

На правах рукописи

Кос Павел Игоревич

**Структура компактных конформаций
линейных полимерных цепей**

02.00.06 – Высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Москва – 2018

Работа выполнена на кафедре физики полимеров и кристаллов физического факультета
МГУ им. М.В. Ломоносова.

Научный руководитель: **Чертович Александр Викторович**
кандидат физико-математических наук, МГУ им.
М.В. Ломоносова, старший научный сотрудник

Официальные оппоненты: **Рабинович Александр Львович**
доктор физико-математических наук, старший науч-
ный сотрудник, Институт биологии Карельского на-
учного центра РАН, главный научный сотрудник

Полоцкий Алексей Александрович
доктор физико-математических наук, профессор
РАН, Институт высокомолекулярных соединений
РАН, ведущий научный сотрудник

Стукан Михаил Реональдович
кандидат физико-математических наук, Московский
научно-исследовательский центр “Шлюмберже”, ру-
ководитель проекта

Защита состоится 14 февраля 2019 г. в 15 часов 30 мин. на заседании диссертационного совета МГУ.01.01
Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова, расположенном по адресу: 119991, ГСП-1,
Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 2, Физический факультет МГУ, аудитория СФА.

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоно-
сова (Ломоносовский проспект, д. 27) и на сайте ИАС “ИСТИНА”: [https://istina.msu.ru/dissertations/
161229972/](https://istina.msu.ru/dissertations/161229972/).

Автореферат разослан «_____» _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат физико-математиче-
ских наук

Т.В. Лаптинская

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования. Внутренняя структура полимерного материала во многом определяет его макроскопические свойства. Пространственные размеры полимерных систем, как правило, на несколько порядков меньше суммарной контурной длины цепей, формирующих эти системы. В ряде случаев компактность конформации цепей играет очень важную или даже определяющую роль в проявлении уникальных свойств полимерных материалов.

Фазовый переход клубок-глобула – один из наиболее известных процессов, свойственных полимерной цепи. Однако изменение внутренней структуры глобулы в ходе коллапса изучено достаточно плохо. Внутренняя структура глобулы играет важную роль во многих процессах, происходящих в полимерных системах. К таким процессам относятся кристаллизация, мицеллообразование, структурирование микрогелей и др. Изучение коллапса одиночной полужесткой полимерной цепи позволяет сформировать представление о механизме кристаллизации полимера в разбавленном растворе. Эта задача представляет большой интерес с фундаментальной точки зрения. Её решение позволит описать общий сценарий кристаллизации полимерных цепей в плохом растворителе. С практической точки зрения такая задача полезна для разработки новых материалов.

Внутренняя структура полимерных цепей зачастую определяет механические свойства материала. На сегодняшний день высокие прочностные характеристики конструкционных материалов являются важным требованием при их разработке. Такие материалы используются, например, в судостроении, авиакосмической промышленности и при изготовлении средств индивидуальной защиты. К конструкционным материалам относятся в числе прочего высокомодульные волокна. Их получение зачастую проходит через стадию частичной кристаллизации полимера. Поэтому задача кристаллизации поли-

мерных цепей в растворе является актуальной для улучшения технологии получения высокопрочных волокон. При изготовлении волокон, как правило, используют полуразбавленный раствор полимеров. При таких значениях концентрации полимера формируется не слишком густая сетка зацеплений, что позволяет получить высокую степень вытяжки, а полученные волокна обладают наибольшей прочностью. Изучение кристаллизации в таких системах позволяет получить представление о формируемой структуре кристаллитов. С академической точки зрения эта задача представляет большой интерес, так как до сих пор не определен общий сценарий кристаллизации из раствора для широкого класса полимеров.

Другой актуальной задачей, связанной с компактными конформациями длинной полимерной цепи, является упаковка ДНК. Суммарная длина молекул ДНК в каждом ядре клетки человека достигает ≈ 2 м. Диаметр клеточного ядра, в котором упакована ДНК, составляет ~ 10 мкм. Существует целый ряд сложностей, связанных с пространственной организацией ДНК в ядре клетки. Одной из них является разница между линейной длиной ДНК и характерным размером клеточного ядра. Другой - формирование функциональной структуры, способствующей правильной регуляции экспрессии генов. Регуляция является важной составляющей нормального функционирования клетки в частности и организма в целом. Вместе с тем, нельзя утверждать, что транскрипционно неактивная часть ДНК не влияет на пространственную организацию хроматина, её функции пока плохо изучены. По-видимому, для всех живых организмов не существует единого набора механизмов, определяющих пространственную организацию хроматина. Однако некоторые механизмы упаковки могут быть характерны для всех биологических видов. Например, у всех биологических видов присутствуют эпигенетические изменения хроматина. Благодаря этим изменениям 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 из раствора и расплава и формирование структуры мультиметаксополимера с насыщающимися взаимодействиями, которая используется в качестве модели пространственной организации хроматина. Объектами исследования во всех главах диссертации являются длинные линейные полимерные цепи. В зависимости от микроскопических свойств цепи формируются различные компактные структуры. Компактность структур обусловлена соотношением контурной длины цепей и пространственного размера систем. Приобретаемые свойства же являются следствием физики полимеров.

Цели и задачи диссертационной работы. Целью данной работы является изучение структуры таких сложных полимерных систем как складчатая глобула, закристаллизованные из переохлажденного раствора полимерные цепи и мультиметаксополимер с насыщающимися взаимодействиями. 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 мультиметаксополимера 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 процесса 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 из складчатой в равновесную. 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 структурирования полимерных цепей 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 в широком диапазоне концентраций 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 пред-

положение. Впервые продемонстрировано влияние последовательности мультиметаблоксополимера на формирующуюся структуру при использовании насыщающихся взаимодействий в рамках компьютерного моделирования. Продемонстрирована пространственная организация мультиметаблоксополимера, 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 клубок-глобула одиночной цепи. Они представляются значимыми для таких областей как физика полимеров, молекулярная биология, материаловедение. Обсуждаемые в диссертации закономерности могут быть использованы для описания свойств более сложных полимерных систем.

Результаты, полученные в ходе моделирования 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 полимеров. Установленный сценарий кристаллизации полимеров должен выполняться для широкого класса соединений. Моделирование осуществлялось не для какого-то определенного типа полимера, а использовался огрубленный подход “шарики на пружинках”. В основе такого подхода лежат общие принципы физики полимеров.

Изучение структуры мультиметаблоксополимера с насыщающимися взаимодействиями является важной задачей и как самостоятельное фундаментальное исследование, и как модель пространственной организации хроматина. Мультиметаблоксополимер с насыщающимися взаимодействиями может быть использован для описания широкого класса полимерных систем. Подробное описание принципов формирования внутренней структуры хроматина позволит в будущем дополнить представления о причинах возникновения большого количества генетических заболеваний, основная часть которых связана с на-

рушениями транскрипции. Определение связи между контролем экспрессии генов и структурой хроматина позволит разработать средства для восстановления нормального эпигенетического профиля.

Методология и методы исследования. Основным способом исследования в настоящей диссертации является компьютерное моделирование методом диссипативной динамики частиц. Этот метод является универсальным для исследования структуры и свойств полимерных систем и жидкостей. Полученные в ходе моделирования результаты обрабатывались и анализировались как при помощи стороннего программного обеспечения (ПО), так и ПО собственной разработки. Полученные в ходе компьютерного моделирования результаты сравнивались с экспериментальными данными и теоретическими моделями, описанными в литературе.

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.

4. Процесс кристаллизации состоит из двух стадий: рост количества кристаллических зародышей и последующее их слияния с вовлечением соседних аморфных участков. Существует оптимальная концентрация полимера ($\approx 90\%$) для получения наиболее крупных кристаллитов. При этой концентрации соблюдается баланс между плотностью сетки зацеплений и наличием достаточного количества полимерного материала в окружающем объеме.
5. Структура компактной конформации, формируемая мультиметкополимером 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, Кос 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, Кос 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., Кос 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 докладом на международных конференциях.

Личный вклад автора. Все представленные в диссертации результаты получены лично автором при непосредственном участии научного ру-

ководителя. 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 129 страниц, включая 47 рисунков. Библиография состоит из 154 наименований.

Содержание работы

Во Введении обоснована актуальность диссертационной работы, сформулирована цель и аргументирована научная новизна исследований. Также показана практическая значимость полученных результатов и представлены положения, выносимые на защиту.

В первой главе выполнен общий обзор литературы, посвященный описанию задач, обсуждаемых в диссертации. Обзор литературы содержит несколько разделов: коллапс полимерной цепи, структура хроматина, диссипативная динамика частиц, насыщающиеся взаимодействия, кристаллизация полимерных цепей, а также выводы к первой главе и формулировка постановки задачи.

Первый раздел “Коллапс полимерной цепи” содержит два подраздела: гибкая полимерная цепь и полужесткая полимерная цепь. Фазовый переход клубок-глобула для полимерной цепи разной жесткости был описан в 1979 году [5].

Для гибкой полимерной цепи описана связь с задачей упаковки хроматина. Приведено сравнение структур складчатой [6] и равновесной глобул (см. выражение 1). Отмечено, что исследователям не удавалось обнаружить структуру складчатой глобулы при коллапсе полимерной цепи из клубковой конформации в плохом растворителе. Однако складчатая структура была получена при использовании искусственного потенциала гравитационного ти-

па (притяжение в определенную точку пространства). В некоторых экспериментальных работах показан двухстадийный коллапс, однако, используемые экспериментальные методики не позволяют описать внутреннюю структуру глобулы при коллапсе.

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

Затем описан коллапс одиночной полужесткой полимерной цепи. Коллапс одиночной цепи соответствует случаю коллапса в разбавленном растворе неперекрывающихся полимерных клубков. Описан используемый в исследовании механизм жесткости полимерной цепи, называемый “метод взаимопроницающих сфер” [7]. Приведены основные детали реализации такого механизма жесткости для компьютерного моделирования с помощью диссипативной динамики частиц.

Раздел под названием “Структура хроматина” содержит несколько подразделов: общие сведения, теоретические подходы к описанию хроматина, экспериментальные методы. В подразделе “Общие сведения” представлена упаковка ДНК на разных пространственных масштабах внутри эукариотического клеточного ядра. Описана структура хроматина, включающего ДНК и белки гистоны, перечислены фазы клеточного цикла, а также указаны причины исследования во время интерфазы. Введен термин топологически ассоциированный домен (ТАД) и показано почему этот структурный элемент настолько важен для пространственной организации хроматина.

В подразделе “Теоретические подходы к описанию хроматина” сделан обзор 4 наиболее распространенных моделей, описывающих пространственную организацию хроматина: складчатая (фрактальная) глобула [8], экструзия петель (англ. “loop extrusion” [9]), модель нитей и переключающихся связей (англ. “string and binders switch” – SBS [10]) и неспецифические взаимодействия [2], [11].

Складчатая глобула – структура плотной упаковки полимерной цепи в пространстве, она самоподобна на всех масштабах. В модели складчатой глобулы воспроизводится экспериментальная зависимость вероятности контакта $P(s) \sim s^{-1}$.

Экструзия петель – модель пространственной организации хроматина млекопитающих. Главным архитектурным элементом модели является кольцеобразный мультибелковый комплекс когезин.

Модель нитей и переключающихся связей является достаточно абстрактной моделью. В ней используются частицы, которые могут образовывать до 6 связей со звеньями полимерной цепи.

В модели неспецифических взаимодействий рассматриваются межнуклеосомные взаимодействия участков хроматина. Вид взаимодействия связан с эпигенетическими модификациями (модификации хроматина, не связанные с изменением последовательности ДНК).

Затем в главе 1 приведен подраздел с описанием экспериментальных методов определения организации хроматина: получение полногеномных карт контактов (Hi-C) [12], флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) [13] и эпигенетические методы. Для первых двух методов приведен принципиальный протокол осуществления эксперимента, последний является целым классом методов и поэтому в диссертационной работе приведен перечень характеристик, получаемых в ходе осуществления таких экспериментов.

Следующий раздел называется “Диссипативная динамика частиц” (ДДЧ). В этом разделе приведено описание мезоскопического метода огрубленной

молекулярной динамики ДДЧ [14]. Приведены выражения для расчета сил, алгоритм расчета координат и скоростей. Обсуждается способ запрета самопересечений цепи.

В разделе под названием “Насыщающиеся взаимодействия” приведено описание механизма взаимодействия за счет формирования обратимых связей, такой тип взаимодействия получил название насыщающиеся взаимодействия [15]. Число дополнительных связей, которое может иметь каждое звено цепи, называется валентностью. Приведена зависимость радиуса инерции цепи от доли сформированных связей, исследование было сделано с помощью ДДЧ. Отмечено влияние абсолютного значения параметра объемного отталкивания на число соседей в радиусе обрезки потенциала.

В разделе под названием “Кристаллизация полимерных цепей” сделан обзор литературы по указанному направлению. Приведено описание таких теоретических подходов, как теория Лоритцена и Хоффмана [16], подход М. Мутукумара [17] и теория С. Степанова [18]. Описаны используемые для определения кристаллитов методы: нематический параметр порядка S , параметр Q_6 , число коллинеарных соседей. Некоторые из методов определения кристаллита не подходят для сравнения результатов, полученных с помощью разных подходов моделирования. Например, в ДДЧ стандартная плотность равна $\sigma = 3$, а в молекулярной динамике с использованием потенциала Леннард-Джонса – $\sigma = 0.85$. Чтобы можно было корректно сравнивать системы смоделированные различными методами, автором диссертации был разработан оригинальный метод кластерного анализа. Параметров определения “кристалличности” звена является отношение числа коллинеарных соседей к числу всех соседей выбранного звена.

В последнем разделе представлены общие выводы, которые соответствуют описанным разделам. Также сформулированы основные вопросы, на которые будет дан ответ в диссертационной работе.

Во второй главе приведены результаты исследования структур, сфор-

мированных гибкой и полужесткой одиночными цепями при коллапсе в плохом растворителе. Описаны преимущества использования метода ДДЧ для изучения задачи коллапса полимерной цепи в плохом растворителе. Глава содержит три раздела: 1-й посвящен коллапсу гибкой полимерной цепи, 2-й – коллапсу полужесткой цепи, в 3-ем описаны выводы и общие закономерности.

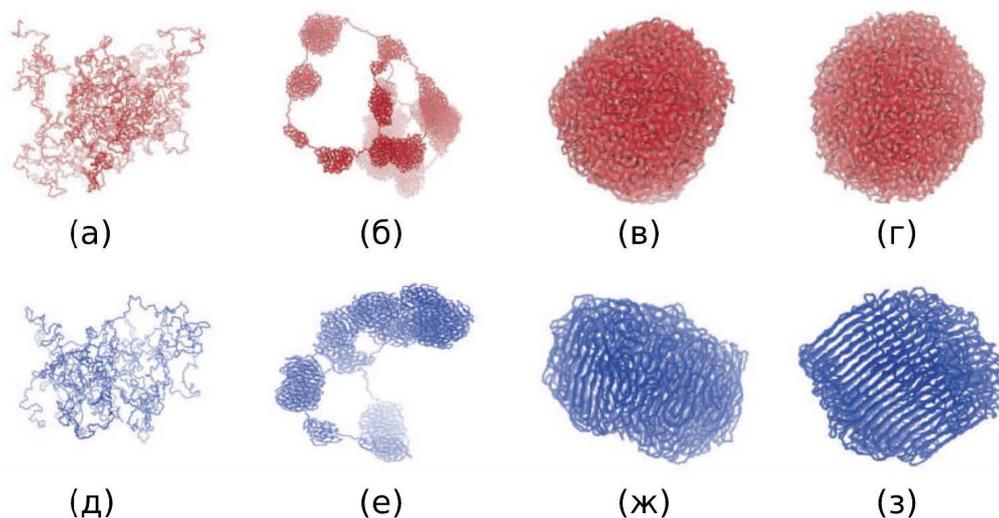


Рис. 1. а-г) Гибкая полимерная цепь. д-з) Полужесткая полимерная цепь.

Перед описанием полученных результатов при изучении коллапса в плохом растворителе уделено внимание описанию механизма запрета самопересечений при использовании как гибкой, так и полужесткой полимерных цепей. После выбора абсолютных значений параметров объемных взаимодействий и недеформированной длины связи описан выбор параметра χ модели Флори-Хаггинса, кроме того, варьировалась также длина цепи. Было показано, что наблюдение складчатости структуры возможно только при использовании достаточно больших значений параметра Флори-Хаггинса χ и цепей длиной свыше $N > 10^3$ звеньев. Сравнение проводилось с двумя моделями: складчатая и равновесная глобулы. Для этих структур приведены характерные зависимости вероятности контакта $P(s)$ и квадрата расстояния $R^2(s)$ от контурной длины, которые задаются выражением 1.

На рис. 2 представлена зависимость квадратичного расстояния между

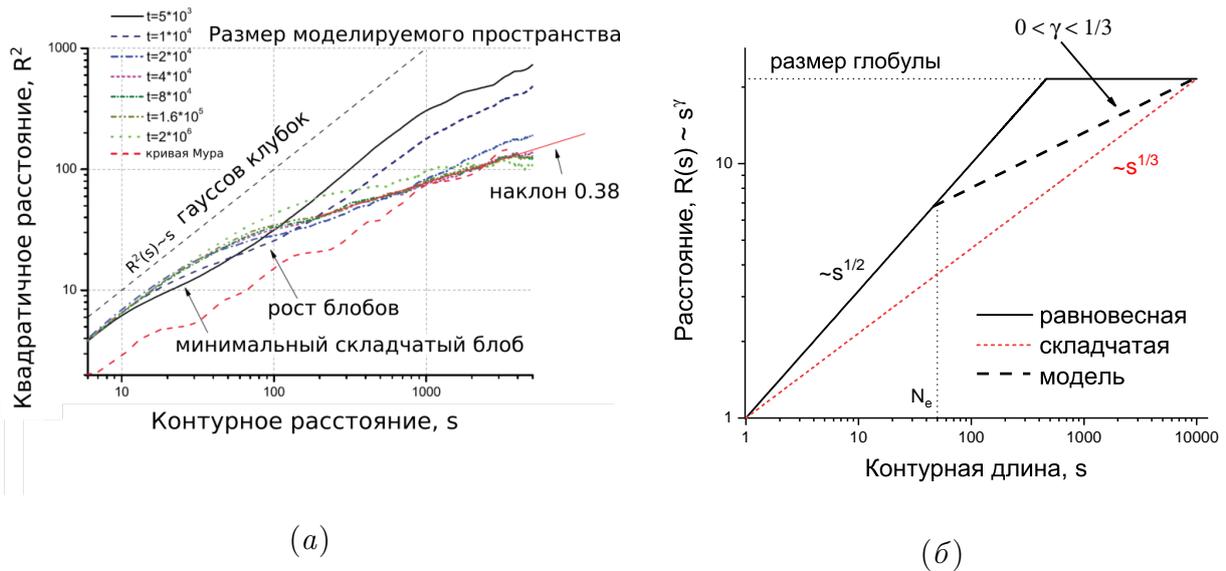


Рис. 2. а) Зависимость $R^2(s)$ для гибкой полимерной цепи в различные моменты времени коллапса в плохом растворителе. б) Сравнение результатов, полученных в моделировании с результатами, соответствующие моделям складчатой и равновесной глобулы. Зависимости квадратичного расстояния от контурной длины представлены для сравнения наклонов кривых на разных масштабах.

концами сегмента от его контурной длины $R^2(s) \sim s^{2\gamma}$. При коллапсе возникает неравновесная структура ожерелья, у которого размер “бусин” и их расположение на цепи носят случайный характер. На графике можно выделить перегиб, который соответствует размеру блока, под блобом понимается структура, сформированная сегментом цепи, имеющим конформацию гауссова случайного блуждания. Из графика на рис. 2 (а) видно, что средний характерный размер блока растет со временем. Длина субцепи, на которой её конформация соответствует случайному гауссову блужданию, увеличивается. Это связано с релаксацией структуры из складчатой в равновесную глобулу. Для субцепей размером меньше длины зацеплений ($N_e \approx 50$ ед. ДДЧ) такая релаксация происходит за время, сравнимое с временем формирования единой глобулы. Хотя сразу после коллапса структура субцепи на масштабе длин свыше длины зацеплений остается складчатой, зависимость $R^2(s)$ ведет себя уже не как для фрактальной глобулы ($\sim s^{2/3}$) из-за начального участка, на котором конформация соответствует случайному гауссову блужданию

($R^2(s) \sim s$). Поскольку характерный пространственный размер глобулы не меняется ($\sim N^{1/3}$), то, в конечном итоге, субцепи длиной свыше $\approx N^{2/3}$ перемешиваются между собой, так как блобы обладают рыхлыми клубковыми конформациями. Из-за такой неоднородности структуры эффективное значение степенного показателя γ (для субцепей длиной $s > N_e$) в зависимости $R^2(s)$ в ходе коллапса может принимать значения в интервале $0 \leq \gamma \leq 1/3$. Где значение $\gamma = 0$ соответствует равновесной глобуле, в которой реализуется полное перемешивание блобов в рамках геометрического размера глобулы.

Также была построена зависимость вероятности контакта концов субцепи от её контурной длины $P(s)$. Приведено сравнение с равновесной и гауссовой глобулами по аналогии с зависимостью квадрата расстояния от контурной длины $R^2(s)$. Анализ зависимости вероятности контакта $P(s)$ подтверждает выводы, сделанные по зависимости квадратичного расстояния $R^2(s)$.

Рассмотрены результаты моделирования коллапса полужесткой цепи в плохом растворителе. Описан выбор параметров компьютерного эксперимента для задания жесткости цепи посредством модели взаимопроникающих сфер. Для исследования особенностей структуры, формируемой в ходе коллапса, использовались построения трехмерных конформаций системы и зависимостей вероятности контакта $P(s)$ и квадратичного расстояния $R^2(s)$ от контурной длины сегмента цепи.

В работе установлено, что кристаллические зародыши формируются еще до образования единой глобулы. Сформированные зародыши затем реорганизуются в единый кристаллит. На рис. 3 показано изменение зависимости квадратичного расстояния от контурной длины $R^2(s)$ с ходом коллапса. На малых длинах ($s < 10$) цепь ведет себя аналогично жесткому стержню $R^2(s) \sim s^2$. С течением времени осцилляции становятся все более заметными на графике, это связано упорядочением структуры цепи, что проявляется в виде формирования “кристаллических” сегментов одинаковой длины, разделенных “аморфными” участками цепи. Период осцилляций равен сумме

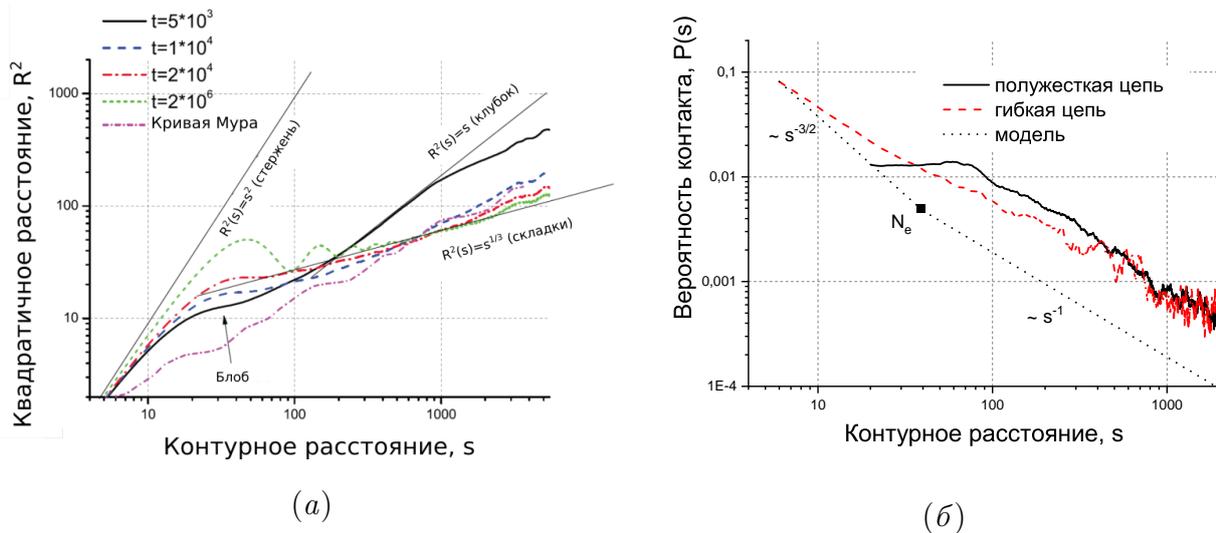


Рис. 3. а) Зависимость квадратичного расстояния между звеньями от контурной длины сегмента полужесткой цепи. б) Зависимость вероятности контакта от контурной длины сегмента цепи.

удвоенной длины “кристаллического” сегмента и длины “аморфного” сегмента, соединяющего два соседних “кристаллических”. На большом масштабе структура напоминает складчатую глобулу. Сформированная структура не релаксирует в равновесную глобулу в дальнейшем.

Результаты второй главы опубликованы в работе [1].

В третьей главе было осуществлено описание задачи кристаллизации полимерных цепей из переохлажденного раствора. Описан выбор параметров моделирования для реализации модели взаимопроникающих сфер. В рассматриваемых системах объемная доля полимера составляла от 20 до 100%. Моделируемые цепи были моодисперсными длиной $N = 1000$ звеньев. В качестве начальной конформации использовалось случайное блуждание в континуальном пространстве с шагом, равным равновесной длине связи. Это было сделано, чтобы избежать кинетической замороженности системы, что особенно актуально для систем с большой объемной долей полимера в системе.

Для анализа результатов был разработан оригинальный двустадийный алгоритм. Он заключается в анализе связей и последующем рассмотрении звеньев, которые были отнесены к аморфной фазе. В ходе моделирования

получены квазиравновесные состояния систем, так как в реальных системах равновесие тоже не достигается и анализируются свойства кинетически устойчивых систем. Показано, что полимерные цепи укладываются гексагонально. Одна цепь, как правило, вовлечена в несколько кристаллитов, а каждый кристаллит состоит из нескольких полимерных цепей см. рис. 4 (а).

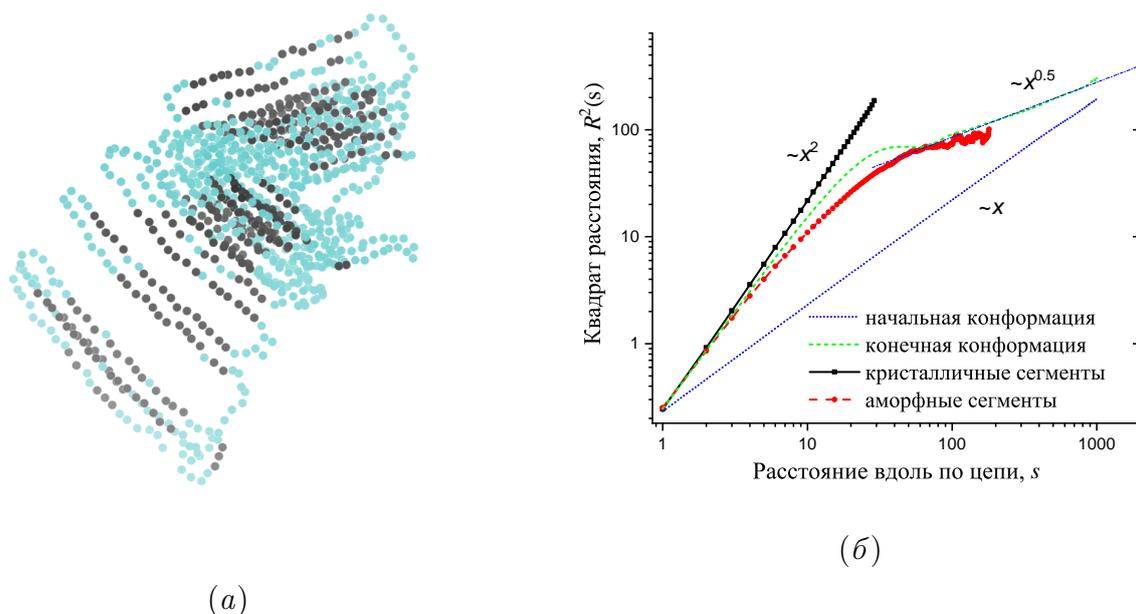


Рис. 4. а) Полимерная цепь после осуществления кластерного анализа, черным окрашены звенья, соответствующие кристаллической фазе, серым – аморфной. б) Зависимость квадрата расстояния от длины вдоль по цепи для начальной конформации, для конечной конформации 90% и отдельно для кристаллических и аморфных сегментов конечной конформации 90%.

Также проанализирована зависимость квадратичного расстояния от длины сегмента $R^2(s)$, причем такая зависимость была построена как для всей системы, так и отдельно для “аморфных” и “кристаллических” сегментов, см. рис. 4 (б). Показано, что зависимость $R^2(s)$ для кристаллических сегментов аналогична зависимости для жесткого стержня $\sim s^2$, в то время как для “аморфных” сегментов такая зависимость имеет степень меньше 2. Структура всей системы может быть разделена на две части: прямолинейные сегменты, соответствующие длине кристаллического сегмента и складчатая струк-

тура, которая формируется как при возврате цепи в тот же кристаллит, так и при переходе в другой. Расстояние между концами цепи оказывается соответствующим случайному блужданию, хотя внутренняя структура на разных пространственных масштабах сильно неоднородна.

Рассмотрен вопрос формирования наиболее крупного кристаллита в системе, в ходе исследования установлено, что это происходит при концентрации $\sim 90\%$. Это связано с балансом между сформированной сеткой зацеплений и наличием полимерного материала для образования кристаллита см. рис. 5 (б). При увеличении объемной доли полимера в системе, длина зацеплений уменьшается, что не позволяет формировать крупные кристаллиты. При уменьшении концентрации количество полимера для вовлечения в сформированный кристаллит оказывается недостаточным для роста кристаллита.

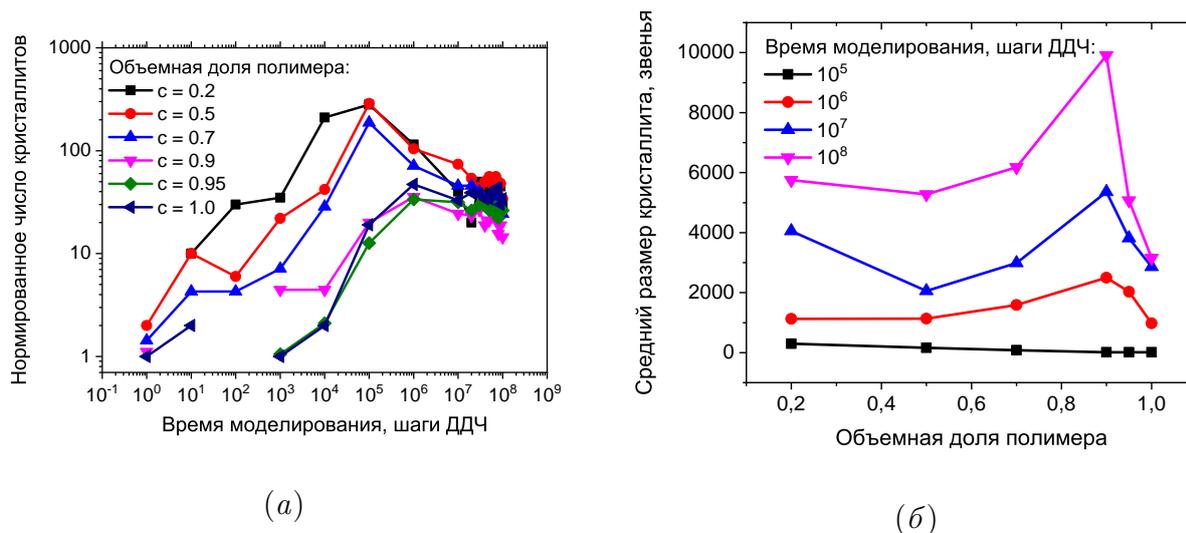


Рис. 5. а) Зависимости числа кристаллитов от времени моделирования. б) Зависимости среднего размера кластера от концентрации.

После осуществления процедуры двустадийного кластерного анализа, были рассчитаны и построены зависимости степени кристалличности, среднего размера кристаллита и числа кристаллитов от времени и концентрации. Такой всесторонний анализ систем позволил сделать вывод, что общий сценарий кристаллизации состоит из двух последовательных процессов: формирование многочисленных кристаллических зародышей и последующее объеди-

нение кристаллитов с вовлечением соседних полимерных цепей, см. рис. 5 (а).

Результаты опубликованы в тезисах к докладу на конференции № 2 из списка, приведенного на странице 9.

В четвертой главе описаны структуры, формируемые линейным регулярным мультиблоксополимером с насыщающимися взаимодействиями, эти структуры послужили моделью пространственной организации хроматина внутри клеточного ядра *Drosophila melanogaster*. Третья глава содержит 3 раздела: формирование топологически-ассоциированных доменов, стабилизация топологически-ассоциированных доменов и выводы.

В первом разделе показано, как с помощью модели регулярного мультиблоксополимера можно описать упаковку хроматина внутри клеточного ядра. Был смоделирован участок отдельной хромосомы. Кроме того, наличие хромосомных территорий позволяет осуществлять такое исследование без потери общности. В качестве организма, для которого разрабатывалась модель, была выбрана плодовая мушка *Drosophila melanogaster*, так как этот организм является наиболее изученным в молекулярной биологии. Используемые экспериментальные данные были предоставлены лабораторией структурно-функциональной организации хромосом ИБГ РАН.

Приведены классификации разделения хроматина на несколько типов, подчеркивается, что в основе всех классификаций лежит уровень экспрессии и эпигенетические модификации. Для моделирования используется классификация хроматина на активный и неактивный в соответствии с профилем ацетилирования гистона H3 (модификация H3K27ac). В результате такой модификации заряд на хвосте гистона H3 оказывается замещен ацетильной группой и нуклеосомы с такой модификацией больше не могут участвовать во взаимодействии типа “ключ-замок” с кислотной областью на гистонах H2/H4. Ацетилированные нуклеосомы соответствуют активному хроматину. Участок, состоящий из “неактивных” нуклеосом, формирует структуру, назы-

ваемую топологически-ассоциированным доменом. Для моделирования взаимодействия типа “ключ-замок” использовался механизм насыщающихся взаимодействий, который был реализован в виде обратимого образования связей между звеньями, моделирующими неактивный хроматин.

Последовательность мультиблоксополимера была выбрана на основании экспериментальных данных о распределении активного и неактивного хроматина у *Drosophila melanogaster*. Активный хроматин составляет около 10% всего генома, а средний размер участка неактивного хроматина составляет 100000 п.н. Одному звену в моделировании соответствует одна нуклеосома (~ 200 п.н.), поэтому моделируемая последовательность была выбрана как [500А-50Б]₁₉, где тип А - неактивный хроматин, а Б – активный.

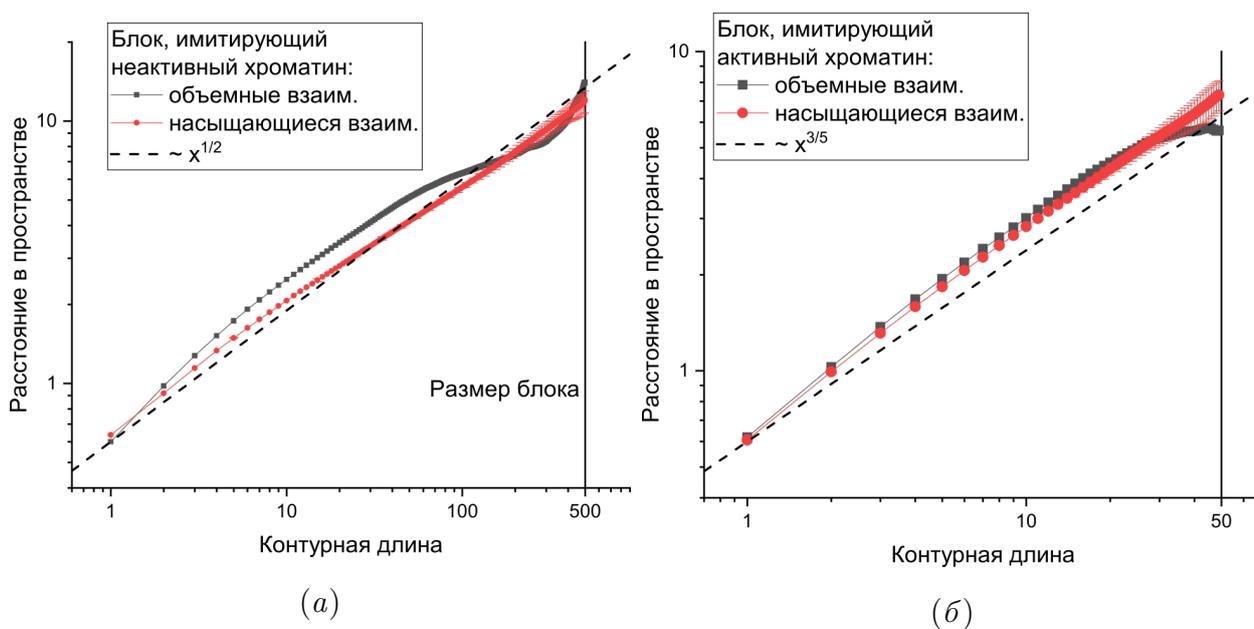


Рис. 6. а) Различия в структуре ТАДа, блока, имитирующего неактивный хроматин. б) Различия в структуре линкера, блока, имитирующего активный хроматин. Для насыщающихся взаимодействий сделано усреднение по 12 независимым реализациям по 19 блокам в каждой. Для объемных взаимодействий зависимость усреднена по 19 блокам каждого вида по одной конформации.

В диссертации описан выбор параметров моделирования. На рис. 6 для сравнения изображены структуры, сформированные неактивным (а) и активным (б) хроматином при использовании насыщающихся или объемных

взаимодействий.

Во втором разделе было показано, что увеличение длины блока активного хроматина приводит к стабилизации структуры посредством экранирования доменов друг от друга. Для этого было осуществлено моделирование структуры мультиблок-сополимера с насыщающимися взаимодействиями, имеющего последовательность $[500A-500B]_{10}$, см. рис. 7 (а).

Был исследован один из мотивов распределения активного хроматина: включение коротких участков активного хроматина в длинный блок неактивного, см. рис. 7 (б). Показано, что такой мотив способствует стабилизации доменов, выступая в роли поверхностно-активного вещества. Полученные конформации приведены на рис. 7.

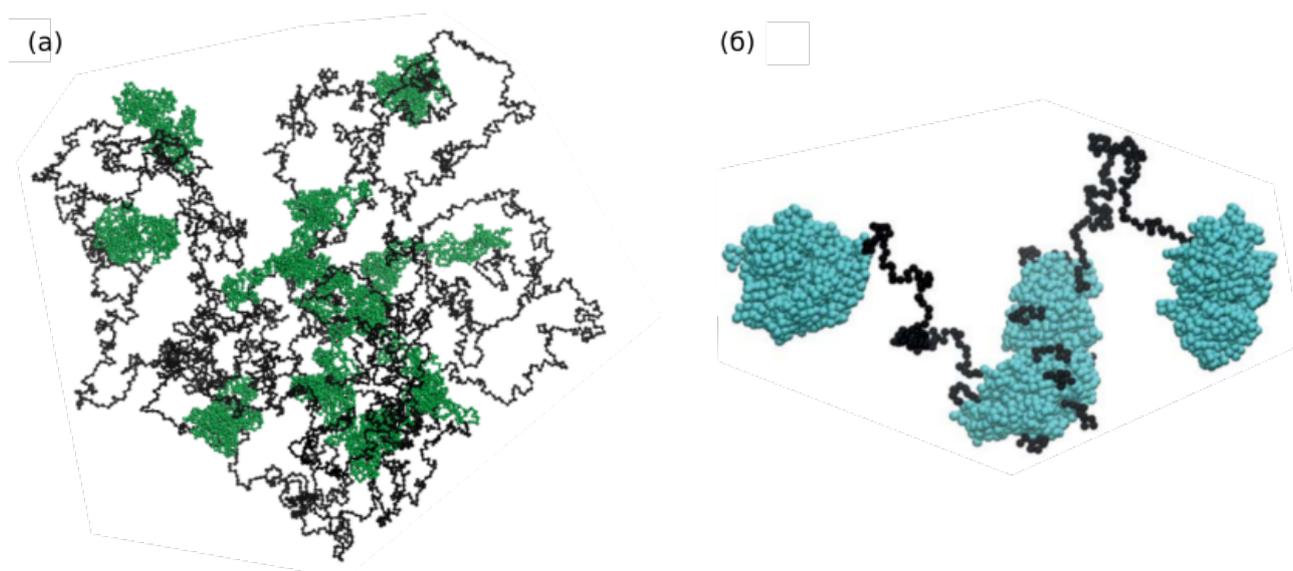


Рис. 7. а) Конформация регулярного мультиблоксополимера с последовательностью $[500A-500B]_{10}$, структура сформирована посредством насыщающихся взаимодействий. б) Конформация мультиблоксополимера с последовательностью $500A-50B-[50A-10B]_{10}-50B-500A$, структура сформирована посредством насыщающихся взаимодействий.

Результаты третьей главы опубликованы в работах [2]–[4].

В Заключение подведен итог проделанной работы. Сформулированы основные выводы, которые соответствуют положениям, выносимым на защиту.

Основные публикации по теме диссертации

Все журналы индексируются в базах данных Web of Science и Scopus.

- [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. 134903, 2014.
- [2] S. V. Ulianov, E. E. Khrameeva, A. A. Gavrilov, I. M. Flyamer, P. Kos, E. A. Mikhaleva, A. A. Penin, M. D. Logacheva, M. V. Imakaev, A. Chertovich, M. S. Gelfand, Y. Y. Shevelyov и S. V. Razin, «Active chromatin and transcription play a key role in chromosome partitioning into topologically associating domains», *Genome research*, т. 26, № 1, с. 70–84, 2016.
- [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.

Список цитируемой литературы

- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] И. М. Лифшиц, А. Ю. Гросберг и А. Р. Хохлов, «Структура полимерной глобулы, сформированной насыщающимися связями», *ЖЭТФ.*, т. 71, № 4, с. 1634, 1976.
- [16] 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.
- [17] Muthukumar, M, «Modeling polymer crystallization», *Interphases and Mesophases in Polymer Crystallization III*, с. 241—274, 2005.
- [18] S. Stepanow, «Kinetic mechanism of chain folding in polymer crystallization», *Physical Review E*, т. 90, № 3, с. 032 601, 2014.