

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Назаров Леонид Игоревич

**СТАТИСТИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ СТРУКТУРЫ
ХРОМАТИНА**

специальность 02.00.06 – высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Москва – 2017

Работа выполнена на кафедре физики полимеров и кристаллов Физического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Научный руководитель – **Тамм Михаил Владимирович**, кандидат физико-математических наук

Официальные оппоненты – **Гросберг Александр Юльевич**, доктор физико-математических наук, профессор, Нью-Йоркский университет, США

Миронов Андрей Александрович, доктор биологических наук, кандидат физико-математических наук, профессор факультета биоинженерии и биоинформатики, МГУ им. М.В. Ломоносова

Кудрявцев Ярослав Викторович, доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией модификации полимеров, Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН

Защита диссертации состоится 2 ноября 2017 г. в 15 час. 30 мин. на заседании диссертационного совета МГУ.01.01 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2, Физический факультет МГУ, СФА.

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: http://istina.msu.ru/dissertations_councils/councils/31666116/.

Автореферат разослан «___» _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета МГУ.01.01,
кандидат физико-математических наук

Лаптинская Татьяна Васильевна

Общая характеристика работы

Актуальность темы работы.

Описание упаковки генетического материала в ядрах эукариотических клеток на сегодняшний день является одной из центральных проблем молекулярной биологии. Структура упаковки представляет собой не просто компактное состояние длинной полимерной молекулы (хромосомы длиной порядка нескольких метров упакованы в ядре клетки человека в объеме нескольких тысяч кубических микрон), а структуру, которая совместима с выполнением целого ряда биологических функций. Установлено, что пространственная организация материала хромосом (хроматина) внутри ядра – территориальная, хромосомы во время подготовки к делению клетки слабо заузлены. Отдельные участки хромосомы могут легко деконденсироваться из общего объема, а затем возвращаться в глобулярное состояние; взаимодействующие функциональные элементы хромосомы, удаленные вдоль по цепи, тратят на диффузионный поиск друг друга относительно небольшое время.

Для теоретического описания упаковки хроматина очень эффективной оказалась модель *складчатой глобулы* (или *фрактальной глобулы*), позволяющая количественно объяснить ряд свойств упаковки и внутриядерных процессов, связанных с пространственной реорганизацией хромосом. Складчатая глобула была предложена ранее для описания состояния цепи, полученного в результате ее быстрого коллапса, и обладает свойствами, удобными с точки зрения выполнения биологических функций клетки. Эта структура характеризуется компактностью, мультимасштабной доменной организацией и отсутствием топологических зацеплений, что способствует повышенной мобильности субцепей при высокой плотности упаковки. В случае линейных молекул складчатая глобула – это метастабильное состояние, медленно релаксирующее к равновесному за счет самодиффузии внутри структуры, а также движения свободных концов цепи. Время релаксации такой структуры определяется, главным образом, длиной молекулы и растет с ее увеличением пропорционально кубу длины. Для полимерной цепи, имеющей размер, сопоставимый с размером хромосомы, оцененное таким образом время жизни складчатого глобулярного состояния составляет порядка нескольких сотен лет. Некоторые статистические свойства складчатой глобулы наблюдаются для макромолекул в расплаве незацепленных полимерных колец.

В настоящее время интерес к вопросу упаковки хроматина обусловлен развитием экспериментальных технологий по исследованию генетического материала, за последние десятилетия были получены колоссальные объемы информации о структурных особенностях хромосом. Наиболее эффективными оказались метод конформационного

захвата хромосом Hi-C, используемый для сбора данных о пространственной колокализации участков генома, и метод флуоресцентной гибридизации “FISH” (Fluorescence In Situ Hybridization), позволяющий измерить размер пространства, занятый сегментом цепи, как функцию его длины. Экспериментальные данные дали возможность количественно охарактеризовать свойства упаковки хроматина. Было показано, что наблюдаемая структура по статистическим характеристикам подобна складчатой глобулярной конформации.

Исследования динамических свойств хроматина, проведенные посредством наблюдения за флуоресцентными метками прикрепленными к отдельным локусам на хромосомах, показали, что маркированные участки хромосом двигаются субдиффузионно, причем получаемые экспериментально показатели субдиффузии не могут быть объяснены теоретически в рамках существующих моделей динамики равновесной полимерной глобулы. Теоретических моделей, позволяющих описать динамику теплового движения мономеров складчатой глобулы, до данной работы предложено не было. Также недостаточно внимания было уделено исследованию динамики складчатого состояния в численном эксперименте.

Таким образом, вопрос корректной интерпретации экспериментальных результатов, связанных с исследованием упаковки хроматина, наряду с описанием диффузионного режима движения в компактных фрактальных структурах оказываются на данный момент весьма актуальными проблемами, представляющими интерес как с точки зрения молекулярной биологии, так и с точки зрения фундаментальной физики полимеров.

Цели диссертационной работы:

1. Построение модели, позволяющей теоретически обосновать, а также воспроизвести в численном эксперименте тонкую структуру экспериментальных Hi-C матриц внутрицепных контактов хромосом эукариот.
2. Исследование статических и динамических свойств состояния складчатой глобулы. Разработка алгоритмов генерации фрактальной структуры. Сравнение характеристик полученной системы с характеристиками состояния равновесной глобулы в рамках численных экспериментов.
3. Построение теории, позволяющей количественно оценить режим диффузионного движения мономеров в состоянии складчатой глобулы. Проверка теоретических предсказаний в масштабном численном моделировании, а также сопоставление результатов с данными, полученными в реальных биологических экспериментах.

Научная новизна работы:

В представленной работе впервые получены и выносятся на защиту следующие результаты:

1. Построена статистическая модель, описывающая тонкую структуру карт внутри-хромосомных контактов, полученных методом Hi-C. Показано, что комбинация замороженной блочной первичной структуры цепи и иерархического характера коллапса может объяснить особенности, наблюдаемые на экспериментальных Hi-C картах: иерархически-блочную структуру усредненных карт; чередование участков с повышенной и пониженной вероятностью контакта; крупномасштабную компартиментализацию; зависимость вероятности контакта от расстояния между звеньями вдоль по цепи.
2. Предложен алгоритм генерации в компьютерном эксперименте структур, подобных складчатой глобуле. Алгоритм основан на случайном блуждании без самопересечений с искусственно введенным коротким взаимодействием блуждателя с собственным следом. Показана эффективность данного алгоритма в сравнении с существующими методами, а также продемонстрировано, что статистические свойства получаемых структур не зависят от размера системы и близки к свойствам динамически сколлапсированных полимеров.
3. Построена скейлинговая теория диффузионного движения в полимерных системах произвольной фрактальной размерности, обобщающая классическую модель Рауза. Применение результатов теории к складчатому глобулярному состоянию приводит к предсказанию зависимости среднеквадратичного диффузионного смещения мономера от времени по закону $\langle(\Delta R)^2\rangle \sim t^{2/5}$. Этот результат был подтвержден нами в рамках численного моделирования динамики полимерного расплава методом диссипативной динамики частиц. Необходимо подчеркнуть, что полученный результат хорошо согласуется с экспериментальными данными, наблюдаемыми в живых клетках.
4. На основе модели блуждания по дискретной прямой с переменным характером взаимодействия ячеек подложки с блуждателем построена модель одномерной упаковки гетерополимера. Процесс конденсации может быть редуцирован к случайному блужданию в пространстве с подвижными препятствиями и применен для описания упаковки молекул нуклеиновых кислот в вирусных капсидах.

Научная и практическая ценность:

Полученные результаты носят фундаментальный характер и представляют интерес как для физики полимеров, так и для молекулярной биологии. Теория, построенная в рамках

диссертации, может лечь в основу описания целого класса диффузионных процессов в клетке эукариот. Модели и подходы, введенные впервые в представленной работе, могут оказаться крайне эффективным способом приготовления состояний, близких к экспериментально наблюдаемым, для дальнейшего моделирования поведения биологических систем.

Апробация работы:

Представленные в диссертации результаты прошли апробацию в ходе выступлений на следующих российских и международных конференциях: Moscow Conference on Computational Molecular Biology, Москва 2013; Dynamics in Crowded Systems, University of Potsdam, Потсдам, Германия, 2013; XIII конференция студентов и аспирантов, ИНЭОС РАН, Москва, 2013; Шестая Всероссийская Каргинская Конференция «Полимеры — 2014», Москва, Россия, 2014; Advanced Workshop on Interdisciplinary Views on Chromosome Structure and Function, ICTP, Триест, Италия, 2014; Condensed Matter in Paris CMD25-JMC14, Париж, Франция, 2014; MACRO-2014, Чианг-Май, Таиланд, 2014; Quantitative Methods in Gene Regulation III, Кембридж, Великобритания 2015, а также на научных семинарах в университете Paris-Sud (Франция), 2013; университете г. Ковентри (Великобритания), 2015; Ecole Normale Superior de Lyon, Лион, Франция, 2017; в Институте физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН), 2017; на Факультете биоинженерии и биоинформатики МГУ им М.В. Ломоносова, 2017; а также на семинарах кафедры физики полимеров и кристаллов физического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Публикации:

По материалам исследований, представленных в диссертации, опубликовано 4 печатные работы в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, 9 тезисов докладов. Список работ приведен в конце автореферата.

Структура и объем работы:

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и списка литературы. Общий объем работы 107 страницы. Работа содержит 39 рисунков; список цитируемой литературы из 105 наименований.

Содержание работы

Во **Введении** автором обоснована актуальность темы, сформулирована цель исследования, показана значимость результатов в контексте описания мультимасштабной пространственной организации генома эукариот, а также внутриядерных диффузионно-

лимитированных процессов; представлены научные положения, выносимые на защиту; кратко описана структура диссертации.

В **первой главе** проведен обзор современных сведений по теме работы. Первый раздел посвящен подробному разбору текущих представлений о внутриядерной архитектуре хроматина. Описаны наиболее эффективные экспериментальные подходы, позволяющие делать выводы о пространственной организации и динамике его сегментов: метод флуоресцентной гибридизации FISH, позволяет исследовать взаимное расположение маркированных сегментов цепи во времени (**рис. 1**); метод конформационного захвата хромосом Hi-C, позволяет статистически описать компактную упаковку. Выделен набор функционально значимых особенностей упаковки хроматина, зафиксированных экспериментально, а именно: территориальная организация и компактная, в структурном смысле, упаковка хромосом; статистика внутривхромосомных контактов; аномальная диффузия сегментов цепей ДНК.

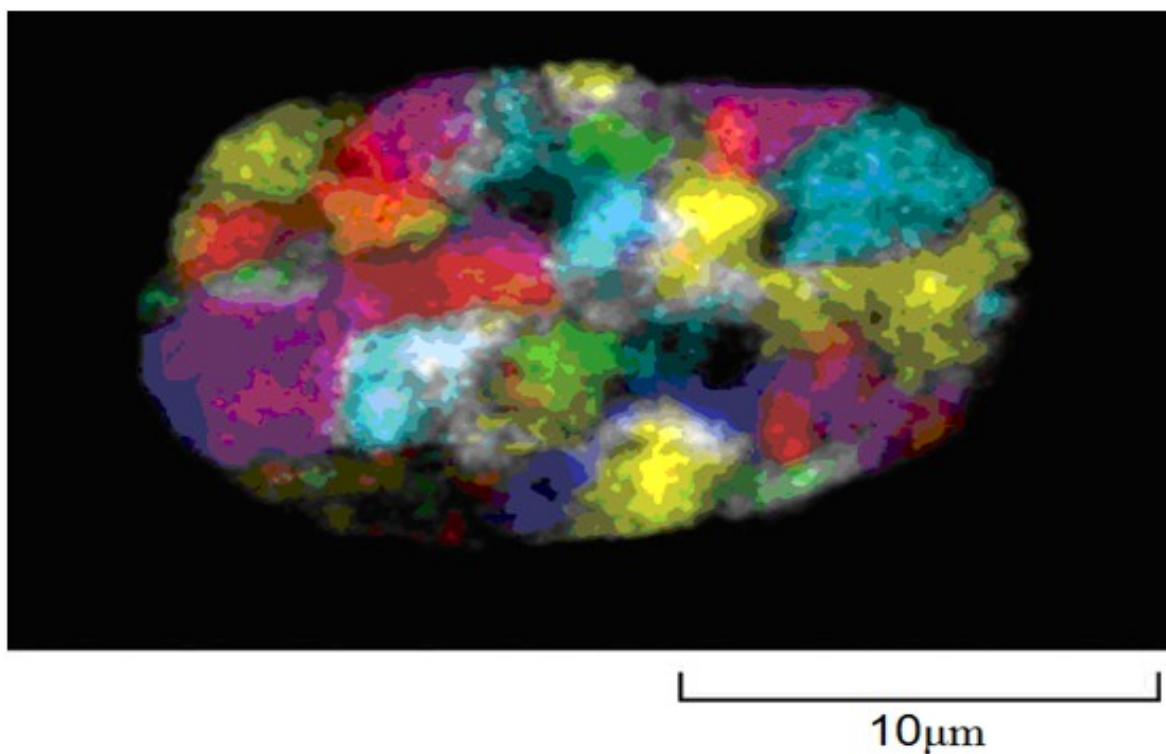


Рис. 1. Территориальная организация интерфазных хромосом в ядре человеческой клетки. Изображение получено с использованием метода флуоресцентной гибридизации FISH. Изображение заимствовано из работы Speicher MR, Carter NP, Nat Rev Genet., 10: 782-792 (2005).

В рамках второго раздела проведен анализ современных представлений полимерной теории о компактных конформациях макромолекул. Подробно описаны структурные и статистические характеристики складчатой и равновесной глобул, проведено сравнение состояний в контексте описания внутриядерных процессов (**рис. 2**).

Показано, что пространственная организация хромосом, наблюдаемая в клетках эукариот, с хорошей точностью соответствует представлениям о складчатой глобуле. Обсуждены способы формирования рассматриваемых структур в рамках численного моделирования, а также в рамках реального эксперимента, обозначены границы применимости и эффективность каждого из методов. Подробно разобраны существующие модели диффузионного движения внутри компактных полимерных конформаций. Подчеркивается, что экспериментальные данные по динамике сегментов хроматина на коротких временных масштабах (от 10^{-2} до 10^0 секунд), полученные с использованием флуоресцентной микроскопии, демонстрируют аномальное диффузионное движение маркированных цепей со скейлинговой экспонентой 0.4 ± 0.04 , что не соответствует существующим моделям движения внутри глобулярных состояний макромолекулы. Для изучения внутримолекулярной диффузии в численном эксперименте в рамках данной работы используется метод диссипативной динамики частиц (Dissipative Particles Dynamic), подробное описание метода приведено в последней части второго раздела.

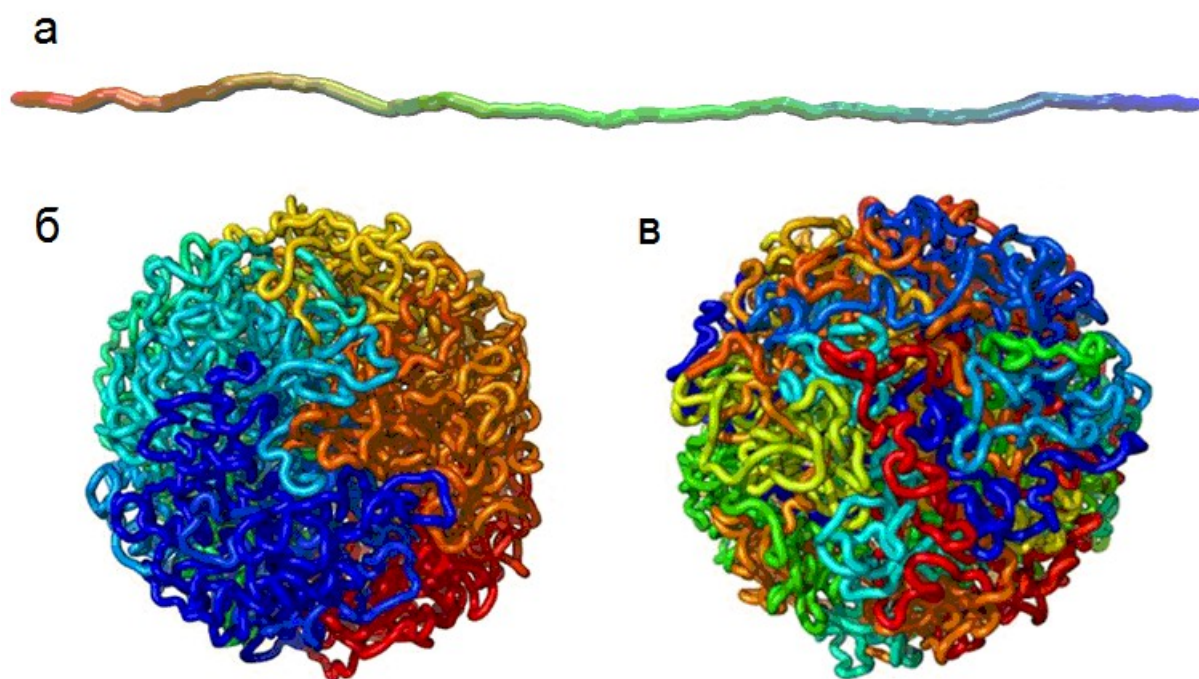


Рис. 2. Иллюстрация визуальных различий в организации доменов глобулярных состояний градиентно окрашенного полимера: (а) схематичное изображение градиентно окрашенной цепи; (б) состояние складчатой глобулы; (в) состояние равновесной глобулы. Иллюстрация заимствована из L.A. Mirny, *Chromosome Res.* 19, 37 (2011).

Во **второй главе** предложена модель, позволяющая описать особенности тонкой структуры карт внутрицепных контактов, полученных методом захвата хромосомной конформации. Экспериментальным результатом, положенным в основу гипотезы о складчатой глобуле как модели пространственной организации хроматина, является

зависимость вероятности контакта между регионами макромолекулы, P , от расстояния между ними вдоль по цепи, n : $P(n) \sim 1/n$. Характеристика получается при анализе матриц внутрицепных контактов, полученных в результате формирования внутрискрученных сшивок пространственно близких элементов хромосом посредством введения в клетку специального набора активных комплексов. Матрица строится таким образом, что индексы строк и столбцов соответствуют участкам макромолекулы, пронумерованным в порядке их следования вдоль по цепи. Каждая ячейка матрицы содержит численное значение вероятности пространственного контакта участков хромосомы, полученное на основе анализа продуктов реакции, вид матрицы показан на **рис. 3(а)** (в цветовом представлении частые контакты соответствуют части спектра близкой к красному цвету). Важно, что матрицы контактов обладают широким набором структурных особенностей, характеризующих пространственную архитектуру хромосом (**рис. 3**), что свидетельствует об устойчивости хромосомной укладки и является богатым источником данных для исследования взаимодействий между удаленными вдоль по цепи элементами генома. Мы выделили три основные особенности тонкой структуры матриц: доменная организация (чередование участков с повышенной и пониженной интенсивностью цвета); иерархическая внутренняя структура таких доменов; а также крупномасштабная компартиментализация (крупная блочная структура) матричных сегментов.

В основу предложенной нами модели легли два базовых предположения: во-первых, состояние, в котором находится исследуемый объект, есть результат иерархической компактизации макромолекулы, о чем говорит структура контактных карт (вид матрицы при конденсации полимера на иерархическом дереве (**рис. 4(а)**) представлен на **рис. 4(б)**); во-вторых, гипотеза о гетерополимерности цепи (взаимодействие мономеров задано на **рис. 4(в,г,д)**), согласно которой мономеры, представляющие из себя сегменты хромосом, по-разному взаимодействуют между собой и распределены вдоль макромолекулы в порядке, сохраняющемся для конкретной хромосомы. Таким образом, гипотеза состоит в том, что наблюдаемые в эксперименте Hi-C карты являются результатом статистического усреднения всех возможных способов иерархической компактизации гетерополимерой цепи с фиксированной мономерной последовательностью (суперпозиция условий гетерополимерности и иерархического складывания представлена на **рис. 4(е,ж)**).

Тонкая структура модельных матриц контактов повторяет особенности экспериментальных Hi-C карт. Конфигурация крупномасштабных блоков сильно зависит от упорядоченности

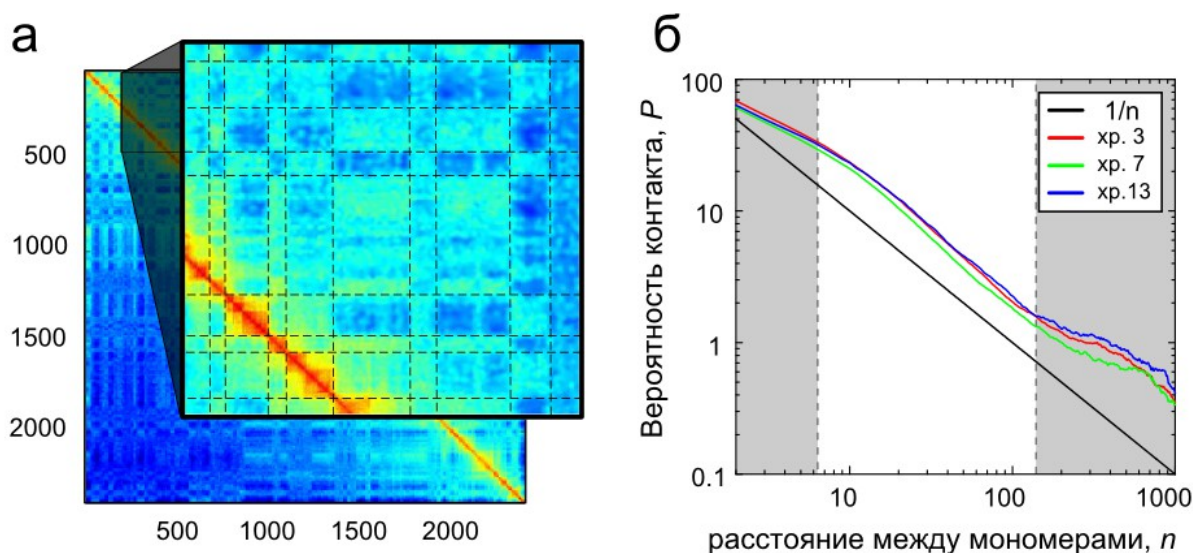


Рис. 3. (а) тонкая структура карты внутрицепных контактов на примере 13 хромосомы человека; (б) уменьшение средней вероятности контакта при удалении от главной диагонали на примере матриц контактов для 3, 7 и 13 хромосом человека.

первичной структуры полимера, при этом уменьшение средней вероятности контакта мономеров с увеличением расстояния между ними вдоль по цепи, n , ведет себя как $\sim 1/n$ независимо от последовательности мономеров. Ясно, что предложенная модель далека от реальной ситуации: число возможных путей конденсации растет линейно с увеличением числа звеньев цепи, в то время как в реальной жизни наблюдается экспоненциальный рост путей складывания, при этом механизм иерархической конденсации учитывает существующую неопределенность структуры упаковки. Однако мы полагаем, что основной результат, заключающийся в появлении тонкой структуры контактных матриц как суперпозиции многих реализаций процесса конденсации с различными статистическими весами, сохранится.

Входными данными модели является первичная структура гетерополимера, а также набор параметров: (i) число подскладок, p , заключенных в складке следующего уровня (параметр является качественно важным, однако не влияет на итоговую структуру карты контактов), (ii) соотношение, u , энергий контакта между мономерами $A-B$ и $A-A / B-B$, и (iii) обратная температура, β , которая регулирует уникальность упаковки.

На **рис. 5(а-в)** приведены примеры матриц контактов, сгенерированные в рамках предложенной модели с различным температурным коэффициентом при фиксированной первичной последовательности. Можно наблюдать последовательную деградацию блокиерархической структуры с увеличением температуры, при этом на **рис. 5(г)** показано, что зависимость усредненная вероятность контакта от контурной длины с хорошей точностью остается пропорциональной $1/n$ и слабо меняется при изменении обратной температуры β .

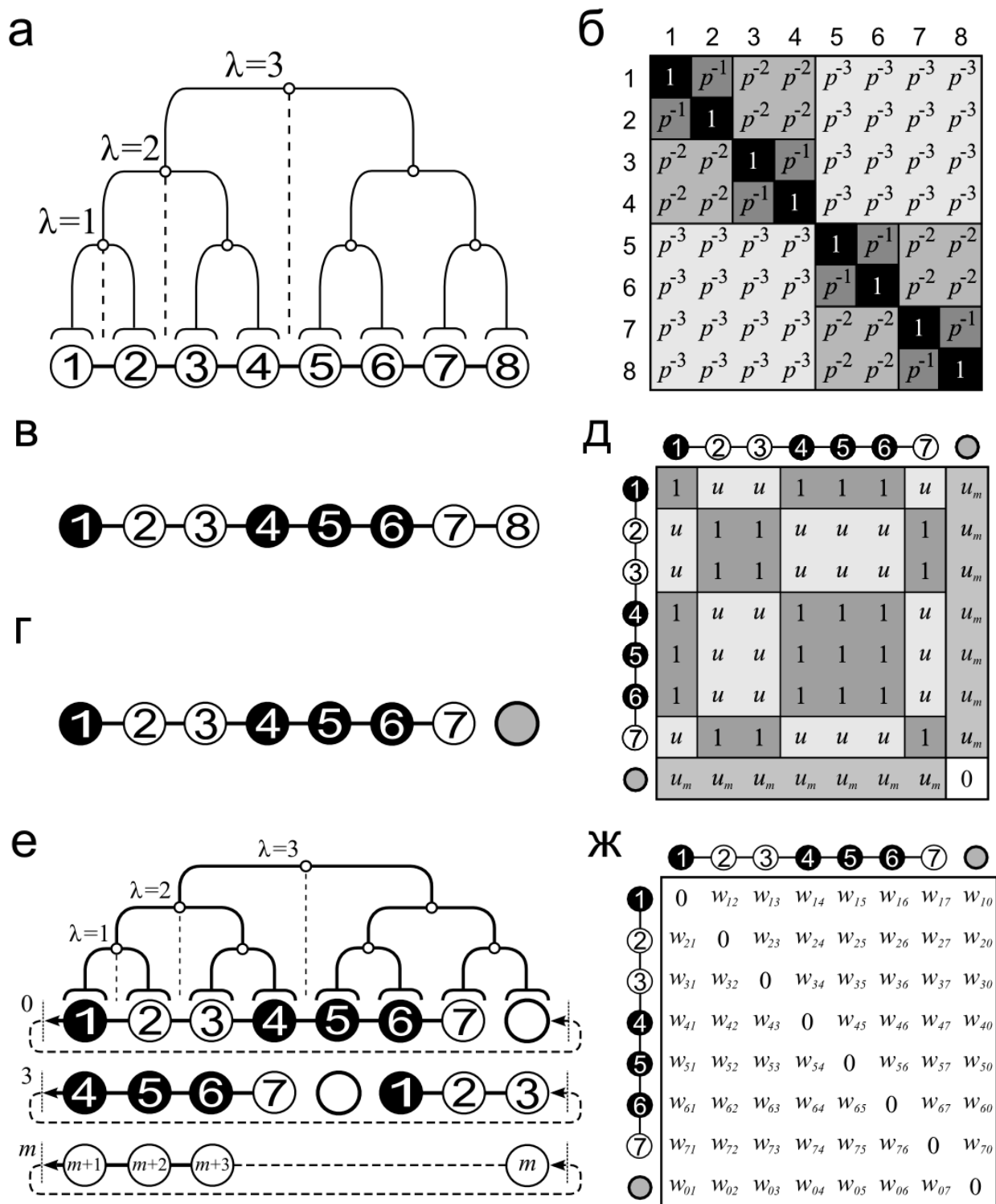


Рис. 4. (а) Модель иерархической конденсации полимера, состоящего из 8 мономеров; (б) блок-иерархическая матрица Паризи для вероятности контакта мономеров в глобуле, полученной в рамках конденсации (а); (в) пример гетерополимера со случайной последовательностью звеньев; (г) гетерополимер, полученный из (в), заменой одного из звеньев на случайный мономер (замена введена с целью учесть контакты цепи с окружающими цепями в расплаве); (д) матрица энергий контактов для структуры, заданной в (г); (е) несколько вариантов конденсации полимера с заданной первичной структурой на иерархическом дереве; (ж) статистические веса контактов между мономерами, полученные суперпозицией матриц (б) и (д).

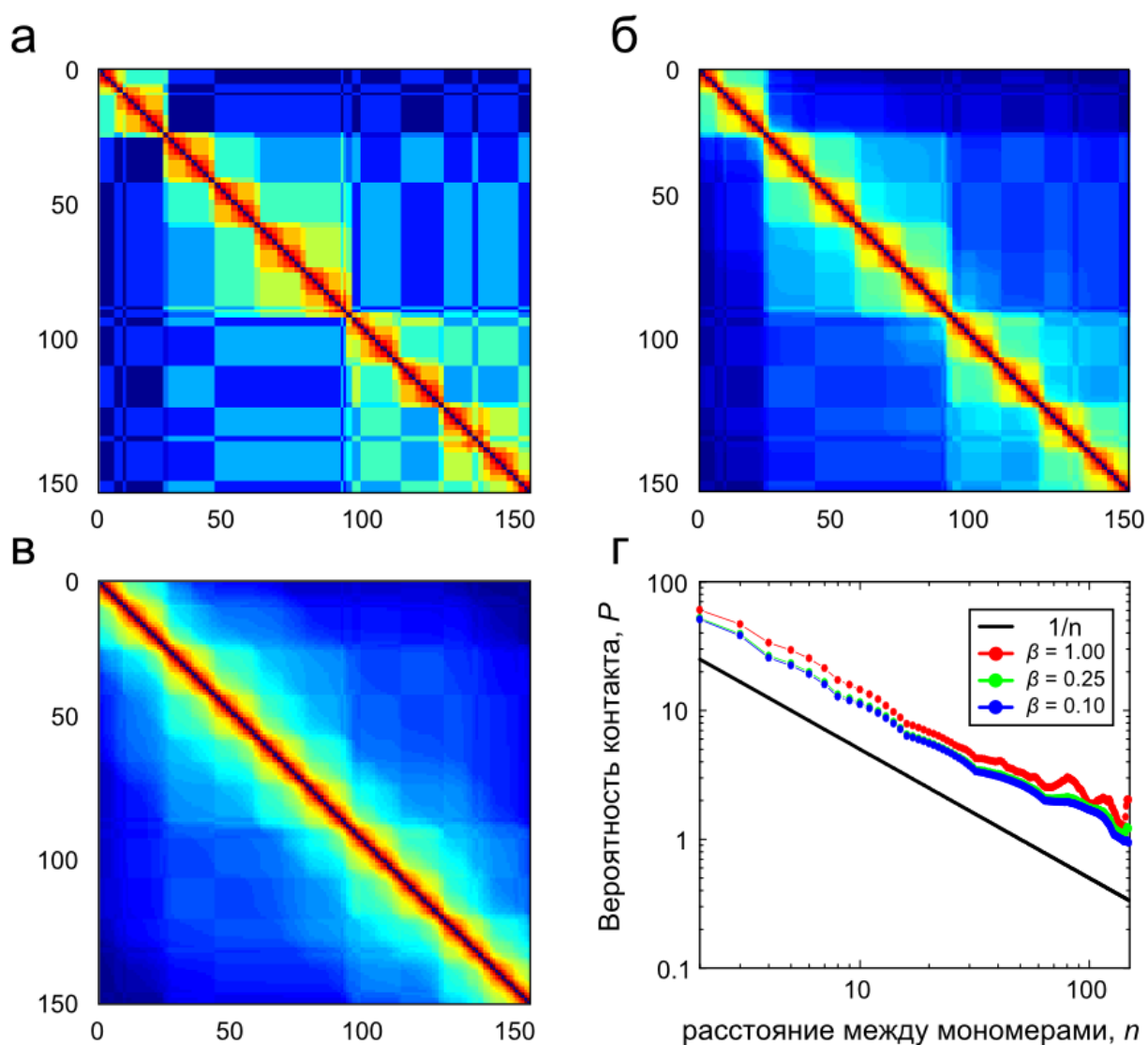


Рис. 5. (а-в) зависимости вероятности контакта для иерархически сколлапсированных складчатых глобул длиной $N=150$ мономеров для различных значений параметра обратной температуры β при фиксированной первичной структуре: $\beta = 1$ (а), $\beta = 0.25$ (б) и $\beta = 0.1$ (в), параметры $u=0.25$, $p=2$ – фиксированы; (г) сравнение среднего спада вероятности контакта для матриц (а-в) с законом $1/n$.

Таким образом, в рамках **второй главы** нами была построена статистическая модель, воспроизводящая основные особенности экспериментальных карт внутривисомных контактов. В основу модели лег процесс иерархической конденсации гетерополимерной структуры. При описании процесса мы опирались на базовые принципы статистической физики неупорядоченных сред, не учитывая специфических биологических деталей. Мы полагаем, что каждая хромосомная конформация представляет из себя иерархическую структуру с уникальной матрицей контактов. Рассматривая ансамбль цепей с одинаковой первичной структурой, но упакованных различными способами, мы получаем усредненную карту контактов, предполагая при этом два возможных сценария: (i) если первичная последовательность гетерополимерной цепи обеспечивает уникальный первичный фолдинг, то на итоговой Hi-C карте четко видна иерархическая структура,

однако (ii) если первичная структура не определяет первичный фолдинг – блокиерархическая структура Hi-C карт смазывается. Важную роль играет первичная структура цепи, так как различные пути конденсации в рамках модели имеют различные статистические веса. Кроме того, видно, что в предложенной нами модели четко выражена глобальная компартментализация. Это связано с тем, что изменение позиции крупных складок имеет наибольший энергетический барьер, то есть, иерархическая компартментализация хромосом на крупномасштабные домены, наблюдаемая на экспериментальных картах, обеспечивается коллективным эффектом от взаимодействия между мономерами на самых низких пространственных масштабах.

В **третьей главе** представлены разработанные нами методы получения компактных состояний полимерной цепи. В разделе 3.2.1. предложен метод конформационно-зависимого синтеза складчатой глобулы как траектории дискретного случайного блуждания по объемной кубической решетке. На каждом шаге блуждатель выбирает позицию из шести соседних узлов решетки, соблюдая следующие правила:

- ни один узел не может быть посещен дважды (условие исключенного объема)
- вероятность посетить i -ый узел определяется как
 - $P_i = \alpha + 1$, если хотя бы один соседний узел был посещен ранее
 - $P_i = \alpha$, соседние узлы, кроме предыдущего шага, посещены не были

Алгоритм позволяет блуждателю прилипнуть к собственному следу, имея некоторую наперед заданную вероятность α , отделиться от него. Схематично шаг алгоритма приведен на **рис. 6(а)**. При малых значениях параметра α ($\alpha < 0.001$) статистические характеристики получаемых структур оказываются близки к теоретическим представлениям о складчатой глобуле. Из **рис. 7(а)** видно, что в широком диапазоне масштабов (от 10^1 до 10^4 мономеров) рост среднего квадрата пространственного расстояния между мономерами, $\langle R^2 \rangle$, с увеличением расстояния между ними вдоль по цепи, N , с хорошей точностью описывается следующим законом $\langle R^2 \rangle \sim n^{2/3}$, что демонстрирует компактность структуры, и, согласно теоретическим представлениям, характерно для складчатой глобулы.

Зависимость средней вероятности пространственного контакта двух звеньев, P , от расстояния между ними вдоль по цепи, n , как видно из **рис. 7(б)** также имеет характер близкий к теоретическим представлениям $P \sim n^{-1.1}$, похожая зависимость была определена в эксперименте при анализе реальных карт хромосомных контактов $P \sim n^{-1.10 \dots 1.19}$. Таким образом, показано, что метод конформационно-зависимого синтеза представляет из себя эффективный способ рекуррентной генерации полимерных систем (размером более 1 млн.

мономеров), по свойствам близких к складчатой глобуле, что позволяет исследовать свойства фрактальной упаковки в численном эксперименте.

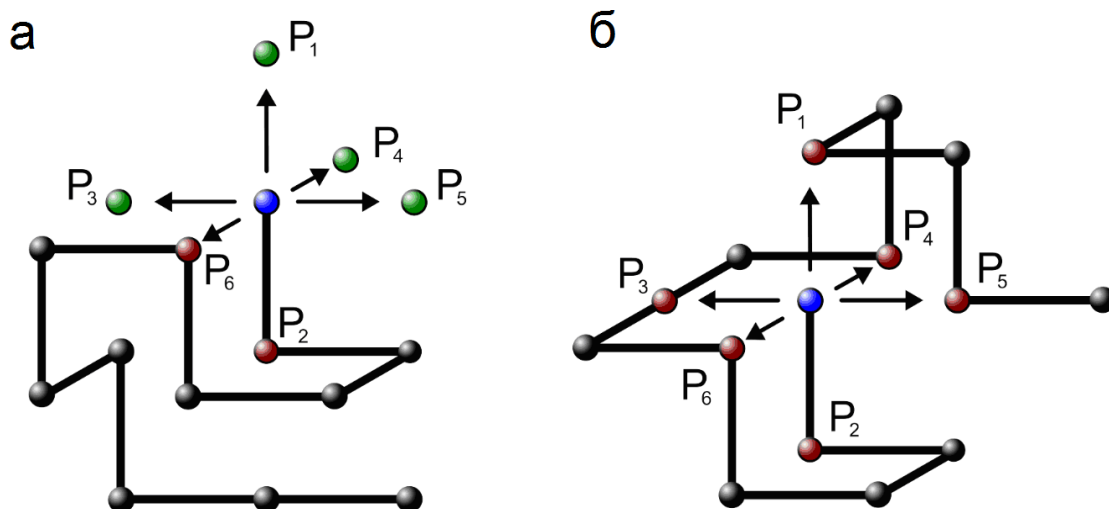


Рис. 6. Алгоритм построения складчатой глобулы методом конформационно зависимого синтеза: (а) выбор шага блуждателя в процессе рекуррентного построения структуры; (б) случай записания блуждателя, при получении которого требуется изменить направление предыдущего выбранного шага.

Оценка степени заузленности складчатой конформации, построенной с использованием разработанной методики, и равновесной глобулой, полученной методом случайного блуждания в сфере с отражающими граничными условиями, показала, что с ростом длины цепи заузленность складчатой структуры растет гораздо медленнее равновесной, что соответствует качественным ожиданиям от складчато-глобулярной структуры (рис. 8).

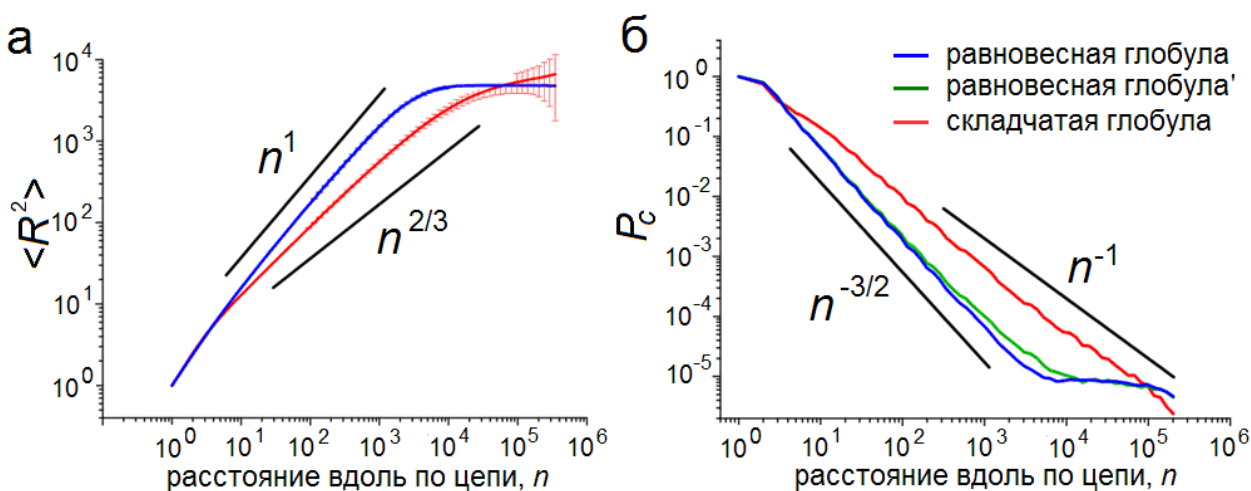


Рис. 7. Статистические характеристики глобулярных состояний полимерной цепи: (а) зависимость среднего квадрата расстояния между звеньями в пространстве от расстояния вдоль по цепи, $\langle R^2 \rangle(n)$; (б) зависимость средней вероятности контакта звеньев от расстояния между ними вдоль по цепи $P(n)$.

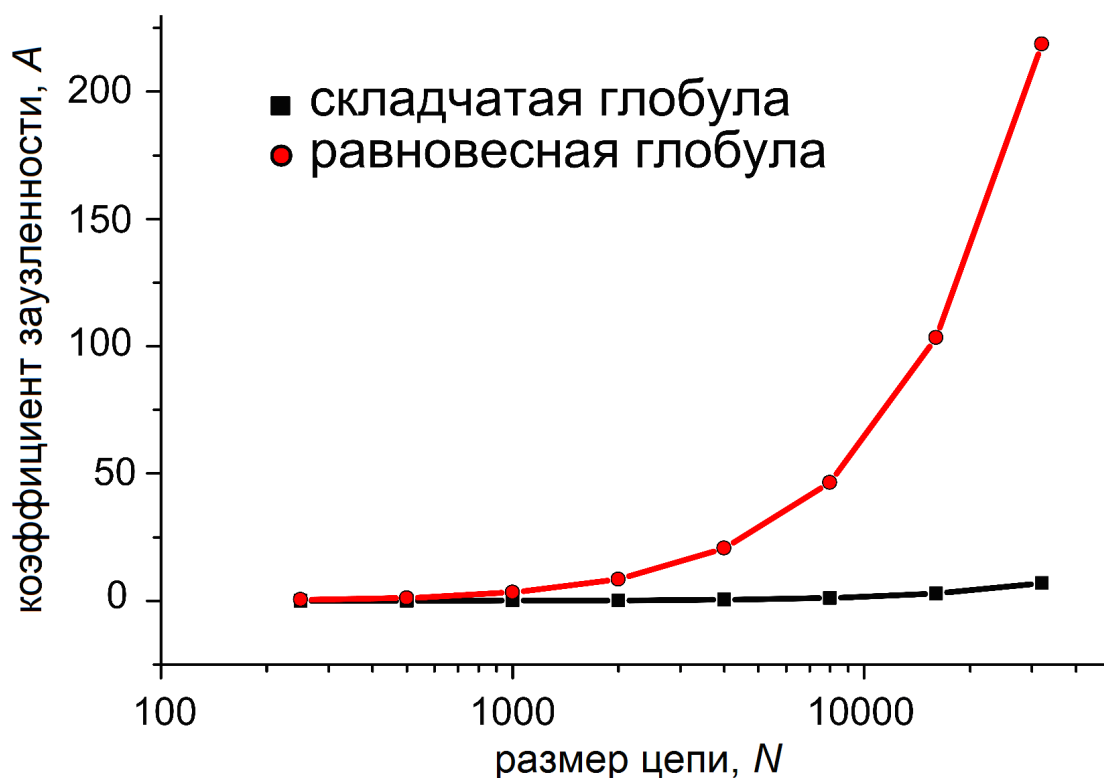


Рис. 8. Зависимость коэффициента заузленности, A , от числа мономеров в цепи, N : в конформации равновесной глобулы (красные точки) и в конформации складчатой глобулы (черные точки). Для определения заузленности системы был использован алгоритм, базирующийся на вычислении полиномов Александера.

В рамках **четвертой главы** работы предложена скейлинговая теория, позволяющая описать характер диффузионного движения в полимерной структуре произвольной фрактальной размерности. Показано, что количественные характеристики динамики сегментов хроматина, наблюдаемые экспериментально, соответствуют диффузионному режиму движения субцепей в складчатой глобуле.

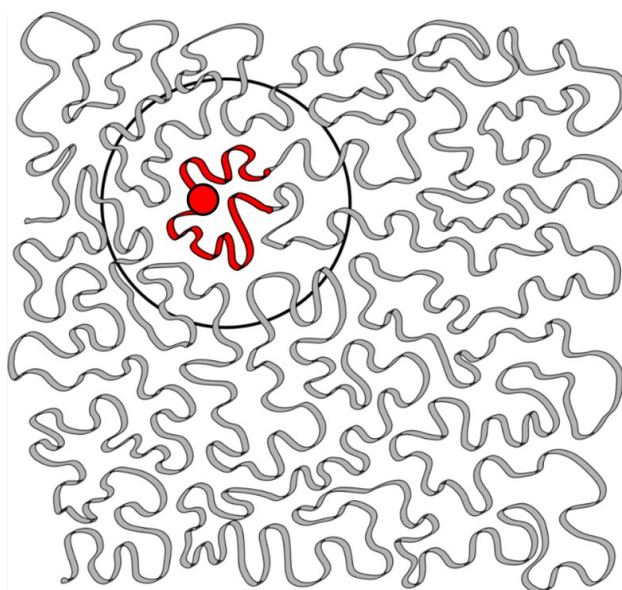


Рис. 9. Модель диффузии в компактной полимерной структуре: элементарное смещение мономера (красный круг) приводит в движение соседние звенья (красный сегмент). Таким образом, структура упаковки системы определяет число мономеров, вовлеченных в движение инициированное смещением отдельного звена, и влияет на коэффициент диффузии этого звена. В рамках предложенной теории на движение мономера влияют только соседние вдоль по цепи звенья (когда смещение текущего звена становится близким по величине к пространственному расстоянию до них, определяемому фрактальной размерностью упаковки).

Смещение отдельного мономера создает волну возмущения, передающуюся на соседние в пространстве звенья. С увеличением амплитуды смещения звена количество соседей, вовлеченных в движение, возрастает (**рис. 9**). Тогда коэффициент диффузии, при условии одинакового трения мономеров о соседние звенья и растворитель, обратно пропорционален числу вовлеченных в движение звеньев, которое, в свою очередь, зависит от структуры упаковки полимера и определяется фрактальной размерностью системы как:

$$N \sim R^{d_f},$$

Такая оценка приводит к зависимости среднего квадрата смещения звена от времени, характер которой задается фрактально размерностью упаковки:

$$\langle (\Delta R)^2 \rangle \sim t^{2/(2+d_f)}.$$

Модель не учитывает топологических зацеплений между доменами структуры, что приводит к отсутствию рептационного движения. Результат является обобщением модели Рауза на системы произвольной фрактальной размерности.

Применяя полученное соотношение к складчатой глобуле, для которой $d_f = 3$, получим следующий диффузионный режим на временных масштабах, соответствующих раузовскому движению участка цепи

$$\langle (\Delta R)^2 \rangle \sim t^{2/5}.$$

Для равновесной глобулы ($d_f = 2$) полученное скейлинговое соотношение имеет вид

$$\langle (\Delta R)^2 \rangle \sim t^{1/2},$$

и повторяет хорошо известный результат, соответствующий режиму рептационного проползания цепи вдоль эффективной трубки топологических зацеплений. Принимая в расчет форму трубки, получаем, что в реальных полимерных системах, диффузионный режим движения звена равновесной глобулы имеет вид

$$\langle (\Delta R)^2 \rangle \sim t^{1/4},$$

Проверка результатов скейлинговой теории в численном эксперименте осуществлялась с помощью DPD-метода моделирования диффузии плотных полимерных систем. Были выбраны системы размером в $N = 2^{18} = 262144$ мономера, при средней длине заузливания $N_e \approx 50$ звеньев. Для столь длинных цепей время уравнивания системы оказывается недостижимым в рамках настоящего эксперимента, что дает возможность рассматривать состояние складчатой глобулы как стабильное на временах моделирования.

Моделирование диффузии проведено для мономеров в структурах складчатой глобулы ($d_f = 3$) и равновесной глобулы (последнюю на исследуемых временных масштабах можно рассматривать как расплав идеальных субцепей с $d_f = 2$ и сильными

топологическими зацеплениями). Исключение влияния эффекта начального состояния на результаты моделирования было достигнуто за счет длительного уравнивания систем, а также использования нескольких стартовых состояний, топологически соответствующих складчатой глобуле (пространство-заполняющей кривой Мура, состоящий из 6^{ти} иерархических уровней, и структура, полученная методом конформационно-зависимого синтеза, описанного в главе 3). Равновесная глобула была получена методом передачи цепи, описанным в предыдущей главе, из пространство-заполняющей кривой Мура (проведено 50 000 шагов метода). Перед началом моделирования, исследуемые структуры уравнивались в течение времени, равного времени моделирования. Моделирование проводилось с использованием кластера «Ломоносов». Линейные размеры кубического объема составили 44x44x44 элементарных единиц длины. На поверхности куба действовали периодические граничные условия. Входные параметры были заданы следующим образом: плотность упаковки задана как $c = 3$, максимальный отталкивающий потенциал $a_{ij} = 150$, равновесная длина связи составила $r_0 = 0.5$, жесткость связи $k = 150$. Структуры были уравновешены в течении $\tau_a = 3.2 \cdot 10^7$ шагов моделирования. Статистические свойства равновесной глобулы и глобулы, полученной методом конформационно-зависимого синтеза, не изменились (**рис. 11(а,в,г,е)**), в то время как структура кривой Мура претерпела значительные изменения, связанные с разрушением доменных стенок (**рис. 11(б,д)**). Интересно заметить, что структура, к которой эволюционирует пространство-заполняющая кривая, по статистическим свойствам близка к складчатой глобуле, построенной методом конформационно-зависимого синтеза.

На **рис. 10**. показана эволюция домена размером 1000 мономеров в каждой из исследуемых в динамическом моделировании структур. Видно, что за время симуляции домены складчатой глобулы успевают незначительно проникнуть в соседний объем (**рис. 10(г,ж)**). Сегмент равновесной глобулы, представляющий из себя случайное блуждание, изменяет локальную структуру, сохраняя крупномасштабную траекторию (**рис. 10(е,и)**).

Результаты численного моделирования представлен на графике **рис. 12**. Видно, что на $\tau_m = 3.2 \cdot 10^7$ шагах моделирования закон изменения среднего квадрата смещения мономера, усредненный по ансамблю, имеет степенной вид $\langle (\Delta R)^2 \rangle \sim t^\alpha$, где α зависит от стартовой структуры следующим образом:

$$\alpha_F = 0.374 \pm 0.008, \text{ для складчатой глобулы } (d_f = 3)$$

$$\alpha_H = 0.381 \pm 0.006, \text{ для кривой Гильберта } (d_f = 3)$$

$$\alpha_E = 0.247 \pm 0.011, \text{ для равновесной глобулы } (d_f = 2)$$

Сопоставление результатов моделирования с предсказаниями предложенной в текущей работе скейлинговой теории показало, что диффузионный режим движения в равновесной глобуле в рамках погрешности совпадает с $\alpha_E = 0.25$, ($d_f = 2$). Характер движения в структурах с фрактальной размерностью $d_f = 3$ близок к значению, полученному теоретически, $\alpha_{F/H} = 0.4$.

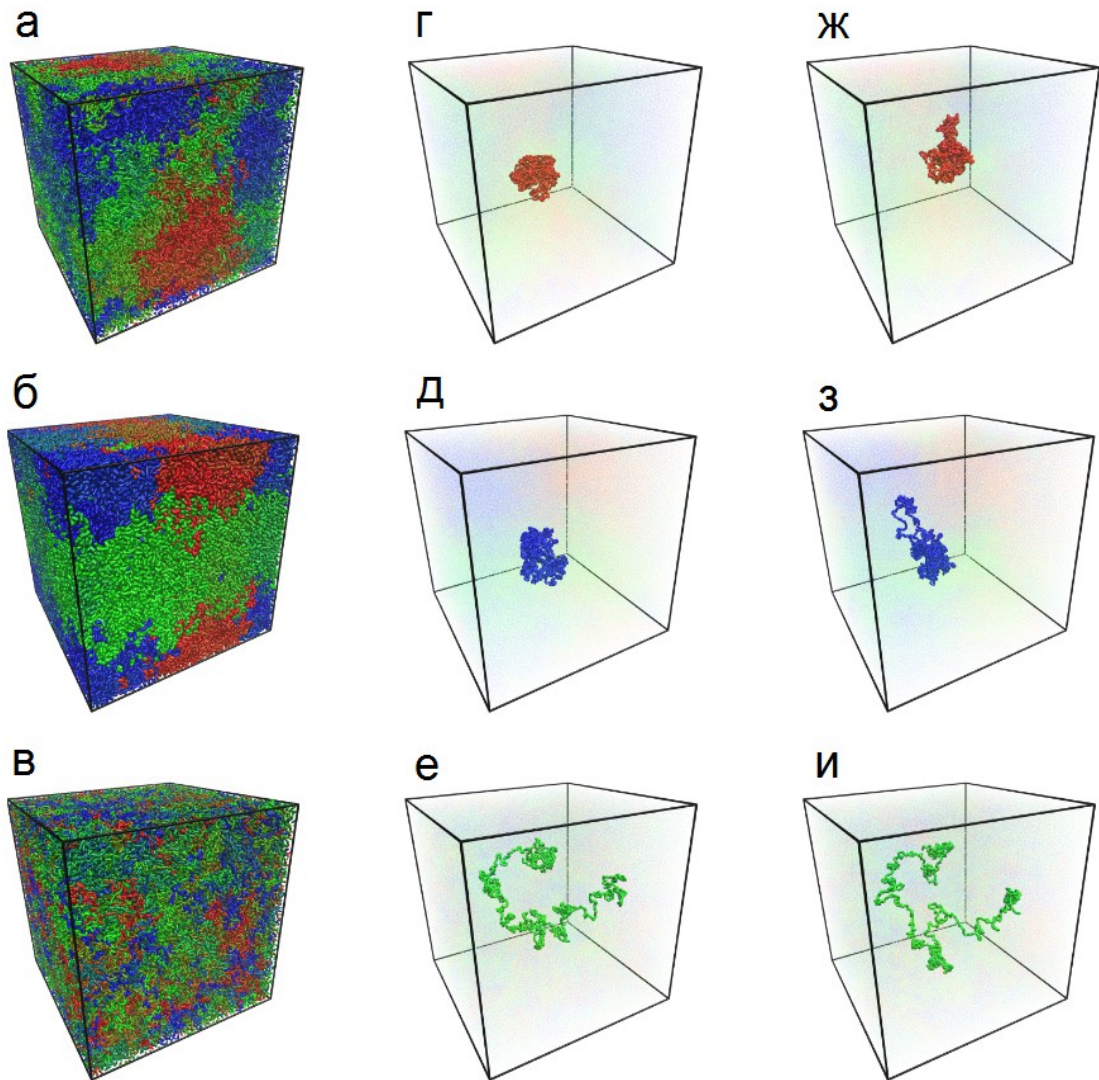


Рис. 10. Эволюция стартовых состояний (а,б,в) в рамках DPD-моделирования на примере сегментов цепей длины 1000 звеньев: (г,ж) – домен складчатой глобулы (а); (д,з) – домен кривой Мура (б); (е,и) – домен равновесной глобулы (в).

Таким образом, в четвертой главе впервые теоретически получен закон, описывающий динамику сегментов цепи, упакованной в структуру складчатой глобулы, согласно которому средний квадрат смещения мономера зависит от времени по закону $\langle(\Delta R)^2\rangle \sim t^{0.4}$. Необходимо подчеркнуть, что результат согласуется с экспериментально наблюдаемым диффузионным режимом движения теломер в живой клетке $\sim t^{0.4 \pm 0.04}$.

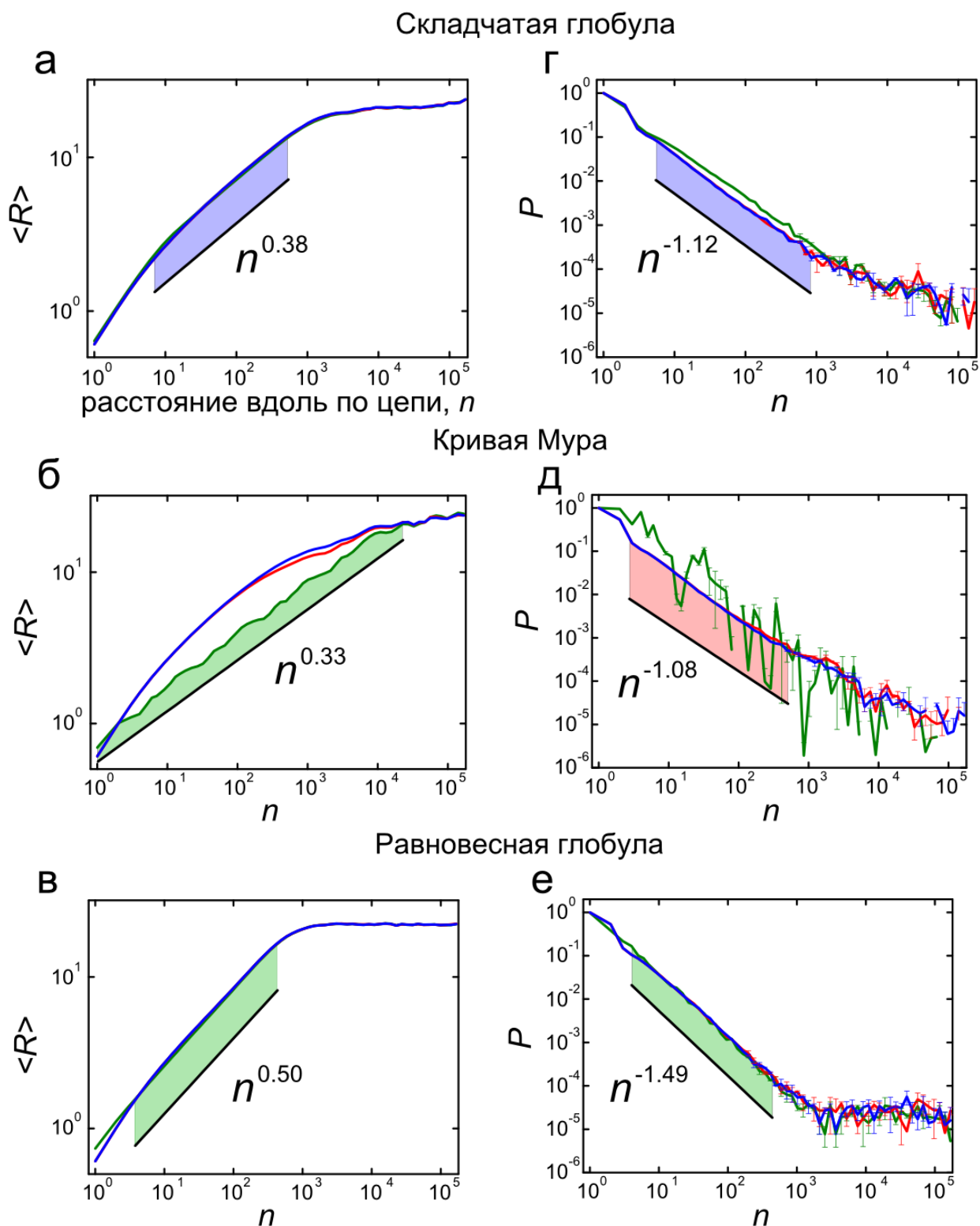


Рис. 11. Эволюция статистических характеристик глобулярных структур в динамическом моделировании DPD-методом: складчатой глобулы (а, г), пространственно-заполняющей кривой Мура (б, д) и равновесной глобулы (в, е). На рисунках (а-в) изображены зависимости среднего пространственного расстояния между звеньями, $\langle R(n) \rangle$, от расстояния между ними вдоль по цепи, n ; на (г-е) изображены зависимости средней вероятности контакта между двумя мономерами, P , при увеличении расстояния между ними вдоль по цепи, n . Зеленым цветом обозначены характеристики стартовых конформаций, красным цветом — отождествленных конформаций, синим цветом — конформаций, полученных на конец моделирования.

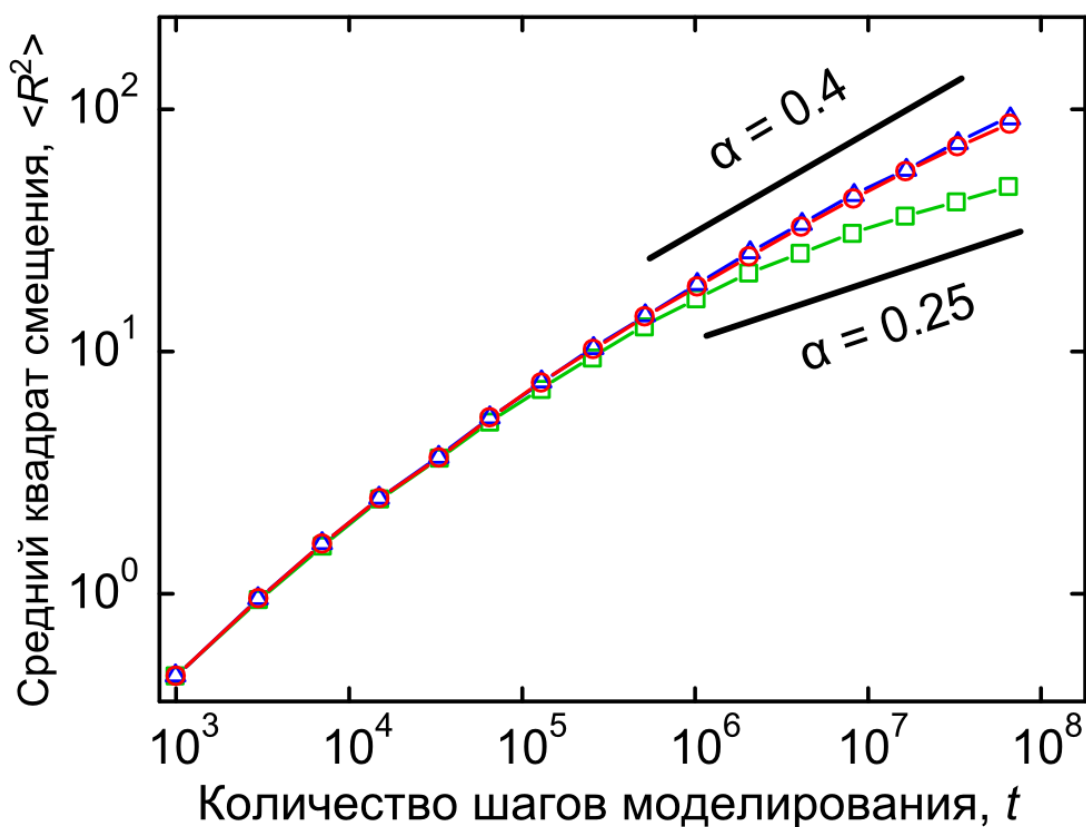


Рис. 12. Зависимость среднего квадрата смещения мономера от времени в DPD-моделировании. Стартовые структуры: складчатая глобула (красные круги), кривая Мура (синие треугольники), равновесная глобула (зеленые квадраты).

В пятой главе предложена модель пошаговой упаковки сополимера на одномерной подложке с короткодействующими взаимодействиями. Модель базируется на локальных правилах конденсации цепи, которые приводят к организации итоговой структуры как целого. Нам удалось редуцировать модель складывания к случайному блужданию по одномерной подложке с набором подвижных дефектов, что позволило получить количественные оценки статистических свойств процесса упаковки.

Модель задана следующим образом: рассмотрим гетерополимер, состоящий из N звеньев (типов A и B), и одномерную подложку, состоящую из таких же звеньев, распределенных вдоль нее случайным образом. Взаимодействие звеньев одного типа $A-A$ и $B-B$ считаем выгодным (нет прироста энергии $\Delta E=0$), взаимодействие разных типов звеньев $A-B$ считаем невыгодным (единичный прирост $\Delta E=1$). Алгоритм конденсации состоит в последовательном добавлении звеньев на подложку: первое звено ложится на произвольную позицию ($x_0 = 0$) и задает случайное направление, куда может быть помещен второй мономер; правила добавления следующих звеньев описаны на **рис. 13**.

Для количественного описания процесса рассмотрена зависимость средней энергии системы от числа звеньев адсорбируемой цепи. Если проанализировать итоговое состояние на **рис. 14(б)**, видно, что оно представляет чередующиеся типы субъединиц ...-A-B-A-B-.... Ясно, что на подложке, с жестким порядком чередования звеньев, цепь с любой последовательностью мономеров будет упакована без энергетических потерь и, соответственно, изменения состава верхнего слоя.

Далее приводится теоретическая оценка характеристик системы. Подложка рассматривается как набор свободных позиций и дефектов, как показано на **рис. 15(а)**, что статистически эквивалентно перемещению доменных стенок, инициированному случайным блуждателем, то есть процессу складывания гетерополимера поставлен в соответствие процесс случайного блуждания по прямой с дефектами, попадание на которые вносит единичный вклад в полную энергию системы, а также приводит к смещению дефекта вдоль подложки **рис. 15(б)**. Возвращаясь к исходной модели упаковки, можно видеть, что встреча таких дефектов с конечной вероятностью приводит к их взаимному исчезновению.

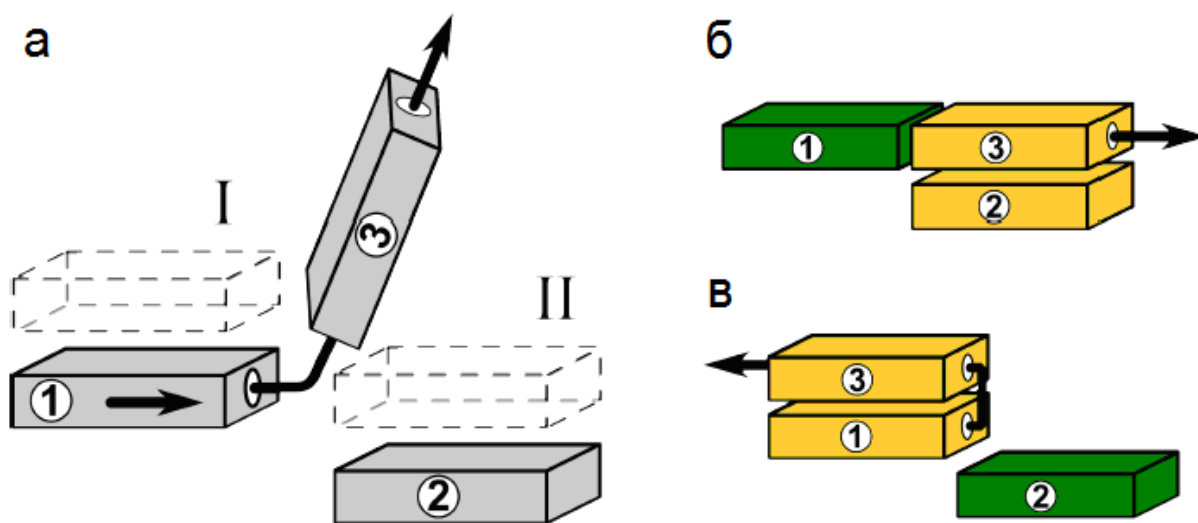


Рис. 13. Выбор шага упаковки. (а) показаны два варианта, I и II, расположения нового мономера 3 на мономерах 1 и 2. Выбор определяется взаимодействием мономеров: (б) случай, когда взаимодействие мономеров 3 и 2 энергетически выгоднее взаимодействия 3 и 1; (в) случай, когда взаимодействие мономеров 3 и 1 энергетически выгоднее взаимодействия 3 и 2. В случае, когда взаимодействия мономеров 3 и 1 эквивалентно взаимодействию 3 и 2 – выбор позиции мономера 3 определяется случайным образом.

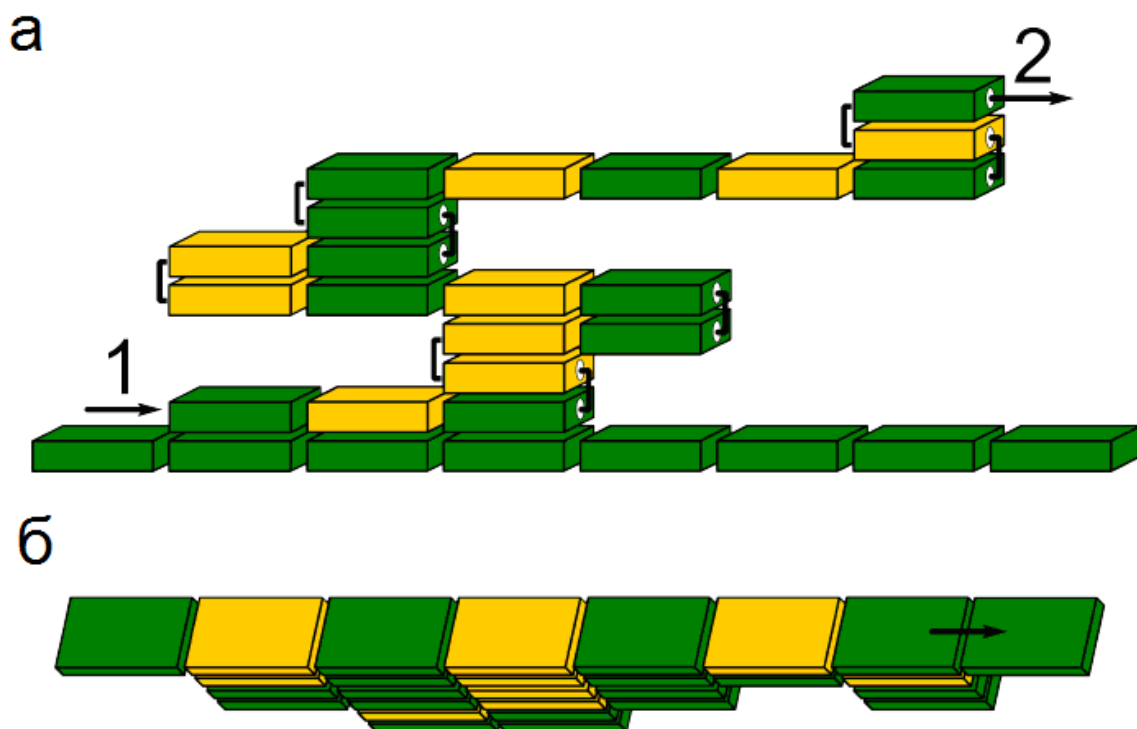


Рис. 14. Пример упаковки гетерополимера из 20^{th} звеньев на одномерную подложку: (а) иллюстрация структуры, показывающая выбор направления на каждом шаге; (б) проекция итоговой упаковки на подложку.

Если рассмотреть смещение отдельно взятого дефекта, его средний квадрат будет иметь вид $\langle x^2(m) \rangle \sim m$, где m – количество его элементарных перемещений. Каждое из перемещений может быть инициировано при прохождении блуждателя через дефект, то есть, в случае одномерного блуждания, $m \sim t^{1/2}$, на больших t . Тогда смещение дефекта будет зависеть от времени блуждания как $\langle x^2(m) \rangle \sim m \sim t^{1/2}$.

Каждый раз, когда блуждатель проходит через дефект, энергия системы увеличивается на единицу с вероятностью $1/2$. Таким образом, блуждание можно рассматривать как совокупность двух составляющих: 1) перемещение по уже посещенной части подложки; 2) перемещение новых позиций. Учитывая, что размер посещенной блуждателем области растет как $\sim t^{1/2}$, можно оценить характер прироста энергии за счет шагов внутри посещенной территории и за счет шагов, расширяющих её границы. Мы показали, что на больших временах основной вклад в энергию системы вносит блуждание внутри посещенной территории, который при $t \rightarrow \infty$ имеет вид $\langle E \rangle \sim N^{3/4}$. Именно такой прирост энергии можно наблюдать в численном эксперименте **рис. 16(б)**.

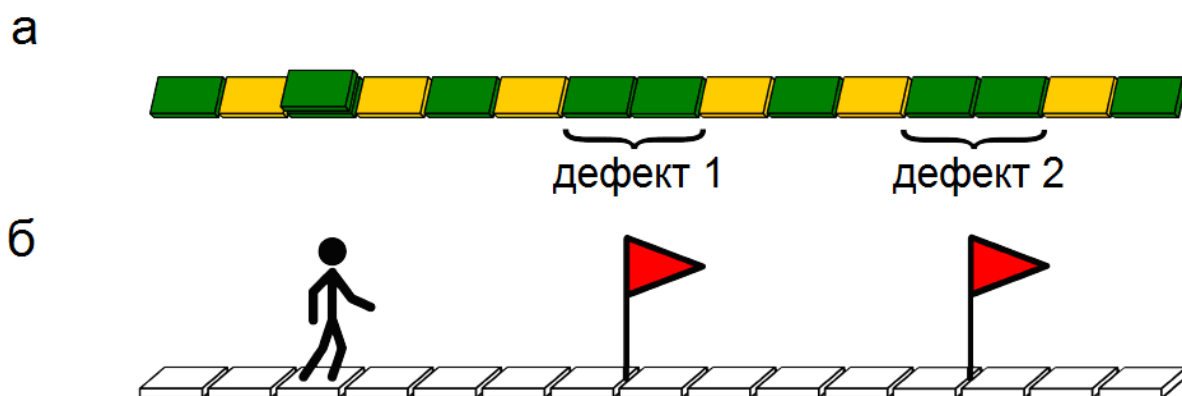


Рис. 15. Переход от модели конденсации полимера к статистически эквивалентной модели сливающихся дефектов, перемещаемых одним случайным блуждателем.

Таким образом, в **пятой главе** введена качественно новая модель одномерной конденсации диблок-сополимера с локальными правилами, приводящими к глобальной самоорганизации структуры. Представлена теория, позволяющая описать anomальное поведение характеристик системы. Модель обладает рядом особенностей, которые могут быть интересны в функциональном плане, например, позволяет однозначно определить объемную структуру гетерополимера заданием первичной последовательности. Подобная картина может иллюстрировать некоторые биологические процессы, например, пространственную компактизацию белков и укладку РНК в вирусный капсид.

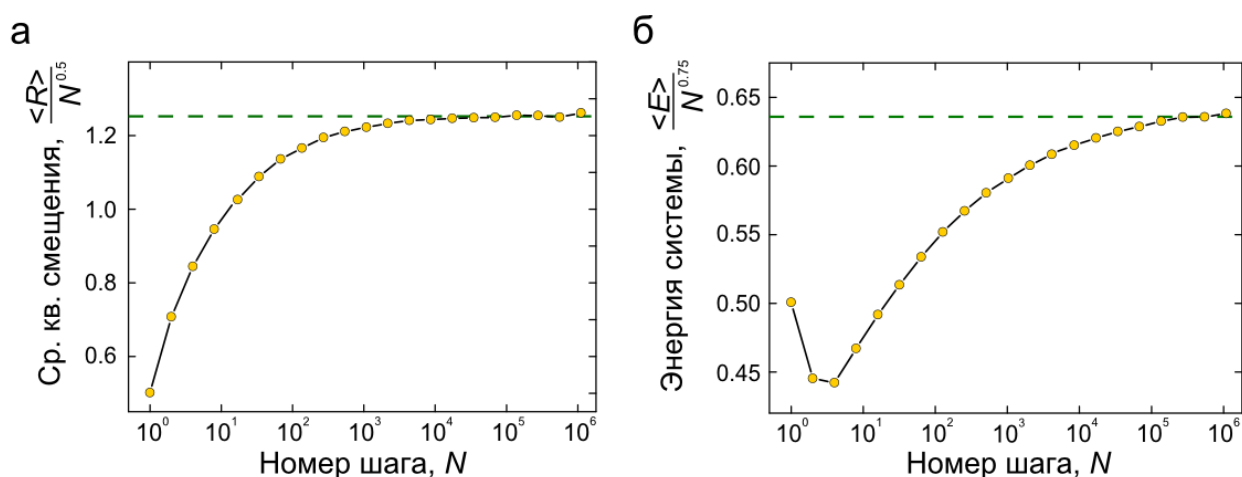


Рис. 16. Статистические характеристики модели: (а) зависимость корня из среднего квадрата смещения случайного блуждания от номера шага, $\langle R(N) \rangle$, нормированная на $N^{1/2}$; (б) зависимость среднего прироста энергии системы от номера шага, $\langle E(N) \rangle$, нормированная на $N^{3/4}$.

В **Заключении** представлены основные результаты и выводы работы:

1. Предложена модель иерархической конденсации гетерополимера, позволяющая объяснить особенности, наблюдаемые на экспериментальных картах внутрицепных контактов эукариотических хромосом. В рамках предложенной модели показано, что первичная структура существенно влияет на организацию компактного состояния и способна порождать в нем крупномасштабные неоднородности пространственной организации, наблюдаемые в реальных клетках.
2. Разработан и исследован эффективный метод генерации компактных конформаций макромолекулы со статистическими характеристиками близкими к состоянию складчатой глобулы. Было продемонстрировано, что итоговые структуры незаузлены и стабильны в динамических симуляциях в широком временном диапазоне.
3. Предложен рекуррентный алгоритм генерации расплавов равновесных глобул, основанный на пошаговом перемещении субцепей вдоль макромолекулы. Применение алгоритма к пространство-заполняющим кривым позволяет получать системы по статистическим характеристикам идентичные равновесному глобулярному состоянию с равномерной по объему плотностью.
4. Построена качественно новая скейлинговая теория, описывающая диффузионное движение в полимерных структурах произвольной фрактальной размерности. Результаты теории подтверждены масштабным компьютерным моделированием полимерных расплавов с использованием метода DPD. Был теоретически предсказан режим диффузионного движения в складчатой глобуле $\langle (\Delta R)^2 \rangle \sim t^{2/5}$. Оценка была подтверждена численным счетом, а также наблюдалась экспериментально.
5. Показано, что режим диффузионного движения, наблюдаемый для субцепей хромосом в реальных клеточных ядрах с использованием флуоресцентной микроскопии, с хорошей точностью совпадает с предсказанной нами динамикой мономеров в складчатой глобуле, что является еще одним доказательством теории о фрактальной упаковке хроматина.
6. Предложена методика спектрального анализа матриц связности компактных полимерных структур, позволяющая определять конформацию полимерной цепи на основе матрицы контактов.
7. Разработана модель одномерной конденсации диблок-сополимера с локальными правилами, приводящими к самоорганизации системы как целого. Построена теория, объясняющая anomalous поведение характеристик системы. Модель может быть применена для описания упаковки генетического материала в вирусный капсид.

Список публикаций по теме диссертации:

1. Nazarov L.I., Tamm M.V., Nechaev S.K.. Lamplighter model of a random copolymer adsorption on a line, Condensed Matter Physics, Institute for Condensed Matter Physics (Ukraine), 2014, vol. 17, No. 3, p. 33002:1-8
2. Nazarov L., Tamm M., Avetisov V., Nechaev S.K.. Statistical model of intra-chromosome contact maps, Soft Matter, Royal Society of Chemistry (United Kingdom) 2015, vol. 11, 1019-1025
3. Tamm M.V., Nazarov L.I., Gavrilov A.A., Chertovich A.V.. Anomalous Diffusion in Fractal Globules, Physical Review Letters, American Physical Society (United States), 2015, vol. 114, Iss. 17, c. 178102
4. Moscalets A.P., Nazarov L.I., Tamm M.V., Towards a robust algorithm to determine topological domains from colocalization data, AIMS Biophysics, American Institute of Mathematical Science (United States), 2015, vol. 2, Iss.4, c. 503-516
5. Nazarov L.I., Tamm M.V., Nechaev S.K., Avetisov V.A., “Statistical theory of the fine structure of the Hi-C maps”, Dynamics in Crowded Systems, Potsdam, Germany, October 2013
6. Tamm M.V., Nazarov L.I., Chertovich A.V., Gavrilov A.A., “On the dynamics of fractal globule state”, Dynamics in Crowded Systems, Potsdam, Germany, October 2013
7. Назаров Л.И., Гаврилов А.А., Чертович А.В., Тамм М.В., Аномальная диффузия в складчатой (фрактальной) глобуле и динамика диффузионно-лимитированной реакции в хроматине, Шестая Всероссийская Каргинская Конференция «Полимеры — 2014», Москва, Россия, 2014
8. Tamm M.V., Nazarov L.I., Gavrilov A.A., Chertovich A.V., “Subdiffusive dynamics in fractal polymer globules”, Advanced Workshop on Interdisciplinary Views on Chromosome Structure and Function, Trieste, Italy, 2014
9. Nazarov L.I., Tamm M.V., Gavrilov A.A., Chertovich A.V., “Subdiffusive dynamics in fractal polymer globules”, Condensed Matter in Paris CMD25-JMC14, Paris, France, 2014
10. Tamm M.V., Nazarov L.I., Gavrilov A.A., Chertovich A.V., “Subdiffusive dynamics in fractal polymer globules”, MACRO-2014, Chiang Mai, Thailand, 2014
11. Tamm M.V., Nazarov L.I., Avetisov V.A., Nechaev S.K., “Statistical model of intra-chromosome contact maps”, Advanced Workshop on Interdisciplinary Views on Chromosome Structure and Function, Trieste, Italy, 2014
12. Nazarov L.I., Nechaev S.K., Tamm M.V., “Fractal globules prepared by conformation-dependent polymerization”, MACRO-2014, Chiang Mai, Thailand, 2014
13. Tamm M.V., Nazarov L.I., Gavrilov A.A., Chertovich A.V. “Anomalous diffusion in fractal polymer globules”, Quantitative Methods in Gene Regulation III, Cambridge, UK, 2015.