

نقش گستره انرژی وابسته به توالی در شکل‌گیری نواحی فاقد نوکلئوزوم

مهشید حبیبی* و فرشید محمد رفیعی

دانشکده فیزیک، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه، زنجان

پست الکترونیکی: habibimahshid@iasbs.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۴/۲۲؛ دریافت نسخه نهایی: ۱۴۰۴/۰۸/۰۶)

چکیده:

ناحیه فاقد نوکلئوزوم، به اختصار NDR، بخشی از ژنوم است که نقش کلیدی در اتصال اجزای ماشین رونویسی از جمله RNA پلیمراز و عامل‌های رونویسی ایفا می‌کند. اشغال این ناحیه توسط نوکلئوزوم‌ها می‌تواند عملکرد صحیح این فرایندها را مختل کند. جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها در طول ژنوم تا حد زیادی تابع ویژگی‌های توالی DNA است. در این مطالعه، با ارائه الگوی تصادفی مبتنی بر گستره انرژی، حرکت پخش نوکلئوزوم‌ها در راستای DNA شبیه‌سازی شده است. با استفاده از الگوریتم گیلسی، حرکت نوکلئوزوم‌ها در امتداد یک توالی ۹۰۱ جفت‌بازی الگوسازی شده و احتمال اشغال نوکلئوزومی در طول ژن بررسی شده است. نتایج نشان می‌دهد که نواحی پرانرژی مانند موانع فیزیکی از تشکیل نوکلئوزوم جلوگیری کرده و منجر به پیدایش نواحی NDR می‌شوند. همچنین انرژی نواحی مجاور نیز بر شکل‌گیری NDR و الگوی اشغال نوکلئوزومی تأثیر می‌گذارد. جای‌گیری آماری نوکلئوزوم‌ها در اطراف NDR نیز در نتایج مشاهده می‌شود. این الگو می‌تواند چارچوبی نظری برای درک بهتر سازمان‌یافتگی کروماتین در شرایط آزمایشگاهی و درون سلولی فراهم سازد.

واژه‌های کلیدی: نوکلئوزوم، ناحیه فاقد نوکلئوزوم، جای‌گیری نوکلئوزومی، اشغال نوکلئوزومی، توالی DNA.

۱. مقدمه

معروف است که متشکل از دو مولکول از هر یک از پروتئین‌های هیستون H₂A، H₂B، H₃ و H₄ است [۱]. اتصال DNA به هشت‌تایی هیستون در ۱۴ محل مشخص انجام می‌شود که در آن‌ها شیار کوچک مارپیچ DNA به سمت سطح هشت‌تایی قرار گرفته است [۲]. تکرار نوکلئوزوم‌ها به‌طور میانگین حدود هر ۱۰۰-۲۰۰ جفت‌باز یک‌بار رخ می‌دهد. حضور هیستون‌های پیونددهنده (مانند H₁) و سایر عوامل ساختاری موجب فشردگی بیشتر کروماتین و تشکیل فیبرهای ۳۰ نانومتری می‌شود. این فیبرها نیز در سطوح بالاتر سازمان‌دهی شده و در نهایت ساختار متراکم کروموزوم‌های میتوزی را شکل می‌دهند [۱].

اطلاعات ژنتیکی سلول‌ها در مولکول‌های بلند DNA ذخیره می‌شود. در سلول‌های یوکاریوتی، این مولکول‌های بلند باید درون هسته‌ای با قطری کمتر از چند میکرومتر فشرده شوند، درحالی‌که، برای مثال، در سلول‌های انسانی طول هر رشته DNA به حدود دو متر می‌رسد. این فشرده‌سازی از طریق بسته‌بندی DNA در ساختاری به نام کروماتین انجام می‌شود که واحد تکرار شونده اصلی آن نوکلئوزوم است [۱].

هر نوکلئوزوم از ۱۴۷ جفت‌باز DNA تشکیل شده است که به صورت مارپیچ چپ‌گرد، حدود ۱٫۷ دور به دور یک هسته پروتئینی می‌پیچد. این هسته پروتئینی به هشت‌تایی هیستونی

برخوردار است. یکی از نظریه‌های مطرح‌شده این است که NDRها عمدتاً ناشی از میل ترکیبی ذاتی پایین بین DNA و هیستون‌ها در این نواحی هستند [۱۱]. برخی توالی‌های DNA به‌طور ذاتی تمایل کمتری برای پیچیده شدن به دور هیستون‌ها و تشکیل نوکلئوزوم دارند. این توالی‌ها معمولاً دارای انعطاف‌پذیری مکانیکی پایین یا کشیدگی‌های ساختاری خاصی هستند که خم شدن DNA را دشوار می‌سازد. مطالعات نشان داده‌اند که برخی NDRها حاوی چنین توالی‌هایی هستند. همچنین، زمانی که کروماتین در شرایط آزمایشگاهی و بدون حضور سایر پروتئین‌های سلولی بازسازی می‌شود، تا حدودی مناطق خالی از نوکلئوزوم یا NDRها مشاهده می‌شوند. این موضوع نشان‌دهنده نقش مهم توالی DNA در دفع نوکلئوزوم از این نواحی است [۹ و ۱۸].

توالی‌های مختلف DNA دارای انعطاف‌پذیری متفاوتی هستند. به‌ویژه، توالی‌هایی که بازهای A و T در آن‌ها به‌صورت تکرار شونده (مانند توالی‌های poly A/T) ظاهر می‌شوند، معمولاً ساختار سخت‌تری دارند و برای خم شدن مناسب در اطراف هسته هیستونی، انرژی خمشی بیشتری دارند [۲۲-۱۹]. در مقابل، توالی‌هایی که بازهای G و C در آن‌ها با تناوب خاصی ظاهر می‌شوند، انعطاف‌پذیرترند و با صرف انرژی کمتری می‌توانند خم شوند.

توالی‌هایی که بیشترین تمایل به تشکیل نوکلئوزوم دارند، اغلب دارای تکرارهای تناوبی با دوره‌ای حدود ۱۰ تا ۱۱ جفت‌باز هستند، مقداری که تقریباً معادل یک دور پیچش مارپیچ DNA و فاصله بین دو نقطه تماس DNA با هسته تایی هیستونی است. این تکرارها معمولاً شامل دی‌نوکلئوتیدهایی نظیر AA/TT یا GG/CC هستند که در موقعیت‌های مناسبی نسبت به سطح هسته هیستونی قرار می‌گیرند [۱۴، ۱۵ و ۱۹ و ۲۳]. بررسی‌ها نشان داده‌اند که دی‌نوکلئوتیدهای غنی از A/T تمایل دارند در شیار کوچک DNA و در نقاط تماس با هسته تایی هیستون قرار

نوکلئوزوم‌ها علاوه بر نقش ساختاری در بسته‌بندی DNA، عملکردهای تنظیمی حیاتی نیز در بسیاری از فرایندهای سلولی از جمله بیان ژن، جداسازی کروموزوم‌ها، همانندسازی و ترمیم DNA ایفا می‌کنند. آن‌ها همچنین حامل اطلاعات اپی‌ژنتیکی هستند که از طریق تغییرات شیمیایی روی هیستون‌ها منتقل می‌شود [۳]. ساختار کروماتین با ایجاد موانع فیزیکی، دسترسی پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و سایر عوامل ضروری به DNA را محدود می‌کند. فرایندهایی مانند باز و بسته شدن نوکلئوزوم‌ها، لغزش نوکلئوزومی، سرهم‌بندی و جداسازی نوکلئوزوم‌ها، از جمله سازوکارهایی هستند که امکان تنظیم دسترسی به DNA بسته‌بندی‌شده را فراهم می‌کنند [۴ و ۵].

جای‌گیری نوکلئوزومی^۱ به معنای توزیع مکانی نوکلئوزوم‌ها در طول ژنوم است [۶ و ۷] و اشغال نوکلئوزومی^۲ احتمال قرارگیری یک جفت‌باز خاص از DNA درون یک نوکلئوزوم را توصیف می‌کند [۸]. این دو کمیت معمولاً با میانگین‌گیری در سطح جمعیتی یا زمانی تعیین می‌شوند [۸-۶]، و هر دو نقش کلیدی در فرایندهای بیولوژیکی ایفا می‌کنند.

مطالعات متعددی درباره الگوهای جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها در موجوداتی مانند مخمر *Saccharomyces cerevisiae* [۹-۱۱]، انسان [۱۲ و ۱۳] و سایر یوکاریوت‌ها انجام شده است. به‌طور کلی، در بیشتر ژن‌ها مشاهده شده که در ناحیه پیش‌برنده^۳ و به‌ویژه در بالادست جایگاه شروع رونویسی^۴، بخشی از DNA با اشغال نوکلئوزومی بسیار پایین وجود دارد [۱۴ و ۱۵]. این نواحی اصطلاحاً ناحیه خالی از نوکلئوزوم (NDR)^۵ نامیده می‌شوند. NDRها محل اتصال عامل‌های رونویسی، RNA پلیمرازها و سایر اجزای ماشین رونویسی هستند [۱۴ و ۱۵]. علاوه بر این، این نواحی بر انتخاب جایگاه شروع و پایان رونویسی تأثیر می‌گذارند و در طول تمایز سلولی به‌صورت پویا تنظیم می‌شوند [۱۶ و ۱۷].

به دلیل اهمیت عملکردی و فیزیولوژیکی نواحی NDR، درک سازوکارهای ایجاد و پایداری این نواحی از اهمیت ویژه‌ای

۱. Nucleosome Positioning

۲. Nucleosome Occupancy

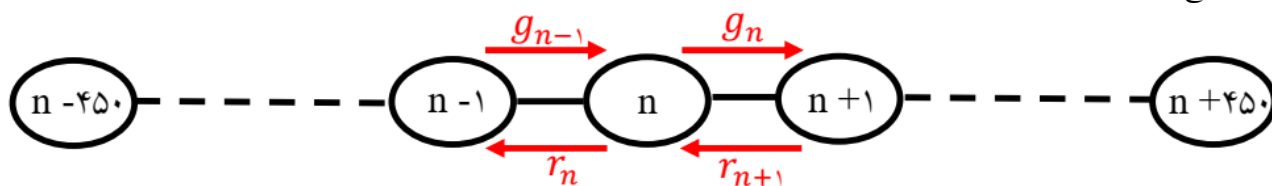
۳. Promoter

۴. Transcription Start Site

۵. Nucleosome-Depleted Region

بنابراین انرژی کلی یک نوکلئوزوم (شامل DNA پیچیده شده و هسته هیستونی) به توالی DNA بستگی دارد.

بگیرند، درحالی‌که، توالی‌های غنی از G/C معمولاً بین این نقاط تماس واقع می‌شوند [۲۴ و ۲۵].



شکل ۱. طرح‌واره ای از الگوی حرکت نوکلئوزوم‌ها در شبکه یک بعدی گسسته. ژنی به طول ۹۰۱ جفت‌باز در نظر گرفته شده است. بیضی‌ها مکان قرارگیری نوکلئوزوم‌ها را نشان می‌دهند. نوکلئوزوم با نرخ r_n از $n-1$ به n ، و با نرخ g_n از n به $n+1$ می‌رود.

فاصله بیشتر از محل شروع رونویسی ممکن است فضای اضافی را برای اتصال همزمان مجموعه‌ای از عامل‌های تنظیمی پیچیده که نیاز به یکپارچه‌سازی سیگنال‌های مختلف دارند، فراهم کند. نشان داده شده است که در پیش‌برنده ژن CLN2، توالی‌هایی وجود دارد که ویژگی‌های تشکیل نوکلئوزوم را تقویت می‌کند. در این مقاله، با ارائه یک الگوی دینامیکی تصادفی مبتنی بر انرژی، حرکت نوکلئوزوم در طول ژنوم شبیه‌سازی می‌شود و احتمال اشغال نوکلئوزوم در موقعیت‌های مختلف با توجه به گستره انرژی محاسبه می‌گردد. در این الگو، اثر توالی DNA به‌عنوان یک مؤلفه تعیین‌کننده در انرژی جای‌گیری نوکلئوزوم لحاظ شده است. ساختار مقاله به این صورت است: در بخش الگو، پس از معرفی گستره انرژی وابسته به توالی، معادله دینامیکی توصیف‌کننده حرکت نوکلئوزوم ارائه می‌شود. سپس در بخش نتایج، برای چند نمونه از گستره‌های انرژی، جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها و احتمال اشغال موقعیت‌های مختلف بررسی می‌شود. در پایان، نتایج مورد بحث قرار می‌گیرند.

۲. الگو برای جای‌گیری نوکلئوزوم

در این بخش، یک الگوی دینامیکی برای توصیف حرکت و جای‌گیری هسته مرکزی نوکلئوزوم در طول DNA معرفی می‌شود. از آنجا که انرژی مکانیکی DNA نوکلئوزومی نقش مهمی در جای‌گیری هسته مرکزی نوکلئوزوم دارد، برای محاسبه گستره انرژی DNA نوکلئوزومی در طول توالی، از الگوی کشسانی وابسته به توالی که پیش‌تر توسط نوروزی و محمدرفیعی ارائه شده، استفاده می‌کنیم [۲۹]. در این الگو،

این وابستگی یک گستره انرژی^۱ برای جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها در طول ژنوم ایجاد می‌کند [۲۸-۲۶]. از آنجا که یک ژن معمولاً از ده‌ها تا صدها نوکلئوزوم تشکیل شده است، دسترسی به اطلاعات ژنتیکی برای فرایندهای زیستی از جمله رونویسی بسیار حیاتی است. از این‌رو، درک احتمال اشغال نوکلئوزوم و جای‌گیری آن‌ها در نواحی مختلف ژنوم اهمیت بالایی دارد. در نواحی NDR، که محل اتصال عامل‌های رونویسی^۲ و ماشین‌های رونویسی مانند RNA پلیمراز هستند، نوع توالی نقش مهمی در میزان اشغال نوکلئوزومی ایفا می‌کند.

پیش‌برنده‌های ژن‌های مخمر اغلب دارای یک ناحیه NDR مشخص هستند که به‌طور معمول بلافاصله در بالادست محل شروع رونویسی قرار می‌گیرند. اندازه متوسط این نواحی در پیش‌برنده‌های معمولی مخمر حدود ۱۵۰ جفت‌باز است. پیش‌برنده ژن CLN2 دارای یک ناحیه NDR با پیکربندی متفاوت و پویا نسبت به پیش‌برنده‌های معمول مخمر است [۱۶]. ناحیه NDR پیش‌برنده ژن CLN2 حدود ۳۰۰ جفت‌باز است که تقریباً دو برابر طول NDRهای معمول است. مرکز این NDR در فاصله‌ای حدود ۴۰۰ جفت‌باز در بالادست محل شروع رونویسی قرار دارد [۱۶]، درحالی‌که NDRهای معمول بلافاصله قبل از محل شروع رونویسی قرار دارند. این ساختار NDR بلند و با فاصله زیاد یک ویژگی مشترک در پیش‌برنده‌های پویا و دینامیک است. پیش‌برنده‌هایی با چنین ساختاری قادرند فعال‌سازی و غیرفعال‌سازی سریع‌تر و گسترده‌تری را در پاسخ به سیگنال‌های محیطی یا چرخه‌ای (مانند تنظیم دقیق در طول چرخه سلولی) نشان دهند.

۱. Energy Landscape

۲. Transcription Factors

دارد. در طول زمان، نوکلئوزوم با نرخ‌های حرکت به چپ یا راست حرکت می‌کند؛ نرخ r_n برای رفتن از n به $n-1$ ، و نرخ g_n برای رفتن از n به $n+1$ است. احتمال این که نوکلئوزوم در زمان t در مکان n باشد با تابع احتمال $P_n(t)$ مشخص می‌شود. در شکل ۱، طرح‌واره‌ای از این الگوی دینامیکی جابه‌جایی نوکلئوزوم نشان داده شده است. معادله مادر $P_n(t)$ با در نظر گرفتن نرخ‌های r_n و g_n به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$\frac{dp_n}{dt} = -(g_n + r_n)P_n + g_{n-1}P_{n-1} + r_{n+1}P_{n+1} \quad (1)$$

که در آن $P_n(t)$ احتمال حضور نوکلئوزوم در مکان n و در زمان t است. توجه داریم که در حالت کلی نرخ حرکت به مکان نوکلئوزوم بستگی دارد و با توجه به اختلاف انرژی مکان نوکلئوزوم توسط معادلات زیر در الگو در نظر گرفته می‌شود:

$$\begin{aligned} g_n &= g_0 e^{-\beta[U(n+1)-U(n)]} \\ r_n &= r_0 e^{-\beta[U(n-1)-U(n)]} \end{aligned} \quad (2)$$

که در آن $\beta = \frac{1}{k_B T}$ ، $g_0 = r_0$ ، نرخ جابه‌جایی نوکلئوزوم در غیاب تغییرات انرژی است، و $U(n)$ انرژی در هر سطح گسترده انرژی را نشان می‌دهد. در این الگو، اثر توالی در جای‌گیری نوکلئوزوم از طریق $U(n)$ در نظر گرفته می‌شود. برای یک توالی تصادفی، به صورت میانگین تغییرات انرژی تقریباً صفر است. نرخ جابه‌جایی نوکلئوزوم حدود $g_0 = r_0 = 5.0 \cdot s^{-1}$ است [۳۰]. شایان ذکر است که می‌توانیم بیش از یک نوکلئوزوم بر روی یک توالی در نظر بگیریم، در این صورت اشغال هم‌زمان یک قسمت از DNA توسط دو نوکلئوزوم ممنوع است.

در این پژوهش از توالی پیش‌برنده ژن CLN2 در مخمر *Saccharomyces cerevisiae* الهام گرفته شد که به عنوان یکی از پیش‌برنده‌های دینامیک با ناحیه NDR بلند شناخته می‌شود [۱۶]. در این الگو، گستره‌های انرژی به کار رفته بازنمایی مفهومی از انرژی آزاد تشکیل نوکلئوزوم در امتداد این توالی هستند، نه مقدارهای محاسبه شده مستقیم از توالی. این گستره‌های انرژی با هدف بررسی تأثیر تغییرات موضعی در انرژی وابسته به توالی بر اشغال نوکلئوزومی طراحی شدند. در این چارچوب، نواحی دارای ویژگی‌های ساختاری مطلوب (نظیر تکرار دوره‌ای دی‌نوکلئوتیدهای AA/TT یا GG/CC)

DNA نوکلئوزومی به صورت یک میله کشسان در نظر گرفته می‌شود که بین ۱۴ نقطه اتصال به هیستون خم شده است. در هر اتصال، شیار کوچک DNA به سمت هشت‌تایی هیستونی جهت‌گیری دارد، که این ویژگی هندسی به عنوان شرط مرزی در الگو لحاظ می‌شود. سپس برای هر بخش از DNA، با استفاده از ویژگی‌های کشسانی وابسته به توالی و این شرایط مرزی، شکل تعادلی به دست آمده و انرژی کشسانی آن محاسبه می‌شود. جمع این انرژی‌ها، انرژی کل DNA نوکلئوزومی را می‌دهد که به توالی وابسته است. نروزی و محمدریفیعی نشان دادند که حتی در غیاب برهم‌کنش‌های خاص بین هیستون و DNA، ساختار و انرژی کل DNA نوکلئوزومی می‌تواند به طور محسوسی (در حد $10 \cdot k_B T$) بسته به توالی بین نقاط اتصال تغییر کند. بنابراین، انرژی مکانیکی DNA در هر موقعیت خاص می‌تواند به عنوان گستره انرژی نوکلئوزوم در طول DNA در نظر گرفته شود.

در این الگو، موقعیت یک نوکلئوزوم در طول DNA با استفاده از محل قرارگیری محور تقارن مرکزی نوکلئوزوم^۱ تعریف می‌شود. همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شد، در ساختار نوکلئوزومی، تقریباً ۱۴۷ جفت‌باز DNA به صورت مارپیچ به دور هشت‌تایی هیستونی پیچیده می‌شود. وسط DNA نوکلئوزومی بر روی محور تقارن مرکزی قرار می‌گیرد و به عنوان نقطه مرجع برای تعیین موقعیت نوکلئوزوم در نظر گرفته می‌شود. بر این اساس، زمانی که گفته می‌شود نوکلئوزوم در موقعیت n قرار دارد، منظور آن است که نوکلئوتید شماره n بر روی محور تقارن مرکزی نوکلئوزوم واقع شده است. بنابراین، اگر هشت‌تایی هیستون به اندازه یک جفت‌باز در امتداد DNA جابه‌جا شود، محور تقارن مرکزی نوکلئوزوم نیز به اندازه یک جفت‌باز جابه‌جا شده و مکان نوکلئوزوم نسبت به DNA به $n+1$ یا $n-1$ تغییر می‌کند.

برای الگوسازی حرکت نوکلئوزوم، آن را به صورت یک ذره در شبکه‌ای گسسته و یک‌بعدی در نظر می‌گیریم، که در آن مکان‌های ممکن برای نوکلئوزوم با $n-1$ ، n ، $n+1$ ، ... مشخص می‌شوند. نوکلئوزوم در مکان n انرژی مکانیکی $U(n)$

و نتایج شبیه‌سازی با گرفتن میانگین از ۱۰۰۰۰ هنگرد (آنسامبل) انجام می‌شود.

۳. نتایج

در این بخش، به نتایج حاصل از شبیه‌سازی اشغال نوکلئوزومی در امتداد یک توالی ۹۰۱ جفت‌بازی اشاره می‌کنیم؛ نتایجی که بر پایه چند نمونه از گستره‌های انرژی وابسته به توالی، با استفاده از الگوی دینامیکی معرفی شده به دست آمده‌اند. در نمودارهای شکل‌های ۲، ۳، ۴ و ۵، احتمال اشغال نوکلئوزوم‌ها در طول توالی بررسی شده و موقعیت محل شروع رونویسی در هر شکل با یک فلش قرمز مشخص شده و بیضی‌های سبز محل‌هایی را نشان می‌دهند که احتمال اشغال نوکلئوزومی در آن‌ها از مقدار میانگین در کل توالی به‌طور معنی‌داری بالاتر است. این نواحی بر اساس مشاهده الگوهای مشخص در نمودارهای احتمال اشغال (نقاط بیشینه محلی) مشخص شده‌اند و به‌عنوان محل‌های دارای احتمال بالای حضور نوکلئوزوم مشخص شده‌اند.

شکل ۲، نتایج حاصل از شبیه‌سازی جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها را بر اساس یک مثال از گستره انرژی وابسته به توالی نشان می‌دهد. در شکل ۲، الف، گستره انرژی مکانیکی به‌عنوان تابعی از موقعیت جفت‌باز مرکزی نوکلئوزوم در امتداد DNA نمایش داده شده است. این منحنی انرژی نشان می‌دهد که ناحیه‌ای در بازه ۳۰۰- تا ۶۰۰- دارای انرژی پتانسیل نسبتاً بالاتری نسبت به سایر نقاط توالی است. در شکل ۲، ب، نمودار احتمال اشغال نوکلئوزومی نسبت به موقعیت محور مرکزی نوکلئوزوم ترسیم شده است. نتایج نشان می‌دهد که در ناحیه پرانرژی ۳۰۰- تا ۶۰۰-، احتمال تشکیل نوکلئوزوم به‌طور قابل توجهی کاهش یافته است، درحالی‌که در دو ناحیه مجاور آن (۰ تا ۳۰۰- و ۶۰۰- تا ۹۰۰-) به دلیل پایین بودن انرژی، اشغال نوکلئوزومی افزایش یافته است. مقادیر میانگین احتمال اشغال در این سه ناحیه به شرح زیر است:

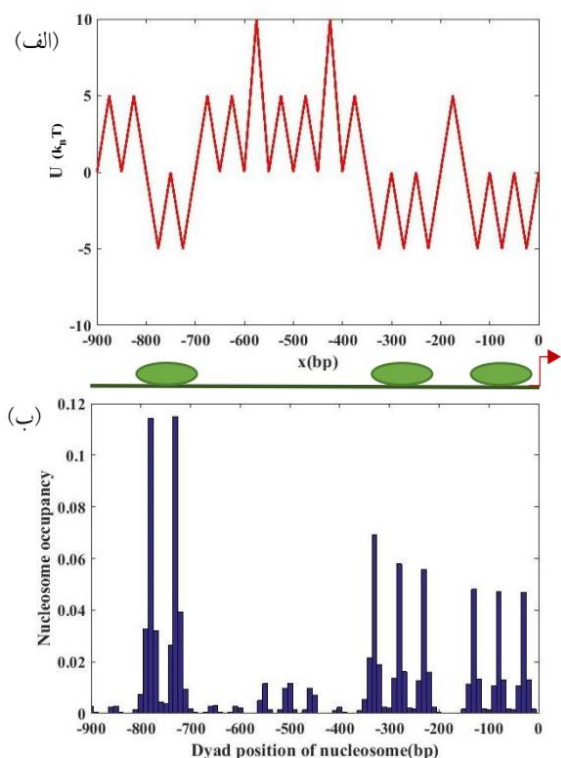
- بازه ۰ تا ۳۰۰-: حدود ۴۰٫۵٪
- بازه ۳۰۰- تا ۶۰۰-: حدود ۱۹٪

به‌صورت نواحی با انرژی پایین و تمایل بیشتر به تشکیل نوکلئوزوم الگوسازی شدند، درحالی‌که نواحی با ترکیب GC بالا یا انعطاف‌پذیری کمتر به‌صورت قله‌های انرژی در نظر گرفته شده‌اند. تغییرات خطی بین نقاط شکستگی در گستره انرژی بیانگر گذار تدریجی بین نواحی مطلوب و نامطلوب است و برای ساده‌سازی در نمایش و تحلیل پویایی نوکلئوزوم‌ها به کار گرفته شده است.

با استفاده از نرخ‌های جابه‌جایی وابسته به انرژی و بهره‌گیری از الگوریتم گیلسپی^۱ [۳۱]، حرکت نوکلئوزوم در راستای DNA الگوسازی شده است. با توجه به این‌که هر نوکلئوزوم حدود ۱۴۶ جفت‌باز DNA را در بر می‌گیرد و با در نظر گرفتن طول متغیر DNA اتصال‌گر، به‌طور میانگین می‌توان انتظار داشت که در هر ۳۰۰ جفت‌باز از توالی، یک نوکلئوزوم قرار گیرد. از آنجایی که نوکلئوزوم با هسته هیستونی در حدود ۱۴ نقطه تماس متناوب برهم‌کنش دارد، جابه‌جایی آن‌ها به‌صورت لغزش‌های گسسته (در بازه‌های تقریباً ۱۰ جفت‌بازی) الگوسازی می‌شود، که متناظر با یک دور کامل مارپیچ دوگانه DNA است.

در این‌جا، سه ذره را به‌طور تصادفی در زمان $t=0$ با شرط این‌که مکان اولیه ذرات باید بیشتر از ۷۵ جفت‌باز از هم فاصله داشته باشند، رها می‌کنیم. اگر به‌طور تصادفی دو ذره فاصله‌شان از هم کمتر از ۷۵ جفت‌باز باشد، شرط اولیه پذیرفته نمی‌شود، چون مانند این است که یک قسمت از طول DNA حول دو هسته هیستونی پیچیده باشد که امکان‌پذیر نیست. هر ذره با توجه به مکانی که قرار دارد، و با توجه به گستره انرژی و معادله (۲) نرخ حرکت متفاوتی دارد. برای استفاده از الگوریتم گیلسپی برای دینامیک چندین ذره به‌طور هم‌زمان، مشابه مراجع [۳۲] و [۳۳] عمل می‌کنیم. به‌این‌صورت که با توجه به نرخ حرکت برای هر ذره، یک زمان مشخص برای حرکت هر ذره به دست می‌آید که به مکان ذرات بستگی دارد. حال از بین این سه زمان، کوتاه‌ترین زمان یا بزرگترین نرخ حرکت انتخاب می‌شود، و با توجه به بزرگترین نرخ حرکت در آن مکان، مکان ذرات تحول پیدا می‌کند. شبیه‌سازی برای ۱۰۰۰۰۰۰ قدم اجرا می‌شود

تنظیم ساختار کروماتین و کنترل دسترسی به اطلاعات ژنتیکی در سطح ژنومی محسوب می‌شود.



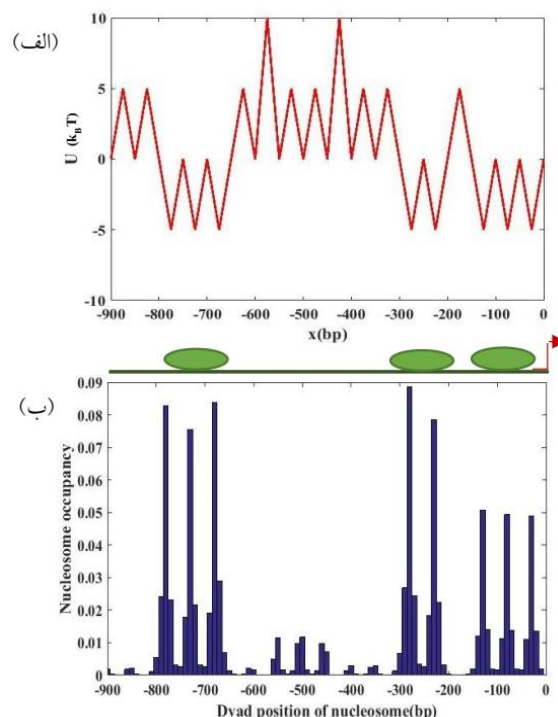
شکل ۳. الف. گستره انرژی تشکیل نوکلئوزوم در امتداد یک توالی ۹۰۱ جفت‌بازی دیگر. ب. احتمال اشغال نوکلئوزومی که با توجه به گستره انرژی و الگوی دینامیکی وابسته به توالی DNA پیش‌بینی شده است.

در شکل ۳، یک مثال دیگر از گستره انرژی وابسته به توالی ارائه شده است. در این نمونه نیز، یک ناحیه با انرژی مکانیکی بالا در بازه ۳۰۰- تا ۶۰۰- مشاهده می‌شود که مانع از تشکیل نوکلئوزوم در این ناحیه شده و به پیدایش ناحیه NDR منجر شده است. میانگین احتمال اشغال نوکلئوزومی در سه بازه مشخص به صورت زیر محاسبه شده است:

- بازه ۰ تا ۳۰۰-: حدود ۴۱٪
- بازه ۳۰۰- تا ۶۰۰-: حدود ۲۶٪
- بازه ۶۰۰- تا ۹۰۰-: حدود ۳۳٪

مقایسه این نتایج با شکل ۲ نشان می‌دهد که اگرچه انرژی پتانسیل در ناحیه ۳۰۰- تا ۶۰۰- در هر دو شکل تقریباً یکسان است، اما احتمال اشغال نوکلئوزومی در این ناحیه در شکل ۳

• بازه ۶۰۰- تا ۹۰۰-: حدود ۴۰,۵٪



شکل ۴. الف. گستره انرژی مکانیکی برای تشکیل نوکلئوزوم به عنوان تابعی از موقعیت جفت‌باز مرکزی در امتداد DNA. ب. احتمال اشغال نوکلئوزومی که با توجه به گستره انرژی و الگوی دینامیکی وابسته به توالی DNA پیش‌بینی شده است. محل شروع رونویسی با فلش قرمز رنگ و محل‌های محتمل برای نوکلئوزوم‌ها با بیضی‌های سبز رنگ نشان داده شده‌اند.

این توزیع غیر یکنواخت در اشغال نوکلئوزومی، بازتابی از نقش مستقیم توالی DNA و انرژی کشسانی در جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها است. ناحیه با انرژی بالا همانند یک مانع فیزیکی عمل کرده و از جای‌گیری نوکلئوزوم در آن بخش جلوگیری می‌کند. به این ترتیب، ناحیه NDR ایجاد می‌شود که می‌تواند محل اتصال عامل‌های رونویسی و سایر پروتئین‌های تنظیمی باشد.

علاوه بر این، چنین ناحیه‌ای با ممانعت از تشکیل نوکلئوزوم، موقعیت نوکلئوزوم‌های مجاور را نیز به صورت غیرمستقیم تعیین می‌کند. این پدیده که به عنوان جای‌گیری آماری^۱ نوکلئوزوم‌ها شناخته می‌شود، یکی از سازوکارهای کلیدی در

۳۰۰- تا ۶۰۰- دیده می‌شود که از تشکیل نوکلئوزوم جلوگیری کرده و به ایجاد ناحیه NDR منجر شده است. میانگین احتمال اشغال نوکلئوزومی در سه بازه مکانی به صورت زیر گزارش شده است:

- بازه ۰ تا ۳۰۰-: حدود ۵۱٪
- بازه ۳۰۰- تا ۶۰۰-: حدود ۷/۵٪
- بازه ۶۰۰- تا ۹۰۰-: حدود ۴۱/۵٪

در مقایسه با شکل‌های ۲ و ۳، با وجود مشابه بودن گستره انرژی در ناحیه NDR (۳۰۰- تا ۶۰۰-)، احتمال اشغال نوکلئوزومی در این ناحیه در شکل ۴ کاهش بیشتری دارد. این تفاوت به‌ویژه به علت کاهش انرژی پتانسیل در نواحی مجاور (۰ تا ۳۰۰- و ۶۰۰- تا ۹۰۰-) نسبت داده می‌شود که موجب جذب بیشتر نوکلئوزوم‌ها به آن نواحی و در نتیجه تخلیه بیشتر ناحیه میانی شده است.

همچنین انرژی میانگین محاسبه شده برای شکل ۴ در سه بازه مکانی به صورت زیر است:

- بازه ۰ تا ۳۰۰-: $3/75 k_B T$
- بازه ۳۰۰- تا ۶۰۰-: $3/33 k_B T$
- بازه ۶۰۰- تا ۹۰۰-: $0/83 k_B T$

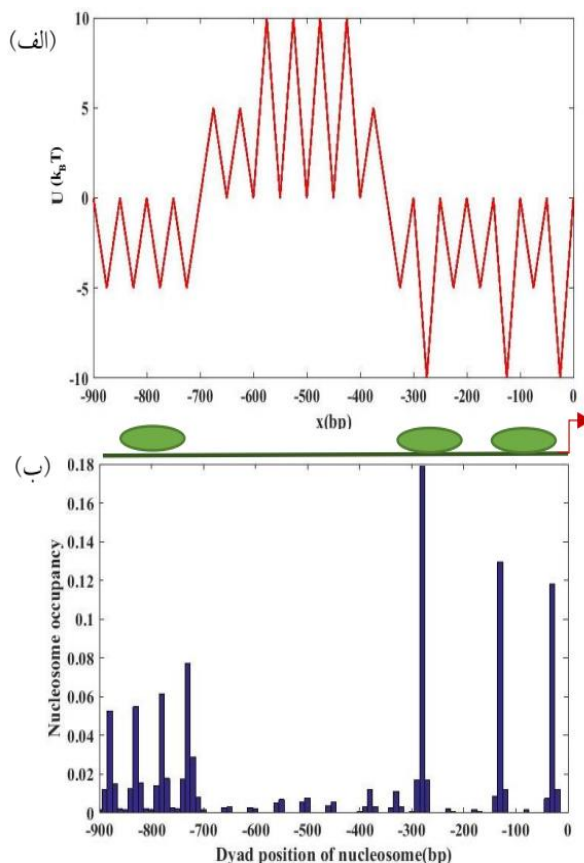
و برای شکل ۲ به صورت زیر است:

- بازه ۰ تا ۳۰۰-: $1/66 k_B T$
- بازه ۳۰۰- تا ۶۰۰-: $3/33 k_B T$
- بازه ۶۰۰- تا ۹۰۰-: حدود صفر $k_B T$

همان‌طور که دیده می‌شود با این‌که میانگین انرژی در ناحیه ۳۰۰- تا ۶۰۰- در این دو شکل یکسان است ولی احتمال اشغال نوکلئوزومی در این ناحیه، با یکدیگر متفاوت است که این به دلیل تفاوت انرژی در ناحیه‌های مجاور است.

افزون بر این، با بررسی مکان نوکلئوزوم‌ها نیز می‌توان مشاهده کرد که دو نوکلئوزوم سمت راست (نزدیک به محل شروع رونویسی) در شکل ۴ نسبت به شکل‌های ۲ و ۳ فاصله کمتری با یکدیگر دارند. این پدیده نتیجه کاهش انرژی در ناحیه پایین دست است که باعث نزدیک‌تر شدن مکان‌های پایدار نوکلئوزومی به یکدیگر شده و نمونه‌ای از اثرات غیرمحل‌ی گستره انرژی بر جای‌گیری آماری نوکلئوزوم‌ها به‌شمار می‌رود.

نسبت به شکل ۲ بیشتر است. این تفاوت می‌تواند نتیجه اختلاف‌های جزئی در انرژی نواحی مجاور، یعنی بازه‌های ۰ تا ۳۰۰- و ۶۰۰- تا ۹۰۰- باشد.



شکل ۴. الف. گستره انرژی تشکیل نوکلئوزوم در امتداد یک توالی ۹۰۱ جفت‌بازی دیگر. ب. احتمال اشغال نوکلئوزومی که با توجه به گستره انرژی و الگوی دینامیکی وابسته به توالی DNA پیش‌بینی شده است.

این نتایج نشان می‌دهد که موقعیت نوکلئوزوم‌ها صرفاً تابع انرژی موضعی یک ناحیه خاص نیست، بلکه کل گستره انرژی در طول توالی بر دینامیک جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها تأثیرگذار است. در واقع، تشکیل ناحیه NDR می‌تواند نتیجه اثرات جمعی توزیع انرژی در کل توالی باشد، نه فقط انرژی موضعی ناحیه NDR. در این شکل هم مشابه شکل ۲ پدیده جای‌گیری آماری نوکلئوزوم‌ها مشاهده می‌شود.

در شکل ۴، نتایج مربوط به شبیه‌سازی احتمال اشغال نوکلئوزومی بر اساس یک گستره انرژی متفاوت ارائه شده است. در این حالت نیز، ناحیه‌ای با انرژی مکانیکی بالا در بازه

- بازه ۳۰۰- تا ۶۰۰-: حدود ۲۱٪
- بازه ۶۰۰- تا ۹۰۰-: حدود ۳۵٪

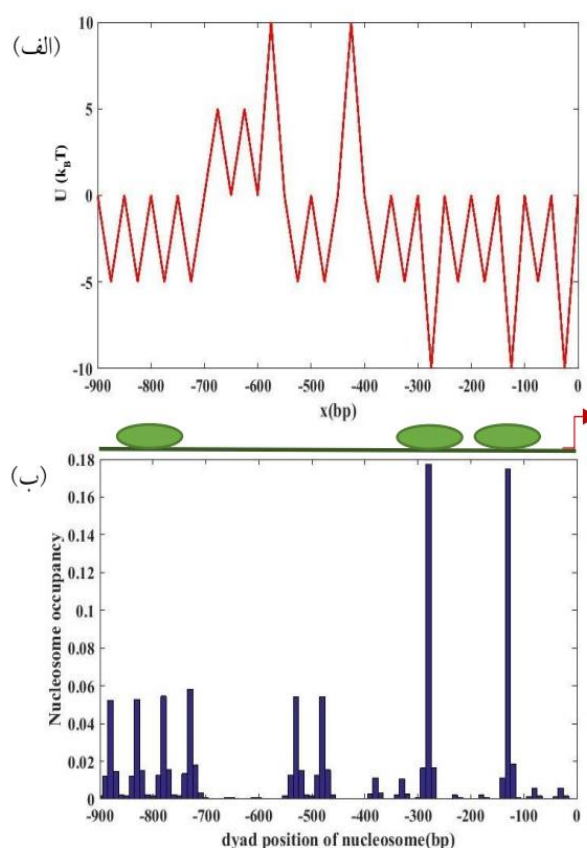
در مقایسه با شکل ۳، با وجود آن که انرژی ناحیه NDR (بازه ۳۰۰- تا ۶۰۰-) در شکل ۵ کاهش یافته است، توزیع احتمال اشغال نوکلئوزومی در این ناحیه کمتر از حالت شکل ۳ است، که نشان می‌دهد کاهش انرژی در این بازه به تنهایی برای افزایش اشغال نوکلئوزومی کافی نیست. از سوی دیگر، با مقایسه شکل‌های ۴ و ۵ درمی‌یابیم که گستره انرژی در نواحی ۰ تا ۳۰۰- و ۶۰۰- تا ۹۰۰- تقریباً یکسان است، اما انرژی در بازه میانی متفاوت است. با این حال، احتمال اشغال در تمامی بازه‌ها تغییر کرده است.

این مشاهده تأکید می‌کند که هم انرژی ناحیه NDR و هم انرژی نواحی بالادست و پایین دست آن می‌توانند به‌طور هم‌زمان بر توزیع و جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها تأثیر بگذارند. بنابراین، نه تنها تغییر در توالی‌های ناحیه مرکزی بلکه توالی‌های ژنومی مجاور نیز نقش مؤثری در شکل‌گیری و پایداری ناحیه NDR دارند. این یافته بر اهمیت در نظر گرفتن کل گستره انرژی در الگوسازی جای‌گیری نوکلئوزومی تأکید دارد.

۴. نتیجه‌گیری و بحث

مولکول DNA دارای خاصیت کشسانی است، به‌طوری‌که تغییر شکل آن، مانند خم شدن به دور هسته هیستونی، نیازمند صرف انرژی است. این انرژی تغییر شکل، به توالی نوکلئوتیدی DNA وابسته است. به بیان دیگر، توالی‌های مختلف DNA دارای میزان انعطاف‌پذیری ذاتی متفاوتی هستند. برخی توالی‌ها مانند تکرارهای تناوبی خاصی از دی‌نوکلئوتیدها، از نظر مکانیکی نرم‌تر بوده و انعطاف‌پذیرترند و برای پیچش به دور هیستون به انرژی خمش کمتری نیاز دارند. این توالی‌ها، مکان‌هایی با انرژی پتانسیل کم محسوب می‌شوند که احتمال استقرار نوکلئوزوم در آن‌ها بیشتر است. در مقابل، توالی‌های سخت و غیرمنعطف، مانند نواحی غنی از بازهای A/T، دارای انرژی خمش بالاتری بوده و تمایل کمتری به تشکیل نوکلئوزوم دارند. چنین نواحی معمولاً به نواحی بدون نوکلئوزوم تبدیل می‌شوند.

این تحلیل نشان می‌دهد که شکل‌گیری ناحیه NDR و موقعیت نوکلئوزوم‌های مجاور آن تحت تأثیر کل گستره انرژی توالی قرار دارد و تنها وابسته به انرژی موضعی یک ناحیه خاص نیست.



شکل ۵. الف. گستره انرژی تشکیل نوکلئوزوم در امتداد یک توالی ۹۰۱ جفت‌بازی دیگر. ب. احتمال اشغال نوکلئوزومی که با توجه به گستره انرژی و الگوی دینامیکی وابسته به توالی DNA پیش‌بینی شده است.

در شکل ۵، نتایج مربوط به شبیه‌سازی اشغال نوکلئوزومی برای یک گستره انرژی دیگر نمایش داده شده است. برخلاف شکل‌های قبلی، در این‌جا انرژی مکانیکی در بازه ۰ تا ۳۰۰- نسبتاً پایین‌تر است و در نتیجه احتمال تشکیل نوکلئوزوم در این ناحیه افزایش یافته است. با این حال، ناحیه‌ای با انرژی بالا در بازه ۳۰۰- تا ۶۰۰- همچنان مشاهده می‌شود که منجر به شکل‌گیری ناحیه NDR در این بخش شده است. مقادیر میانگین احتمال اشغال نوکلئوزومی در سه بازه مکانی به شرح زیر است:

- بازه ۰ تا ۳۰۰-: حدود ۴۴٪

در این مطالعه، با استفاده از گستره‌های انرژی مکانیکی مبتنی بر توالی و شبیه‌سازی حرکت پخش نوکلئوزوم‌ها در این گستره‌ها، الگوی توزیع احتمالی اشغال نوکلئوزومی در طول ژن بررسی شده است. نوکلئوزوم‌ها گرچه به صورت تصادفی در طول DNA حرکت می‌کنند، اما تمایل دارند در نواحی با انرژی پتانسیل کمینه (چاله‌های انرژی) قرار گیرند و از نواحی با انرژی زیاد (قله‌های انرژی) دوری کنند. این ویژگی منجر به شکل‌گیری الگوهای مشخصی از جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها می‌شود که به ترجیحات انرژی-توالی وابسته است. بنابراین، گستره انرژی توالی می‌تواند پیش‌بینی‌کننده معتبری برای نواحی اشغال‌شده و خالی از نوکلئوزوم باشد.

از نتایج شبیه‌سازی‌ها مشاهده شد که نواحی با انرژی پتانسیل بیشینه به‌عنوان سدهایی برای حضور نوکلئوزوم عمل می‌کنند و باعث قرارگیری پایدارتر نوکلئوزوم‌ها در نواحی مجاور می‌شوند. به این ترتیب، پدیده‌ای به نام جای‌گیری آماری در مجاورت NDRها ایجاد می‌شود. این پدیده نشان‌دهنده اثر متقابل توالی‌های بالادست و پایین دست با ناحیه مرکزی NDR است.

یکی از یافته‌های مهم این تحقیق آن است که شکل‌گیری یک NDR صرفاً به ویژگی‌های محلی توالی محدود نمی‌شود، بلکه توالی نواحی بالادست و پایین دست نیز می‌تواند نقش کلیدی در توزیع و پایداری نوکلئوزوم‌ها ایفا کند. مشاهده شد که تغییر جزئی در انرژی نواحی مجاور یک NDR می‌تواند احتمال اشغال نوکلئوزومی در همان ناحیه را به‌طور قابل توجهی تغییر دهد. بنابراین، جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها پدیده‌ای جمعی و ناشی از تعامل بین موقعیت‌های مختلف در گستره انرژی ژنومی است.

در کنار این نکات، برخی از عوامل فیزیکی و زیستی دیگر نیز می‌توانند بر موقعیت نوکلئوزوم‌ها تأثیرگذار باشند. به‌عنوان نمونه، در شرایط زیستی واقعی، دُم‌های هیستونی^۱ می‌توانند باعث ایجاد برهم‌کنش‌های مؤثری بین نوکلئوزوم‌های مجاور

شوند. این برهم‌کنش‌ها ممکن است هم‌راستایی بین نوکلئوزوم‌ها و همچنین ساختار DNA اتصال‌گر بین آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهند. در چارچوب الگوی ارائه‌شده در این مقاله، می‌توان این اثرات را به صورت نیروهای مؤثر وارد کرد که منجر به تغییر نرخ‌های حرکت نوکلئوزوم می‌شود. همچنین در این مطالعه، برخی اثرات مانند باز شدن جزئی DNA از نوکلئوزوم به دلیل نوسانات گرمایی، یا گسستن پیوندهای DNA-هیستون در نظر گرفته نشده‌اند [۳۴]. اگرچه این اثرات ممکن است به‌طور جزئی بر نتایج تأثیرگذار باشند، اما انتظار می‌رود که نتایج کلی الگو همچنان برقرار باشد. از دیگر عوامل مهم زیستی می‌توان به برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی در سامانه‌های چند نوکلئوزومی اشاره کرد. این برهم‌کنش‌ها، به‌ویژه در شرایط غلظت‌های کم نمک در محیط، می‌توانند خواص کشسانی رشته DNA را تا حدود ۱۰ درصد تحت تأثیر قرار دهند [۳۵ و ۳۶] و در نتیجه بر جای‌گیری نوکلئوزوم‌ها اثر بگذارند. بنابراین، شرایط یونی محیط سلولی نیز باید به‌عنوان یک عامل تعیین‌کننده در الگوسازی‌های دقیق‌تر مدنظر قرار گیرد.

در مجموع، نتایج این پژوهش تأکید می‌کند که جای‌گیری و میزان اشغال نوکلئوزوم‌ها به ویژگی‌های مکانیکی توالی DNA وابسته است، اما فقط با در نظر گرفتن توالی نمی‌توان همه ویژگی‌های جای‌گیری نوکلئوزومی را در شرایط زیستی واقعی توضیح داد. مطالعات تجربی نشان داده‌اند که در شرایط آزمایشگاهی^۲ نواحی NDR کمتر آشکار هستند. این تفاوت با شرایط درون سلولی^۳ بیانگر این است که علاوه بر خواص ذاتی توالی DNA، عوامل تنظیمی مانند عامل‌های رونویسی، ماشین‌های رونویسی و پروتئین‌های بازسازی‌کننده کروماتین^۴ نیز در تعیین الگوی جای‌گیری نوکلئوزومی نقش مهمی دارند [۳۷-۴۰].

۱. Histone tails

۲. In Vitro

۳. In Vivo

۴. Chromatin Remodelers

۵. مراجع

1. B Alberts, et al., "Molecular Biology of the Cell", *Garland Science*, New York (2008).
2. K Luger, et al., *Nature* **389** (1997) 251.
3. K Shantanu, B Tripti, and P Ranjith, *Phys. Rev. E* **106** (2022) 024408.
4. H Schiessel, *J. Phys. Condensed. Matter* **15** (2003) 699.
5. B Eslami-Mossallam, H Schiessel and J Van Noort J., *Adv. Colloid Interface Sci.* **232** (2016) 101.
6. K Struhl and E Segal, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **20** (2013) 267.
7. T van der Heijden, et al., *PNAS* **109** (2012) E2514.
8. R V Chereji and D J Clark, *Biophys. J.* **114** (2018) 2279.
9. N Kaplan, et al., *Nature* **458** (2009) 362.
10. I Albert, et al., *Nature* **446** (2007) 572.
11. E Segal, et al., *Nature* **442** (2006) 772.
12. F Ozsolak, et al., *Nat. Biotechnol.* **25** (2007) 244.
13. A Barski, et al., *Cell* **129** (2007) 823.
14. A Jansen and K J Verstrepen, *Microbiol. Mol. Biol. Rev* **75** (2011) 301.
15. M Radman-Livaja and O J Rando, *Dev. Bio.* **339** (2010) 258.
16. L Bai, A Ondracka and F R, *Molecular cell* **42** (2011) 465.
17. C Jiang and B F Pugh, *Genome biology.* **10** (2009) 1.
18. Q Zhang, et al., *Atmos. Chem. Phys.* **9** (2009) 5131.
19. L Bai and A V Morozov, *Cell* **26** (2011) 379.
20. A L Thastrom, M Bingham, and J Widom, *J. Mol. Biol.* **338** (2004) 695.
21. A Travers, et al., *Mol. Biosyst.* **5** (2009) 1582.
22. K Struhl and E Segal, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **20** (2013) 267.
23. E Segal and J Widom, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **19** (2009) 65.
24. S C Satchwell, H R Drew and A A Travers, *J. Mol. Biol.* **191** (1986) 659.
25. T E Shrader and D M Crothers, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **86** (1989) 7418.
26. H Schiessel, *Annu. Rev. Condens. Matter Phys.* **14** (2023) 193.
27. W k Olson, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **95** (1998) 11163.
28. S Klempahn, R Blossey and H Schiessel, *Phys. Rev. Res.* **6** (2024) 023236.
29. D Norouzi, F Mohammad-Rafiee, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **32** (2014) 104.
30. I M Kulić and H Schiessel, *Phys. Rev. Lett.* **91** (2003) 148103.
31. D T Gillespie, *J. Phys. Chem.* **81** (1977) 2340.
32. A Atakhani, F Mohammad-Rafiee and A Gholami, *PloS one.* **14** (2019) e0213810.
33. A Atakhani, F Mohammad-Rafiee and A Gholami, *Iran. J. Phys. Res* **19** (2019) 185 (Persian).
34. F Khodabandeh, H Fatemi and F Mohammad-Rafiee, *Soft Matter* **16** (2020) 4806.
35. A Rezaie Dereshgi and F Mohammad-Rafiee, *Iran. J. Phys. Res* **18** (2019) 467 (Persian).
36. A Rezaie-Dereshgi, F Mohammad-Rafiee, *J. Chem. Phys.* **148** (2018) 135101.
37. R Padinhateeri and J F Marko, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108** (2011) 7799.
38. R Padinhateeri, J Yan and J F, *PNAS Biophysics* **104** (2007) 3413649.
39. J J Parmar, J F Marko and R Padinhateeri R, *Nucleic Acids Res.* **42** (2014) 128.
40. H Kharerin and L Bai, *PLoS Comput. Biol* **17** (2021) e1008560.