ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ "МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ М.В. ЛОМОНОСОВА"

На правах рукописи

Кос Павел Игоревич

Структура компактных конформаций линейных полимерных цепей

02.00.06 – Высокомолекулярные соединения

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук

Научный руководительк. ф.-м. н.Чертович Александр Викторович

Оглавление

Список сокращений и условных обозначений	4
Введение	
Глава 1. Обзор литературы и методов моделирования	1 14
1.1. Коллапс полимерной цепи	14
1.2. Структура хроматина	25
1.3. Диссипативная динамика частиц	40
1.4. Насыщающиеся взаимодействия	45
1.5. Кристаллизация полимерных цепей	50
1.6. Выводы к первой главе и формулировка постановки за	адачи 55
Глава 2. Коллапс линейной полимерной цепи с разн	ıыми пара-
метрами жесткости.	58
2.1. Коллапс гибкой гомополимерной цепи	
2.2. Коллапс полужесткой гомополимерной цепи	68
2.3. Выводы ко второй главе	71
Глава 3. Кристаллизация полимерных цепей	74
3.1. Результаты и обсуждение	74
3.2. Выводы к четвертой главе	86
Глава 4. Структура цепи с насыщающимися взаимод	ействиями
и модель хроматина	89
4.1. Формирование топологически-ассоциированных домен	ов 89
4.2. Стабилизация топологически-ассоциированных домено	ов 103
4.3. Выводы к третьей главе	107
Заключение и выводы	108

Список литературы		110
-------------------	--	-----

Список сокращений и условных обозначений

- 1. Плохой растворитель растворитель, у которого параметр Флори-Хаггинса при взаимодействии с заданным полимером $\chi > 1/2$.
- 2. **Хороший (атермальный) растворитель** растворитель, у которого параметр Флори-Хаггинса при взаимодействии с заданным полимером $\chi < 1/2$.
- 3. **Нейтральный** (θ) растворитель растворитель, у которого параметр Флори-Хаггинса при взаимодействии с заданным полимером $\chi = 1/2$.
- 4. N длина полимерной цепи.
- 5. ДДЧ диссипативная динамика частиц.
- 6. r_{cut} радиус обрезки потенциала взаимодействия в ДДЧ.
- 7. k жесткость связи между мономерными звеньями в ДДЧ.
- 8. r_0 длина недеформированной связи между мономерными звеньями в ДДЧ.
- 9. α степенной показатель зависимости вероятности контакта от контурной длины субцепи, P(s).
- 10. γ степенной показатель зависимости расстояния между концами субцепи от ее контурной длины, R(s).
- 11. **Хроматин** вещество хромосом, включающее ДНК, гистоны и другие белки, связанные с ДНК.
- 12. **Активный хроматин** хроматин с уровнем экспрессии выше среднего по всему хроматину.

- 13. **Неактивный хроматин** хроматин с уровнем экспрессии ниже среднего по всему хроматину.
- 14. ТАД топологически ассоциированный домен.
- 15. **CTCF**—белковый комплекс, который способен связывается с участком ДНК, содержащим определенную последовательность нуклеотидов.
- 16. **Когезин** мультибелковый комплекс, имеет форму кольца, используется в качестве ключевого элемента модели "loop extrusion".
- 17. **Эпигенетические изменения** модификация хроматина без изменения последовательности.

Введение

Актуальность темы исследования. Характерные пространственные размеры полимерных систем, как правило, на несколько порядков меньше контурной длины цепей, формирующих эти системы. В ряде случаев компактность конформации цепей играет очень важную или даже определяющую роль в формировании уникальных свойств полимерных систем.

Фазовый переход клубок-глобула является одним из самых известных процессов, свойственных полимерной цепи. Однако вопрос формирования внутренней структуры глобулы в ходе коллапса изучен достаточно плохо. А ведь внутренняя структура глобулы играет важную роль во многих сложных процессах в полимерных системах, например, в кристаллизации, мицеллообразовании, структурировании микрогелей. Изучение коллапса одиночной полужесткой полимерной цепи позволяет узнать о механизме кристаллизации полимера в разбавленном растворе. Эта задача представляет интерес как с фундаментальной точки зрения, например, для задачи о глобальном сценарии кристаллизации полимерных цепей, так и с практической точки зрения, например, для получения новых высокопрочных материалов.

Одной из целей перед индустрией новых материалов стоит улучшение прочностных характеристик конструктивных материалов. Примером таких материалов являются высокомодульные волокна, получение которых зачастую проходит через стадию частичной кристаллизации полимера. Поэтому задача кристаллизации полимерных цепей в растворе интересна прежде всего с точки зрения технологии изготовления высокомодульных волокон. Полимерные растворы можно разделить на 3 типа: разбавленный (неперекрывающиеся полимерные клубки) и расплав. В расплаве при высокой температуре цепи достаточно сильно перепутываются, формируя густую сетку зацеплений. При ориентационной вытяжке таких полимерных систем формирование упорядоченной структуры волокна

практически не происходит из-за большого числа зацеплений между цепями, что приводит к их разрыву на ранних стадиях вытяжки. При кристаллизации из разбавленного раствора формируются отдельные несвязанные кристаллиты, в таком поликристаллическом материале образование сетки зацеплений не происходит и волокно не может быть получено. Поэтому при изготовлении волокон, как правило, используют полуразбавленный раствор полимеров. При таких значениях концентрации формируется не слишком густая сетка зацеплений, что позволяет получить высокую степень вытяжки, а полученные волокна обладают наибольшей прочностью. Изучение кристаллизации в таких системах полимерных цепей позволяет получить представление о формируемой структуре кристаллитов. Это может быть использовано для улучшения характеристик высокопрочных материалов. Такие материалы используются, например, в судостроении, машиностроении, при изготовлении средств индивидуальной защиты. С академической точки зрения эта задача также представляет большой интерес, так как до сих пор не определен общий сценарий, в рамках которого происходит кристаллизация из раствора для широкого класса полимеров.

ДНК является самой длинной известной полимерной цепью. Суммарная длина молекул ДНК в каждом ядре клетки человека достигает ≈ 2 м, в то время как размер клеточного ядра, в котором упакована ДНК, составляет ~ 10 мкм. Вопрос пространственной организации ДНК в ядре клетки заключается как в сложности упаковки такой длинной цепи в относительно маленьком ядре клетки, так и в формировании функциональной структуры, способствующей правильной регуляции экспрессии генов для нормального функционирования клетки в частности и организма в целом. Транскрипционно активные участки ДНК занимают сравнительно небольшую долю генома ($\approx 5\%$ у млекопитающих и $\approx 20\%$ у бактерий). Вместе с тем, нельзя утверждать, что транскрипционно неактивная часть ДНК не участвует в пространственной организации хроматина, её функции пока плохо изучены. По-видимому, единого набора механизмов организации хроматина для всех живых организмов не существует. Однако,

стоит отметить, что некоторые механизмы упаковки могут быть характерны для всех биологических видов, например у всех биологических видов происходят эпигенетические изменения хроматина. Благодаря им могут быть сформированы топологически-ассоциированные домены, устанавливается иерархия в структуре и образуются компартменты.

Диссертационная работа разделена на три логические части: коллапс одиночной полимерной цепи в плохом растворителе, кристаллизация полимерных цепей и структура мультиблоксополимера с насыщающимися взаимодействиями, рассматриваемая как модель пространственной организации хроматина. Объектами исследования во всех главах диссертации являются длинные линейные полимерные цепи. В зависимости от микроскопических свойств системы формируются различные компактные структуры. Компактность структур следует из соотношений контурной длины цепей и пространственных размеров системы. Полимерные материалы во многом за счет структуры обладают уникальными свойствами, которые могут быть использованы в различных сферах жизни.

Цели и задачи диссертационной работы. Целью данной работы является изучение структуры таких сложных полимерных систем как складчатая глобула, мультиблоксополимер с насыщающимися взаимодействиями и закристаллизованные из переохлажденного раствора полимерные цепи. В диссертации рассматривались следующие вопросы:

- Возможно ли формирование структуры складчатой глобулы при коллапсе полимера из клубковой конформации в "плохом" растворителе?
- Как зависит конечная структура системы после кристаллизации из переохлажденного раствора от концентрации полимера?
- Можно ли описать пространственную архитектуру хроматина при помощи мультиблоксополимера с насыщающимися взаимодействиями?

Для достижения поставленных целей при помощи компьютерного моделирования и численного анализа полученных результатов были решены следующие задачи:

- Моделирование структуры одиночной макромолекулы, сформированной в ходе коллапса в "плохом" растворителе посредством объемных взаимодействий.
- Исследование эволюции структуры системы кристаллизующихся полимерных цепей фиксированной длины с заданной жесткостью.
- Изучение структуры мультиблоксополимера с насыщающимися взаимодействиями в качестве модели пространственной организации хроматина.

Научная новизна. При рассмотрении коллапса одиночной полимерной цепи впервые удалось осуществить компьютерное моделирование для цепи длиной $N=10^4$ звеньев с явным учетом растворителя. Благодаря этому была описана формируемая структура глобулы и показано, каким образом она изменяется при переходе от складчатой к равновесной. Также анализ результатов моделирования позволил дать объяснение того, почему ранее исследователям не удавалось обнаружить складчатую глобулу даже при явном учете растворителя. Осуществление компьютерного моделирования кристаллизации одиночной цепи позволило получить сведения о стадиях коллапса и упорядочении субцепей в одиночном полимерном кристаллите.

Впервые в компьютерном эксперименте удалось получить и описать многочисленные кристаллиты, сформированные в ходе осаждения и структуризации из переохлажденного полимерного раствора. Разработан оригинальный двухстадийный алгоритм кластеризации для анализа полученных систем. Показан процесс реорганизации кристаллитов после расслоения полимера и растворителя. Впервые получены зависимости характеристик кристаллитов от концентрации полимера в системе.

Была исследована структура мультиблоксополимера, используемая в качестве модели пространственной организации хроматина. Экспериментальные данные позволили сделать предположение, что транскрипционные факторы играют главную роль в организации хроматина у *Drosophila melanogaster*. В рамках компьютерного моделирования удалось подтвердить сделанное предположение. Впервые продемонстрировано влияние последовательности мультиблоксополимера на формирующуюся структуру при использовании насыщающихся взаимодействий в рамках компьютерного моделирования. Продемонстрирована пространственная организация мультиблоксополимера, формирование топологически ассоциированных доменов, широкая вариативность конформаций и наличие общих структурных особенностей.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты, изложенные в диссертации, позволяют по-новому посмотреть на фазовый переход клубокглобула одиночной цепи. Задача коллапса полимерной цепи в "плохом" растворителе носит скорее фундаментальный характер. Тем не менее, этот фазовый переход часто определяет свойства реальных полимерных систем.

Результаты, полученные в ходе моделирования процесса кристаллизации полимерных цепей, позволяют сформировать общее представление о поведении, характерных временах и свойствах таких систем. Полученные результаты могут быть использованы в качестве рекомендаций при проведении экспериментов по кристаллизации. Установленный сценарий кристаллизации полимеров должен выполняться для широкого класса соединений, благодаря тому, что моделирование осуществлялось не для какого-то определенного типа полимера, а использовался огрубленный подход "шарики на пружинках".

Изучение структуры мультиблоксополимера с насыщающимися взаимодействиями является интересной задачей и как самостоятельное фундаментальное исследование, и в качестве модели пространственной организации хроматина. Подробное описание принципов формирования внутренней структуры хроматина позволит в будущем дополнить представление о причинах возникновения

точечных мутаций. Помимо точечных мутаций существует огромное количество генетических заболеваний, большая часть которых связана с нарушениями транскрипции генов. Определение связи между контролем уровня экспрессии генов и структурой хроматина позволит разработать средства для восстановления нормального профиля транскрипции.

Положения, выносимые на защиту:

- 1. Структура фрактальной глобулы не может быть получена при коллапсе полимерной цепи в плохом растворителе на масштабе длины субцепи меньшей длины зацеплений $s \leq N_e$. Однако на масштабе длины субцепи больше длины зацеплений $s > N_e$ складчатая структура некоторое время сохраняется, а степенной показатель γ в зависимости расстояния между концами субцепи от её контурной длины $R(s) \sim s^{\gamma}$ принимает значения в интервале $0 < \gamma < 1/3$.
- 2. При коллапсе одиночной жесткоцепной макромолекулы её конформация является стержнеобразной на масштабе длины субцепи меньше размера глобулы $s < N^{1/3}$ и складчатой на масштабе длины субцепи больше размера глобулы $s > N^{1/3}$.
- 3. В ходе кристаллизации концентрированного раствора многих полимерных цепей формируется поликристаллический материал, где каждый кристаллит состоит из нескольких цепей, а одна цепь может входить в несколько кристаллитов.
- Процесс кристаллизации состоит из двух стадий: рост количества кристаллических зародышей и последующее их слияния с вовлечением соседних аморфных участков. Существует оптимальная концентрация полимера (≈ 90%) для получения наиболее крупных кристаллитов. При этой концентрации соблюдается баланс между плотностью сетки зацеплений и наличием достаточного количества полимерного материала в окружаю-

щем объеме.

5. Структура компактной конформации, формируемая мультиблоксополимером с насыщающимися взаимодействиями, позволяет описать пространственную организацию хроматина. Ключевую роль в упаковке играет разделение хроматина на активный и неактивный. Неактивный хроматин организован в топологически ассоциированные домены, а активный хроматин находится на поверхности доменов или между ними.

Степень достоверности и апробация результатов. Основные результаты диссертации докладывались на следующих конференциях:

- 1. Block-copolymer model of chromatin organization, Чертович А.В., Кос П.И., Гаврилов А.А., European Polymer Congress "EPF 2015", Дрезден, Германия, 21-27 июня 2015.
- 2. Crystallization of single chains and concentrated solutions of stiff macromolecules, Koc П.И., Иванов В.А., Чертович А.В., Гаврилов А.А., 4-th International Workshop "Theory and Computer Simulation of Polymers: New Developments", Halle, Германия, 28 июня 1 июля 2015.
- 3. Crumpled globule formation and chromatin structure, Чертович А.В., Кос П., Гаврилов А., Тамм М., 4-th International Workshop "Theory and Computer Simulation of Polymers: New Developments", Halle, Германия, 28 июня 1 июля 2015.
- 4. Studying chromosome partitioning into topologically associating domains via saturating interactions, Koc П.И., Тамм М.В., Ульянов С.В., Гаврилов А.А., Разин С.В., Чертович А.В., Multiscale Modelling and Experimental Approaches to Genome Organization, Les Houches, Франция, 2-7 апреля 2017
- 5. Моделирование упаковки ДНК в ядре клетки при учете ламины, Кос П.И., Ломоносов-2017: XIII Международная научная конференция студентов,

- магистрантов и молодых ученых, МГУ им. М. В. Ломоносова, Россия, 10-14 апреля 2017.
- 6. Трехмерная пространственная организация хроматина в ядре клетки, Кос П.И., Петров А.И., Гаврилов А.А., Чертович А.В., VII Всероссийская Каргинская конференция "Полимеры-2017", Москва, химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, Россия, 13-17 июня 2017.
- 7. Коллапс гомополимерной цепи под действием насыщающихся взаимодействий с влиянием стерических ограничений, Петров А.И., Кос П.И., Тамм М.В., Чертович А.В., VII Всероссийская Каргинская конференция "Полимеры-2017", Москва, химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, Россия, 13-17 июня 2017.
- 8. Polymer with saturated interactions and chromatin structure, Чертович А.В., Koc П.И., 46nd IUPAC World Chemistry Congress 2017, г. Сан-Пауло, Бразилия, 9-14 июля 2017.

Публикации. Материалы диссертации опубликованы в 13 печатных работах, из них 4 статьи в рецензируемых журналах [1]—[4], индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, 1 статья в сборнике трудов конференции и тезисы к 8 докладам на международных конференциях.

Личный вклад автора. Все представленные в диссертации результаты получены лично автором при непосредственном участии научного руководителя. Подготовка полученных результатов к публикации проводилась совместно с соавторами, вклад диссертанта в части компьютерного моделирования определяющий.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав и библиографии. Общий объем диссертации 128 страниц, включая 47 рисунков. Библиография состоит из 154 наименований.

Глава 1

Обзор литературы и методов моделирования

Первая глава содержит общий обзор литературы по рассматриваемым задачам, обзор экспериментальных подходов и методики компьютерного моделирования, используемой для описания некоторых свойств полимерных систем. В частности, в главе рассмотрены общие сведения о коллапсе полимерной цепи посредством стандартных объемных взаимодействий, о структуре хроматина и экспериментальных методах, которые используются для изучения пространственной организации хроматина, методе диссипативной динамики частиц, механизме насыщающихся взаимодействий и задаче кристаллизации полимерных цепей.

1.1. Коллапс полимерной цепи

1.1.1. Гибкая полимерная цепь

Явление коллапса длинной полимерной цепи из клубкового состояния в глобулярное было обнаружено уже достаточно давно [5]—[9]. Однако и в настоящее время переход клубок-глобула продолжает быть актуальным объектом изучения в физике полимеров, например, см. [10]. Глобулярное состояние полимерной цепи является возможной моделью пространственной организации ДНК в клеточном ядре. В 1988 году, была опубликована первая работа, в которой описывалась гипотетическая структура складчатой (фрактальной) глобулы [11]. Затем, в 1993 модель складчатой глобулы была предложена в качестве возможной пространственной организации ДНК в ядре клетки [12]. После чего длительной время не было прямых экспериментов, позволяющих установить пространственную организацию ДНК в клеточном ядре. Интерес к данной модели был возобновлен в 2009 году после публикации работы [13]. В этой работе

было показано, что вероятность контакта двух звеньев, находящихся на расстоянии s вдоль по цепи, описывается выражением $P(s) \sim s^{-1}$, что соответствует модели складчатой глобулы. На рис. 1.1 приведено сравнение зависимостей вероятности контакта от контурной длины сегмента P(s) для складчатой глобулы, равновесной глобулы и экспериментального результата, полученного для ДНК человека. Для визуальной демонстрации различий складчатой и равновесной глобул приведены их конформации, полученные с помощью компьютерного моделирования, см. рис. 1.2.

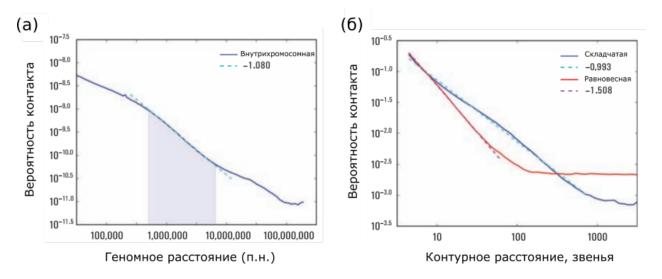


Рис. 1.1. а) Экспериментальная зависимость вероятности контакта двух локусов хроматина в ядре клетки человека. б) Зависимости вероятности контакта двух звеньев в складчатой и равновесной глобулах, полученных в ходе компьютерного моделирования. Изображение заимствовано [13].

В данном разделе диссертации биологические подробности рассматриваться не будут, а все внимание будет уделено физике процесса коллапса длинной линейной полимерной цепи из клубка в глобулу. Несмотря на то, что основные принципы формирования "складок" цепи при коллапсе более ли менее ясны, все еще отсутствуют лабораторные эксперименты и даже компьютерное моделирование, где был бы явно показан процесс формирования складчатой глобулы. Процесс формирования глобулы из клубка в "плохом" растворителе происходит достаточно быстро, так как на его пути практически отсутствуют различные кинетические барьеры. При этом происходит минимизация поверхностной

энергии. Забегая вперед, заметим, что в моделировании это время составило $\approx 2 \times 10^4$ шагов ДДЧ для цепи длиной N=10000 звеньев, а общее время моделирования составило 2×10^6 шагов ДДЧ. Для формирования равновесной глобулы требуется существенно большее время $\approx \tau N^3$ [14]—[16]. За характерное время можно принять время коллапса, тогда время, требуемое для формирования заузленной равновесной глобулы с помощью рептаций составит $\approx 10^{18}$ шагов ДДЧ, даже если префактор τ принять равным 1, то время составит $\approx 10^{14}$ шагов ДДЧ. Такой порядок времени моделирования остается недоступным на сегодняшний день, несмотря на использование суперкомпьютерных мощностей для вычисления.

Складчатая глобула от равновесной отличается только внутренней структурой, характерный пространственный размер складчатой (фрактальной) и равновесной глобул одинаковый. Если рассмотреть такие характеристики, как расстояние R(s) и вероятность контакта P(s) от длины вдоль по цепи (выражение 1.1), то можно заметить, что для складчатой глобулы зависимость от контурной длины сегмента сохраняется на масштабе всей цепи, в то время как для равновесной – только на масштабе размера глобулы.

$$R(s) \sim s^{1/3}$$
 — для складчатой глобулы $R(s) \sim \begin{cases} s^{1/2} & \text{при } s < N^{2/3} \\ const & \text{при } s > N^{2/3} \end{cases}$ — для равновесной глобулы $P(s) \sim s^{-1}$ — для складчатой глобулы $P(s) \sim \begin{cases} s^{-3/2} & \text{при } s < N^{2/3} \\ const & \text{при } s > N^{2/3} \end{cases}$ — для равновесной глобулы $P(s) \sim \begin{cases} s^{-3/2} & \text{при } s < N^{2/3} \\ const & \text{при } s > N^{2/3} \end{cases}$ — для равновесной глобулы $P(s) \sim \begin{cases} s^{-3/2} & \text{при } s < N^{2/3} \\ const & \text{при } s > N^{2/3} \end{cases}$

Как было отмечено, в равновесной глобуле цепь имеет конформацию случайного блуждания на масштабе глобулы, а затем зависимость пропадает. Это происходит из-за так называемого "отражения" от стенок глобулы, после которого зависимость от длины сегмента пропадает. В определенном смысле такая система соответствует глобуле из разорванных субцепей. В складчатой глобуле цепь имеет максимально компактную конформацию на всех масштабах и поэтому упаковывается, формируя складки на всех масштабах. В результате такой упаковки зависимость расстояния и вероятности контакта от длины сегмента остается на масштабе всей длины цепи.

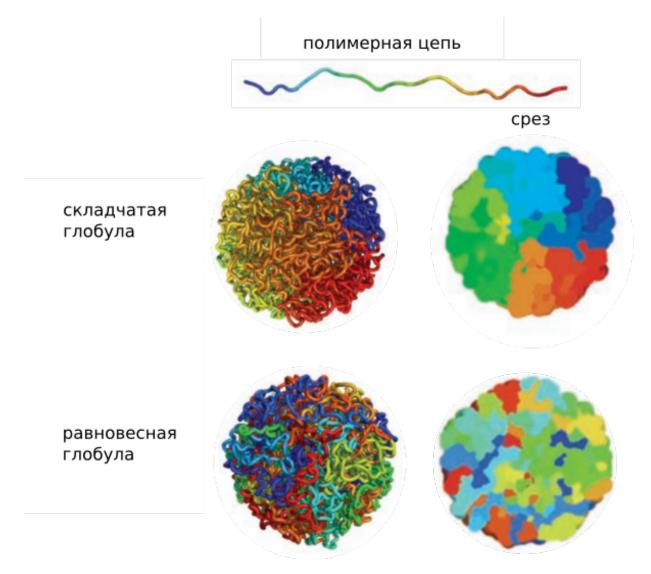


Рис. 1.2. Полимерная цепь градиентно окрашена. Показаны визуальные различия между структурами складчатой и равновесной глобул. Изображение заимствовано [13].

В 2011 году была опубликована работа [17], где была получена складчатая глобула в компьютерном моделировании методом Монте-Карло. Для моделирования коллапса полимерной цепи использовался потенциал гравитационного вида (притяжение в определенную точку пространства), а растворитель и

парное взаимодействие звеньев цепи не учитывались. В результате такого компьютерного эксперимента была получена зависимость вероятности контакта от расстояния вдоль по цепи $P(s) \sim s^{-1}$. Помимо упомянутой работы [17] было проведено множество исследований по изучению коллапса из клубка в равновесную глобулу [18]—[22], эта задача является хорошо изученной, однако, складчатая (фрактальная) глобула не была получена из-за использования сравнительно коротких полимерных цепей ($N \leq 2000$ звеньев) или отсутствия анализа промежуточных конформаций. В работе Р.Д. Шрама [23] исследовался переход клубок-глобула для цепи длиной N=4000 звеньев методом Монте-Карло, было отмечено, что складчатая глобула не может быть сформирована во время коллапса, так как глобула начинает обладать статистикой близкой к гауссовой сразу после коллапса. Вдобавок была проверена стабильность искусственно сгенерированной складчатой глобулы и было показано, что она переходит в равновесную за очень малое время. В ряде экспериментальных работ [24]—[26] показан двухстадийный коллапс одиночной цепи в плохом растворителе. Однако использование таких экспериментальных методик как светорассеяние позволяет определить лишь размер и плотность и не дает возможности подробно описать конформацию цепи и определить состояние складчатой глобулы. Помимо изучения перехода клубок-глобула для одиночной цепи, в литературе имеется ряд теоритических работ, посвященных изучению свойств расплавов колец [27], [28]. В системе незацепленных колец при отсутствии самопересечений топологические узлы не могут быть образованы. Поэтому в некотором приближении их структура и поведение может имитировать свойства пространственной организации хроматина в клеточном ядре. В работах, как правило, используется широко известная модель полимерной физики "шарики на пружинках" без топологических ограничений.

1.1.2. Полужесткая полимерная цепь

Для рассмотрения поведения полужесткой цепи требуется введение жесткости. Формируемая в ходе коллапса структура будет отличаться от случая гибкой цепи: система станет частично кристаллической. Задача коллапса жесткой полимерной цепи в "плохом" растворителе представляет большой научный интерес как со стороны академического сообщества, так и со стороны индустрии изготовления высокопрочных материалов. Одна из первых работа в этой области принадлежит А.Ю. Гросбергу и А.Р. Хохлову [29]. Позднее разные научные группы предлагали свой ответ на вопрос о том, какие структуры могут быть сформированы в ходе кристаллизации [30], [31]. Более детальное описание проблемы коллапса одиночной жесткой цепи и методов решения можно найти в обзоре [32]. Жесткость цепи не препятствует переходу клубок-глобула, но оказывает существенное влияние на конечную структуру глобулы. Явление перехода клубок-глобула одиночной полужесткой полимерной цепи аналогично процессу кристаллизации полимера из разбавленного раствора неперекрывающихся полимерных клубков. При кристаллизации выделяют 3 типа систем в зависимости от концентрации полимера: разбавленный раствор неперекрывающихся клубков, раствор перекрывающихся клубков и расплав, см. рис. 1.3.

В случае разбавленного раствора неперекрывающихся клубков формируются незацепленные кристаллиты. Ввиду отсутствия зацеплений, структура кристаллитов формируется наилучшим образом. Однако, кристаллиты не связаны друг с другом, поэтому образец не может быть подвержен направленной деформации. Рассмотрение одиночного кристаллита очень важно для понимания процессов эволюции структуры со временем при таком предельно низком значении концентрации полимера в системе [34].

Для получения наиболее прочных волокон в промышленности, как правило, используется полимерный раствор перекрывающихся полимерных клубков. Такая полимерная система с одной стороны является не слишком зацепленной,

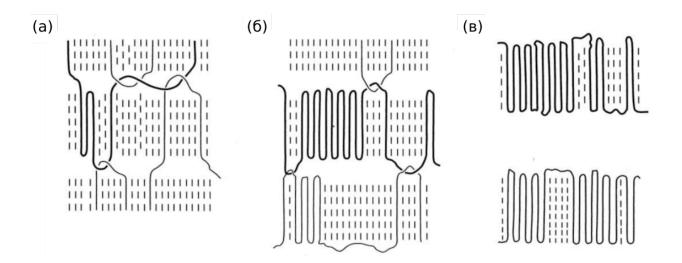


Рис. 1.3. а) Расплав, может быть получен в системе из переохлажденного раствора с невысокой долей полимера. б) Раствор перекрывающихся полимерных клубков, $c > c^*$, где c - концентрация полимера, c^* - концентрация перекрывания клубков. в) Разбавленный раствор, $c < c^*$. Изображение заимствовано [33].

а с другой - позволяет осуществлять её направленную деформацию. Фактический процесс содержит множество стадий и как правило является комбинацией из нескольких: низкотемпературная вытяжка, высокотемпературная вытяжка, вытяжка с использованием химических сшивателей, вытяжка в водной среде и др.

При использовании концентрированного раствора или расплава осуществить направленную деформацию для получения волокон достаточно сложно из-за малой длины зацеплений N_e . Полученный материал не обладает достаточной прочностью. Однако его изготовление является существенно более дешевым, чем высокомодульные волокна, полученные из полуразбавленного раствора.

На рис. 1.4 схематически представлена обобщенная информация по получению волокон из систем с разной концентрации полимера.

При моделировании процесса кристаллизации в качестве механизма жесткости может быть использована модель взаимопроникающих сфер [35]. Хотя наиболее распространенным выбором является использование потенциала на угол между тремя мономерными звеньями, метод взаимопроникающих сфер позволяет экономить время вычислений, так как никакие новые силы в урав-

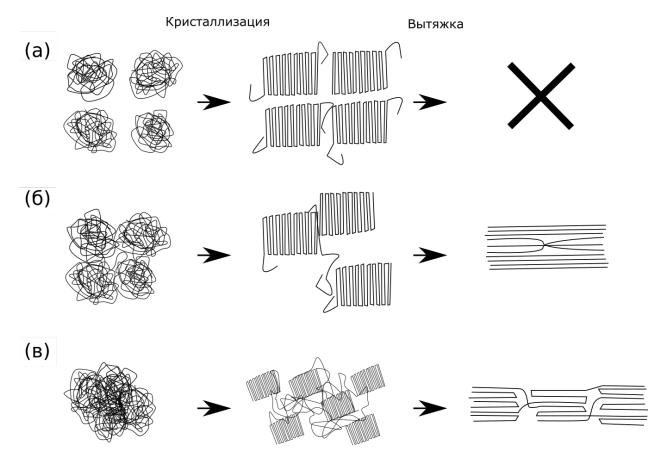


Рис. 1.4. а) Разбавленный раствор, $c < c^*$, при кристаллизации формируются отдельные незацепленные кристаллиты, вытяжка не может быть осуществлена. б) Раствор перекрывающихся полимерных клубков, $c > c^*$, при кристаллизации формируются слабо зацепленные кристаллиты, при вытяжке это позволяет с одной стороны получить волокно, с другой зацепления играют не такую важную роль, как при более высокой концентрации. в) Расплав, при кристаллизации формируется множество небольших кристаллитов, при вытяжке плотная сетка зацеплений не позволяет получить высокоориентированные волокна.

нения Ньютона не вводятся. В то же время при использовании метода взаимопроникающих сфер цепи остаются нефантомными. Это свойство полимерных цепей является одним из ключевых при кристаллизации.

В отличие от реального эксперимента, в компьютерном могут быть построены зависимости длины зацеплений от концентрации $N_e(\phi)$, см. рис. 1.5. Это очень удобный параметр для оценки степени зацепленности системы, что очень важно для дальнейшего получения волокон.

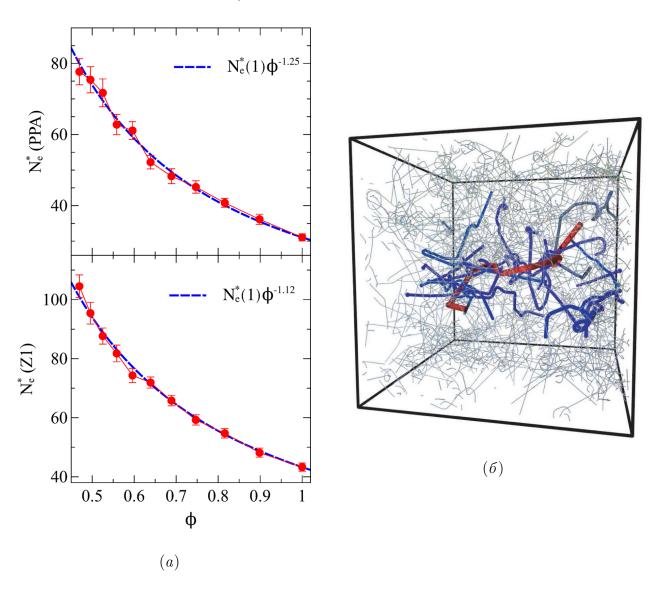


Рис. 1.5. а) Сверху результаты расчета зависимости длины зацеплений от концентрации методом анализа примитивных траекторий [36]. Снизу пример расчета методом Z1 [37]—[40]. б) Пример изображения системы, после применения процедуры анализа примитивных траекторий. Изображения заимствованы [36], [41].

Исследование структуры, формируемой в ходе коллапса одиночной цепи,

описано во 2-й главе и делится на две подзадачи: гибкая и полужесткая полимерная цепь. Каждая подзадача получила развитие в последующих главах 3 и 4.

1.2. Структура хроматина

1.2.1. Общие сведения

Вопрос упаковки хроматина внутри ядра клетки эукариот остается открытым с момента открытия ДНК в 1953 году Френсисом Криком и Джеймсом Уотсоном [42]. Проблема упаковки ДНК в ядре клетки заключается не только в её линейных размерах, как часто представляется в литературе, а в формировании правильной структуры укладки в ядре клетки. Сложная специальная укладка ДНК нужна для корректного осуществления транскрипции генов, необходимой для дальнейшего синтеза белков. Суммарная длина ДНК одной клетки человека составляет около 2 метров, а диаметр клеточного ядра, в котором упакована ДНК, составляет ~ 10 мкм. Объемная доля хроматина в ядре клетки, например, для человека составляет $\sim 18\%$ [43], а для Drosophila melanogaster ~ 30% [44]. Хорошо известно, что ДНК является двухцепочечной спиралью. В 1974 году в ходе экспериментов по электронной микроскопии Доном и Адой Олинсами были обнаружены нуклеосомы [45], состоящие из пар белков гистонов (H2A, H2B, H3 и H4) и ~ 147 п.н. ДНК. ДНК совершает ~ 1.67 оборота вокруг белкового комплекса из гистонов. Схематическое изображение нуклеосомы представлено на рис. 1.6.

Долгое время существовала гипотеза, что нуклеосомы формируют 30-нм фибриллу, которая затем как-то укладывается в ядре клетки. Формирование фибриллы является очень эффективным способом компактизации. Однако недавние работы показывают, что формируемая хроматином фибрилла имеет не постоянную толщину, ее структура динамически перестраивается [46], кроме того, было показано, что хроматин организован в фибриллы толщиной 5-12 и

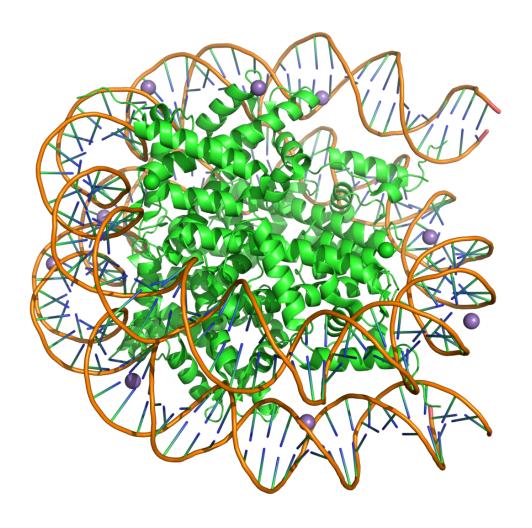


Рис. 1.6. Компьютерное изображение нуклеосомы. В центре в виде зеленых спиралей изображены белки гистоны, вокруг которых намотана двухцепочечная спираль ДНК.

12-24 нм, со средним размером 14 нм. Поэтому теперь считается, что никакой регулярной укладки, позволяющей получить 30-нм фибриллу, нет.

На масштабе от нескольких тыс. п.н. до нескольких млн п.н. структура хроматина остается предметом дискуссий. Причем не ясны как механизмы формирования пространственной архитектуры хроматина, так и её структура. Существует ряд моделей, в которых воспроизводятся некоторые экспериментальные результаты. Однако общая модель, которая основывалась бы на физико-химических процессах и могла бы воспроизвести результаты различных экспериментов, пока не представлена.

На масштабе хромосом структура является сравнительно более понятной, хотя и может отличаться у разных видов. В конце 1970-х начале 1980-х был опубликован ряд работ [47]—[50], где при помощи метода флуоресцентной гибридизации in situ было показано, что в ядре клетки существуют хромосомные территории, т.е. пространственная локализация отдельных хромосом. Модель "хромосомных территорий" была впервые предложена для клеток Salamandra maculata [51]. Сам же термин был введен позднее в 1909 году [52] и означает, что каждая хромосома локализована в определенной пространственной области ядра клетки (см. рис.1.7) [53]. Примечательно, что потребовалось почти 100 лет для подтверждения предложенной модели.

С точки зрения физики полимеров существование хромосомных территорий является удивительным фактом, так как структурно одинаковые полимерные цепи не перемешиваются между собой. Однако изучение этого вопроса остается за рамками настоящей диссертации, хотя представляет большой научный интерес.

В настоящей диссертации осуществляется исследование структуры, формируемой мультиблоксополимером посредством насыщающихся взаимодействий. Изучение проводилось с помощью компьютерного моделирования. Полученная структура мультиблокосоплимера используется в качестве модели пространственной организации участка хромосомы в ядре клетки плодовой мушки (Drosophila)

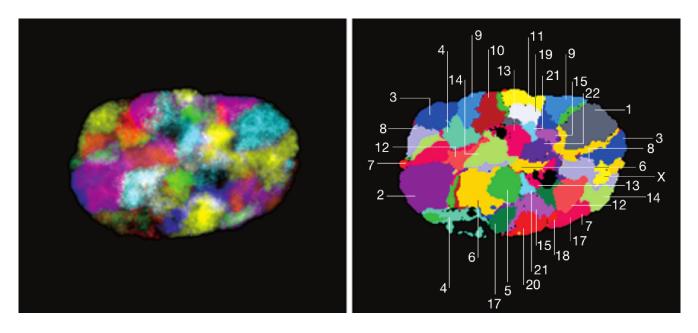


Рис. 1.7. Изображение хромосом человека, локализованных по хромосомным территориям. Разным цветом окрашены разные хромосомы. Изображение заимствовано [54]

melanogaster) в период клеточного роста.

Клеточный цикл большинства биологических видов состоит из интерфазы (период клеточного роста) и митоза (период клеточного деления). Интерфаза состоит из 3 стадий: G1 — стадия роста размеров клетки, S — стадия репликации ДНК, G2 — стадия синтеза белков и подготовки к митозу. Митоз — это период клеточного деления. Иногда в клеточном цикле выделяют стадию G0, когда клетка перестает делиться. Эту стадию иногда относят к интерфазе, а иногда выносят из клеточного цикла отдельно. В настоящей диссертации будет рассматриваться только интерфаза, она занимает основную часть клеточного цикла (~ 98% времени жизни) и представляет наибольший интерес. Именно во время интерфазы происходит считывание информации с ДНК для последующего синтеза необходимых клетке белков.

В качестве исследуемого организма плодовая мушка (Drosophila melanogaster) была выбрана по двум причинам: она является одним из наиболее хорошо изученных организмов с точки зрения молекулярной биологии и для этого вида были получены актуальные экспериментальные данные нашими коллегами из ИБГ РАН и ИППИ РАН. Геном этого организма расшифрован [55] и аннотиро-

ван [56], он состоит из 4 хромосом: 2 гаплоидных хромосом (X/Y и 4-й хромосом) и 2 пар диплоидных (2 и 3), а размер генома составляет ~ 144 млн пар нуклеотидов.

Хроматин эукариот организован иерархически. На масштабе нескольких миллионов пар нуклеотидов выделяют компартменты активного и неактивного хроматина – крупные агрегаты, состоящие из нескольких сегментов цепи. На масштабе нескольких сот тысяч п.н. компартмент неактивного хроматина разделен на ряд взаимодействующих доменов, называемых топологически-ассоциированные домены (ТАДы). ТАДы часто являются иерархическими и состоят из более мелких доменов, которые в ряде работ тоже называются ТАДами, но более мелкими. Аналогично млекопитающим, у плодовой мушки в ТАДах находится неактивный хроматин, который разделен небольшими участками активного хроматина. Разделение генома на ТАДы в существенной мере не зависит от вида клеток и эволюционно консервативно [57], [58]. Нарушение границ ТАДов приводит к дефектам развития у людей и мышей [59]. Поэтому ТАДы, по-видимому, могут рассматриваться как некоторый универсальный структурный элемент. Несмотря на большой научный интерес к изучению структуры хроматина, причины формирования ТАДов до сих пор остаются не до конца понятыми. Настоящая диссертация в том числе посвящена установлению структуры мультиблоксополимера с насыщающимися взаимодействиями, описывающей пространственную организацию хроматина при помощи методов компьютерного моделирования и привносит новое знание о вероятной архитектуре генома.

1.2.2. Теоретические подходы к описанию хроматина

В литературе описано множество гипотез о возможной структуре хроматина. Наиболее популярными являются следующие: складчатая (фрактальная) глобула, экструзия петель (англ. loop extrusion), неспецифические взаимодействия, обусловленные эпигенетическими модификациями и модель "нитей и пе-

реключающихся связей" (англ. Strings and Binders Switch, SBS).

Идея организации хроматина в складчатую глобулу принадлежит российским ученым [12]. Была выдвинута гипотеза, что такая структура позволит ДНК быстро высвобождать требуемые для считывания участки ввиду отсутствия не только топологических узлов, но даже зацеплений. К необычным свойствам складчатой глобулы также стоит отнести память системы о расположении звеньев вдоль по цепи на масштабе всей системы [11]. Также складчатая глобула обладает ускоренной диффузией, что является следствием отсутствия зацеплений [60]. Для исследования формирующейся структуры могут быть использованы такие параметры, как зависимость расстояния между звеньями от длины сегмента цепи, соединяющего звенья, R(s) и зависимость вероятности контакта двух звеньев от расстояния вдоль по цепи, P(s). В случае идеальной гомополимерной цепи эти величины взаимосвязаны, $P(s) = (R(s))^{-3}$ [15], для неравновесной структуры это равенство не выполняется.

В экспериментах Ні-С [13] на клетках человека была получена зависимость вероятности контакта $P(s) \sim s^{1/3}$, которая соответствует складчатой глобуле. Однако складчатая глобула, обладающая такими необычными свойствами, может быть получена в ходе коллапса только при использовании необратимых сшивок. В противном случае, со временем будет происходить релаксация структуры в равновесную глобулу с соответствующими зависимостями R(s) и P(s), см. ур. 1.1. Если говорить о коллапсе полимерной цепи в "плохом" растворителе, то на масштабе всей цепи структура достаточно долго будет оставаться складчатой, а на масштабе соответствующих длин получит равновесную конформацию. Для таких структур степенные показатели в зависимостях R(s) и P(s) не будут соответствовать ни складчатой, ни равновесной глобулам. Более подробно этот вопрос будет рассмотрен в Главе 2 настоящей диссертации. К положительным сторонам модели складчатой глобулы стоит отнести и особенности диффузии. Диффузия может быть описана уравнением 1.2 [60]. В складчатой глобуле из-за отсутствия топологических узлов и зацеплений смещение субцепей происходит

значительно быстрее ($\beta = 1/2$), чем в равновесной ($\beta = 1/4$).

$$\langle [x(s,t+\tau) - x(s,t)]^2 \rangle \sim D(\delta s)\tau \sim \tau^{1-\beta}$$
(1.2)

Однако модель складчатой (фрактальной) глобулы имеет и ряд недостатков при описании хроматина. Глобула - это по определению плотный объект, что не согласуется с экспериментальными данными микроскопии, объемная доля хроматина составляет не более 30%. При анализе результатов Hi-C экспериментов действительно был обнаружен степенной показатель зависимости вероятности контакта P(s) соответствующий складчатой глобуле [13]. Однако в последующих работах было продемонстрировано, что этот показатель разный не только для внутри и междоменных областей, но существенно меняется даже для разных доменов [61]. Степенной показатель α в зависимости вероятности контакта от длины сегмента $P(s) \sim s^{\alpha}$ для внутридоменных областей в среднем составляет $\alpha \approx -0.75$ (см рис. 1.8), а для междоменных $\alpha \approx -1.2$.

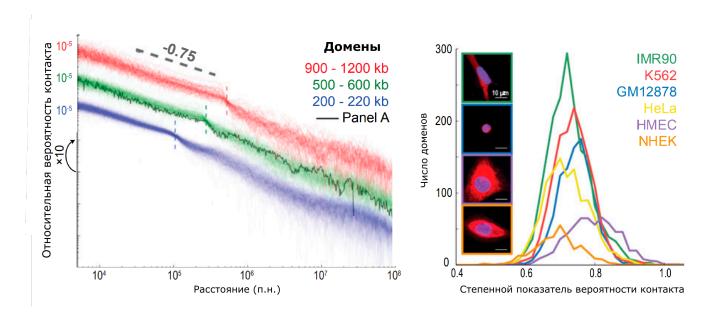


Рис. 1.8. Слева представлена зависимость относительной вероятности контакта от длины вдоль по цепи для доменов разного размера, наклон -3/4 приведен в качестве ориентира. Справа приведены распределения экспоненциальных показателей зависимости вероятности контакта от геномного расстояния P(s) для различных клеточных серий. Цвет рамки микрофотографий доменов соответствует определенной клеточной серии. Изображение заимствовано [61].

Другой популярной моделью организации хроматина является экструзия петель. Белки СТСГ и когезин (англ. cohesin, мультибелковый комплекс) часто находятся на границах ТАДов, поэтому было сделано предположение, что они участвуют в формировании границ ТАДов [62], [63]. Такой принцип формирования границ доменов был предложен в 2001 году [64], позднее он был описан более подробно [65]. В последние годы гипотеза экструзии петель получила активное развитие, так как результаты, полученные в рамках компьютерного моделирования, хорошо согласуются с экспериментальными данными [66], [67]. Основная идея заключается в том, что у млекопитающих в ядрах клеток присутствует большое количество мультибелкового комплекса когезина, морфология которого напоминает кольцо. Когезин является очень важным компонентом для связывания хромосом с веретеном деления, восстановления ДНК путем рекомбинации [68] и других процессов. В когезиновое кольцо может продеваться петля из 11-нм хроматиновой фибриллы (цепь из нуклеосом). Движение кольца по хроматину происходит за счет АТФазной активности комплекса. Оно продолжается до тех пор, пока комплекс не встретит связанный с ДНК белок СТСГ, см. рис. 1.9. Отметим, что при протягивании петли хроматина сквозь кольцо когезина важна ориентация связывания СТСГ. В одном случае хроматин может продолжить протягивание сквозь кольцо, а в другом остановится у места связывания СТСГ.

Данный подход качественно объясняет причины образования так называемого "следа" на контактной карте. Он задается в виде отрезков, соединяющих границы домена у диагонали и места их пересечения, см. рис. 1.10.

Гипотеза экструзии петель имеет и ряд недостатков. Во-первых, удаление различных изоляторных белков, типа СТСГ, не всегда влияло на профиль разделения хромосом на ТАДы, а скорее уменьшало плотность контактов внутри ТАДов [69], [70]. Во-вторых, были обнаружены как петлевые домены, где в начале и конце сегмента, образующего домен находятся сайты связывания СТСГ, так и обычные домены такого же размера без формирования петель

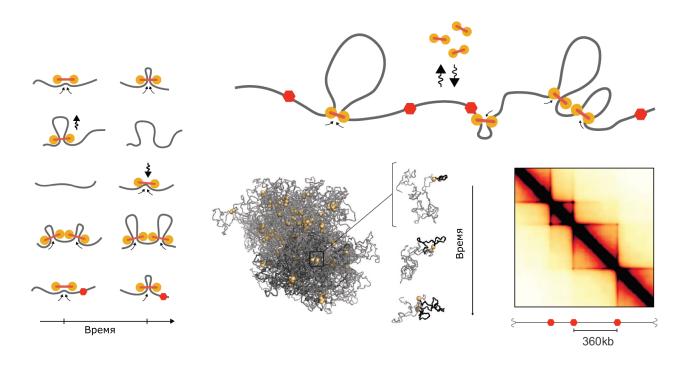


Рис. 1.9. Схематическое изображение модели экструзии петель. Слева изображены возможные сценарии участия когезина в формировании структуры хроматина. Справа приведена контактная карта, полученная в ходе моделирования. Изображение заимствовано [66]

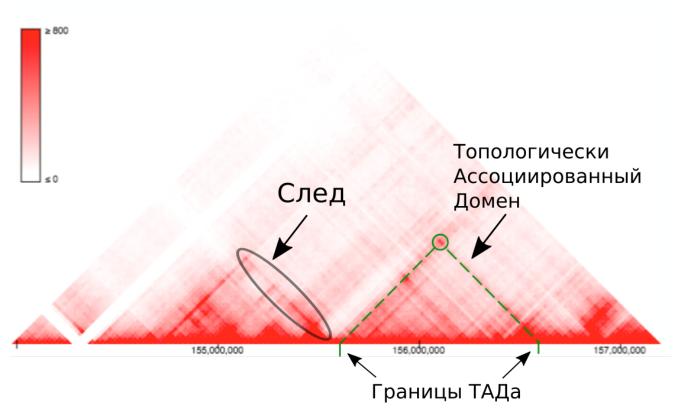


Рис. 1.10. Контактная карта с отмеченными архитектурными особенностями. Изображение заимствовано с сайта государственного университета Пенсильвании, лаборатории YUE.

[71]. В-третьих, в рамках компьютерного моделирования было показано, что наличие такой петли дает существенное увеличение числа контактов вдоль границ домена, но не увеличивается плотность контактов внутри домена на карте контактов. Помимо вышесказанного, когезин состоит из двух цепей, которые формируют кольцо. Длина каждой цепи составляет ~ 40 нм, а толщина хроматиновой фибриллы составляет ~ 11 нм. Тогда, если представить, что формируется идеальное кольцо - его диаметр будет составлять ~ 25 нм, что очень близко к удвоенному размеру хроматиновой петли ~ 22 нм. Кроме того, в явном виде не описан механизм работы такого молекулярного мотора и почему хроматину выгодно сформировать петлю, чтобы продеть её в когезиновое кольцо. Также отметим, что эта модель объясняет архитектуру хроматина не для всех организмов, а ограничивается млекопитающими. Так, например, для бактерии Caulobacter установлено, что за границы ТАДов отвечают активно транскрибируемые гены, а не структурные белки [72]. Однако, несмотря на существующую критику, экструзия петель может являться одним из механизмов упаковки хроматина. Более того, в недавней экспериментальной работе было показано, что при митозе такой механизм присутствует [73], но в качестве кольцевого молекулярного мотора выступает другой белковый комплекс, конденсин.

Другая модель пространственной организации хроматина строится на том, что ключевую роль играют эпигенетические изменения. Эпигенетические изменения - модификации хроматина без изменения последовательности ДНК. Они происходят, как правило, при делении клетки и связаны с фазовым расслоением хроматина [74]. Наиболее известными типами эпигенетической модификации хроматина является метилирование ДНК, фосфорилирование и ацетилирование гистонов. Метилирование ДНК происходит в области СрG динуклеотида путем присоединения метильной группы к цитозину. Метилирование является важным процессом при дифференцировке клеток. При мутации гена метилтрансферазы у мыши зародыш погибает на начальных этапах развития [75]. Фосфорилирование гистонов происходит у большинства биологических ви-

дов, преимущественно с гистонами Н3 и Н1. Существует несколько объяснений этого процесса, например, транскрипция у *Drosophila melanogaster* [76]. Ацетилирование может осуществляться на всех гистонах, входящих в нуклеосому. При ацетилировании замещается положительный заряд на остатке лизина, что препятствует ассоциации нуклеосом. Более подробно о функциях ацетилирования можно прочитать в обзоре [77]. Ассоциация неацетилированых нуклеосом лежит в основе гипотезы, описанной в главе 4 настоящей диссертации.

ДНК является отрицательно заряженной биополимерной цепью, а основным растворителем в ядре клетки является вода (полярный растворитель), поэтому, с точки зрения физики полимеров, цепь находится в "хорошем" растворителе и должна иметь клубковую конформацию. Размер клеточного ядра существенно меньше размера ДНК, поэтому она должна оказывать высокое осмотическое давление на мембрану клеточного ядра. Однако за счет наличия гистонов, противоионов, белков и ферментов заряд оказывается скомпенсированным, присутствие солей экранирует электростатические взаимодействия, а различные механизмы компактизации уменьшают эффективную контурную длину. В результате ДНК формирует компактную структуру, а оказываемое осмотическое давление не существенно. Кроме того, в клеточном ядре присутствует ламина — фибриллярная сеть жесткой структуры, подстилающая ядерную мембрану и дополнительно усиливающая её. Ламина препятствует разрушению ядра как изнутри, так и снаружи.

Рассмотрим некоторые детали модели, основанной на эпигенетических изменениях, которая используется в настоящей диссертации. У нуклеосомы имеются положительно заряженные концы гистонов НЗ и отрицательно заряженные области на гистонах Н2А. Пространственно они расположены таким образом, что двум нуклеосомам очень удобно формировать ассоциацию типа "ключзамок". Такой механизм взаимодействия очень широко распространен в биологических системах. В ходе ацетилирования положительный заряд на конце гистона НЗ замещается ацетильной группой, см. рис. 1.11. В том случае, ес-

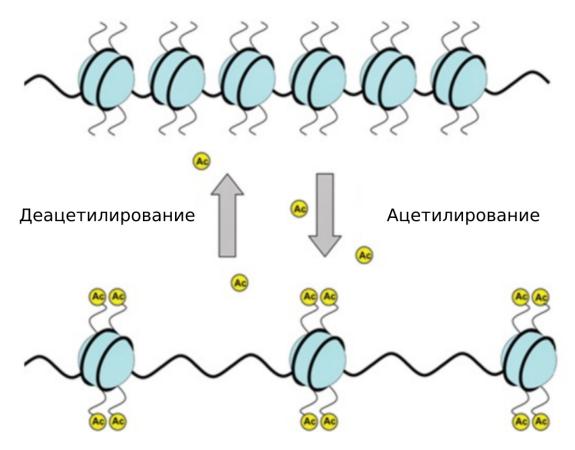


Рис. 1.11. На рисунке схематически изображены процессы ацетилирования/деацетилирования.

ли у одной нуклеосомы заряженная группа замещена ацетильной группой, то связывание возможно, если у обеих - нет. Энергетический выигрыш от связывания при участии одной ацетилированной нуклеосомы существенно уменьшается, скорее всего время жизни такой пары невелико из-за конкуренции. Согласно экспериментальным данным уровень экспрессии генов хорошо коррелирует со степенью ацетилирования, см. рис 1.12.

Еще одной известной моделью, описывающей организацию хроматина, является подход под называнием "Нити и переключающиеся связи" (англ. "strings and binders switch" – SBS) [78]. В этой модели рассматривается структура, формируемая полимерной цепью и свободными частицами сшивателя. Частицы равномерно распределены в растворе в начальный момент времени, которые затем формируют связи со звеньями цепи. Валентность сшивателя равна 6, она определена эмпирическим путем. Варьируя концентрацию сшивателя можно получать как компактные, так и очень разреженные структуры. Моделирова-

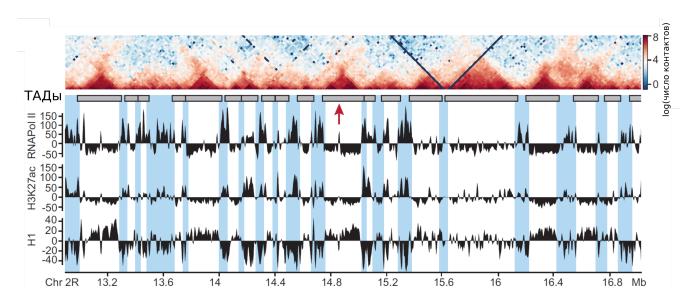


Рис. 1.12. Вверху изображен участок контактной карты хромосомы 2R *Drosophila melanogaster*, ниже распределения РНК полимеразы II (RNAPol II), ацетилированной модификации гистона Н3 (H3K27ac) и гистона Н1. Изображение заимствовано [2].

ние осуществлялось методом Монте-Карло. Выбор значения концентрации связан с экспериментальными значениями зависимостей (вероятности контакта и расстояния между локусами от геномного расстояния, P(s) и R(s)). Несмотря на то, что полученный скейлинг совпадает с экспериментальным, не до конца понятной остается природа существования таких сшивок с высокой валентностью. Однако идея получения трехмерной структуры хроматина при помощи искусственного сшивателя является очень интересной.

Глава 4 посвящена моделированию структуры мультиблоксополимера и проверке гипотезы о ключевой роли транскрипции в формировании пространственной структуры хроматина. Задача решалась методом компьютерного моделирования. Похожие модели для решения предложенной задачи использовались и ранее [78]—[81]. Например, существует модель мультиблоксополимера [82], состоящего из звеньев 4 типов: активный, связанный с белками группы HP1, поликомбный и молчащий хроматин. Моделирование было выполнено методом молекулярной динамики в термостате Андерсена, а уровень огрубления был выбран так, что 1 звену соответствует 10 тыс. п.н. Проверялась гипотеза о специфичности взаимодействия одинаковых типов хроматина, была найдена

область мультистабильности на фазовой диаграмме специфических и неспецифических взаимодействий, которая позволяет получать контактные карты, похожие на экспериментальные. Однако, оказывается, что карта контактов для такой модели зависит от начальных условий. А измерение коэффициента диффузии осуществляется в предположении, что начальной конформацией является случайное блуждание.

1.2.3. Экспериментальные методы

В настоящее время круг экспериментальных методов для изучения организации хроматина в ядре клетки очень широк. Можно выделить 3 категории: 3С-методы, флуоресцентная гибридизация и эпигенетические методы. 3С-методы (англ. chromosome conformation capture, фиксация конформации хромосом) являются ключевыми для определения вероятности контакта между двумя участками хроматина. Существует огромное количество их разновидностей: 3С, 4С, 5С и другие, наибольший интерес для настоящей диссертации представляет метод Ні-С. Благодаря современным методам секвенирования этот метод позволяет изучать пространственную организацию всего генома. Такие эксперименты были выполнены на клетках человека [13], [57], [71], мыши [57], [83], плодовой мушки [63], [84], дрожжей [85], [86], растения резуховидки (Arabidopsis) [87], [88] и некоторых других организмов [58], [72], [89]. Схема эксперимента Ні-С представлена на рис. 1.13. Для проведения эксперимента Ні-С используется популяция клеток ~ 10⁷, общий протокол эксперимента приведен ниже.

• Клетки помещаются в формальдегид, на этом этапе фиксируется конформация хроматина. Формальдегид практически не формирует сшивки ДНК-ДНК, зато формирует сшивки белок-белок и белок-ДНК, а так как ДНК намотана на белки гистоны, то считается, что конформация ДНК тоже зафиксирована.

- Добавляется рестриктный фермент, на приведенном изображении 1.13 это HindIII, но может быть и не такой частощепящий. ДНК разрезается в тех местах, где встречается необходимая последовательность нуклеотидов и формируются так называемые "липкие" концы.
- Добавляются специальные участки, состоящие из нескольких нуклеотидов с биотиновыми метками, которые образуют связи с "липкими" концами ДНК.
- С помощью фермента ДНК-лигазы производится сшивание соседних участков ДНК друг с другом.
- Удаляется формальдегид и разрезается ДНК другим ферментом, на рис. 1.13 это Nhel. Это позволяет получить короткие линейные цепи, которые состоят из двух и более сегментов ДНК.
- Выделяется фракция цепей, у которых имеются биотиновые метки, и полученный продукт отправляется на секвенирование.
- После расшифровки часть буквенных последовательностей удается аннотировать на геном и может быть построена карта контактов, из которой можно понять какие участки насколько часто находятся близко в пространстве.

Считается, что пространственная близость необходима для функционирования механизма регуляции экспрессии "энхансер-промотор". Наиболее часто контактирующие участки могут быть такой парой энхансер и промотор, и эксперимент Hi-C позволяет их выявить.

Другой тип экспериментов получил название флуоресцентная гибридизация *in situ* (англ. FISH). Он был впервые предложен в 1982 году [90] для определения пространственного местоположения определенных последовательностей на хромосомах. В этом молекулярном цитогенетическом методе используются

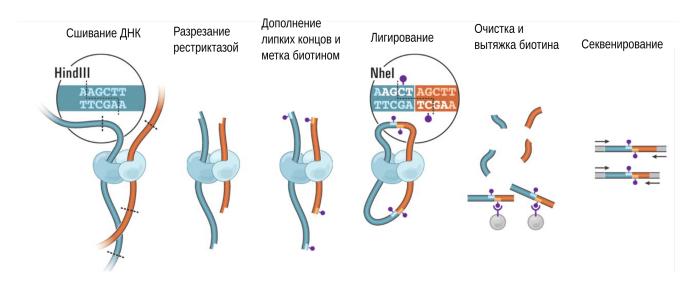


Рис. 1.13. Схема эксперимента Ні-С. Изображение заимствовано [13]

последовательности с флуоресцирующими метками или с мишенями для таких меток. Такие последовательности встраиваются в комплементарные участки ДНК (гибридизация) и позволяют с помощью флуоресцентного микроскопа детектировать их. Эксперимент проводится на одиночных клетках. Весь эксперимент состоит из нескольких этапов (см. рис. 1.14).

- Подготовка проб (участков ДНК) для связывания. С одной стороны, они не должны быть слишком короткими, чтобы специфически связаться с нужной областью, с другой стороны они не должны препятствовать гибридизации. Как уже было упомянуто, зонд либо напрямую помечается при помощи флуорофора, либо помечается мишенями для антител, содержащих флуорофор. Способ маркировки может быть любым.
- Подготовка клеток в интересующей фазе клеточного цикла. В отличие от эксперимента Hi-C, где используется большая популяция клеток и для изучения организации хроматина в интерфазе синхронизация клеток по циклу не требуется (митоз занимает около 1% времени жизни), для флуоресцентной гибридизации случайное попадание в не интересующую стадию клеточного цикла приведет к неправильным результатам.
- Перфорация ядерной мембраны для доставки проб к хроматину.

- Денатурация (расплетение, плавление) ДНК за счет повышения температуры и осуществление гибридизации.
- Удаление всех негибридизрованных образцов во время множественных промывок.
- Получение микроскопических снимков, которые затем отправляются на анализ.

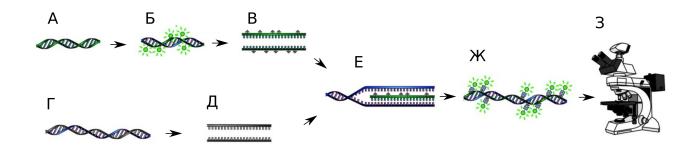


Рис. 1.14. Схема эксперимента FISH. а-в) - подготовка участка ДНК с флуорофором. г-д) - подготовка клеток и расплетение ДНК с помощью температурной денатурации. е) - гибридизация. ж-з) - получение конечного объекта исследование и проведение флуоресцентной микроскопии. Изображение существенно переработано с частичным заимствованием [91].

К преимуществам метода FISH стоит отнести возможность наблюдения за динамикой помеченных локусов [92] и возможность использования разных цветов при разметке локусов для определения расстояния между ними. Новые методики позволяют наблюдать за одиночным участком ДНК $\sim 10^6$ п.н., таким образом можно получить данные о форме целого ТАДа. При стандартном подходе размер пробы для специфичного связывания должен иметь длину 10^2-10^3 п.н. Недостатки этого метода заключаются в ограниченном наборе флуорофоров, из-за этого пометить весь геном разным цветом или большую его часть невозможно. Вероятно, в обозримом будущем эта проблема будет решена и это снимет большую часть вопросов. Другим недостатком этого метода является малая статистика при проведении эксперимента и, как следствие, большая ошибка у наблюдаемых величин. Кроме того, для определения расстояния между дву-

мя локусами, расстояние вдоль по цепи должно быть не менее 10^3 п.н. [93]. В связи с этими ограничениями, метод позволяет строить зависимость расстояния в пространстве от длины вдоль по цепи для очень небольшого числа локусов в одиночной клетке.

Третья группа экспериментальных подходов называется эпигенетическими методами. Напомним, к эпигенетическим изменениям относят метилирование ДНК (присоединение метильной группы к цитозину), ремоделирование хроматина (перераспределение плотности нуклеосом на цепи), модификацию гистонов (метилирование, ацетилирование, фосфорилирование и др.). Существует множество экспериментальных методик, например, иммунопреципитация хроматина (ChiP-on-chip, ChiP-Seq), идентификация метилтрансферазы аденина в ДНК (DamID) и другие, подробнее с этой группой методов можно ознакомиться в обзорах [94], [95]. Основной задачей эпигенетических методов является получение эпигенетического профиля цепи, показывающего наличие какой-либо модификации. Например, в настоящей диссертации для построения модели хроматина будет использован профиль ацетилирования хроматина.

1.3. Диссипативная динамика частиц

Диссипативная динамика частиц (ДДЧ) — это метод компьютерного моделирования, который позволяет исследовать структурные и динамические свойства жидкостей и полимерных систем. ДДЧ является мезоскопическим методом молекулярной динамики, в котором моделируется поведение точечных частиц с эффективным исключенным объемом. Метод является мезоскопическим в том смысле, что за одну частицу принимается несколько атомов или молекул. Внутренние степени свободы моделируемой частицы не рассматриваются. Моделируемое пространство следует считать континуальным за счет использования периодических граничных условий. Однако, никакого запрета на взаимодействие через периодические граничные условия нет. ДДЧ подразумевает моделирова-

ние растворителя в явном виде, это связано с особенностями термостата.

Впервые этот метод был предложен для моделирования простых жидкостей [96], [97]. Позднее, для моделирования полимеров было предложено использовать модель "шариков на пружинках" [98], [99]. Поведение взаимодействующих объектов подчиняется законам Ньютона 1.3.

$$\frac{d\mathbf{r_i}}{dt} = \mathbf{v_i}, \quad m_i \frac{\mathbf{v_i}}{dt} = \mathbf{f_i}, \tag{1.3}$$

где $\mathbf{r_i}$ – координаты i-й частицы, $\mathbf{v_i}$ – скорость i-й частицы, m_i – масса i-й частицы, а $\mathbf{f_i}$ – сила, действующая на i-ю частицу. При моделировании, как правило, массу полагают равной единице. Сила, действующая на каждую частицу, может быть записана в виде выражения 1.4.

$$\mathbf{f_i} = \sum_{\mathbf{i} \neq \mathbf{j}} (\mathbf{F_{ij}^c} + \mathbf{F_{ij}^d} + \mathbf{F_{ij}^r}), \tag{1.4}$$

где суммирование производится по всем частицам, находящимся на расстоянии, меньшем радиуса обрезки $r_{ij} < r_{cut}$. Радиус обрезки принимается равным единице, это сделано для упрощения расчета сил. Суммарная сила, действующая на частицу, состоит из трех вкладов: консервативная сила, диссипативная сила и парная случайная сила 1.5.

$$\mathbf{F}_{\mathbf{ij}}^{\mathbf{c}} = \begin{cases} a_{ij}(1 - r_{ij}\hat{\mathbf{r}_{ij}}) & \text{при } r_{ij} < r_{cut} \\ 0 & \text{при } r_{ij} \ge r_{cut} \end{cases}$$
 - консервативная сила,
$$\mathbf{F}_{\mathbf{ij}}^{\mathbf{d}} = \gamma_{dpd}w^{D}(r_{ij})(\hat{\mathbf{r}_{ij}}\mathbf{v}_{\mathbf{ij}})\hat{\mathbf{r}_{ij}}, \qquad - \text{диссипативная сила,}$$
$$\mathbf{F}_{\mathbf{ij}}^{\mathbf{r}} = \sigma w^{R}(r_{ij})\theta_{ij}\hat{\mathbf{r}_{ij}}, \qquad - \text{случайная сила,}$$

где $\mathbf{r_{ij}} = \mathbf{r_i} - \mathbf{r_j}$ – вектор между i-й и j-й частицами, $r_{ij} = |\mathbf{r_{ij}}|$ – расстояние между i-й и j-й частицами, $\hat{\mathbf{r_{ij}}} = \mathbf{r_{ij}}/|\mathbf{r_{ij}}|$ – единичный вектор между i-й и j-й частицами, $r_{ij} < r_{cut} = 1.0$ – условие на радиус обрезки, $\theta_{ij}(t)$ – случайно флуктуирующая величина с гауссовым распределением: $\langle \theta_{ij}(t) \rangle = 0$ и $\langle \theta_{ij}(t)\theta_{kl}(t') \rangle = (\delta_{ik}\delta_{jl} + \delta_{il}\delta_{jk})\delta(t-t')$; w^D и w^R - зависящие от расстояния функции, обращающиеся в ноль при $r > r_{cut}$. Консервативная сила $\mathbf{F_{ij}^c}$ является

силой мягкого отталкивания, действующей вдоль прямой, соединяющей точечные частицы. Общий вид потенциала консервативной силы приведен на рис. 1.15, такой мягкий потенциал был получен путем усреднения потенциала Леннард-Джонса [100]. Главными особенностями потенциала, используемого при

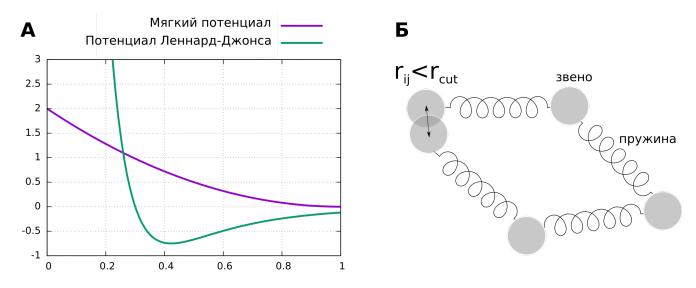


Рис. 1.15. а) Мягкий потенциал взаимодействия, используемый в ДДЧ, в сравнении с потенциалом Леннард-Джонса. б) Схематическое представление модели звеньев на пружинах.

расчетах в ДДЧ, являются отсутствие сингулярности в нуле, что позволяет использовать существенно больший временной шаг интегрирования по сравнению с молекулярной динамикой, использующей потенциал типа Леннрад-Джонса. Параметр a_{ij} характеризует величину отталкивания и является управляющим параметром для выбора качества растворителя / температуры. Диссипативная и случайная силы действуют вдоль прямой, соединяющий центры объектов. Также было показано [101], что существует взаимно однозначное соответствие между функциями w^R и w^D 1.6.

$$w^{D}(r) = [w^{R}(r)]^{2} = \begin{cases} (1 - r^{2}) & \text{где} \quad r < 1 \\ 0 & \text{где} \quad r \ge 1 \end{cases}$$
 (1.6)
$$\sigma^{2} = 2\gamma_{dpd}k_{B}T$$

Диссипативная сила является аналогом силы вязкого трения, а парная случайная сила выполняет роль генератора энергии в системе. Эти две силы

составляют термостат с одноименным названием "диссипативная динамика частиц".

Для полимерных систем необходимо использование дополнительной силы для описания химических связей между мономерными звеньями. На частицы, являющиеся соседними звеньями цепи действует упругая сила F^b_{ij} , определенная в уравнении 1.7. Следует отметить, что линейный и угловой моменты сохраняются.

$$F_{ij}^b = -k(r_{ij} - r_0)\hat{\mathbf{r}_{ij}},\tag{1.7}$$

где k — жесткость связи, а r_0 — длина недеформированной связи. Под равновесной длиной связи понимается такое расстояние, на котором сила объемного отталкивания уравновешивается упругой силой, длины недеформированной связи и равновесной связи не равны. Это важно при расчете фактической контурной длины цепи. Метод ДДЧ согласуется со скейлинговой теорией полимеров (дает правильные зависимости радиуса инерции полимерного клубка от длины цепи) и теорией Кирквуда в хорошем растворителе [102], [103]. При исследовании коэффициентов трения в модели Рауза и ДДЧ было установлено прямое соответствие между ними. Это означает, что метод ДДЧ может быть использован для моделирования систем с высокой концентрацией полимера вплоть до расплава.

Для расчета сил, скоростей и координат используется скоростной алгоритм Верле [104], [105], алгоритм расчета приведен ниже 1.8.

$$\mathbf{r}_{\mathbf{i}}(t + \Delta t) = \mathbf{r}_{\mathbf{i}}(t) + \Delta t \mathbf{v}_{\mathbf{i}}(t) + 1/2(\Delta t)^{2} \mathbf{f}_{\mathbf{i}}(t),$$

$$\tilde{\mathbf{v}}_{\mathbf{i}}(t + \Delta t) = \mathbf{v}_{\mathbf{i}}(t) + \lambda \Delta t \mathbf{f}_{\mathbf{i}}(t),$$

$$\mathbf{f}_{\mathbf{i}}(t + \Delta t) = \mathbf{f}_{\mathbf{i}}(\mathbf{r}(t + \Delta t), \tilde{\mathbf{v}}(t + \Delta t)),$$

$$\mathbf{v}_{\mathbf{i}}(t + \Delta t) = \mathbf{v}_{\mathbf{i}}(t) + 1/2\Delta t (\mathbf{f}_{\mathbf{i}}(t) + \mathbf{f}_{\mathbf{i}}(t + \Delta t)).$$
(1.8)

Исходя из вида потенциала для консервативной силы можно сделать вывод, что цепь является фантомной, что существенно ускоряет динамику многих процессов, оставляя за рамками возможностей метода корректное описание узлов, за-

цеплений и других топологических эффектов в полимерных системах. Однако, можно применить следующий прием [106]: из моделирования можно получить минимальное расстояние, на которое могут подойти две несвязанные частицы r_{min} . Следовательно, эффективный радиус исключенного объема частицы будет равен $r_{min}/2$. Максимальную длину связи можно обозначить l_{max} . Тогда, из геометрических соображений можно легко вычислить, что цепь будет нефантомна, если будет выполнено неравенство 1.9, см. рис. 1.16 (б).



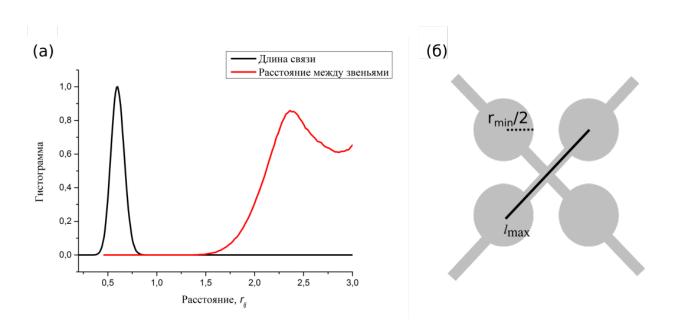


Рис. 1.16. а) Гистограмма расстояний связанных звеньев и удвоенного расстояния несвязанных. б) Схема геометрического построения для расчета условия отсутствия самопересечений.

На практике данное условие избыточно (избыточность проверялась эмпирическим путем на основе анализа траекторий длиной свыше 100 млн шагов) и достаточно использовать более слабое условие $2r_{min} > l_{max}$, на рис. 1.16 (а) построены нормированные гистограммы длин связей и расстояния между звеньями для $a_{ii} = 150, r_0 = 0.5, k = 150$. Введенные величины будут равны $r_{min} = 0.7, l_{max} = 0.7$ и неравенство выполняется.

Моделирование неограниченного пространства при явном учете растворителя технически невозможно, поэтому используются периодические граничные

условия по всем направлениям. При проведении компьютерных экспериментов фактический размер ячейки моделирования всегда варьируется, чтобы убедиться в отсутствии "эффекта конечного размера". Этот эффект может проявляться, например, при исследовании поведения полимера в "хорошем" растворителе. Если контурная длина цепи составляет N=1000 звеньев, для полимерной цепи в "хорошем" растворителе известно выражение $R(s)\sim s^{3/5}$, тогда для выбранного полимера $R(1000)\approx l_{bond}*1000^{3/5}\approx 63.1$ ед. (если принять l_{bond} равным 1). Однако стоит отметить, что это лишь наиболее вероятное расстояние между концами, а конформация цепи сильно флуктуирует, как и значение расстояния между концами цепи. Поэтому, если размер моделируемого пространства будет выбран равным 63.1 ед., то цепь будет встречать себя через периодические границы и взаимодействовать с собой посредством мягкого потенциала, а наиболее вероятное значение расстояния между концами будет отличаться в меньшую сторону от аналитически рассчитанного 63.1 ед.

1.4. Насыщающиеся взаимодействия

Механизм насыщающихся взаимодействий был предложен в 1976 году [107]. В работе изучалось поведение длинной цепи при возможном образовании обратимых парных сшивок между некоторыми звеньями цепи. Было показано, что в такой системе возможен переход клубок-глобула. Несмотря на то, что этот переход выглядит как переход второго рода, так как изменение характеристик размера системы происходит достаточно плавно, формально он является переходом первого рода. В упомянутой работе [107] было проведено аналитическое исследование такого механизма коллапса цепи, были рассмотрены идеальная цепь и цепь с исключенным объемом.

В настоящей диссертации этот механизм и его аналитическое описание будут использованы для моделирования структуры хроматина. В качестве апробации механизма коллапса и проверки реализации было выполнено моделиро-

вание цепи длиной N=1000 звеньев в атермальном растворителе при разной доле связанных звеньев. Была построена зависимость радиуса инерции от доли связанных звеньев, см. рис. 1.17. На рис. 1.17 (а) хорошо видны области клубкового и глобулярного состояний. Всего может быть образовано N/2 связей, доля

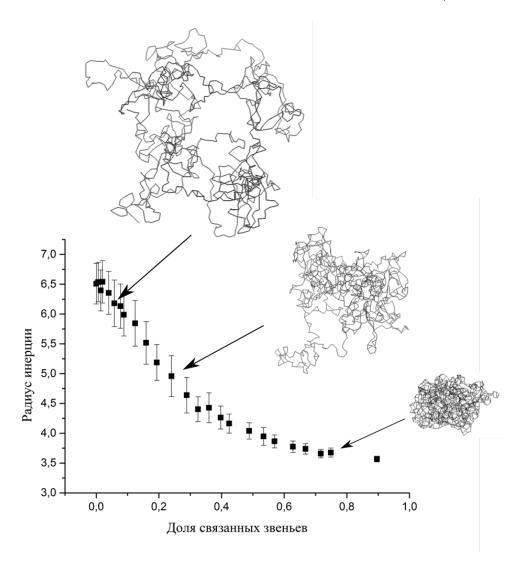


Рис. 1.17. Зависимость радиуса инерции от доли связанных звеньев в системе. Три конформации, полученные для разных значений доли связанных звеньев: c=0.06, c=0.23, c=0.77, соответственно.

образованных связей выражается через отношение фактически образованных связей ко всем возможным. Контурные связи исходной цепи не могут быть разорваны, процедура формирования/разрыва дополнительных связей распростаняется только на пары несоседних вдоль по цепи звеньев. При коллапсе под действием насыщающихся взаимодействий наиболее интересным является не

наличие фазового перехода, а отсутствие сильных флуктуаций при любых значениях доли связанных звеньев. Как видно из рис. 1.17 малое изменение параметра приводит к слабому отклику. При рассмотрении поведения системы при коллапсе посредством объемных взаимодействий полимерная цепь в области θ -температуры является очень флуктуирующим объектом и в случае идеальной цепи в пределе $N \to \infty$ при любом конечном отклонении от θ -температуры произойдет переход в состояние набухшего клубка или глобулы в зависимости от того, каким будет изменение параметра $\chi < 1/2$ или $\chi > 1/2$ в модели Φ лори-Хаггинса.

Механизм насыщающихся взаимодействий использован для моделирования взаимодействия типа "ключ-замок" между положительно заряженным хвостом гистона НЗ и отрицательно заряженной областью на нуклеосомах Н2А и Н4. Перейдем к описанию технических особенностей реализации модели.

Общее название механизма "насыщающиеся взаимодействия" означает, что звено взаимодействует ровно с u звеньями из своего окружения, причем u>0 и $u \to \infty$, u – валентность взаимодействия или степень насыщения. Для компьютерного моделирования хроматина будет использовано только одно значение валентности взаимодействия u=1. Взаимодействие может быть реализовано разными способами, например, через какой-либо потенциал, формирование связи. В настоящей диссертации, по аналогии с работой И.М. Лифшица [107], будет использовано формирование обратимых связей. Таким образом, определенные звенья будут иметь возможность обратимо образовать одну дополнительную связь. Образование и разрыв связей происходит с заранее заданной вероятностью. Расчет возможного образования и разрыва происходит каждые $N_{ch} = 200$ шагов ДДЧ. Выбор такого временного интервала связан с необходимостью локальной релаксации и предотвращением получения конформации системы, которая является кинетически замороженной. Если уменьшить N_{ch} до 20 шагов ДДЧ, то звено i после разрыва дополнительной связи со звеном jне успеет сменить пространственных соседей и с большой вероятностью звено

i сформирует в следующий раз связь с тем же звеном j. Для образованных в ходе моделирования связей разрыв осуществляется тривиально, каждая связь может быть удалена с заданной вероятностью через $N_{ch}=200$ шагов ДДЧ. С образованием связей все несколько сложнее, так как фактическая вероятность образования связи зависит от числа соседей, имеющих свободную валентность. Все соседи сортируются по возрастанию расстояния от рассматриваемого звена, затем с каждым из соседей проверяется возможность сформировать связь. Очевидно, что такие конкурентные процессы образования и разрыва связей имеют некоторый баланс, который мы будем называть долей образованных связей.

В уравнении для консервативной силы метода ДДЧ (уравнение 1.5) используется значение a_{ij} , для предотвращения фантомности цепи этот параметр был задан как $a_{ii} = 150$. В одной из первых работ [108] этот параметр равен $a_{ii} = 25$, для соответствия значению сжимаемости воды. Для задач настоящей диссертации гораздо важнее отсутствие событий самопересечения цепи, чем нормировка на свойства воды. При увеличении параметра отталкивания - увеличивается и исключенный объем звена, а так как плотность остается прежней ($\rho = 3$), то увеличивается давление в системе. Однако, оказывается, что изменится и распределение числа соседей, см. рис. 1.18.

Важно, что при разных абсолютных значениях параметров объемных взаимодействий, меняется как форма распределения, так и абсолютное число частиц в радиусе обрезки $r_{ij} < r_{cut}$. Следовательно, при моделировании систем с одинаковыми отношениями вероятностей образования и разрыва связей, но разными абсолютными значениями параметров объемного взаимодействия a_{ij} , доля образованных связей будет разной. Поэтому выбор значений вероятностей образования/разрыва должен происходить следующим образом:

- 1. Выбор значений параметров объемных взаимодействий.
- 2. Варьирование параметров механизма насыщающихся взаимодействий для определения кривой перехода.

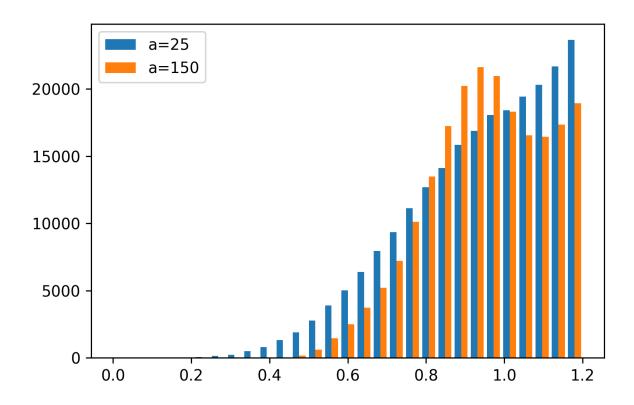


Рис. 1.18. Гистограмма распределения числа соседей для разных значений a_{ii} . Распределение состоит из всех парных расстояний, удовлетворяющих условию $r_{ij} < 1.2$

3. Выбор параметров механизма насыщающихся взаимодействий, для осуществления моделирования системы в интересующих режимах.

При решении задачи о структуре пространственной организации хроматина, в которой используется модель блок-сополимера, важно первоначально провести исследование гомополимера с насыщающимися взаимодействиями.

1.5. Кристаллизация полимерных цепей

Кристаллизация полимеров играет важную роль в макроскопических свойствах широкого круга материалов. Такие материалы могут использоваться в судостроении, средствах индивидуальной защиты и т.д. Внутренняя структура

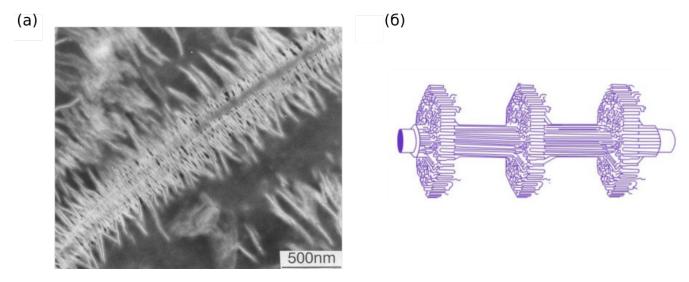


Рис. 1.19. Структура полимерного волокна при вытяжке закристаллизованного полимера. а) Микрофотография. б) Схематическое представление структуры типа шашлыка (англ. shish-kebab). Изображение заимствовано [109].

таких материалов часто бывает очень сложной, например, на рис. 1.19 (а),(б) приведена структура "шашлык". Такие структуры формируются в ходе ориентационной вытяжки после кристаллизации полимерной системы. Объяснение причин формирования подобных структур в ходе процесса кристаллизации полимера на молекулярном уровне является одной из важных нерешенных задач современной физики полимеров [110], [111]. Процессы, происходящие при кристаллизации полимера, все еще остаются плохо изученными. Более того, в ряде

случаев неизвестен даже общий сценарий кристаллизации и то, как влияют внешние условия и микроскопические свойства цепи на процесс кристаллизации. Полимерная цепь с точки зрения физики отличается от низкомолекулярных соединений наличием ограничений в виде химических связей между мономерными звеньями. Наличие связей проявляется в том, что у полимерной цепи очень маленькая энтропия по сравнению с аналогичным числом разорванных звеньев. В том случае, если концентрация полимера выше концентрации перекрывания полимерных клубков c > c*, образуется сетка зацеплений, сформированная нефантомными полимерными цепями. Наличие сетки зацеплений существенно замедляет динамику системы, что придает полимерным системам необычные механические свойства. Вдобавок такая сетка зацеплений приводит к тому, что полимерная система не может быть закристаллизована целиком, т.е. сформировать монокристалл. Поэтому, если речь идет о кристаллизации в полимерах - имеются ввиду только частично закристаллизованные системы.

При кристаллизации возможно образование сферолитов [112]. Сферолит - это агрегат, который может быть сформирован как сам по себе, так и внутри кристалла, он имеет радиально-лучистую структуру.

Кристаллизация полимеров, как явление, было открыто более 60 лет назад [113], [114], но до сих пор не предложена теоретическая модель для описания данного явления, основанная на подходах статистической физики макромолекул. Существует классическая теория Лоритцена и Хоффмана [115]—[118], но эта теория основана на теории нуклеации низкомолекулярных веществ и не описывает полимерные конформации. Было показано, что существует существенное несоответствие (на 2 порядка) толщины ламели между экспериментальными данными и теорией Лоритцена и Хоффмана [119]. Другой проблемой теории является отсутствие зависимости толщины ламелей от температуры кристаллизации, что не согласуется с экспериментальными данными [120].

Фактически большинство современных подходов, описывающих кристаллизацию полимера, не соответствуют некоторому микроскопическому сценарию

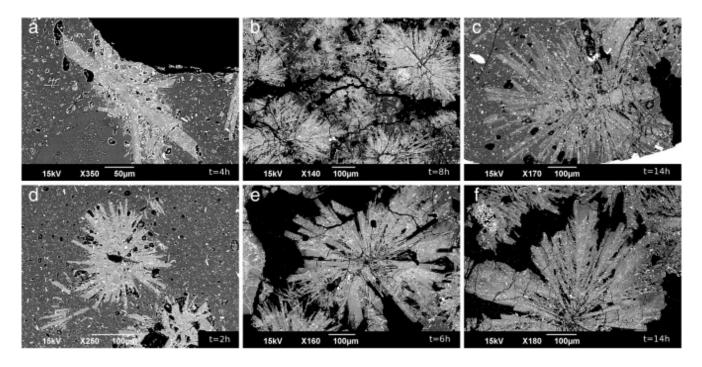


Рис. 1.20. Микрофотографии сферолита. Сверху сферолит сформирован в кристалле. Снизу сферолит сформирован как отдельный сферический агрегат. Изображение заимствовано [112].

кристаллизации полимеров на уровне конформации цепи и ее статистического поведения. Исключением является работа [121], где предлагается простая кинетическая модель формирования полимерных кристаллических ламелей, основанная на конкуренции между клубковой и стержнеподобной конформациями в переохлажденном полимерном расплаве. Этот подход предсказывает правильную зависимость толщины ламели от температуры, аналогично феноменологическому подходу, описанному в другой работе [122].

В настоящее время аналитический и численный подходы во многом согласуются, например, равновесная конформация жесткой полимерной цепи является скорее частично складчатой конформацией, а не стержнеобразной [119], [123]—[125]. Однако в ряде работ, [123], [124] по аналогии с теорией Лоринтцена и Хоффмана, основной движущей силой кристаллизации считается межмономерное притяжение. В других работах [126]—[130] указывается, что межмономерное притяжение играет главную роль только на поздних этапах кристаллизации при перетягивании цепей между кристаллитами и переходе системы в

стеклообразное состояние.

Компьютерное моделирование играет важную роль в создании микроскопической модели кристаллизации полимера. Кристаллизация полимеров изучалась с помощью компьютерного моделирования как методами молекулярной динамики [119], [127]—[135], так и стохастическим методом Монте-Карло [125], [136], [137]. Основные научные коллективы, работающие в данной области, — это группа Т. Ямамото [129], [137], Г. Ратледжа [128], [138], [139], Е.-Ю. Зоммера [41], [126], [130], [140] и Т. Шилинг [127], [134], [135].

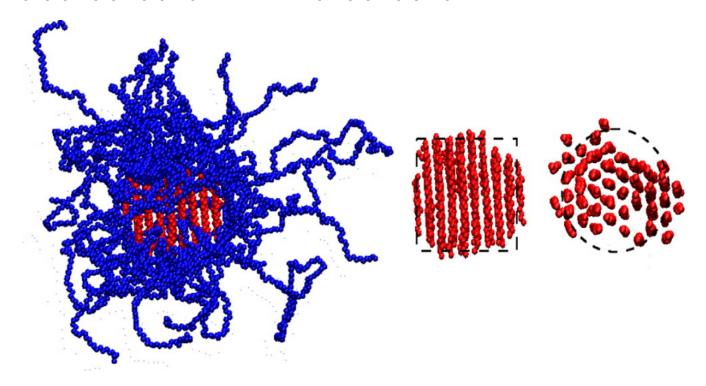


Рис. 1.21. Изображение результатов моделирования одиночного кристаллита из полимерных цепей C_{150} . Изображение заимствовано с сайта группы Ратледжа.

Все перечисленные научные группы, кроме Т. Ямамото, использовали стандартный подход молекулярной динамики и огрубленные модели полиэтилена или поли-винилового спирта, см. рис. 1.21. В настоящей диссертации будет применена методика кристаллизации полимерных систем с помощью диссипативной динамики частиц. Этот метод позволит рассмотреть поведение системы на существенно больших временных интервалах. Это возможно благодаря таким особенностям метода ДДЧ, как мягкий потенциал объемных взаимодействий,

более подробно с деталями моделирования можно ознакомиться в секции 2 главы 1 настоящей диссертации. Этот метод хорошо подходит для моделирования как динамики, так и термодинамических свойств конечных конформаций, так как, несмотря на использование "мягких" потенциалов, цепи можно сделать нефантомными без замедления расчетов [106].

Для анализа кристаллитов встает вопрос о способе определения кристаллита. Существует несколько подходов, например, расчет параметра ориентации Q_6 (уравнение 1.10, где $\sigma(r_{ij})$ - функция переключения, Y_{6m} - сферическая гармоника, которая рассчитывается для $m \in [-6, 6]$).

$$Q_{6}(i) = \sqrt{\sum_{m=-6}^{6} q_{6m}(i)^{*} q_{6m}(i)},$$

$$q_{6m}(i) = \frac{\sum_{j} \sigma(r_{ij}) Y_{6m}(\mathbf{r}_{ij})}{\sum_{j} \sigma(r_{ij})}$$
(1.10)

Однако такой метод хорошо подходит для определения кристаллов из низкомолекулярных веществ, а для полимерных систем он работает хуже из-за наличия флуктуаций мономерных звеньев даже в структуре кристаллита. Другим популярным способом является расчет числа коллинеарных соседей, например, в работе [127] $N_{nb} \ge 13$. Однако такой метод в существенной степени привязан к конкретной реализации моделирования и не имеет четкого физического смысла. Также стоит упомянуть классический параметр, который используется при изучении жидких кристаллов $S = \frac{1}{2}(3 < cos^2\theta > -1),$ где S = 1 соответствует полностью упорядоченной фазе, а S=0 - жидкости. При расчете нематического параметра порядка возникает вопрос о выборе радиуса обрезки. Все упомянутые способы определения кристалличности обладают еще одним недостатком: в случае рассмотрения кристаллизации из раствора звенья, находящиеся на границе фаз, имеют заведомо меньшее число соседей полимерных звеньев. Таким образом с высокой вероятностью такие звенья не будут отнесены к кристаллическим. В настоящей диссертации использовался оригинальный двухстадийный способ разделения звеньев на кристаллиты. В качестве параметра порядка выступает отношение коллинеарных соседей полимерных звеньев к общему числу полимерных соседей. Такой выбор параметра кристалличности позволяет корректно обрабатывать границы раздела фаз и является весьма универсальным для всех систем. Подробности реализации этого метода описаны в главе 4 настоящей диссертации.

Для определение базовых принципов, лежащих в основе кристаллизации полимеров, в главе 4 настоящей диссертации будет описано поведение систем и формирование структур в ходе кристаллизации из переохлажденного раствора в зависимости от концентрации полимера в системе. Основной задачей является получение оценок взаимодействия множества кристаллитов, растущих в растворах и расплаве. Другой задачей является определение влияния концентрации полимера на поведение системы. Все исследуемые системы будут отвечать нескольким общим требованиям:

- мономеры формируют линейную цепь;
- наличие внутрицепной жесткости задается посредством механизма взаимопроникающих сфер (корреляция ориентации звеньев цепи);
- топологические ограничения учитываются благодаря стерическому запрету самопересечений цепи.

Хотя химический состав полимера может влиять на поведение системы и приобретаемые свойства при кристаллизации, общие зависимости и сценарии поведения должны оставаться неизменными для широкого класса полимеров.

1.6. Выводы к первой главе и формулировка постановки задачи.

В первой главе настоящей диссертации сделан общий обзор литературы по исследуемым задачам. Описана задача упаковки хроматина в интерфазном

ядре эукариотической клетки. Приведено описание экспериментальных методик изучения организации хроматина: методы, основанные на 3С (захват конформации хромосом), флуоресцентная гибридизация in situ и эпигенетические методы. Первая группа методов позволяет получить полногеномную карту контактов большой популяции клеток, вторая – зависимость расстояния от геномной длины и динамику, третья группа методов – различные эпигенетические профили. Сделан обзор существующих теоретических гипотез описания упаковки ДНК, для наиболее популярных из них приведено подробное описание и перечислены достоинства и недостатки: складчатая глобула, экструзия петель, формирование структуры в соответствии с эпигенетическими модификациями и модель "нитей и переключающихся связей" (англ. SBS). Приведено подробное описание метода компьютерного моделирования диссипативной динамики частиц, используемого для исследования структуры и свойств полимерных систем в настоящей диссертации. Описан механизм коллапса посредством насыщающихся взаимодействий. Наконец, сделан литературный обзор по кристаллизации полимерных цепей.

Далее в данной работе мы постараемся дать ответы на следующие вопросы.

- Возможно ли формирование структуры складчатой глобулы посредством коллапса полимерной цепи в плохом растворителе?
- Что будет происходить быстрее при кристаллизации из переохлажденного разбавленного раствора: фазовое расслоение или формирование кристаллических зародышей?
- Какую структуру формирует мультиблоксополимер с насыщающимися взаимодействиями и может ли эта структура выступать моделью пространственной организации хроматина?
- Существует ли общий сценарий протекания кристаллизации в полимер-

ных системах, если да, то какой?

• При какой концентрации полимера в системе в ходе кристаллизации может быть получен наиболее крупный кристаллит?

Глава 2

Коллапс линейной полимерной цепи с разными параметрами жесткости.

Настоящая глава посвящена изучению структуры формируемой в ходе коллапса полимерной цепи в "плохом" растворителе. Рассмотрено поведение полимерных цепей разной жесткости. Приведено описание эволюции характеристик структуры формируемых глобул от времени.

2.1. Коллапс гибкой гомополимерной цепи

Одной из наиболее интересных компактных структур, формируемых полимерной цепью, является складчатая (фрактальная) глобула. Она обладает рядом необычных свойств в сравнении с равновесной (гауссовой) глобулой. Например, складчатая глобула имеет фрактальную размерность 3, это означает, что на всех масштабах пространственное расстояние между двумя звеньями зависит от контурной длины, т.е. $R(s) \sim s^{1/3}$. Если рассматривать гомополимерную цепь, то зависимость вероятности контакта можно определить как $P(s) = R^{-3}(s) \sim s^{-1}$. При анализе структур, полученных в рамках компьютерного моделирования, показано, что степенные показатели зависимостей R(s) и P(s) отличаются от показателей для складчатой и равновесной глобул. Здесь и далее будет сознательно использоваться термин складчатая глобула, а не фрактальная, так как термин "фрактальная" приписывает конформации математически строгие свойства. Более того, термин "складчатая" выглядит более подходящим еще и с исторической точки зрения, он был введен А.Ю. Гросбергом и соавторами в 1988 году [11]. В текущем разделе диссертации описаны некоторые свойства складчатой конформации на разных масштабах. Кроме того, будет показано какие глобулярные структуры могут быть получены в ходе

коллапса линейной длинной полимерной цепи и в чем их отличие от модели складчатой глобулы.

Складчатая глобула в ранних работах по компьютерному моделированию была получена посредством коллапса в искусственном потенциале гравитационного типа [17], позднее демонстрировалось отсутствие конформации складчатой глобулы при использовании объемных взаимодействий и неявного растворителя [23]. Ниже будет показано, что существование складчатой конформации на каком-либо пространственном масштабе возможно только в случае достаточно длинной цепи и "плохого" растворителя. В данной работе использовался явный растворитель, что является обязательным требованием корректной работы термостата ДДЧ. Явный учет растворителя способствует правильному описанию гидродинамики, а это важно для получения складчатых конформаций. В работе Зоммера [141] было показано, что корректное моделирование "плохого" растворителя возможно только при учете растворителя в явном виде.

Использование "мягкого" потенциала объемных взаимодействий (a=25) и малой жесткости связи (k=4.0) приводит к возможности самопересечения цепи, т.е. фантомности. Отметим, что фантомность не влияет на равновесные свойства цепи со свободными концами и существенно ускоряет уравновешивание системы. При изучении динамических характеристик можно не вводить дополнительную силу, как было показано в первой главе, достаточно увеличить жесткость связи k и параметр отталкивания консервативной силы a [106]. Из геометрических соображений можно записать следующее неравенство $\sqrt{2}r_{min} > l_{max}$. Для моделирования были выбраны следующие параметры: $a_{ii} = 150, \ r_0 = 0.5, \ k = 150, \ r_{\rm T}e \ r_0$ - недеформированная длина связи. Для подтверждения отсутствия самопересечений были построены гистограммы для величин $\sqrt{2}r$ и l_{max} . Как видно на рис. 2.1 распределения не пересекаются, следовательно, условие на отсутствие самопересечений выполняется.

В качестве объекта моделирования была выбрана линейная цепь длиной 10000 звеньев. В качестве начальной конформации было использовано случай-

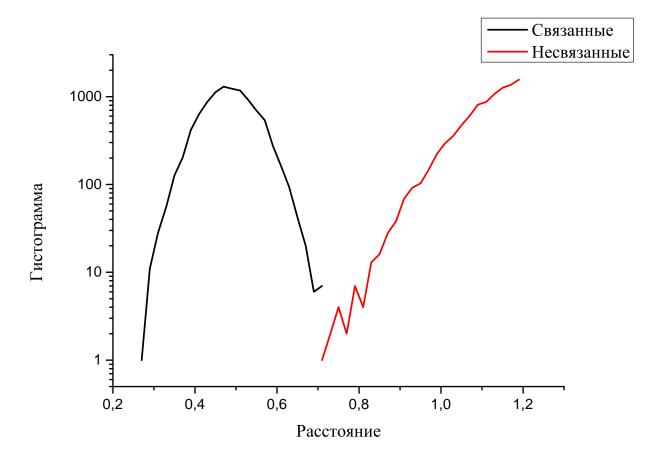


Рис. 2.1. Гистограмма расстояний связанных звеньев и удвоенного расстояния несвязанных.

ное блуждание, ограниченное размерами моделируемой области пространства кубической формы. Качество растворителя в ДДЧ определяется разницей между параметрами отталкивания консервативной силы ДДЧ: $a_{ij}-a_{ii}=\Delta a$. В текущем случае разница выбрана равной $\Delta a=30$. Это соответствует параметру $\chi\approx 9$ модели Флори-Хаггинса, при использовании известного выражения $\chi_{ij}=0.306*\Delta a$, приведенное в работе [108]. Стоить отметить, что были смоделированы системы с полимерной цепью длиной 10^3 звеньев, а также были проварьированы параметры отталкивания ($\Delta a=10$ и $\Delta a=20$). Однако при такой длине цепи не удалось наблюдать складчатую конформацию. При уменьшении параметра объемного отталкивания a_{ij} увеличивался приповерхностный слой глобулы и увеличивалось время коллапса, что также препятствовало формированию складчатой структуры. Для описания конформации системы мы следили за зависимостями вероятности контакта и квадрата расстояния в пространстве от длины вдоль по цепи (P(s), $R^2(s)$, где s принимает целочисленные значения в интервале $[0 \div N/2 = 5000]$).

На рис. 2.2 представлен набор конформаций цепи во время коллапса из состояния клубка в состояние глобулы. Для построения изображений использо-

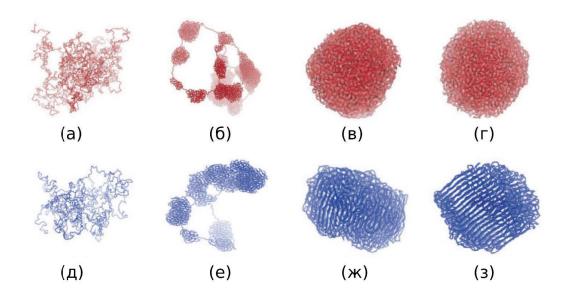


Рис. 2.2. а-г) Гибкая полимерная цепь. д-з) Полужесткая полимерная цепь.

вались реальные координаты звеньев системы, однако, пространственный мас-

штаб снимков и временной интервал между снимками различны. Переход в глобулярное состояние может быть описан через хорошо известный механизм формирования связанных блобов и их конденсацию в единую глобулу [20], [142]. Подобные структуры были получены в ходе коллапса полиэлектролитов [143], более подробно можно ознакомиться с обзором [144]. Основное отличие исследуемой системы от полиэлектролитов заключается в том, что в исследуемой системе блобы формируются в разных местах на цепи и имеют разный размер. Более того, они термодинамически нестабильны, в отличие от полиэлектролитной системы, где блобы стабильны даже находясь в "плохом" растворителе.

Одним из тривиальных способов различить складчатую (фрактальную) глобулу и равновесную является сравнение степенных показателей зависимостей квадрата расстояния в пространстве от контурной длины сегмента $R^2(s) \sim s^{2\gamma}$, выражение (2.1).

$$R^2(s) \sim s^{2/3}$$
 - для фрактальной глобулы
$$R^2(s) \sim \begin{cases} s & \text{при } s < N^{2/3} \\ const & \text{при } s > N^{2/3} \end{cases}$$
 - для равновесной глобулы

На рис. 2.3 изображен ряд кривых $R^2(s)$ для различных моментов коллапса и дальнейшей эволюции глобулы. Для сопоставления результатов на рис. 2.3 нанесена зависимость для трехмерной кривой Мура, которая представляет собой реализацию фрактальной глобулы с зависимостью $R^2(s) \sim s^{2/3}$ и является примером класса рекурсивно определенных, "заметающих" пространство кривых Гильберта. Эта кривая была построена методом, аналогичным описанному в литературе [23]. Физический смысл графика $R^2(s)$ соответствующего времени моделирования $t=2\times 10^6$ шагов ДДЧ, изображенного на рис. 2.3, заключается в том, что сегментам меньшей длины соответствуют менее компактные конформации, в частности, можно видеть участок соответствующий случайному гауссову блужданию. Блобы формируются за очень малое время,

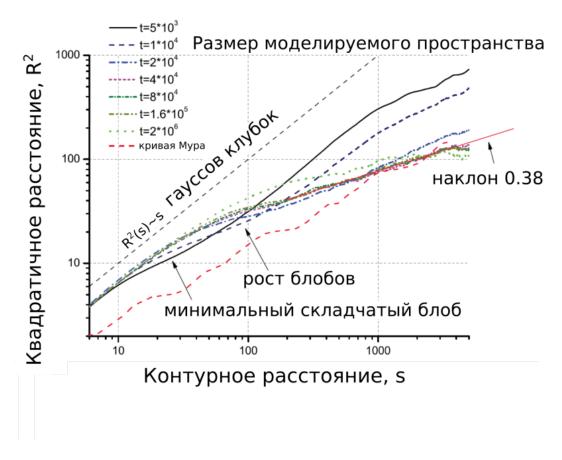


Рис. 2.3. Зависимость расстояния в пространстве от длины сегмента в разные моменты коллапса цепи.

на временах порядка $\sim 5 \times 10^3$ шагов их размер составляет 20-40 звеньев. В начальные моменты коллапса конформация цепи остается случайным блужданием с $R^2(s) \sim s$, так как система еще не успела сформировать отклик на изменение внешних условий. Небольшое отклонение степенного показателя зависимости $R^2(s)$ в области s>1000 обусловлено особенностью получения начальной конформации. Рассмотрев систему через промежуток времени ($t=1\times 10^4$ шагов), можно увидеть, что размер складчатых блобов достигает ~ 100 звеньев, тогда как на больших масштабах показатель степени зависимости $R^2(s)$ не меняется. Стоит отметить, что изначально образованные субцепями складчатые блобы размером 20-40 звеньев начали формировать более равновесную конформацию. Видно, что $R^2(s < 50)$ при $t = 5 \times 10^3$ лежит ниже, чем $R^2(s < 50)$ при $t = 1 \times 10^4$. Вероятнее всего за такое поведение системы отвечают два процесса: постепенная релаксация конформации складчатых блобов в равновесную гауссову конформацию и увеличение размера блобов. Увеличение размера приводит к уменьшению поверхностной энергии блоба и позволяет иметь большее число реализаций конформации в объеме. На больших временах наблюдается увеличение размера блобов, складчатая структура постепенно занимает всю цепь. На временах $2 \times 10^4 < t < 1.6 \times 10^5$ и при длине сегмента s > 200 мономерных звеньев существует компактная складчатая структура. Степенной показатель для таких конформаций равен $2\gamma \approx 0.38$. В то же время сегмент короче s=50звеньев имеет гауссову конформацию цепи с $2\gamma \approx 1$. Величина s=50 соответствует длине зацеплений $N_e=50\pm 5$, которая была измерена для расплава гауссовых цепей и текущего набора параметров. Для измерения N_e использовалась описанная в литературе методология [145], расплав состоял из цепей длиной N=300 звеньев. $R^2(s)\sim s$ при s<50 говорит о быстром уравновешивании незацепленных сегментов. В промежуточной области 50 < s < 200расположен более пологий участок зависимости, который может быть проинтерпретирован как несколько взаимопроникающих гауссовых блобов, формирующих более крупный складчатый блоб, см рис. 2.5.

Одной из важных особенностей полученной структуры является наблюдаемая гауссова статистика на малых длинах. Из-за этого на больших длинах конформация цепи выглядит более компактной, чем модель фрактальной глобулы: $R^2(s) \sim s^{2\gamma} = s^{0.38}$ при $s > N_e$, такой степенной показатель существенно меньше, чем предсказанный для модели фрактальной глобулы $\gamma = 1/3$. Отметим, что в настоящее время в литературе отсутствуют экспериментальные данные, позволяющие с требуемой степенью детализации судить о формирующейся структуре конформации в процессе коллапса полимерной цепи.

При продолжении моделирования наблюдается постепенный переход к равновесной глобуле, на все большей длине сегмента цепи проявляется "гауссова" статистика ($R^2(s) \sim s$ при $s < N^{2/3}$). Это отражается в увеличении расстояния между концами сегмента. Такое же поведение наблюдалось в моделировании другими научными группами, например, методом Монте-Карло изучались процессы релаксации складчатой глобулы, сгенерированной искусственно [23]. Так как в моделировании использовалась нефантомная цепь, то для времени полной релаксации может быть использована оценка $t \sim N^3 = 10^{12}$ шагов, что недостижимо ввиду технических ограничений. Поэтому полученная в ходе моделирования структура соответствует области предварительного диффузионного равновесия. Для полного уравновешивания с наличием топологических узлов и зависимостью R(s) (выражение (2.1)) для равновесной глобулы требуется увеличение времени моделирования на 6 порядков.

На рис. 2.4 (а) представлен график зависимости вероятности контакта от контурной длины сегмента, P(s). Каждая зависимость была усреднена по серии конформаций на достаточно коротком временном промежутке $(2 \times 10^4 < t < 1 \times 10^5)$. Стоит отметить, что вероятность контакта достаточно медленно усредняется и при малых значениях $P(s) < 10^{-3}$ является сильнофлуктуирующей величиной. Это связано с тем, что вероятность контакта является бинарной характеристикой расстояния между двумя мономерами, в отличие от зависимости квадратичного расстояния между звеньями от длины сегмента $R^2(s)$.

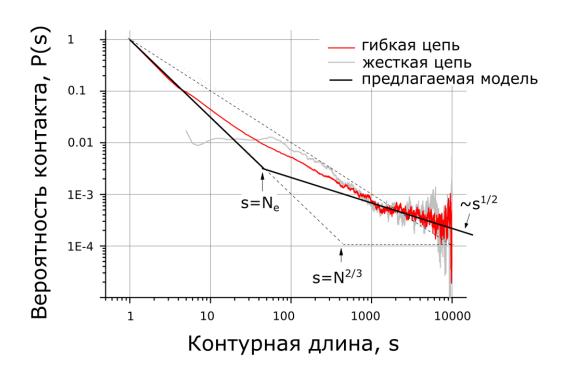


Рис. 2.4. Зависимость вероятности контакта от контурной длины сегмента для гибкой и полужесткой цепей и модели.

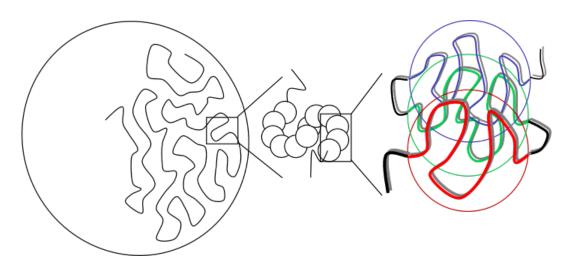


Рис. 2.5. Схематическое изображение перемешивания блобов внутри глобулы, которое обуславливает значения степенного показателя зависимости $R^2(s) \sim s^{2\gamma}, \, \gamma < 1/2$

Для гибкой цепи можно отметить наличие двух характерных зависимостей: при s < 10 вероятность контакта $P(s) \sim s^{-3/2}$, а при s > 1000 вероятность контакта $P(s) \sim s^{-1/2}$. Первое выражение $P(s) \sim s^{-3/2}$ соответствует зависимости вероятности контакта P(s) для модели равновесной глобулы, у которой степенной показатель зависимости вероятности контакта меньше (-3/2), чем для модели фрактальной глобулы (-1). Показатель степени у второй асимптоты больше, чем для модели фрактальной глобулы (-1/2 против -1). Такой плавный переход по-видимому связан с длинной зацеплений N_e и переходом от гауссовых блобов на малых масштабах ($s < N_e$) к складчатым блобам на более крупных $(s>N_e)$. Черная кривая на рис. 2.4 является графической реализацией описанной модели. На рис. 2.5 схематически изображена структура складчатой глобулы. На малых пространственных масштабах $(s < N_e)$ блобы обладают гауссовой конформацией, на промежуточных масштабах $(s \sim N_e)$ эти блобы перекрываются, а на масштабе всей глобулы конформация является складчатой. Смешение блобов, вероятно, приводит к увеличению степенного показателя в зависимости вероятности контакта P(s) на промежуточных масштабах.

Похожее поведение вероятности контакта P(s) было обнаружено в митотических хромосомах [146]. При митозе хромосомы имеют X-образный вид, они существенно более плотно организованы, чем во время интерфазы. Плотная упаковка необходима для последующего деления. Авторами работы [146] предложена модель с последовательными петлями из фантомной цепи, после чего был подобран размер петель, чтобы воспроизвести экспериментальные зависимости. Наши результаты позволяют получить такие же степенные показатели без каких-либо дополнительных хитростей, а просто за счет самоорганизации при коллапсе в плохом растворителе.

2.2. Коллапс полужесткой гомополимерной цепи

При рассмотрении цепи с заданной жесткостью существенно меняется структура, формируемая в ходе коллапса. Был рассмотрен коллапс полужесткой полимерной цепи аналогичной длины N=10000 звеньев при помощи компьютерного моделирования. В качестве наблюдаемых характеристик были выбраны зависимости квадрата расстояния $R^2(s)$ и вероятность контакта P(s) от контурной длины сегмента, в соответствии с описанием гибкой полимерной цепи в предыдущем разделе. Моделирование проводилось тем же методом ДДЧ, однако, были изменены параметры. С одной стороны, требовалось ввести жесткость цепи, с другой – оставить нефантомность цепи, поэтому были выбраны следующие параметры: $a_{ii}=150, r_0=0.2, k=150$. При таких параметрах звенья располагаются близко друг к другу, что формирует эффективную жесткость, такой механизм жесткости носит название "модель взаимопроникающих сфер" [35].

При реализации механизма взаимопроникающих сфер в диссипативной динамике частиц (ДДЧ) радиус обрезки для расчета сил задается равным $r_{cut} = 1.0$ ед., недеформированная длина связи задается равной $r_0 = 0.2$ ед. Между всеми частицами, находящимися на расстоянии $r_{ij} < r_{cut}$ действует консервативная сила отталкивания, поэтому равновесная длина связи составляет ~ 0.47 ед. ДДЧ. Для выбранных параметров расчет персистентной длины представлен на рис. 2.6.

На рисунке 2.7 приведен ряд зависимостей $R^2(s)$ для разных моментов коллапса. На начальном этапе можно отметить поведение схожее со случаем гибкой цепи, образование складчатых "блобов" и их рост см. рис. 2.2 (д-з). Различие заключается только в степенном показателе зависимости $R^2(s) \sim s^2$ при s < 10, что является проявлением жесткости цепи, так как такое поведение характерно для жесткого стержня. После формирования единой глобулы, которое занимает время $t \sim 2 \times 10^4$ шагов моделирования, начинается этап уравновешивания в

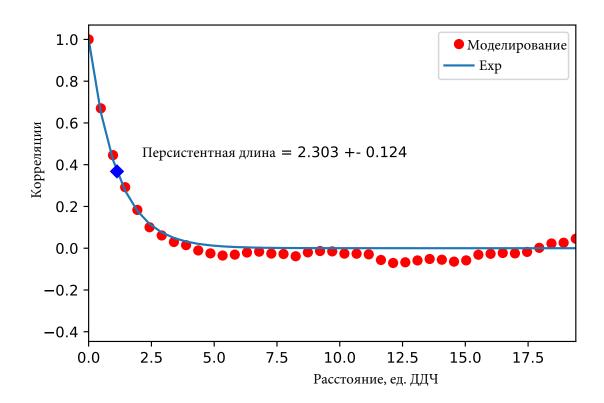


Рис. 2.6. Расчет персистентной длины при помощи библиотеки MDAnalysis для Python [147], [148].

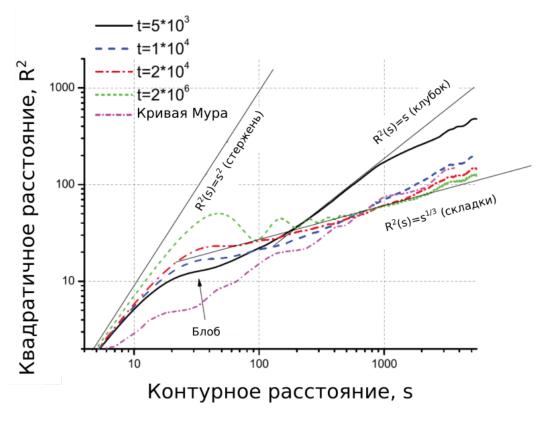


Рис. 2.7. Зависимость квадратичного расстояния между звеньями от контурной длины сегмента полужесткой цепи.

сконденсированной фазе, где жесткость цепи играет главную роль. Стоит отметить, что кристаллические зародыши формируются уже на этапе образования "бусин". Однако такое предварительное формирование кристаллической структуры сложно заметить на графике зависимости $R^2(s)$ из-за усреднения по всей цепи "скользящим окном". После образования единой глобулы субцепи ориентируются друг относительно друга, формируя жидкокристаллическую фазу внутри плотной глобулы. Именно поэтому на рис. 2.7 на больших временах моделирования видны осцилляции с периодом ~ 100 звеньев, что соответствует сумме удвоенной длины кристаллического сегмента и длины аморфного участка, соединяющего два кристаллических. Таким образом, период хорошо соотносится с размером глобулы вдоль направления субцепей, см. рис. 2.2. Релаксация такой кристаллической глобулы в гауссову с течением времени не происходит, так как структура оказывается кинетически замороженной. Квадрат расстояния между звеньями имеет зависимость $R^2(s) \sim s^{0.33},$ что приблизительно в 2 раза меньше, чем значение для фрактальной глобулы $(R^2(s) \sim s^{2/3})$. Сформированная структура глобулы стабильна на смоделированном времени $t=2\times 10^6$. Полученную кристаллическую глобулу нельзя назвать метастабильной складчатой глобулой, потому что такая структура является стабильным единым кристаллитом. Тем не менее, природа формирования складчатой структуры и кристаллита схожа и главное свойство компактности на больших масштабах остается. Г. Строблом было выдвинута гипотеза, в соответствии с которой при кристаллизации сначала формируются метастабильные мезофазы. Данное исследование коллапса полужесткой цепи отчасти разделяет такую точку зрения, хотя моделирование коллапса проводилось для одиночной цепи. Метастабильное складчатое состояние глобулы соответствует долгоживущей структуре в нашей интерпретации. Структура кристаллита при упорядочении должна проявлять некоторые свойства складчатой конформации, в соответствии с результатами, изложенными в текущей главе диссертации.

Для описания сформированной структуры закристаллизованной системы

была построена зависимость вероятности контакта от контурной длины сегмента цепи P(s), см. рис. 2.4. Эта зависимость существенно отличается от случая гибкой цепи. На длине сегмента s < 70 наблюдается плато, что свидетельствует о наличии жесткости цепи. Это хорошо согласуется с графиком зависимости квадратичного расстояния между звеньями от контурной длины сегмента цепи $R^2(s)$, представленным на рис. 2.7. Дальнейшее поведение очень схоже с результатом, предсказанным для модели складчатой глобулы $P(s) \sim s^{-1}$ на длине сегмента 100 < s < 1000. На пространственном масштабе s > 1000 наблюдаются очень сильные флуктуации, поэтому сделать осмысленный вывод не представляется невозможным. Основной причиной такого поведения системы является формирование плотного единого кристаллита, в котором не происходит дальнейшая релаксация структуры в гауссову глобулу.

2.3. Выводы ко второй главе

В текущей главе были описаны результаты компьютерного моделирования коллапса полимерной цепи в плохом растворителе. Была получена метастабильная складчатая глобула и описаны ее свойства. Для получения складчатой глобулы качество растворителя в терминах модели Флори-Хаггинса должно быть $\chi N \gg 1$, а длина цепи – $N \geq 10^4 \gg N_e$, где N_e - длина зацеплений в расплаве полимерных цепей). Полученная складчатая глобула является стабильной в широком временном интервале и существенно отличается от модели фрактальной глобулы. Основное отличие полученной в ходе моделирования глобулы от фрактальной глобулы заключается в том, что у полученной глобулы короткие сегменты имеют гауссову конформацию, в то время как на масштабе длины всей цепи проявляется складчатая структура (см. рис. 2.3). Малые блобы очень нестабильны и быстро обретают конформацию с гауссовой статистикой. Это происходит с сегментами длиной $s \sim N_e$, где N_e - длина зацеплений в расплаве цепей. Более длинные сегменты имеют при уравновешивании ограничения,

вызванные зацеплениями. Это делает зависимость квадрата расстояния между концами сегмента от его длины $R^2(s) \sim s^{0.38}$ при $s > N_e$. Степенной показатель зависимости квадрата расстояния в пространстве $2\gamma \approx 0.38$ существенно меньше, чем в аналогичной зависимости для модели фрактальной глобулы $2\gamma = 2/3$.

Общее поведение чувствительно к контурной длине цепи N, что продиктовано гауссовой статистикой при $s < N_e$ и размером глобулы $D \sim N^{1/3}$. Это позволяет построить эффективную аппроксимацию $R^2(s) \sim s^{2\gamma}$ для складчатой структуры в виде выражения $2\gamma = \frac{lgN^{2/3} - lgN_e}{lgN - lgN_e}$ при $s > N_e$, что дает $\gamma \approx 0.2$ ($N = 10^4$ и $N_e = 50$). Для наглядности представлен график зависимости $R^2(s)$ для равновесной, складчатой и смоделированной глобул на рис. 2.8. В пределе

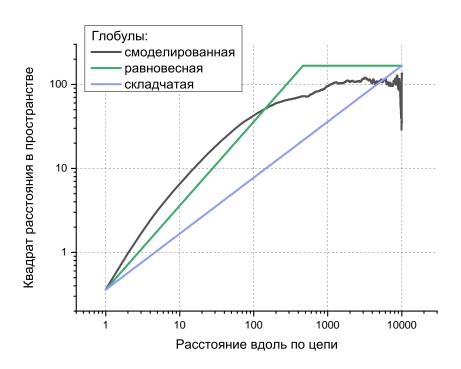


Рис. 2.8. Зависимость квадратичного расстояния между звеньями от контурной длины сегмента для референсных структур и смоделированной глобулы.

 $N \to \infty$ приведенная формула для степенного показателя согласуется с моделью складчатой глобулы $R^2(s) \sim s^{2/3}$ при $s > N_e$.

Рассмотрим случай длинной цепи порядка длины ДНК, длина одной X-хромосомы $Drosophila\ melanogaster$ составляет $\approx 2.24*10^7$ п.н. Заметим, что ДНК организована в нуклеосомы на масштабе ≈ 200 п.н., что позволяет ей компакти-

зоваться, таким образом эффективная длина составит $N\approx 10^5$ звеньев. Тогда $\gamma\approx 0.25,$ что все еще существенно меньше, чем значение для модели фрактальной глобулы $\gamma=1/3.$

Возвращаясь к коллапсу одиночной полужесткой цепи следует отметить, что внутри глобулы протекает множество процессов, связанных с упорядочением субцепей и обусловленных наличием жесткости цепи. Складчатая структура при $s>N_e$ стабильна и не совершается переход в равновесную гауссову глобулу. Вероятность контакта для такой кристаллической глобулы задается выражением $P(s)\sim s^{-1}$, такая зависимость соответствует складчатой глобуле. Для зависимости квадратичного расстояния от длины сегмента можно отметить аналогичное поведение: $R(s)\sim s^2$ при $s< N_e$ и $R^2(s)\sim s^{1/3}$ при $s>N_e$. Размер глобулы существенно меньше, чем длина зацеплений: $R(N)\approx N^{1/3}\approx 21$ тогда как $N_e\approx 50$. Таким образом стержнеподобные сегменты цепи пронизывают глобулу насквозь и формируют единый кристаллит. Вероятно, в более крупных системах размер кристаллита будет зависеть от длины зацеплений, а конформационная подвижность будет затруднена на масштабах длин $s>N_e$. Но для изучения этого эффекта длина цепи должна быть как минимум на порядок больше длины зацеплений в расплаве.

Сходство коллапса полужесткой и гибкой цепей заключается в формировании компактной структуры. В следующей главе будут изучаться системы, в которых будет происходить кристаллизация нескольких полимерных цепей. Будет проведен анализ как самого процесса, так и формируемых структур.

Глава 3

Кристаллизация полимерных цепей

3.1. Результаты и обсуждение

В настоящей главе описано компьютерное моделирование кристаллизации полимерных систем с разной объемной долей полимера. Моделирование осуществлялось методом диссипативной динамики частиц, который подробно описан в главе 1 настоящей диссертации. При изучении кристаллизации систем использовались параметры моделирования аналогичные задаче коллапса одиночной полужесткой цепи, описанной в главе 2 настоящей диссертации: жесткость связи равна k=150, длина недеформированной связи равна $l_0=0.2$ ед. ДДЧ, параметр объемного взаимодействия частиц одного типа равен $a_{ii}=150$, уменьшенный временной шаг интегрирования составил $\Delta t = 0.02$. Единственным отличием является выбор качества растворителя: при моделировании коллапса одиночной цепи значение параметра в модели Флори-Хаггинса было выбрано равным $\chi \approx 9$ (параметр объемного взаимодействия частиц разного типа составил $a_{ij}=180)$, при моделировании кристаллизации множества цепей значение было уменьшено до $\chi \approx 3~(a_{ij}=150)$ для соответствия значениям, которые наблюдются в реальных системах. Линейный размер моделируемого кубического пространства по каждой оси составляет $50 \times 50 \times 50$ ед. ДДЧ, поэтому при выбранной плотности равной $\sigma = 3$ общее число моделируемых частиц составляет 375000 ед. ДДЧ. В качестве полимерного материала, составляющего систему, использовались монодисперсные цепи длиной N=1000 звеньев. В рамках исследования были рассмотрены системы с концентрациями 20, 50, 70, 90, 95, 100%полимера. Таким образом число цепей в системе варьировалось от 75 для 20%до 375 для расплава, остальной объем был заполнен соответствующим числом частиц растворителя.

Хотя цепь состоит из 1000 звеньев, её фактическая контурная длина существенно меньше и составляет ~ 480 ед. ДДЧ, это связано с равновесной длиной связи равной < l >= 0.48 ед. ДДЧ. Увеличение длины связи с 0.2 до 0.48 ед. ДДЧ происходит из-за действия консервативной силы мягкого отталкивания, которая уравновешивается силой растянутой связи. Как можно заметить из значения равновесной длины связи, соседние звенья цепи существенно перекрываются, эта особенность лежит в основе используемого механизма жесткости, который называется методом взаимопроникающих сфер [35].

Формирование начальной системы является очень важной задачей, особенно при рассмотрении высоких концентраций. В настоящей работе в качестве стартовой конформации использовались конформации цепей, соответствующие случайному гауссову блужданию в континуальном пространстве. Такой выбор является с одной стороны наиболее распространенным в компьютерном моделировании, а с другой – не противоречит эксперименту. Шаг в случайном блуждании при получении стартовых конформаций выбран равным равновесной длине связи (0.48 ед. ДДЧ), в противном случае, в расплаве структура не меняется, так как конформации являются кинетически замороженными.

Для подробного изучения эволюции структур каждая системы моделировалась на протяжении 100 млн шагов. Такая длинная временная траектория необходима для выделения этапов кристаллизации. Ряд процессов происходит достаточно медленно даже при использовании мезоскопического метода моделирования с большим шагом интегрирования.

Звенья цепей в ходе моделирования формируют кристаллиты, это упорядоченные структуры, за пределами которых пространственный порядок субцепей нарушается. Для определения кристаллитов был разработан специальный двухстадийный алгоритм кластерного анализа. На первой стадии рассматриваются связи между звеньями системы: координаты связей — координаты их центров, направление — вектор между соединяемыми звеньями. Сначала определяется какие связи относятся к кристаллической фазе, а затем применяется алгоритм

кластеризации для определения кристаллитов. Для первой стадии сформулированы следующие правила (см. рис. 3.1):

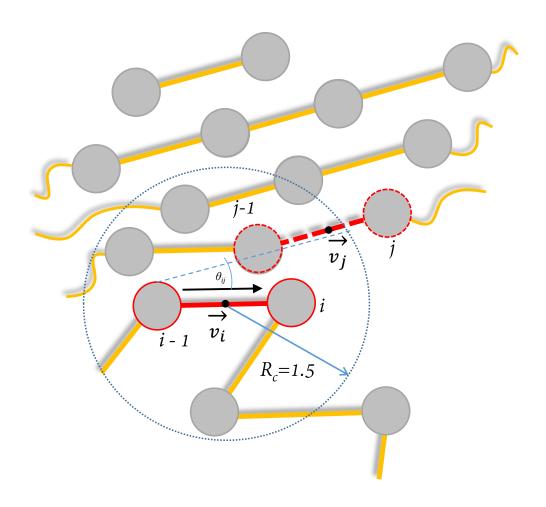


Рис. 3.1. Определение является ли связь v_i "кристаллической", схематическое изображение системы.

- Для каждой связи v_i строится список соседей v_j в радиусе обрезки $R_c = 1.5$. Рассчитывается угол θ_{ij} между связями v_i и v_j . Для расплава среднее число соседей составило ~ 18 звеньев.
- Определяется число "коллинеарных" соседей. Условие "коллинеарности" заключается в ограничении угла между связями, задающееся выражением $\theta_{ij} < 17$ градусов.
- Рассчитывается параметр кристалличности в виде отношения числа коллинеарных соседей к общему числу соседей связи i. Связь i считается

"кристаллической", если отношение больше 0.4 и считается "аморфной", если меньше 0.4.

Такие параметры часто используются для описания кристаллизации в моделировании с помощью молекулярной динамики [126]. После разделения системы на кристаллическую и аморфную фазы осуществляется кластеризация "кристаллических" связей по расстоянию с аналогичным радиусом обрезки $R_c=1.5$ и учетом периодических граничных условий. Угол между направлениями связей является достаточно флуктуирующей величиной, но позволяет точно обозначить кристаллиты.

На второй стадии совершается переход к анализу звеньев: звено считается "кристаллическим", если у него есть хотя бы одна "кристаллическая" связь, в противном случае звено считается "аморфным" и будет дополнительно анализироваться. Кристаллические звенья относятся к соответствующему кластеру, прежде сформированному из связей. Направление i звена определяется как вектор между i-1 и i+1 звеньями. Для кластеризации используется радиус обрезки равный $R_c=1.5$. На второй стадии проверяются все "аморфные" звенья на предмет их возможного включения в кристаллит:

- Производится расчет выделенного направления кластера $\mathbf{D_c}$, вычисляется среднее направление всех связей, входящих в кластер.
- Для каждого "аморфного" звена проверяется наличие хотя бы одного соседнего "кристаллического" звена, входящего в какой-либо кластер. Критерий на соседство аналогичен первой стадии, радиус обрезки равен R_c .
- Сравниваются направления кластера ($\mathbf{D_c}$) и "аморфных" звеньев. Вычисляется угол λ между выделенным направлением кластера D_c и направлением звена i. Если выполняется условие на угол $\lambda < 20$ градусов, то звено добавляется в кластер. Если условие не выполняется, то звено остается "аморфным" и в анализе кристаллитов не участвует.

Такой алгоритм кластеризации с одной стороны позволяет исключить случайные флуктуации внутри кристаллита, а с другой — не включать звенья, относящиеся к аморфной фазе. Для определения кристаллитов использовались и другие методы, в том числе расчет параметра Q_6 , раздельное использование описанных стадий, однако, описанный выше метод для смоделированных систем оказался наиболее подходящим.

Полученная структура кристаллитов аналогична системам, полученным в рамках моделирования кристаллизации методом молекулярной динамики [131]. Предварительный вывод, который можно сделать, — диссипативная динамика частиц хорошо применима для моделирования кристаллизации полимеров и обладает рядом преимуществ перед классической молекулярной динамикой, например, больший временной шаг интегрирования, позволяющий рассматривать поведение системы на больших временах, не допуская кинетическую заморозку системы.

На рис. 3.2 приведены финальные изображения четырех систем (20,70,90 и 100% на момент $t=10^8$ шагов моделирования) после осуществления процедуры кластерного анализа. Стоит отметить, что все кристаллиты, сформированные в ходе кристаллизации, имеют размер меньше, чем моделируемое пространство, и не взаимодействует с собой через периодические граничные условия. Также хорошо видно, что кристаллиты разделены в пространстве аморфными участками. Кристаллиты, определенные в ходе кластерного анализа, будут исследованы более подробно.

На рис. 3.3 (а) представлена система, в которой объемная доля полимера составляет 50%, частицы растворителя не показаны, чтобы не загромождать рисунок. На рис. 3.3 (б) представлена та же система, где разными цветами окрашены отдельные кристаллиты. Как можно заметить, кристаллиты имеют сложную форму и разный объем. Субцепи, из которых состоит кристаллит, упакованы гексагонально, что соответствует нематической фазе жидкого кристалла. Это наблюдение подтверждается графиком статического структурного

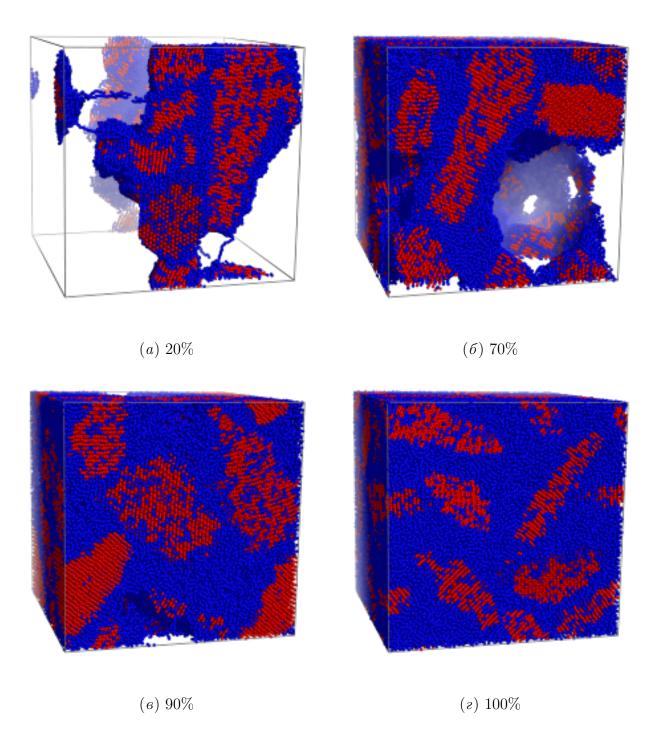


Рис. 3.2. Изображения финальных конформаций систем с разной концентрацией полимера, $t=10^8~\rm ДДЧ$ шагов. Частицы растворителя не показаны. Синим окрашены "аморфные" звенья, красным - "кристаллические".

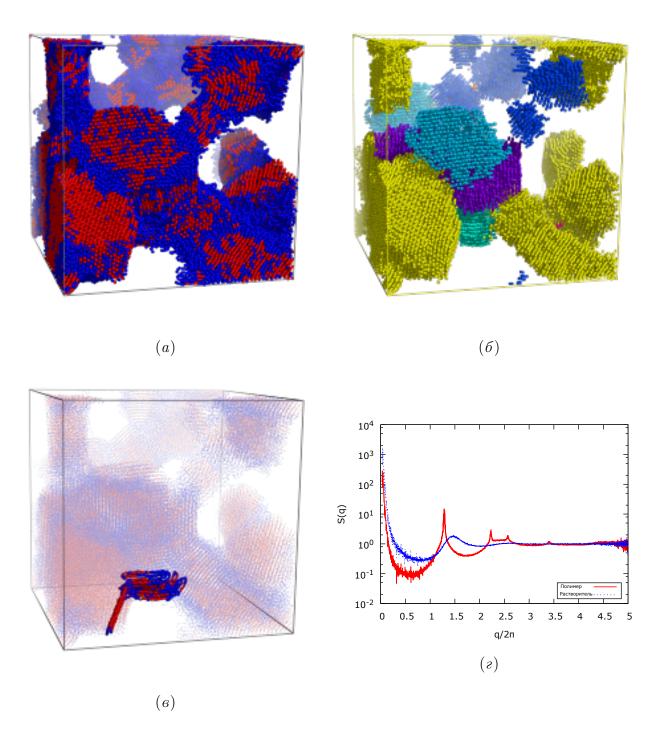


Рис. 3.3. а) - система с 50 % полимера после первой стадии обработки, красные звенья - кристаллические, синие - аморфные. б) - та же система после второй стадии кластеризации, разным цветом окрашены разные кластеры. в) - конформация одиночной цепи из (а). г) - статический структурный фактор для кристаллических (красная кривая) и аморфных (синяя кривая) звеньев из (а).

фактора, изображенного на рис. 3.3 (г). Одна цепь может входить в несколько кристаллитов, на рис. 3.3 (в) приведен пример, где одна цепь находится в двух кристаллитах, причем сначала участвует в построении одного кристаллита, затем переходит в другой и потом возвращается в первый. Вопрос возврата цепи в кристаллит очень сложный, это зависит от начальных условий, концентрации раствора и является самостоятельным масштабным исследованием, информацию об экспериментальном исследовании этого вопроса можно найти в работе [149].

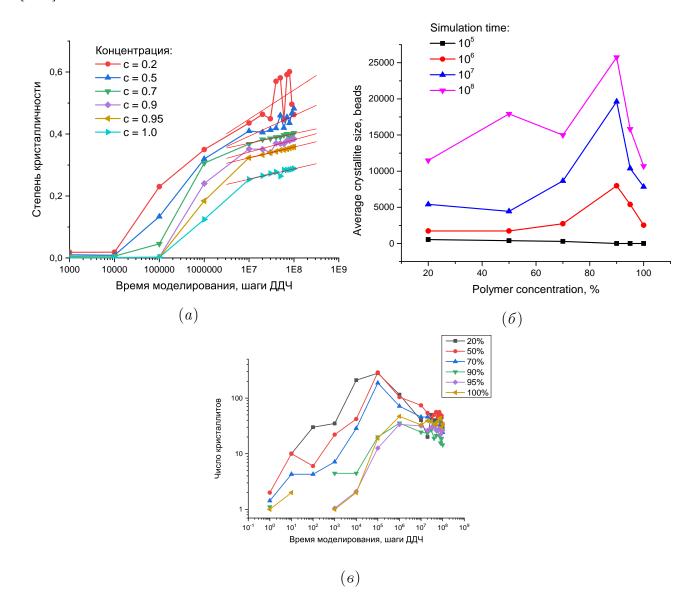


Рис. 3.4. a) Зависимость степени кристалличности от времени моделирования. б) Зависимость среднего размера кристаллита от концентрации. в) Зависимость нормированного на концентрацию количества кластеров от времени.

На рис. 3.4 приведены основные результаты анализа формируемых структур в ходе кристаллизации для разных концентраций и на различных временах. На рис. 3.4 (а) можно увидеть увеличение степени кристалличности от времени. Быстрый рост степени кристалличности происходит на времени $\sim 10^5$ шагов ДДЧ для малых концентраций и $\sim 10^6$ шагов ДДЧ для больших. После быстрого роста все системы переходят в режим медленного роста степени кристалличности, даже в логарифмическом времени. Связанный с этим эффект носит название логарифмическое уширение кристаллической ламели, под размером ламели понимается длина "кристаллического" сегмента, составляющего кристаллит. Для концентраций, превышающих значение 50% полимера, наблюдается одинаковая скорость кристаллизации. В случае расплава стоит отметить, что в формировании структуры большую роль играют рептация цепей и сетка зацеплений, которая образуется в результате расслоения на кристаллическую и аморфную фазы. В частично закристаллизованных системах достижение термодинамически равновесного состояния невозможно в компьютерном моделировании, и в реальном эксперименте. Доступно только квазиравновесное состояние с медленной рептацией цепей и постепенным увеличением степени кристалличности. Одной из причин такого кинетического замедления является наличие упомянутой сетки зацеплений. Каждый сегмент цепи находится в так называемой "трубке" зацеплений из окружающих других сегментов, поэтому полное равновесие в таких системах достижимо за время, сравнимое с временем рептаций τN^3 [16]. Напомним, что в текущем исследовании длина моделируемой цепи составляет $N=10^3$ звеньев. Характерное время au первичной кристаллизации может быть определено как $\tau \approx 10^5$ шагов ДДЧ. Отметим, что неизвестно, как зависит время au от длины цепи, но полученные результаты свидетельствуют о том, что если такая зависимость присутствует, то она достаточно слабая, чтобы ею можно было пренебречь, хотя бы для предварительной оценки. Тогда, для получения равновесной системы необходимо осуществить компьютерное моделирование временной траектории длиной 10^{14} шагов ДДЧ,

что абсолютно недостижимо на сегодняшний день ввиду технических ограничений. В реальных системах длина цепей обычно составляет $N \sim 10^6$ и термодинамическое равновесие тоже не достигается, поэтому исследуются свойства просто устойчивых систем. На рис. 3.5 изображены зависимости длины зацеплений N_e от времени для концентраций 20, 50, 90 и 100% полимера. Заметим, что, начиная с 10^3 шагов ДДЧ, длина зацеплений остается постоянной для всех исследуемых концентраций. Вместе с тем отметим, что длина зацеплений зависит от концентрации, что хорошо согласуется с результатами других работ [41].

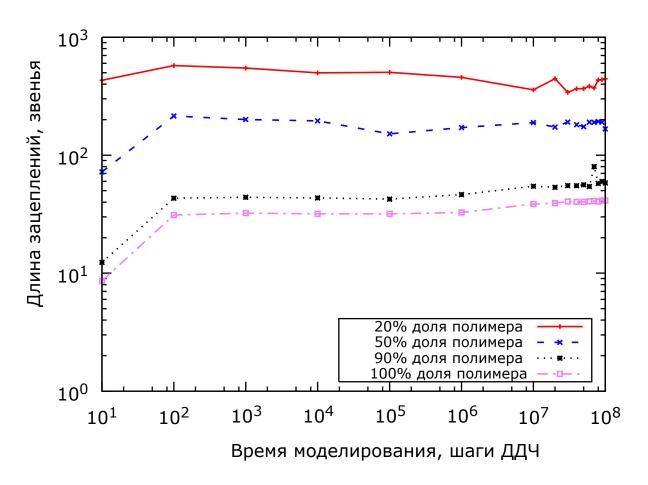


Рис. 3.5. Зависимость длины зацеплений от времени. Вычисления осуществлены методом, описанным в работах группы М. Крегера [37]—[40].

Другое интересное наблюдение заключается в том, что максимальный размер кристаллита набллюдается для системы, в которой объемная доля полимера составляет 90% полимера, см. рис 3.4 (б). Такое значение концентрации

определяется конкуренцией двух вкладов: замедления динамики из-за сформированной сетки зацеплений и наличия полимерного материала для вовлечения в кристаллиты. В системах с малой концентрацией полимера недостаточно вещества для формирования крупных кристаллитов. В системах с высокой концентрацией полимера преодоление субцепью больших расстояний сильно затруднено из-за сформированной плотной сетки зацеплений и большой конкуренции между кристаллитами за освободившиеся цепи. Поэтому, объединение малых кристаллитов в один большой не происходит.

На рис. 3.4 (в) приведены зависимости числа кристаллитов, нормированные на концентрацию, от времени моделирования. Наблюдается резкий рост числа кристаллитов с начала моделирования до $10^5 - 10^6$ шагов ДДЧ, в этом интервале происходит образование зародышей кристаллитов, поэтому наблюдается максимум числа кристаллитов. В дальнейшем продолжается увеличение степени кристалличности, но уже за счет объединения кристаллитов для формирования более крупных агрегатов. На графике это проявляется в виде уменьшения числа кристаллитов. Такое поведение соответствует двустадийному процессу кристаллизации полимеров: сначала формируются зародыши кристаллитов, затем эти зародыши объединяются, формируя кристаллиты. Примечательно, что на второй стадии все системы имеют очень схожее поведение, поэтому они могут быть описаны одной логарифмической зависимостью для поздней стадии кристаллизации.

Для более детального анализа конформаций полимерных цепей, формирующих систему, были построены зависимости квадрата пространственного расстояния от длины сегмента цепи, разделяющего их, $R^2(s)$. На рис. 3.6 (а) приведены зависимости для системы с концентрацией 90% полимера, полимерные цепи в системах с другой концентрацией имеют аналогичное поведение. Конформация кристаллических сегментов близка к жесткому стержню, о чем свидетельствует зависимость квадрата расстояния от длины сегмента цепи $R^2(s) \sim s^2$. "Аморфные" сегменты цепи имеют конформацию жесткого стержня лишь на

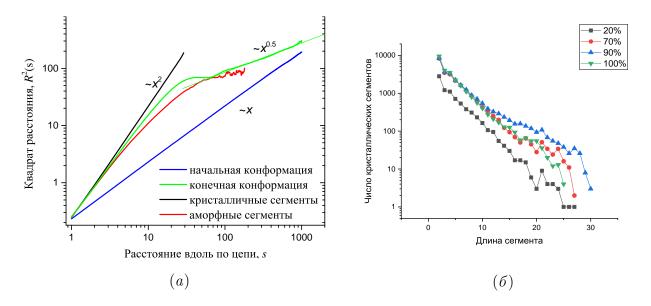


Рис. 3.6. а) Зависимость квадратата расстояния от длины вдоль по цепи для начальной конформации, для конечной конформации 90% и отдельно для кристаллических и аморфных сегментов финальной конформации 90%. б) Распределение по длинам кристалличных сегментов для конечной конформации разных концентраций.

малых длинах (~ 4 звеньев), затем они плавно переходят в существенно более складчатые конформации.

Если рассмотреть зависимость $R^2(s)$ для цепи целиком, без разделения на кристаллические и аморфные сегменты (см. рис. 3.6), то можно заметить 2 особенности: слабая периодичность, которая связана с размером длины кристаллического сегмента и наличие двух режимов цепи. При длине субцепи $s > N_e \approx 50$ (для системы с концентрацией 90% полимера) зависимость квадрата расстояния можно записать как $R^2(s) \sim s^{0.5}$. Также на графике представлена зависимость для начальной конформации, хорошо видно, что она соответствует гауссову случайному блужданию, см. рис. 3.6 (а), так как с хорошей точностью описывается выражением $R^2(s) \sim s$. Согласно графику зависимости для конечной конформации, представленному на рис. 3.6 (а), расстояние между концами цепи изменяется несущественно, что хорошо согласуется с экспериментальными данными [150]. Зависимость $R^2(s) \sim s^{1/2}$, которая наблюдается на длине субцепи s > 100, означает образование складчатой конформации. Аналогичная складчатая структура наблюдалась при коллапсе одиночной жесткой цепи в

плохом растворителе, описанная в главе 2 настоящей диссертации. Таким образом, формирование складчатых конформаций в переохлажденной полимерной системе происходит при любых концентрациях полимера.

На рисунке 3.6 (б) представлен ряд распределений кристаллических сегментов по длинам для систем с разной концентрацией полимера. Распределения являются экспоненциальными с одинаковым основанием, что подтверждает высокое сходство структуры систем с разной концентрацией. Стоит отметить, что размер "кристаллического" сегмента в кристаллите является достаточно постоянной величиной, но в кластерном анализе часто разбивается на несколько сегментов из-за флуктуаций цепи. Такое свойство хорошо известно для кристаллических полимерных систем и в очередной раз подтверждается нашей моделью.

3.2. Выводы к четвертой главе

Диссипативная динамика частиц является эффективным методом для изучения кристаллизации полимеров. Для всех рассмотренных систем наблюдалось схожее поведение, но, в то же время, ряд характеристик показал нетривиальную зависимость от концентрации. В ходе изучения процесса кристаллизации из переохлажденного раствора были сформулированы следующие выводы:

- 1. В ходе кристаллизации концентрированного раствора многих полимерных цепей формируется поликристаллический материал, где каждый кристаллит состоит из нескольких цепей, одна цепь может входить в несколько кристаллитов.
- 2. Процесс кристаллизации состоит из двух стадий: рост количества кристаллических зародышей и последующие их слияния с вовлечением соседних аморфных участков.
- 3. Существует оптимальная концентрация полимера ($\sim 90\%$) для получе-

ния наиболее крупных кристаллитов. При этой концентрации соблюдается баланс между плотностью сеткой зацеплений и наличием достаточного количества полимера.

Также хотелось бы отметить, что в текущем исследовании не была обнаружена морфология сферолита [112]. Однако для системы с концентрацией 90% полимера самый крупный сформированный кристаллит в действительности состоит из нескольких касающихся кластеров, см. рис. 3.7. Дальнейшее изучение кристаллизации полимеров поможет найти объяснение формированию таких необычных структур, как сферолит.

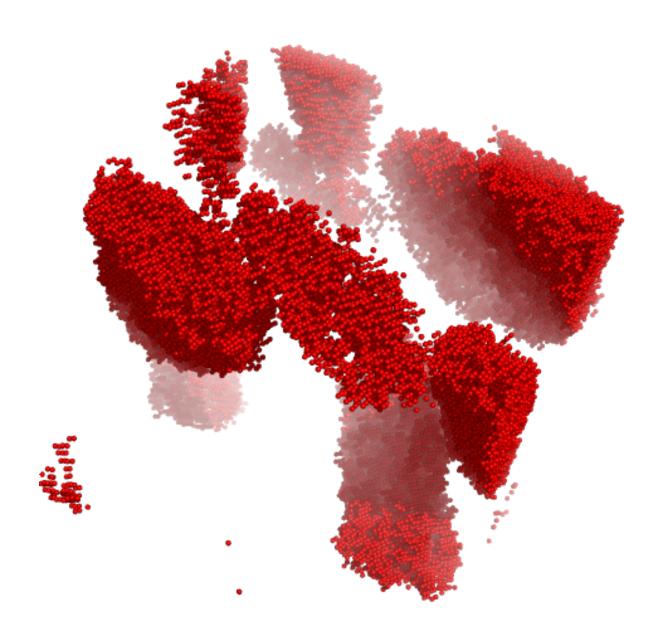


Рис. 3.7. Самый крупный кристаллит в системе с объемной долей полимера 90%, вероятно, отражает начальные стадии формирования сферолита.

Глава 4

Структура цепи с насыщающимися взаимодействиями и модель хроматина

В данной главе рассматривается структура конформаций, формируемых посредством насыщающихся взаимодействий. Такие структуры выступают в качестве модели упаковки хроматина в ядре клетки. В качестве модельного организма, для которого осуществлялось описание пространственной организации хроматина, была выбрана плодовая мушка (Drosophila melanogaster), так как является наиболее хорошо изученным организмом с точки зрения молекулярный биологии. Особенности, свойственные для этого биологического вида, должны быть характерны и для других, более сложных организмов, например, млекопитающих. В данном исследовании используются результаты коллапса одиночной полимерной цепи в плохом растворителе, описанные в главе 2 настоящей диссертации. Решение задачи осуществлялось с помощью компьютерного моделирования, был использован метод огрубленной молекулярной динамики ДДЧ, описанный в главе 1 настоящей диссертации. Для воспроизведения компактности структуры был использован механизм насыщающихся взаимодействий, также описанный в главе 1 настоящей диссертации.

4.1. Формирование топологически-ассоциированных доменов

При описании упаковки ДНК в клеточном ядре могут быть использованы различные масштабы, см. рис. 4.1. Достоверно известно, что ДНК является двухцепочечной спиралью, намотанной на белки гистоны. Хроматин – это вещество хромосом, он включает ДНК, гистоны и другие белки, связанные с ДНК. Однако структура хроматина и причины ее формирования остаются неизвест-

ными.

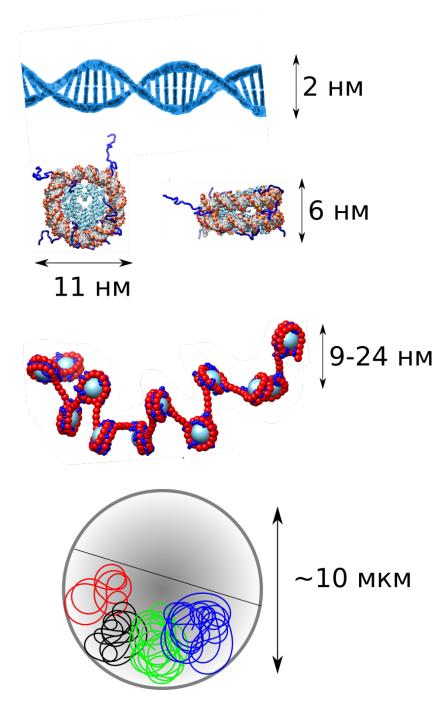


Рис. 4.1. Масштабы упаковки ДНК в ядре клетки.

Хроматин может быть рассмотрен как длинная полимерная цепь, несмотря на сложную внутреннюю структуру. Этот вывод следует из общих принципов поведения длинных полимерных цепей [15]. Каждая хромосома в ядре клетки представляет собой отдельную полимерную цепь и занимает определенную геометрическую область пространства, называемую хромосомной территорией. Как уже было упомянуто в главе 1, организация хроматина на масштабе хромо-

сомных территорий в настоящей диссертации не рассматривается, а объектом исследования является участок одиночной хромосомы. Стоит отметить, что существование хромосомных территорий позволяет проводить изучение одиночной хромосомы, не теряя важных особенностей общей структуры упаковки хроматина в клеточном ядре.

Плотность хроматина внутри ядра эукариотической клетки существенно неравномерна, это является следствием прежде всего таких функциональных особенностей хроматина, как считывание с ДНК генетической информации. Для нормального функционирования клетки в частности и организма в целом требуется своевременный синтез определенных белков, для этого РНК должна считывать и копировать нужную информацию с ДНК. Можно сделать предположение, что уровень экспрессии генов оказывает существенное влияние на распределение плотности хроматина внутри клеточного ядра. С одних участков ДНК генетическая информация считывается часто, тогда как с других – редко или вообще никогда. Существует множество модификаций хроматина, не связанных с изменением последовательности ДНК, которые прямо или косвенно влияют на экспрессию генов, такие модификации называются эпигенетическими.

Хроматин по уровню экспрессии разделяют на два типа: эухроматин и гетерохроматин. Однако в некоторых работах [82] предлагается разделение хроматина на 4 типа: эухроматин, факультативный (связанный с поликомбными белками), конститутивный (связанный с белками англ. НР1) и наименее эпигенетически определенный "молчащий" хроматин. В текущем исследовании использовано разделение хроматина на 2 типа: активный (ацетилированный, модификация НЗК27ас) и неактивный. Помимо эпигенетических изменений в формировании структуры хроматина участвуют архитектурные белки, способствующие компактизации, например, когезин при интерфазе у млекопитающих может связывать собой два участка хроматина в пространстве [61], [73], [151].

Эпигенетические модификации играют важную роль в пространственной

организации хроматина, например, при формировании пространственных топологически ассоциированных доменов [2]. Профиль ацетилирования хроматина сильно коррелирует с уровнем экспрессии генов хроматина и расположением топологически ассоциированных доменов, определенных по контактной карте, полученной в эксперименте Ні-С. Поиск доменов на контактной карте, как правило, осуществляется при помощи программного обеспечения armatus [152]. Для дальнейшего описания потребуется определить некоторые понятия, так как данная область является новой и очень активно развивается, то авторы в своих работах иногда вводят определения по-разному. В настоящей диссертации топологически-ассоциированный домен (ТАД) – домен, образованный участком неактивного хроматина с повышенным числом контактов, относительно среднего значения в системе. Плотность контактов определяется по карте контактов, полученной в эксперименте Ні-С (описание содержится в главе 1 настоящей диссертации). К ТАДам в настоящей диссертации будут относится участки хроматина любой длины, т.е. никаких ограничений на размер ТАДа не накладывается. Активный хроматин – это хроматин с высоким уровнем экспрессии относительно её среднего значения для всего генома. Аналогично, неактивный хроматин – это хроматин с низким уровнем экспрессии. На сегодняшний день причины и способ формирования ТАДов остаются неясными в первую очередь потому, что совокупность механизмов, ответственных за компактизацию, по-видимому, различается для разных биологических видов. Например, было показано, что когезина очень мало и он почти не активен у плодовой мушки (Drosophila melanogaster) [153], а следовательно модель "loop extrusion" плохо подходит для описания пространственной организации генома этого биологического вида.

Наличие корреляции между уровнем экспрессии хроматина и плотностью контактов означает, что активный (ацетилированный) хроматин имеет в среднем менее компактную структуру, чем неактивный. Гипотеза о связи ацетилирования и организации хроматина заключается в том, что при ацетилировании

заряд на хвосте гистона Н3 оказывается замещен и такие участки формируют менее плотные конформации. Отметим, что система в целом является нейтральной с точки зрения электростатики. При наличии у нуклеосомы заряда на хвосте гистона - возможно формирование долгоживущего контакта с другой нуклеосомой, там как на ядре из гистонов (H2A, H2B) имеется область с отрицательным зарядом. В случае ацетилирования нуклеосомы взаимодействие типа "ключ-замок" не реализуется из-за отсутствия положительного заряда на хвосте гистона Н3. Для проверки этой гипотезы проведено компьютерное моделирование сегмента одной хромосомы Drosophila melanogaster. Согласно данным ресурса NCBI, размер одной X хромосомы составляет 23.54 млн п.н., т.е. ≈ 117 тыс. нуклеосом. Поэтому, в компьютерном эксперименте будет смоделировано $\approx 9\%$ X хромосомы. Участок хромосомы представлен в виде регулярного блоксополимера с типами мономерных звеньев А и Б. Его последовательность выбрана исходя из экспериментальных сведений о распределении долей активного и неактивного хроматина и записана в виде [500А - 50Б]₁₉, где звенья типа "А" соответствуют неактивному хроматину, а "Б" – активному. Соотношение длин блоков и их абсолютные значения были выбраны из экспериментальных данных для Drosophila melanogaster [2]. Для подтверждения гипотезы о влиянии разметки хроматина на структуру было проведено моделирование полимерной цепи с последовательностью [500А - 500Б], но об этом пойдет речь в следующей секции данной главы настоящей диссертации.

Для моделирования упаковки хроматина огрубление выбрано таким образом, что 1 звену в компьютерном эксперименте соответствует 1 нуклеосома, т.е. 200 п.н. Во-первых, более детальное моделирование означает необходимость моделирования гистонов, а это потребует введения электростатики в явном виде и специфических взаимодействий для учета связывания ДНК с гистонами и другими белками. Во-вторых, распределение вещества нуклеосомы в значительной степени центрально-симметричное, что хорошо согласуется со сферической формой "мягкого" потенциала ДДЧ, а возможность взаимного проникновения

частиц позволяет качественно учесть отклонения формы нуклеосомы от сферы. В-третьих, как уже было упомянуто, согласно законам статистической физики макромолекул, поведение полимерной цепи на больших пространственных масштабах не зависит от внутренней структуры цепи, наличия валентных углов и прочих особенностей цепи. Поведение определяется внешними условиями и общими свойствами, характерными для всех полимерных цепей. Учет всех особенностей строения нуклеосом не позволит рассматривать поведение хроматина на интересующих временных и пространственных масштабах. Формирование долгоживущего контакта между двумя нуклеосомами смоделировано в виде обратимого формирования связи между звеньями, представляющими неактивные участки хроматина, такой механизм носит название насыщающиеся взаимодействия. Он описан в главе 1 настоящей диссертации. Валентность взаимодействия равняется u=1 для всех описанных случаев моделирования. Образование и разрыв связей происходят с заданными вероятностями p_c и p_b , а их отношение p_c/p_b определяет долю связанных звеньев. Значения вероятностей были выбраны эмпирическим путем: $p_c = 0.1$ и $p_b = 0.01$, что соответствует доле образованных связей $\sim 70\%$ от числа возможных. Такие вероятности образования и разрыва связей были выбраны для нормировки на размер системы. С одной стороны, цепь не должна представлять собой плотную глобулу, с другой – не должна формировать клубковую конформацию с большими характерными размерами, так как в реальных системах это привело бы к возникновению существенного осмотического давления со стороны хроматина на ядерную мембрану. При реализации механизма насыщающихся взаимодействий время релаксации системы между взаимодействиями, т.е. время, через которое связи могут образовываться и разрываться, выбрано равным 200 шагов ДДЧ. Такой временной интервал является достаточным для того, чтобы звенья успевали сменить соседей, и система не оказалась в кинетически замороженном состоянии, когда образуются и разрываются связи между одинаковыми парами.

В качестве начальной конформации было выбрано случайное блуждание

в моделируемом пространстве кубической формы размером $48 \times 48 \times 48$. Для устранения поверхностных эффектов моделирование осуществлялось в континуальном пространстве, для этого были использованы периодические граничные условия по всем направлениям координатных осей: х, у, z. Случайное блуждание реализовано в ограниченном объеме, соответствующем размеру моделируемой ячейки, чтобы в начальные моменты времени исключить формирование связей между звеньями цепи через периодические граничные условия. Из-за использования периодических граничных условий используемое в расчетах расстояние между звеньями может быть кратно размеру моделируемой ячейки. Программой это будет проинтерпретировано как $x_i - x_j \approx 0$ и связь может быть образована. В ходе моделирования образование таких связей возможно лишь теоретически, так как структура достаточно компактная. Формирование связей через периодические границы не было ни разу зафиксировано за все время моделирования. Случайное блуждание в качестве начальной конформации цепи было выбрано в связи с тем, что реальная трехмерная конформация хроматина неизвестна, а случайное блуждание является "классическим" выбором в компьютерном моделировании полимеров. Кроме того, при правильном выборе параметров моделирования, формируется термодинамически равновесная система, поведение которой не зависит от выбора начальной конформации.

Моделирование осуществлено методом ДДЧ, описанном в Главе 1 настоящей диссертации. Так как хроматин является полиэлектролитом, а основной растворитель в ядре клетки – вода (полярный растворитель), то цепь находится в хорошем растворителе, в терминах модели Флори-Хаггинса параметр $\chi=0$. Коэффициенты объемного взаимодействия выбраны как $a_{ii}=a_{ij}=150$, такое большое значение параметра объемного взаимодействия в сравнении со стандартным ($a_{ii}=25$) было выбрано для устранения возможности самопересечения цепи. При этом недеформированная длина связи установлена равной $l_0=0.5$, а жесткость связи – k=150. Эти условия позволяют предотвратить самопересечение цепи за счет стерических ограничений. Остальные параметры

выбраны стандартными для ДДЧ [108] $\rho = 3, \Delta t = 0.04$. Всего было выполнено 12 независимых запусков из разных стартовых конформаций.

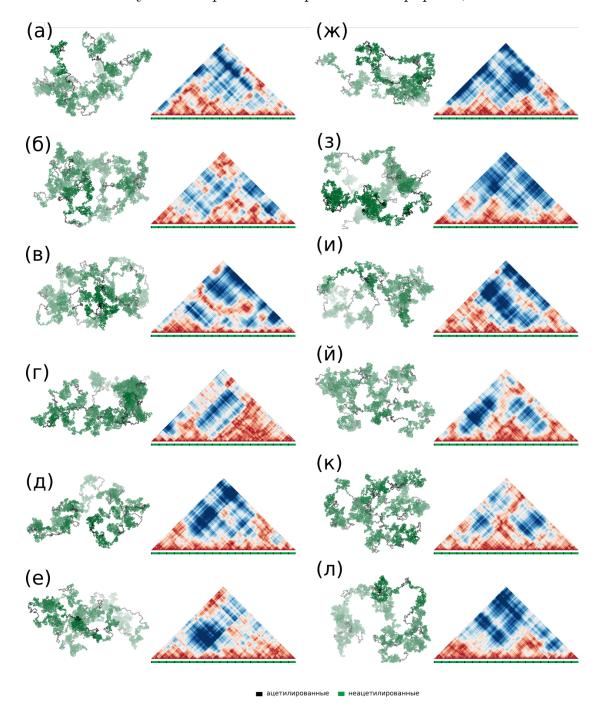


Рис. 4.2. 12 финальных конформаций независимых запусков из разных стартовых конформаций и их карты расстояний.

Для анализа результатов компьютерного моделирования были построены карты расстояний, так как они содержат всю информацию о системе и достаточно легко усредняются, кроме того, по ним можно однозначно восстановить трехмерную структуру. Восстановление трехмерной конформации по матрице

расстояний является вариацией задачи трилатерации и для ее решения матрица содержит избыточные данные. Таким образом одиночная карта расстояний позволяет анализировать архитектурные особенности конформации цепи на любых пространственных масштабах. Матрица расстояний, как и матрица контактов, является симметричной и часто изображают её половину и поворачивают на 90 градусов. Таким образом она выглядит как равнобедренный треугольник, в основании которого лежит диагональ матрицы.

На рис. 4.2 приведены полученные конечные конформации. Примечательно, что как сами конформации, так и соответствующие им карты расстояний значительно отличаются между собой. Визуально в них едва угадываются схожие мотивы. Однако стоит отметить, что эксперименты по захвату конформации хромосом, в частности, полногеномный метод Hi-C, проводятся на большой популяции клеток $\sim 10^7$. В результате индивидуальные особенности пространственной организации хроматина в клетках оказываются неразличимы. Но, с другой стороны, благодаря большой статистике, можно с уверенностью говорить об общих архитектурных особенностях, характерных для всей популяции клеток. Из рис. 4.2 можно сделать вывод, что хроматин в клетках принимает не похожие друг на друга конформации, однако, при усреднении (см. рис. 4.3) хорошо видна иерархическая структура доменов.

Из экспериментов Ні-С можно получить только карты контактов, поэтому, чтобы сравнить напрямую экспериментальные результаты с результатами моделирования, была построена карта контактов. Использован то свойство, что карты контактов могут быть получены из карт расстояний путем введения параметра контактного радиуса и сравнения каждого расстояния с этим параметром. Если значение меньше параметра - присваиваем 0, иначе 1. По картам контактов невозможно однозначно восстановить трехмерную конформацию цепи, кроме того, они существенно хуже усредняются вследствие их сильной разреженности. Карта контактов представлена не для всей системы, а только для участка размером 3 домена [500А-50Б], см. рис. 4.3. Статистика для такой кар-

ты была получена путем усреднения скользящим окном по всем конформациям, чтобы накопить достаточно данных для обработки и представления.

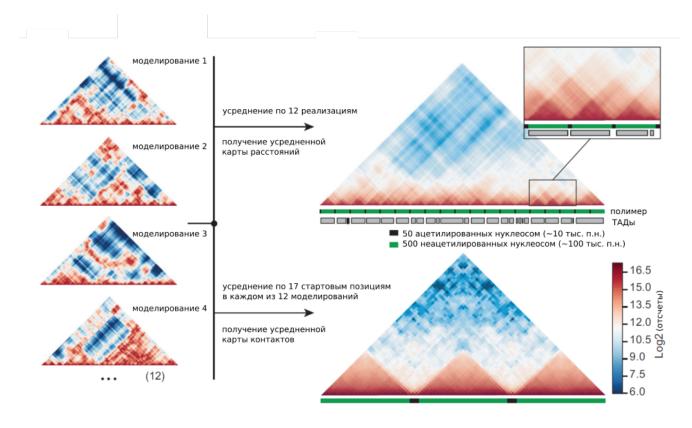


Рис. 4.3. Слева - одиночные карты расстояний. Справа сверху усредненная карта расстояний по 12 реализациям. Справа внизу усредненная скользящим окном в 3 домена по 12 конформациям карта контактов.

На рис. 4.3 под усредненной картой расстояний представлена серая шкала разбиения на домены, выполненного при помощи программы Armatus v 1.0 [152]. Видно, что полученное разбиение на домены очень хорошо коррелирует с фактической разметкой полимера [500A-50Б]₁₉. Стоит отметить, что поиск ТА-Дов с помощью программного обеспечения Armatus на индивидуальной карте расстояний показывает плохие результаты. Это является еще одним подтверждением высокой вариабельности пространственной архитектуры хроматина в отдельных клетках. На рис. 4.4 изображена конформация одиночного запуска и отмечены некоторые структурные элементы, которые хорошо видны на карте расстояний.

Для сравнения было проведено компьютерное моделирование хроматина с

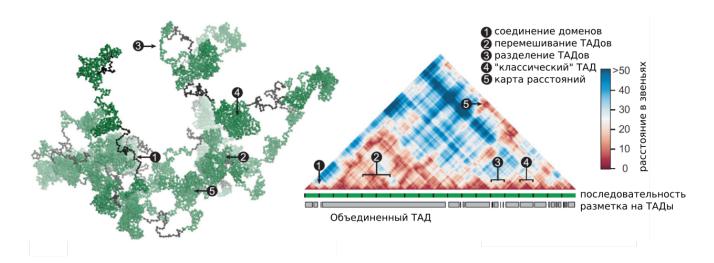


Рис. 4.4. Слева изображена конформация мультиблоксополимера с насыщающимися взаимодействиями. Справа - соответствующая конформации слева карта расстояний. На карте и конформации отмечены некоторые структурные элементы.

использованием только объемных взаимодействий. Для моделирования ТАДов была использована аналогичная модель мультиблоксополимера, состоящего из звеньев двух типов, $[500\mathrm{A}-50\mathrm{B}]_{19}$. Как и ранее, звенья типа А моделируют неактивный хроматин (n), тип Б – активный (a), Р – растворитель (s), тогда $a_{ii}=a_{as}=150,\ a_{ns}=a_{na}=159.8$. То есть сегменты типа А коллапсируют в растворителе, тогда как для сегментов типа Б растворитель является атермальным. Такие значения параметров отталкивания соответствуют $\chi\approx3$, так как для N>10 параметр взаимодействия связан с параметром модели Флори-Хаггинса выражением $\chi\approx a/0.306$ [108].

На рис. 4.5 (а) представлена конформация, полученная в ходе моделирования с использованием только объемных взаимодействий. Стоит отметить, что структура ядро-оболочка формируется из-за коллективности объемных взаимодействий. На карте расстояний видны некоторые особенности доменного строения, однако, это связано скорее с последовательностью мультиблоксополимера, а не со сформированной пространственной структурой. Еще одним существенным недостатком является плотность полученной системы, она равномерно высокая, чего не наблюдается в микроскопии. При равномерно высокой плотности хроматин занимал бы в ядре значительно меньший объем, а он распределен по

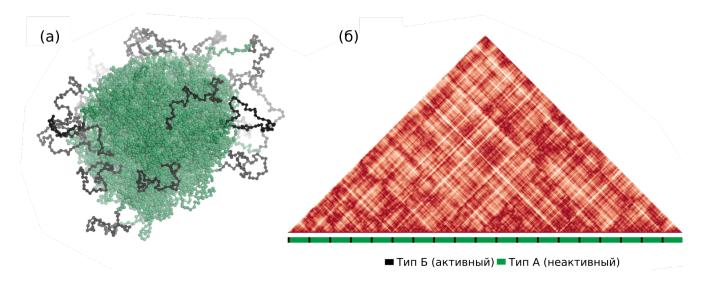


Рис. 4.5. а) Конформация мультиблоксополимера, сформированного в ходе коллапса под действием объемных взаимодействий. б) Карта расстояний, соответствующая конформации (а).

всему объему ядра. На рис. 4.5 (б) представлена карта расстояний, на которой можно заметить, что между доменами практически не наблюдается иерархии.

Возвращаясь к анализу зависимости вероятности контакта, как уже было отмечено в главе 1, согласно экспериментальным данным внутридоменная вероятность контакта имеет зависимость $P(s) \sim s^{-3/4}$ [61]. Такая зависимость может существовать только для участка цепи, но не для всей системы. При наблюдении за вероятностью контакта структура мультиблоксополимера, полученная в ходе компьютерного моделирования, качественно соответствует наблюдаемым экспериментальным тенденциям, см. рис. 4.6. Значение степенного показателя α зависимости вероятности контакта $P(s) \sim s^{\alpha}$ внутри домена больше, чем между доменами. Это связано со свойствами трехмерного пространства, максимально плотная иерархическая структура имеет зависимость $P(s) \sim s^{-1}$, при увеличении степенного показателя в зависимости P(s) структура становится вложенной, в частности, субцепи перемешиваются на определенном масштабе. Если степенной показатель зависимости $P(s) \sim s^{\alpha} \alpha < 1/3$, то он не может оставаться постоянным для структуры на всех масштабах. С математической точки зрения такое возможно, но является нефизическим случаем и такие структуры

в настоящей диссертации не рассматривается.

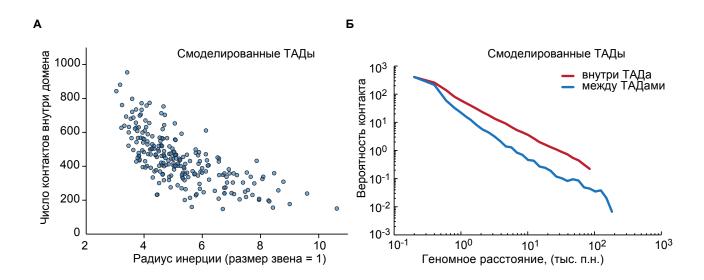
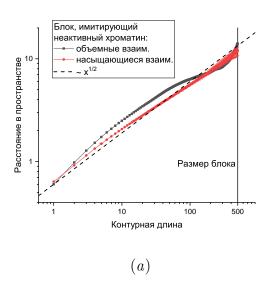


Рис. 4.6. а) Зависимость числа внутридоменных контактов от радиуса инерции, чем больше контактов, тем более компактную структуру имеет домен. б) Зависимость вероятности контакта от геномной длины для внутридоменных контактов и междоменных. Осуществлен пересчет 1 звено ~ 200 п.н.

Также мы проверили существование зависимости между числом контактов звеньев внутри домена и его характерным пространственным размером. В качестве характеристики размера был выбран радиус инерции. На рис. 4.6 (а) заметен явный тренд увеличения числа контактов с уменьшением характерного размера. Такое поведение зависимости интуитивно понятно: чем больше контактов, тем более плотная структура формируется, следовательно, тем меньше её характерный пространственный размер.

Для сравнения влияния насыщающихся взаимодействий на формирующуюся структуру были построены зависимости R(s) отдельно для участков имитирующих активный и неактивных хроматин, см. рис. 4.7. И в случае активного хроматина, и в случае неактивного, структура, формируемая посредством только объемных взаимодействий, имеет существенно более равновесные характеристики. Такой вывод продиктован результатами, описанными в главе 2 настоящей диссертации. Моделирование структуры мультиблоксополимера, сформированной посредством объемных взаимодействий, было проведено один



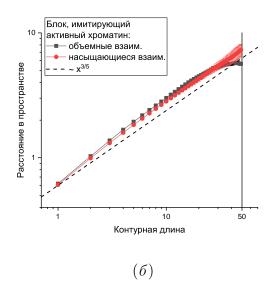


Рис. 4.7. а) Различия в структуре ТАДа, блока, имитирующего неактивный хроматин. б) Различия в структуре линкера, блока, имитирующего активный хроматин. Для насыщающихся взаимодействий сделано усреднение по 228 блокам 12 независимых реализаций (19 блоков в каждой). Для объемных взаимодействий зависимость усреднена по 19 блокам единственной рассчитанной структуры.

раз, так как нет каких-либо предпосылок к вариативности структуры. Однако небольшой объем выборки сказывается при построении вероятности контакта, см. рис. 4.8.

На рис. 4.8 (а) хорошо видно, что структура, сформированная насыщающимися взаимодействиями, плотнее уложена на малых масштабах, но существенно более свободно на больших. При анализе зависимостей P(s) на рис. 4.8 (б), хорошо видно, что у структуры, сформированной объемными взаимодействиями, функциональная зависимость пропадает существенно раньше ($P(s) \sim const$), чем у сформированной насыщающимися. Такой результат не соответствует экспериментальным результатам. Поэтому глобула, сформированная мультиблоксополимером с насыщающимися взаимодействиями может являться моделью упаковки хроматина.

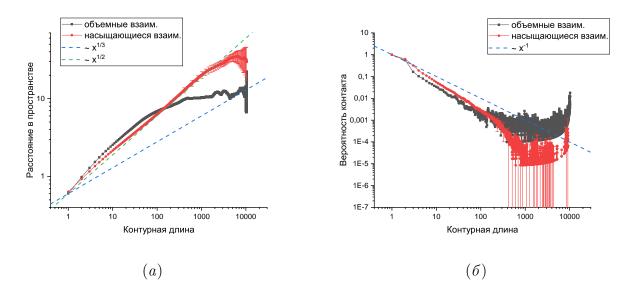


Рис. 4.8. а) Зависимости R(s) для структур сформированных объемными и насыщающимися взаимодействиями. б) Зависимости P(s) для структур, сформированных объемными и насыщающимися взаимодействиями.

4.2. Стабилизация топологически-ассоциированных доменов

Если рассмотреть разделение хроматина на активный и неактивный, то можно заметить, что такая разметка очень нерегулярна. Можно обнаружить участки, где активный хроматин занимает такую же долю, как и неактивный, см. рис. 1.13. Для проверки того, как такое распределение может повлиять на конечную структуру было осуществлено компьютерное моделирование мультиблоксополимера с насыщающимися взаимодействиями методом диссипативной динамики частиц. Последовательность моделируемого полимера была выбрана как $[500A-500B]_{10}$, а длина составляла N=10000 звеньев. Параметры моделирования использовались такие же, как в предыдущем разделе настоящей главы. Звенья, моделирующие активный хроматин, согласно выдвинутой гипотезе, не образуют связи с другими нуклесомами. В результате этого они экранируют ТАДы друг от друга. Для описания полученной структуры была построена контактная карта размером три домена по одной полученной конформации. Доменная структура проявляется достаточно хорошо, несмотря на размер вы-

борки, см. рис. 4.9 (б). Экранирование доменов хорошо видно визуально на трехмерной конформации рис. 4.9 (а). При этом для исключения влияния размеров структуры, число блоков было уменьшено до 10 шт., чтобы провести корректное сравнение со структурой мультиблоксополимера [500А-50Б]₁₉. Визуально сравнив конформации мультиблоксополимеров разной последовательности, можно сделать вывод, что чем длиннее участок активного хроматина, тем лучше он экранирует ТАДы неактивного хроматина от взаимодействия между собой.

Другим интересным мотивом в разделении хроматина на активный и неактивный является присутствие коротких участков активного хроматина внутри длинного участка неактивного, см. рис. 1.13. Для оценки влияния в качестве модели была выбрана последовательность мультиблоксополимера 500А - 50Б - [50А - 10Б]₁₀ - 50Б - 500А, т.е. в центральный блок длиной 500 звеньев было добавлено 10 коротких сегментов длиной 10 звеньев моделирующих активный хроматин.

В ходе моделирования было установлено, что участки активного хроматина достаточно быстро оказываются на поверхности домена, тем самым стабилизируют его. Примечательно, что этот результат соответствует представлениям Томаса Кремера об организации хроматина. В его модели хроматин организован в виде кластеров доменов хроматина (англ. chromatin domain cluster - CDC), где находится неактивный хроматин и перколирующих каналов, где находится активный [154]. В каналах плотность хроматина существенно ниже, чем в кластерах. Это связано с активным осуществлением транскрипции. В этих междоменных областях наблюдается высокая подвижность, см. рис. 4.11. Одним из главных преимуществ представленной модели мультиблоксополимера с использованием насыщающихся взаимодействий является самоорганизация. Известно, что эпигенетические профили наследуются при делении клеток. Это означает, что разметка хроматина задается биологическими механизмами. Формирование пространственной структуры хроматина происходит исключительно за счет общих принципов статистической физики макромолекул без использо-

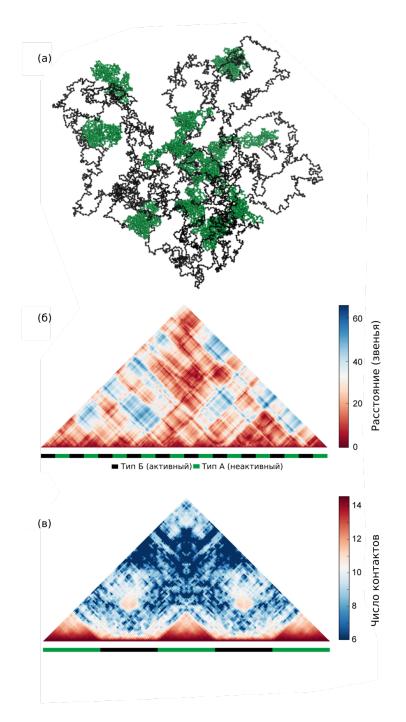


Рис. 4.9. а) Конформация полимерной цепи с последовательностью $[500A-500B]_{10}$. б) Карта расстояний для конформации (а). в) Контактная карта для конформации (а), усредненная скользящим окном размером 3 домена.

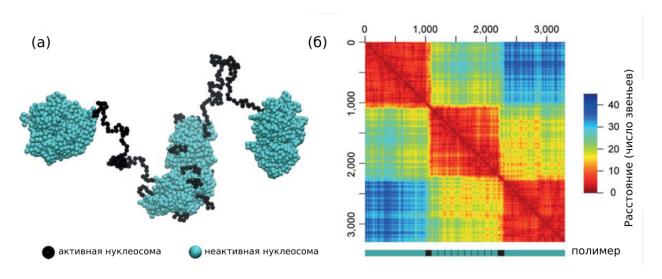


Рис. 4.10. а) Конформация полимерной цепи с последовательностью $500\text{A}-50\text{B}-[50\text{A}-10\text{B}]_{10}-50\text{B}-500\text{A}$. б) Карта расстояний для конформации (а).

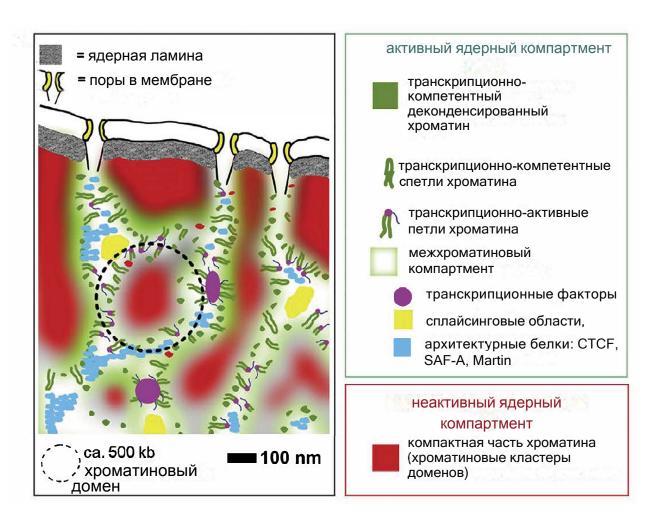


Рис. 4.11. Графическое представление модели Т. Кремера о существовании хроматиновых кластеров доменов (англ. CDC) и хроматиновых каналов. Изображение заимствовано [154].

вания каких-либо грубых допущений или специальных архитектурных белков. Это очень важно для выявления общих принципов пространственной организации хроматина, характерных для большинства биологических видов.

4.3. Выводы к третьей главе

Показано, что разделение хроматина на активный и неактивный играет ключевую роль в его пространственной организации. В модели хроматин был представлен в виде регулярного мультиблоксополимера с насыщающимися вза-имодействиями между звеньями, моделирующими неактивный хроматин. Для всех участков мультиблоксополимера растворитель был хорошим, т.е. в терминах модели Флори-Хаггинса $\chi=0$. В ходе моделирования в системе были сформированы топологически-ассоциированные домены (ТАДы). Полученные конформации существенно отличались друг от друга, однако присутствовали схожие мотивы пространственной организации, которые были хорошо видны при усреднении по независимым реализациям. Полученные результаты компьютерного моделирования качественно совпадают с экспериментальными результатами. В частности, график зависимости вероятности контакта $P(s) \sim s^{\alpha}$, рассчитанный для звеньев внутри домена, идет более полого, чем между доменами.

В ходе вариации длины блоков и структуры последовательности было установлено две закономерности. Длинные участки цепи, моделирующие ацетилированный активный хроматин, способствуют стабилизации ТАДов путем увеличения расстояния между доменами за счет экранирования взаимодействия звеньев разных ТАДов. В то же время наличие большого числа коротких участков активного хроматина тоже приводит к стабилизации ТАДов, как это показано на рис. 4.10. Похожее поведение наблюдается у поверхностно-активных веществ, которые стабилизируют мицеллы.

Заключение и выводы

Диссертация посвящена изучению структур, формируемых высокомолекулярными соединениями. Компьютерное моделирование было использовано в качестве основного метода исследования. В рамках выполненной работы были получены следующие новые результаты:

- Полимерная цепь в результате коллапса в "плохом" растворителе не может сформировать структуру складчатой (фрактальной) глобулы, для которой зависимость вероятности контакта звеньев от контурной длины цепи задается как $P(s) \sim s^{-1}$, а зависимость пространственного расстояния от контурной длины $R(s) \sim s^{1/3}$. Это происходит из-за постоянной релаксации системы на всех пространственных масштабах, поэтому после формирования единой глобулы субцепи малой длины имеют гауссову статистику.
- При кристаллизации полимера из переохлажденного раствора формирование кристаллических зародышей происходит до завершения фазового расслоения (коллапса в плохом растворителе) даже для значения параметра $\chi \approx 9$ в модели Флори-Хаггинса. Однако, после формирования глобулы структура релаксирует в единый кристаллит.
- Кристаллизация полимерных цепей из разбавленного переохлажденного концентрированного раствора осуществляется в две стадии: быстрый рост количества кристаллических зародышей и последующее медленное увеличение степени кристалличности за счет их слияния и вовлечения соседних аморфных участков. Кристаллическая ламель состоит из нескольких цепей, одна цепь находится в нескольких кристаллитах, при этом кристаллит состоит из множества полимерных цепей.
- При концентрации полимера ($\sim 90\%$) в системе формируются наиболее

крупные кристаллиты. Это объясняется балансом между сеткой зацеплений, сформированной цепями и наличием полимерного материала для увеличения степени кристалличности.

• При описании структуры, формируемой хроматином внутри ядра эукариотической клетки во время интерфазы, моделью регулярного мультиблоксополимера с насыщающимися взаимодействиями удалось получить топологически-ассоциированные домены неактивного хроматина. Они образуются благодаря возможности формирования обратимых насыщающихся связей, что является аналогом взаимодействия неацетилированных нуклеосом, относящихся к неактивному хроматину. Участки активного хроматина находятся либо на поверхности домена, образованного неактивным хроматином, либо между такими доменами.

Список литературы

- [1] A. Chertovich и P. Kos, «Crumpled globule formation during collapse of a long flexible and semiflexible polymer in poor solvent», *The Journal of chemical physics*, т. 141, № 13, с. 134 903, 2014.
- [3] A. A. Gavrilov, Y. Y. Shevelyov, S. V. Ulianov, E. E. Khrameeva, P. Kos, A. Chertovich и S. V. Razin, «Unraveling the mechanisms of chromatin fibril packaging», *Nucleus*, т. 7, № 3, с. 319—324, 2016.
- [4] С. Разин, А. Гаврилов, П. Кос и С. Ульянов, «Самоорганизация хроматиновой фибриллы в топологически-ассоциированные домены», *Биоорганическая химия*, т. 43, № 2, с. 115—123, 2017.
- [5] De Gennes, PG, «Collapse of a polymer chain in poor solvents», Journal de Physique Lettres, ⊤. 36, № 3, c. 55—57, 1975.
- [6] De Gennes, PG, «Collapse of a flexible polymer chain II», Journal de Physique Lettres, ⊤. 39, № 17, c. 299—301, 1978.
- [7] I. Lifshitz, A. Y. Grosberg и A. Khokhlov, «Some problems of the statistical physics of polymer chains with volume interaction», Reviews of Modern Physics, т. 50, № 3, с. 683, 1978.
- [8] И. М. Лифшиц, А. Ю. Гросберг и А. Р. Хохлов, «Объемные взаимодействия в статистической физике полимерной макромолекулы», *Успехи физических наук*, т. 127, № 3, с. 353—389, 1979.

- [9] I. Nishio, S.-T. Sun, G. Swislow и Т. Tanaka, «First observation of the coil—globule transition in a single polymer chain», *Nature*, т. 281, № 5728, с. 208, 1979.
- [10] C. Maffi, M. Baiesi, L. Casetti, F. Piazza и P. De Los Rios, «First-order coil-globule transition driven by vibrational entropy», *Nature communications*, т. 3, с. 1065, 2012.
- [11] A. Y. Grosberg, S. K. Nechaev и E. I. Shakhnovich, «The role of topological constraints in the kinetics of collapse of macromolecules», Journal de physique, т. 49, № 12, с. 2095—2100, 1988.
- [12] A. Grosberg, Y. Rabin, S. Havlin и A. Neer, «Crumpled globule model of the three-dimensional structure of DNA», *EPL (Europhysics Letters)*, т. 23, № 5, с. 373, 1993.
- [13] E. Lieberman-Aiden, N. L. Van Berkum, L. Williams, M. Imakaev, T. Ragoczy, A. Telling, I. Amit, B. R. Lajoie, P. J. Sabo, M. O. Dorschner, R. Sandstrom, B. Bernstein, M. A. Bender, M. Groudine, A. Gnirke, J. Stamatoyannopoulos, L. A. Mirny, E. S. Lander и J. Dekker, «Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome», science, т. 326, № 5950, с. 289—293, 2009.
- [14] A. Rosa и R. Everaers, «Structure and dynamics of interphase chromosomes», PLoS computational biology, т. 4, № 8, e1000153, 2008.
- [15] А. Ю. Гросберг и А. Р. Хохлов, Статистическая физика макромолекул. Наука, 1989.
- [16] M. Doi и S. Edwards, «Dynamics of concentrated polymer systems. Part 1. Brownian motion in the equilibrium state», Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics, т. 74, с. 1789—1801, 1978.

- [17] L. A. Mirny, «The fractal globule as a model of chromatin architecture in the cell», *Chromosome research*, T. 19, Nº 1, c. 37—51, 2011.
- [18] A. N. Rissanou, S. H. Anastasiadis и I. A. Bitsanis, «Monte Carlo study of the coil-to-globule transition of a model polymeric system», Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, т. 44, № 24, с. 3651—3666, 2006.
- [19] J. Guo, H. Liang и Z.-G. Wang, «Coil-to-globule transition by dissipative particle dynamics simulation», *The Journal of chemical physics*, т. 134, № 24, с. 244 904, 2011.
- [20] A. Lappala и E. M. Terentjev, «"Raindrop" coalescence of polymer chains during coil–globule transition», *Macromolecules*, т. 46, № 3, с. 1239—1247, 2013.
- [21] M. P. Taylor, W. Paul и K. Binder, «Two-state protein-like folding of a homopolymer chain», *Physics Procedia*, т. 4, с. 151—160, 2010.
- [22] S. Ruzicka, D. Quigley и M. P. Allen, «Folding kinetics of a polymer», Physical Chemistry Chemical Physics (Incorporating Faraday Transactions), т. 14, с. 6044, 2012.
- [23] R. D. Schram, G. T. Barkema и H. Schiessel, «On the stability of fractal globules», The Journal of chemical physics, т. 138, № 22, с. 224 901, 2013.
- [24] B. Chu, Q. Ying и A. Y. Grosberg, «Two-stage kinetics of single-chain collapse. Polystyrene in cyclohexane», *Macromolecules*, т. 28, № 1, с. 180—189, 1995.
- [25] J. Xu, Z. Zhu, S. Luo, C. Wu и S. Liu, «First observation of two-stage collapsing kinetics of a single synthetic polymer chain», *Physical review letters*, т. 96, № 2, с. 027802, 2006.
- [26] X. Ye, Y. Lu, L. Shen, Y. Ding, S. Liu, G. Zhang и C. Wu, «How many stages in the coil-to-globule transition of linear homopolymer chains in a dilute solution?», *Macromolecules*, т. 40, № 14, с. 4750—4752, 2007.

- [27] J. D. Halverson, W. B. Lee, G. S. Grest, A. Y. Grosberg и К. Kremer, «Molecular dynamics simulation study of nonconcatenated ring polymers in a melt. I. Statics», *The Journal of chemical physics*, т. 134, № 20, с. 204 904, 2011.
- [28] J. D. Halverson, J. Smrek, K. Kremer и A. Y. Grosberg, «From a melt of rings to chromosome territories: the role of topological constraints in genome folding», Reports on Progress in Physics, т. 77, № 2, с. 022 601, 2014.
- [29] A. Y. Grosberg и A. R. Khokhlov, «Statistical theory of polymeric lyotropic liquid crystals», в Speciality Polymers, Springer, 1981, с. 53—97.
- [30] J. Martemyanova, M. Stukan, V. Ivanov, M. Müller, W. Paul и K. Binder, «Dense orientationally ordered states of a single semiflexible macromolecule: An expanded ensemble Monte Carlo simulation», *The Journal of chemical physics*, т. 122, № 17, с. 174 907, 2005.
- [31] B. Schnurr, F. Gittes и F. MacKintosh, «Metastable intermediates in the condensation of semiflexible polymers», *Physical Review E*, т. 65, № 6, с. 061 904, 2002.
- [32] V. Ivanov, J. Martemyanova, A. Rodionova и M. Stukan, «Computer simulation of stiff-chain polymers», *Polymer Science Series C*, т. 55, № 1, с. 4—22, 2013.
- [33] P. Smith и P. J. Lemstra, «Ultra-high-strength polyethylene filaments by solution spinning/drawing», Journal of Materials Science, т. 15, № 2, с. 505—514, 1980.
- [34] C.-M. Chen µ P. G. Higgs, «Monte-Carlo simulations of polymer crystallization in dilute solution», *The Journal of chemical physics*, ⊤. 108, № 10, c. 4305—4314, 1998.
- [35] C. Vega, C. McBride и L. G. MacDowell, «Liquid crystal phase formation for the linear tangent hard sphere model from Monte Carlo simulations», *The* Journal of Chemical Physics, т. 115, № 9, с. 4203—4211, 2001.

- [36] R. Everaers, S. K. Sukumaran, G. S. Grest, C. Svaneborg, A. Sivasubramanian и К. Kremer, «Rheology and microscopic topology of entangled polymeric liquids», *Science*, т. 303, № 5659, с. 823—826, 2004.
- [37] M. Kröger, «Shortest multiple disconnected path for the analysis of entanglements in two-and three-dimensional polymeric systems», Computer physics communicati T. 168, № 3, c. 209—232, 2005.
- [38] S. Shanbhag и M. Kröger, «Primitive path networks generated by annealing and geometrical methods: Insights into differences», *Macromolecules*, т. 40, № 8, с. 2897—2903, 2007.
- [39] R. S. Hoy, K. Foteinopoulou и M. Kröger, «Topological analysis of polymeric melts: Chain-length effects and fast-converging estimators for entanglement length», *Physical Review E*, т. 80, № 3, с. 031 803, 2009.
- [40] N. C. Karayiannis и M. Kröger, «Combined molecular algorithms for the generation, equilibration and topological analysis of entangled polymers: Methodol and performance», *International journal of molecular sciences*, т. 10, № 11, с. 5054—5089, 2009.
- [41] C. Luo, M. Kröger и J.-U. Sommer, «Entanglements and Crystallization of Concentrated Polymer Solutions: Molecular Dynamics Simulations», *Macromolecu* т. 49, № 23, с. 9017—9025, 2016.
- [42] J. D. Watson и F. H. Crick, «Molecular structure of nucleic acids», *Nature*, т. 171, № 4356, с. 737—738, 1953.
- [43] E. Fussner, R. W. Ching и D. P. Bazett-Jones, «Living without 30 nm chromatin fibers», Trends in biochemical sciences, т. 36, № 1, с. 1—6, 2011.
- [44] M. Hochstrasser и J. W. Sedat, «Three-dimensional organization of Drosophila melanogaster interphase nuclei. I. Tissue-specific aspects of polytene nuclear architecture.», The Journal of cell biology, т. 104, № 6, с. 1455—1470, 1987.

- [45] A. L. Olins и D. E. Olins, «Spheroid chromatin units (ν bodies)», Science, т. 183, № 4122, с. 330—332, 1974.
- [46] H. D. Ou, S. Phan, T. J. Deerinck, A. Thor, M. H. Ellisman и С. С. O'shea, «ChromEMT: Visualizing 3D chromatin structure and compaction in interphase and mitotic cells», *Science*, т. 357, № 6349, eaag0025, 2017.
- [47] C. Zorn, T. Cremer, C. Cremer и J. Zimmer, «Laser UV microirradiation of interphase nuclei and post-treatment with caffeine», *Human genetics*, т. 35, № 1, с. 83—89, 1976.
- [48] C. Zorn, C. Cremer, T. Cremer и J. Zimmer, «Unscheduled DNA synthesis after partial UV irradiation of the cell nucleus: distribution in interphase and metaphase», Experimental cell research, т. 124, № 1, с. 111—119, 1979.
- [50] T. Cremer, C. Cremer, H. Baumann, E. Luedtke, K. Sperling, V. Teuber и C. Zorn, «Rabl's model of the interphase chromosome arrangement tested in Chinise hamster cells by premature chromosome condensation and laser-UVmicrobeam experiments», Human genetics, т. 60, № 1, с. 46—56, 1982.
- [51] C. Rabl, «Uber zelltheilung», Morphol. Jahrb., T. 10, c. 214—330, 1885.
- [52] T. Boveri, «Die Blastomerenkerne von Ascaris megalocephala und die Theorie der Chromosomenindividualitat», Archiv fur Zellforschung, T. 3, c. 181—268, 1909.
- [53] Т. Cremer и М. Cremer, «Chromosome territories», Cold Spring Harbor perspectives in biology, a003889, 2010.

- [54] A. Bolzer, G. Kreth, I. Solovei, D. Koehler, K. Saracoglu, C. Fauth, S. Müller, R. Eils, C. Cremer, M. R. Speicher и Т. Cremer, «Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes», *PLoS biology*, т. 3, № 5, e157, 2005.
- [55] M. D. Adams, S. E. Celniker, R. A. Holt и др., «The genome sequence of Drosophila melanogaster», *Science*, т. 287, № 5461, с. 2185—2195, 2000.
- [56] C. D. Smith, S. Shu, C. J. Mungall и G. H. Karpen, «The Release 5.1 annotation of Drosophila melanogaster heterochromatin», *Science*, т. 316, № 5831, с. 1586—1591, 2007.
- [57] J. R. Dixon, S. Selvaraj, F. Yue, A. Kim, Y. Li, Y. Shen, M. Hu, J. S. Liu и В. Ren, «Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions», *Nature*, т. 485, № 7398, с. 376, 2012.
- [58] M. V. Rudan, C. Barrington, S. Henderson, C. Ernst, D. T. Odom, A. Tanay и S. Hadjur, «Comparative Hi-C reveals that CTCF underlies evolution of chromosomal domain architecture», Cell reports, т. 10, № 8, с. 1297—1309, 2015.
- [59] D. G. Lupiáñez, K. Kraft, V. Heinrich и др., «Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions», Cell, т. 161, № 5, с. 1012—1025, 2015.
- [60] M. V. Tamm, L. I. Nazarov, A. A. Gavrilov и A. V. Chertovich, «Anomalous diffusion in fractal globules», *Physical review letters*, т. 114, № 17, с. 178 102, 2015.
- [61] A. L. Sanborn, S. S. P. Rao, S.-C. Huang, N. C. Durand, M. H. Huntley, A. I. Jewett, I. D. Bochkov, D. Chinnappan, A. Cutkosky, J. Li, K. P. Geeting, A. Gnirke, A. Melnikov, D. McKenna, E. K. Stamenova, E. S. Lander и E. L. Aiden, «Chromatin extrusion explains key features of loop and domain

- formation in wild-type and engineered genomes», *Proceedings of the National Academy of Sciences*, т. 112, № 47, E6456—E6465, 2015.
- [62] K. Van Bortle, M. H. Nichols, L. Li, C.-T. Ong, N. Takenaka, Z. S. Qin
 V. G. Corces, «Insulator function and topological domain border strength
 scale with architectural protein occupancy», Genome biology, T. 15, № 5,
 R82, 2014.
- [63] C. Hou, L. Li, Z. S. Qin и V. G. Corces, «Gene density, transcription, and insulators contribute to the partition of the Drosophila genome into physical domains», *Molecular cell*, т. 48, № 3, с. 471—484, 2012.
- [64] K. Nasmyth, «Disseminating the genome: joining, resolving, and separating sister chromatids during mitosis and meiosis», Annual review of genetics, r. 35, No 1, c. 673—745, 2001.
- [65] E. Alipour и J. F. Marko, «Self-organization of domain structures by DNA-loop-extruding enzymes», Nucleic acids research, т. 40, № 22, с. 11 202—11 212, 2012.
- [66] G. Fudenberg, M. Imakaev, C. Lu, A. Goloborodko, N. Abdennur и L. A. Mirny, «Formation of chromosomal domains by loop extrusion», Cell reports, т. 15, № 9, с. 2038—2049, 2016.
- [67] G. Fudenberg, N. Abdennur, M. Imakaev, A. Goloborodko и L. A. Mirny, «Emerging evidence of chromosome folding by loop extrusion», в Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology, Cold Spring Harbor Laboratory Press, т. 82, 2017, с. 45—55.
- [68] G. D. Mehta, R. Kumar, S. Srivastava и S. K. Ghosh, «Cohesin: functions beyond sister chromatid cohesion», FEBS letters, т. 587, № 15, с. 2299—2312, 2013.

- [69] S. Sofueva, E. Yaffe, W.-C. Chan, D. Georgopoulou, M. V. Rudan, H. Mira-Bontenbal, S. M. Pollard, G. P. Schroth, A. Tanay и S. Hadjur, «Cohesin-mediated interactions organize chromosomal domain architecture», *The EMBO journal*, т. 32, № 24, с. 3119—3129, 2013.
- [70] L. Li, X. Lyu, C. Hou, N. Takenaka, H. Q. Nguyen, C.-T. Ong, C. Cubeñas-Potts, M. Hu, E. P. Lei, G. Bosco, Z. S. Qin и V. G. Corces, «Widespread rearrangement of 3D chromatin organization underlies polycomb-mediated stress-induced silencing», *Molecular cell*, T. 58, № 2, c. 216—231, 2015.
- [71] S. S. Rao, M. H. Huntley, N. C. Durand, E. K. Stamenova, I. D. Bochkov, J. T. Robinson, A. L. Sanborn, I. Machol, A. D. Omer, E. S. Lander и E. Lieberman Aiden, «A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping», Cell, т. 159, № 7, с. 1665—1680, 2014.
- [72] T. B. Le, M. V. Imakaev, L. A. Mirny и M. T. Laub, «High-resolution mapping of the spatial organization of a bacterial chromosome», Science, т. 342, № 6159, с. 731—734, 2013.
- [73] M. Ganji, I. A. Shaltiel, S. Bisht, E. Kim, A. Kalichava, C. H. Haering и С. Dekker, «Real-time imaging of DNA loop extrusion by condensin», *Science*, eaar7831, 2018.
- [74] A. R. Strom, A. V. Emelyanov, M. Mir, D. V. Fyodorov, X. Darzacq и G. H. Karpen, «Phase separation drives heterochromatin domain formation», *Nature*, т. 547, № 7662, с. 241, 2017.
- [75] M. Monk, «Epigenetic programming of differential gene expression in development and evolution», *Developmental genetics*, т. 17, № 3, с. 188—197, 1995.

- [77] M. D. Shahbazian и M. Grunstein, «Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation», Annu. Rev. Biochem., т. 76, с. 75—100, 2007.
- [78] M. Barbieri, M. Chotalia, J. Fraser, L.-M. Lavitas, J. Dostie, A. Pombo и M. Nicodemi, «Complexity of chromatin folding is captured by the strings and binders switch model», *Proceedings of the National Academy of Sciences*, т. 109, № 40, с. 16 173—16 178, 2012.
- [79] N. Ganai, S. Sengupta и G. I. Menon, «Chromosome positioning from activity-based segregation», Nucleic acids research, т. 42, № 7, с. 4145—4159, 2014.
- [80] M. Di Stefano, A. Rosa, V. Belcastro, D. di Bernardo и C. Micheletti, «Colocalizati of coregulated genes: a steered molecular dynamics study of human chromosome 19», *PLoS computational biology*, т. 9, № 3, e1003019, 2013.
- [81] H. Jerabek и D. W. Heermann, «How chromatin looping and nuclear envelope attachment affect genome organization in eukaryotic cell nuclei», в *International review of cell and molecular biology*, т. 307, Elsevier, 2014, с. 351—381.
- [82] D. Jost, P. Carrivain, G. Cavalli и C. Vaillant, «Modeling epigenome folding: formation and dynamics of topologically associated chromatin domains», Nucleic acids research, т. 42, № 15, с. 9553—9561, 2014.
- [83] E. P. Nora, B. R. Lajoie, E. G. Schulz, L. Giorgetti, I. Okamoto, N. Servant, T. Piolot, N. L. van Berkum, J. Meisig, J. Sedat, J. Gribnau, E. Barillot, N. Blüthgen, J. Dekker и E. Heard, «Spatial partitioning of the regulatory landscape of the X-inactivation centre», Nature, т. 485, № 7398, с. 381, 2012.
- [84] T. Sexton, E. Yaffe, E. Kenigsberg, F. Bantignies, B. Leblanc, M. Hoichman, H. Parrinello, A. Tanay и G. Cavalli, «Three-dimensional folding and functional organization principles of the Drosophila genome», Cell, т. 148, № 3, с. 458—472, 2012.

- [85] Z. Duan, M. Andronescu, K. Schutz, S. McIlwain, Y. J. Kim, C. Lee, J. Shendure, S. Fields, C. A. Blau и W. S. Noble, «A three-dimensional model of the yeast genome», *Nature*, т. 465, № 7296, с. 363, 2010.
- [87] S. Feng, S. J. Cokus, V. Schubert, J. Zhai, M. Pellegrini и S. E. Jacobsen, «Genome-wide Hi-C analyses in wild-type and mutants reveal high-resolution chromatin interactions in Arabidopsis», *Molecular cell*, т. 55, № 5, с. 694—707, 2014.
- [88] S. Grob, M. W. Schmid и U. Grossniklaus, «Hi-C analysis in Arabidopsis identifies the KNOT, a structure with similarities to the flamenco locus of Drosophila», *Molecular cell*, т. 55, № 5, с. 678—693, 2014.
- [89] J. E. Lemieux, S. A. Kyes, T. D. Otto, A. I. Feller, R. T. Eastman, R. A. Pinches, M. Berriman, X.-z. Su и C. I. Newbold, «Genome-wide profiling of chromosome interactions in P lasmodium falciparum characterizes nuclear architecture and reconfigurations associated with antigenic variation», Molecular microbiology, т. 90, № 3, с. 519—537, 2013.
- [90] P. R. Langer-Safer, M. Levine и D. C. Ward, «Immunological method for mapping genes on Drosophila polytene chromosomes», Proceedings of the National Academy of Sciences, т. 79, № 14, с. 4381—4385, 1982.
- [91] S. P. Brammer, S. Vasconcelos, L. B. Poersch, A. R. Oliveira и A. C. Brasileiro-Vidal, «Genomic in situ hybridization in Triticeae: a methodological approach», в Plant Breeding from Laboratories to Fields, InTech, 2013.
- [92] K. Bystricky, «Chromosome dynamics and folding in eukaryotes: Insights from live cell microscopy», FEBS letters, T. 589, № 20, c. 3014—3022, 2015.

- [93] K. D. Tsuchiya, «Fluorescence in situ hybridization», Clinics in laboratory medicine, т. 31, № 4, с. 525—542, 2011.
- [94] M. M. Suzuki и A. Bird, «DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics», *Nature Reviews Genetics*, т. 9, № 6, с. 465, 2008.
- [95] J. W. Ho, E. Bishop, P. V. Karchenko, N. Nègre, K. P. White и P. J. Park, «ChIP-chip versus ChIP-seq: lessons for experimental design and data analysis», *BMC genomics*, т. 12, № 1, с. 134, 2011.
- [96] P. Hoogerbrugge и J. Koelman, «Simulating microscopic hydrodynamic phenomena with dissipative particle dynamics», EPL (Europhysics Letters), т. 19, № 3, с. 155, 1992.
- [97] J. Koelman и P. Hoogerbrugge, «Dynamic simulations of hard-sphere suspensions under steady shear», EPL (Europhysics Letters), т. 21, № 3, с. 363, 1993.
- [98] Y. Kong, C. Manke, W. Madden и A. Schlijper, «Simulation of a confined polymer in solution using the dissipative particle dynamics method», *International journal of thermophysics*, т. 15, № 6, с. 1093—1101, 1994.
- [99] A. Schlijper, P. Hoogerbrugge и C. Manke, «Computer simulation of dilute polymer solutions with the dissipative particle dynamics method», Journal of Rheology, т. 39, № 3, с. 567—579, 1995.
- [100] В. М. Forrest и U. W. Suter, «Accelerated equilibration of polymer melts by time-coarse-graining», The Journal of chemical physics, т. 102, № 18, с. 7256—7266, 1995.
- [101] P. Espanol и P. Warren, «Statistical mechanics of dissipative particle dynamics», EPL (Europhysics Letters), т. 30, № 4, с. 191, 1995.
- [102] N. Spenley, «Scaling laws for polymers in dissipative particle dynamics», EPL (Europhysics Letters), T. 49, Nº 4, c. 534, 2000.

- [103] F. Lahmar и B. Rousseau, «Influence of the adjustable parameters of the DPD on the global and local dynamics of a polymer melt», *Polymer*, т. 48, № 12, с. 3584—3592, 2007.
- [104] L. Verlet, «Computer"experiments"on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules», *Physical review*, т. 159, № 1, с. 98, 1967.
- [105] W. C. Swope, H. C. Andersen, P. H. Berens и K. R. Wilson, «A computer simulation method for the calculation of equilibrium constants for the formation of physical clusters of molecules: Application to small water clusters», *The Journal of Chemical Physics*, т. 76, № 1, с. 637—649, 1982.
- [106] P. Nikunen, I. Vattulainen и M. Karttunen, «Reptational dynamics in dissipative particle dynamics simulations of polymer melts», *Physical Review E*, т. 75, № 3, с. 036 713, 2007.
- [107] И. М. Лифшиц, А. Ю. Гросберг и А. Р. Хохлов, «Структура полимерной глобулы, сформированной насыщающимися связями», $\mathcal{W} \mathcal{F} \mathcal{\Phi}$., т. 71, \mathbb{N}^2 4, с. 1634, 1976.
- [108] R. D. Groot и P. B. Warren, «Dissipative particle dynamics: Bridging the gap between atomistic and mesoscopic simulation», *The Journal of chemical physics*, т. 107, № 11, с. 4423—4435, 1997.
- [109] D. Huong, M. Drechsler, M. Möller и H.-J. Cantow, «Electron spectroscopic imaging of the morphology of in situ polyethylene 'shish kebabs'», Journal of microscopy, т. 166, № 3, с. 317—328, 1992.
- [110] G. R. Strobl, Condensed matter physics: crystals, liquids, liquid crystals, and polymers. Springer Science & Business Media, 2012.
- [111] L. H. Sperling, Introduction to physical polymer science. John Wiley & Sons, 2005.

- [112] F. Arzilli, L. Mancini, M. Voltolini, M. R. Cicconi, S. Mohammadi, G. Giuli, D. Mainprice, E. Paris, F. Barou и M. R. Carroll, «Near-liquidus growth of feldspar spherulites in trachytic melts: 3D morphologies and implications in crystallization mechanisms», *Lithos*, т. 216, с. 93—105, 2015.
- [113] P. Till Jr, «The growth of single crystals of linear polyethylene», Journal of Polymer Science, T. 24, № 106, c. 301—306, 1957.
- [114] A. Keller, «A note on single crystals in polymers: evidence for a folded chain configuration», *Philosophical Magazine*, т. 2, № 21, с. 1171—1175, 1957.
- [115] J. I. Lauritzen и J. D. Hoffman, «Theory of formation of polymer crystals with folded chains in dilute solution», J. Res. Natl. Bur. Stand. A, т. 64, № 1, с. 73 102, 1960.
- [116] J. D. Hoffman и J. I. Lauritzen, «Crystallization of bulk polymers with chain folding-Theory of growth of lamellar spherulites», Journal of Research of the National Bureau of Standards, № 4, с. 297—+, 1961.
- [117] K. Armitstead, G. Goldbeck-Wood и A. Keller, «Polymer crystallization theories», в Macromolecules: synthesis, order and advanced properties, Springer, 1992, с. 219—312.
- [118] L. Mandelkern, Crystallization of Polymers: Volume 2, Kinetics and Mechanisms. Cambridge University Press, 2004.
- [119] Muthukumar, M, «Commentary on theories of polymer crystallization», The European Physical Journal E, T. 3, \mathbb{N}_2 2, c. 199—202, 2000.
- [120] D. Bassett и A. Keller, «On the habits of polyethylene crystals», *Philosophical Magazine*, т. 7, № 81, с. 1553—1584, 1962.
- [121] S. Stepanow, «Kinetic mechanism of chain folding in polymer crystallization», Physical Review E, T. 90, \mathbb{N}_{2} 3, c. 032 601, 2014.
- [122] G. Strobl, «Colloquium: Laws controlling crystallization and melting in bulk polymers», Reviews of modern physics, T. 81, № 3, c. 1287, 2009.

- [123] Muthukumar, M, «Molecular modelling of nucleation in polymers», Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, T. 361, № 1804, c. 539—556, 2003.
- [124] Muthukumar, M, «Modeling polymer crystallization», Interphases and Mesophase in Polymer Crystallization III, c. 241—274, 2005.
- [125] P. Welch и M. Muthukumar, «Molecular mechanisms of polymer crystallization from solution», *Physical review letters*, т. 87, № 21, с. 218 302, 2001.
- [126] С. Luo и J.-U. Sommer, «Growth pathway and precursor states in single lamellar crystallization: MD simulations», *Macromolecules*, т. 44, № 6, с. 1523—1529, 2011.
- [127] M. Anwar, F. Turci и T. Schilling, «Crystallization mechanism in melts of short n-alkane chains», *The Journal of Chemical Physics*, т. 139, № 21, с. 214 904, 2013.
- [128] P. Yi, C. R. Locker и G. C. Rutledge, «Molecular dynamics simulation of homogeneous crystal nucleation in polyethylene», *Macromolecules*, т. 46, № 11, с. 4723—4733, 2013.
- [129] T. Yamamoto, «Molecular dynamics of polymer crystallization revisited: Crystalliz from the melt and the glass in longer polyethylene», *The Journal of chemical physics*, т. 139, № 5, с. 054 903, 2013.
- [130] С. Luo и J.-U. Sommer, «Frozen topology: entanglements control nucleation and crystallization in polymers», *Physical review letters*, т. 112, № 19, с. 195 702, 2014.
- [131] H. Meyer и F. Müller-Plathe, «Formation of chain-folded structures in supercooled polymer melts examined by MD simulations», *Macromolecules*, т. 35, № 4, с. 1241—1252, 2002.

- [132] T. Vettorel, H. Meyer, J. Baschnagel и M. Fuchs, «Structural properties of crystallizable polymer melts: Intrachain and interchain correlation functions», *Physical Review E*, т. 75, № 4, с. 041 801, 2007.
- [133] P. Welch, «Examining the role of fluctuations in the early stages of homogenous polymer crystallization with simulation and statistical learning», *The Journal of Chemical Physics*, T. 146, No. 4, c. 044 901, 2017.
- [134] M. Anwar, J. T. Berryman и T. Schilling, «Crystal nucleation mechanism in melts of short polymer chains under quiescent conditions and under shear flow», The Journal of chemical physics, т. 141, № 12, с. 124 910, 2014.
- [135] M. Anwar и T. Schilling, «Crystallization of polyethylene: A molecular dynamics simulation study of the nucleation and growth mechanisms», *Polymer*, т. 76, с. 307—312, 2015.
- [136] J. Zhang и M. Muthukumar, «Monte Carlo simulations of single crystals from polymer solutions», *The Journal of chemical physics*, т. 126, № 23, с. 234 904, 2007.
- [137] T. Yamamoto, «Computer modeling of polymer crystallization—Toward computer-assisted materials' design», *Polymer*, T. 50, № 9, c. 1975—1985, 2009.
- [138] A. Bourque, C. R. Locker и G. C. Rutledge, «Molecular dynamics simulation of surface nucleation during growth of an alkane crystal», *Macromolecules*, т. 49, № 9, с. 3619—3629, 2016.
- [140] С. Luo и J.-U. Sommer, «Coexistence of melting and growth during heating of a semicrystalline polymer», *Physical review letters*, т. 102, № 14, с. 147 801, 2009.

- [141] C. Jentzsch, M. Werner и J.-U. Sommer, «Single polymer chains in poor solvent: Using the bond fluctuation method with explicit solvent», *The Journal of chemical physics*, т. 138, № 9, с. 094 902, 2013.
- [142] С. F. Abrams, N.-K. Lee и S. Obukhov, «Collapse dynamics of a polymer chain: Theory and simulation», *EPL (Europhysics Letters)*, т. 59, № 3, с. 391, 2002.
- [143] H. J. Limbach, C. Holm и K. Kremer, «Structure of polyelectrolytes in poor solvent», EPL (Europhysics Letters), т. 60, № 4, с. 566, 2002.
- [144] A. V. Dobrynin и M. Rubinstein, «Theory of polyelectrolytes in solutions and at surfaces», Progress in Polymer Science, т. 30, № 11, с. 1049—1118, 2005.
- [145] A. Karatrantos, N. Clarke, R. J. Composto и К. I. Winey, «Topological entanglement length in polymer melts and nanocomposites by a DPD polymer model», Soft Matter, т. 9, № 14, с. 3877—3884, 2013.
- [146] N. Naumova, M. Imakaev, G. Fudenberg, Y. Zhan, B. R. Lajoie, L. A. Mirny и J. Dekker, «Organization of the mitotic chromosome», *Science*, т. 342, № 6161, с. 948—953, 2013.
- A. Salam, «Weak and Electromagnetic Interactions», в Elementary particle theory, Relativistic groups and analyticity, Proceedings of the Eighth Nobel Symposium (Aspenäsgarden, Lerum, 19—25 мая 1968), N. Svartholm, ред., Stockholm: Almquist & Wiksell, 1968, c. 367—377.
- [148] N. Michaud-Agrawal, E. J. Denning, T. B. Woolf и O. Beckstein, «MDAnalysis: a toolkit for the analysis of molecular dynamics simulations», Journal of computational chemistry, т. 32, № 10, с. 2319—2327, 2011.
- [149] Y.-l. Hong и Т. Miyoshi, «Chain-folding structure of a semicrystalline polymer in bulk crystals determined by 13c−13c double quantum nmr», ACS Macro Letters, т. 2, № 6, с. 501—505, 2013.

- [150] D. Sadler и A. Keller, «Neutron scattering studies on the molecular trajectory in polyethylene crystallized from solution and melt», Macromolecules, т. 10, № 5, с. 1128—1140, 1977.
- [151] J. Gassler, H. B. Brandão, M. Imakaev, I. M. Flyamer, S. Ladstätter, W. A. Bickmore, J.-M. Peters, L. A. Mirny и K. Tachibana, «A mechanism of cohesin-dependent loop extrusion organizes zygotic genome architecture», *The EMBO journal*, т. 36, № 24, с. 3600—3618, 2017.
- [152] D. Filippova, R. Patro, G. Duggal и C. Kingsford, «Identification of alternative topological domains in chromatin», Algorithms for Molecular Biology, т. 9, № 1, с. 14, 2014.
- [153] Q. Szabo, D. Jost, J.-M. Chang, D. I. Cattoni, G. L. Papadopoulos, B. Bonev, T. Sexton, J. Gurgo, C. Jacquier, M. Nollmann, F. Bantignies и G. Cavalli, «TADs are 3D structural units of higher-order chromosome organization in Drosophila», *Science Advances*, т. 4, № 2, с. 8082, 2018.
- [154] T. Cremer, M. Cremer, B. Hübner, H. Strickfaden, D. Smeets, J. Popken, M. Sterr, Y. Markaki, K. Rippe и C. Cremer, «The 4D nucleome: Evidence for a dynamic nuclear landscape based on co-aligned active and inactive nuclear compartments», FEBS letters, т. 589, № 20, с. 2931—2943, 2015.

Благодарности

Автор выражает благодарность своему научному руководителю – к.ф.-м.н. Чертовичу Александру Викторовичу за внимание к работе, помощь в освоении различных подходов в исследованиях, а также непосредственное участие, ценные советы и замечания при подготовке настоящей диссертации.

За многочисленные плодотворные обсуждения постановки задач и полученных результатов, внимание к работе и ценные советы и замечания, автор искренне признателен следующим исследователям: д.ф.-м.н. В.А. Иванов, к.ф.м.н. М.В. Тамм, к.ф.-м.н. А.А. Гаврилов, д.ф.-м.н. В.А. Аветисов, член-корр. С.В. Разин, к.б.н. С.В. Ульянов, д.б.н. А.А. Гаврилов, д.ф.-м.н. С.К. Нечаев, д.ф.-м.н. П.Г. Халатур. Также автор благодарен всем сотрудникам кафедры физики полимеров и кристаллов физического факультета МГУ за замечательную атмосферу и условия для осуществления научной работы.

Автор также благодарит своих родных и близких, которые помогали и поддерживали и без которых эта работа не могла бы быть выполнена.