buried nucleosomal DNA target sites occurs via a mechanism that is distinct from nucleosome translocation // Mol. Cell. Biol.–2002.–**22**, N 20.–P. 7147–7157.
26. *Li G., Levitus M., Bustamante C., Widom J.* Rapid spontaneous accessibility of nucleosomal DNA // Nat. Struct. Mol. Biol.–2005.–**12**, N 1.–P. 46–53.
27. *Hodges C., Bintu L., Lubkowska L., Kashlev M., Bustamante C.* Nucleosomal fluctuations govern the transcription dynamics of RNA polymerase II // Science.–2009.–**325**, N 5940.–P. 626–628.
28. *Muthurajan U. M., Park Y. J., Edayathumangalam R. S., Suto R. K., Chakravarthy S., Dyer P. N., Luger K.* Structure and dynamics of nucleosomal DNA // Biopolymers.–2003.–**68**, N 4.–P. 547–556.
29. *Li G., Widom J.* Nucleosomes facilitate their own invasion // Nat. Struct. Mol. Biol.–2004.–**11**, N 8.–P. 763–769.
30. *Tomschik M., Zheng H., van Holde K., Zlatanova J., Leuba S. H.* Fast, long-range, reversible conformational fluctuations in nucleosomes revealed by single-pair fluorescence resonance energy transfer // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–2005.–**102**, N 9.–P. 3278–3283.
31. *Cook P. R., Brazell I. A.* Conformational constraints in nuclear DNA // J. Cell Sci.–1976.–**22**, N 2.–P. 287–302.
32. *Benyajati C., Worcel A.* Isolation, characterization, and structure of the folded interphase genome of *Drosophila melanogaster* // Cell.–1976.–**9**, N 3.–P. 393–407.
33. *Lebkowski J. S., Laemmli U. K.* Nonhistone proteins and long range organization of HeLa interphase DNA // J. Mol. Biol.–1982.–**156**, N 2.–P. 325–344.
34. *Hamiche A., Carot V., Alilat M., De Lucia F., O'Donohue M. F., Revet B., Prunell A.* Interaction of the histone $(H3–H4)_2$ tetramer of the nucleosome with positively supercoiled DNA minicircles: Potential flipping of the protein from a left- to a right-handed superhelical form // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–1996.–**93**, N 15.–P. 7588–7593.
35. *Sivolob A., De Lucia F., Revet B., Prunell A.* Nucleosome dynamics II. High flexibility of nucleosome entering and exiting DNAs to positive crossing // J. Mol. Biol.–1999.–**285**, N 3.–P. 1081–1099.
36. *De Lucia F., Alilat M., Sivolob A., Prunell A.* Nucleosome dynamics III. Histone tail-dependent fluctuation of nucleosomes between open and closed DNA conformations // J. Mol. Biol.–1999.–**285**, N 3.–P. 1101–1119.
37. *Alilat M., Sivolob A., Revet B., Prunell A.* Nucleosome dynamics IV. Protein and DNA contributions in the chiral transition of the tetrasome, the histone $(H3\text{-}H4)_2$ tetramer-DNA particle // J. Mol. Biol.–1999.–**291**, N 4.–P. 815– 841.
38. *Sivolob A., Prunell A.* Nucleosome dynamics V. Ethidium bromide versus histone tails in modulating ethidium bromide-driven tetrasome chiral transition // J. Mol. Biol.–2000.–**295**, N 1.–P. 41–53.
39. *Sivolob A., De Lucia F., Alilat M., Prunell A.* Nucleosome dynamics. VI. Histone tail regulation of tetrasome chiral transition. A relaxation study of tetrasomes on DNA minicircles // J. Mol. Biol.–2000.–**295**, N 1.–P. 55–69.

40. *Sivolob A., Lavelle C., Prunell A.* Sequence-dependent nucleosome structural and dynamic polymorphism. Potential involvement of histone H2B N-terminal tail proximal domain // J. Mol. Biol.–2003.–**326**, N 1.–P. 49–63.
41. *Sivolob A., Prunell A.* Linker histone-dependent organization and dynamics of nucleosome entry/exit DNAs // J. Mol. Biol.–2003.–**331**, N 5.–P. 1025–1040.
42. *Conde e Silva N., Black B. E., Sivolob A., Filipski J., Cleveland D. W., Prunell A.* CENP-A-containing nucleosomes: easier disassembly versus exclusive centromeric localization // J. Mol. Biol.–2007.–**370**, N 3.–P. 555–573.
43. *Ito T., Ikehara T., Nakagawa T., Kraus W.L., Muramatsu M.* p300-mediated acetylation facilitates the transfer of histone H2A-H2B dimers from nucleosomes to a histone chaperone // Genes Develop.– 2000.–**14**, N 15.–P. 1899–1907.
44. *Reinberg D., Sims R. J.* de FACTo nucleosome dynamics // J. Biol. Chem.–2006.–**281**, N 33.–P. 23297–23301.
45. *Prunell A., Sivolob A.* Paradox lost: nucleosome structure and dynamics by the DNA minicircle approach // Chromatin structure and dynamics: state-of-the-art. New Comprehensive Biochemistry / Eds J. Zlatanova, S. H. Leuba.–Amsterdam: Elsevier, 2004.–Vol. 39.–P. 45–74.
46. *Sivolob A., Prunell A.* Nucleosome conformational flexibility and implications for chromatin dynamics // Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. A.–2004.–**362**, N 1820.–P. 1519–1547.
47. *Sivolob A., Lavelle C., Prunell A.* Flexibility of nucleosomes on topologically constrained DNA // IMA Volumes in Mathematics and its Applications / Eds C. J. Benham, S. Harvey, W. Olson, D. W. Sumners, D. Swigon.–New York: Springer, 2009.–Vol. 150.–P. 251–291.
48. *Strick T. R., Allemand J.-F., Bensimon D., Bensimon A., Croquette V.* The elasticity of a single supercoiled DNA molecule // Science.–1996.–**271**, N 5257.–P. 1835–1837.
49. *Strick T. R., Allemand J.-F., Bensimon D., Croquette V.* Behavior of supercoiled DNA // Biophys. J.–1998.–**74**, N 4.–P. 2016–2028.
50. *Strick T. R., Allemand J.-F., Bensimon D., Croquette V.* Stress-induced structural transitions in DNA and proteins // Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.–2000.–**29**.–P. 523–543.
51. *Strick T. R., Croquette V., Bensimon D.* Homologous pairing in stretched supercoiled DNA // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–1998.–**95**, N 18.–P. 10579–10583.
52. *Bancaud A., Conde e Silva N., Barbi M., Wagner G., Allemand J. F., Mozziconacci J., Lavelle C., Croquette V., Victor J.-M., Prunell A., Viovy J.-L.* Structural plasticity of single chromatin fibers revealed by torsional manipulation // Nat. Struct. Mol. Biol.–2006.–**13**, N 5.–P. 444–450.
53. *Bancaud A., Wagner G., Conde e Silva N., Lavelle C., Wong H., Mozziconacci J., Barbi M., Sivolob A., Le Cam E., Mouawad L., Viovy J.-L., Victor J.-M., Prunell A.* Nucleosome chiral transition under positive torsional stress in single chromatin fibers // Mol. Cell.–2007.–**27**, N 1.–P. 135–147.
54. *Benedict R. C., Moudrianakis E. N., Ackers G. K.* Interactions of the nucleosomal core histones: a calorimetric study of octamer assembly // Biochemistry.–1984.–**23**, N 6.–P. 1214–1218.
55. *Liu L. F., Wang J. C.* Supercoiling of the DNA template during transcription // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–1987.–**84**, N 20.–P. 7024–7027.
56. *Tsao Y.-P., Wu H.-Y., Liu L. F.* Transcription-driven supercoiling of DNA: direct biochemical evidence from *in vitro* studies // Cell.–1989.–**56**, N 1.–P. 111–118.
57. *Rahmouni A. R., Wells R. D.* Direct evidence for the effect of transcription on local DNA supercoiling *in vivo* // J. Mol. Biol.–1992.–**223**, N 1.–P. 131–144.
58. *Kramer P. R., Sinden R. R.* Measurement of unrestrained negative supercoiling and topological domain size in living human cells // Biochemistry.–1997.–**36**, N 11.–P. 3151–3158.
59. *Wang Z., Droge P.* Long-range effects in a supercoiled DNA domain generated by transcription *in vitro* // J. Mol. Biol.–1997.–**271**, N 4.–P. 499–510.
60. *Kouzine F., Sanford S., Elisha-Feil Z., Levens D.* The functional response of upstream DNA to dynamic supercoiling *in vivo* // Nat. Struct. Mol. Biol.–2008.–**15**, N 2.–P. 146–154.
61. *Wang J. C.* Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective // Nat. Rev. Mol. Cell Biol.–2002.–**3**, N 6.–P. 430–440.
62. *Salceda J., Fernandez X., Roca J.* Topoisomerase II, not topoisomerase I, is the proficient relaxase of nucleosomal DNA // EMBO J.– 2006.–**25**, N 11.–P. 2575–2583.
63. *Harada Y., Ohara O., Takatsuki A., Itoh H., Shimamoto N., Kinosita K.* Direct observation of DNA rotation during transcription by *Escherichia coli* RNA polymerase // Nature.–2001.–**409**, N 6816.–P. 113–115.

UDC 577.323
Received 11.03.10