

## СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАКТОРОВ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ХРОМАТИНА

© 2016 г. О. И. Волох<sup>а</sup>, Н. И. Деркачева<sup>б</sup>, В. М. Студитский<sup>а,с</sup>, О. С. Соколова<sup>а,\*</sup>

<sup>а</sup>Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,  
Москва, 119234 Россия

<sup>б</sup>Кафедра биохимии Московского государственного МСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, 127473 Россия  
<sup>с</sup>Fox Chase Cancer Center, 19111, Philadelphia, PA, USA

\*e-mail: sokolova184@gmail.com

Поступила в редакцию 17.03.2016 г.

Принята к печати 24.03.2016 г.

Перестройки хроматина в клеточном ядре происходят с участием факторов, ремоделирующих хроматин (ФРХ), представляющих собой АТР-зависимые мультисубъединичные комплексы, способные менять структуру нуклеосомы без внесения ковалентных модификаций ее компонентов. Вместе с другими белковыми факторами, ФРХ участвуют в регуляции степени упаковки хроматина. В настоящее время на основании структурных и биохимических особенностей выделяют четыре семейства ФРХ: SWI/SNF, ISWI, Mi-2/CHD и SWR/INO80. Основными методами, используемыми для получения структурной информации о макромолекулах, являются рентгеноструктурный анализ и электронная микроскопия. В связи с большим размером и структурной гетерогенностью ФРХ их кристаллизация затруднительна, поэтому для получения структурной информации о ФРХ используют преимущественно просвечивающую электронную микроскопию (ПЭМ). В обзоре рассмотрены структуры факторов ремоделирования хроматина, полученные к настоящему времени с помощью электронной микроскопии, обсуждаются модели их взаимодействия с нуклеосомой.

**Ключевые слова:** факторы, ремоделирующие хроматин, просвечивающая электронная микроскопия, хроматин, транскрипция, нуклеосома

DOI: 10.7868/S0026898416060215

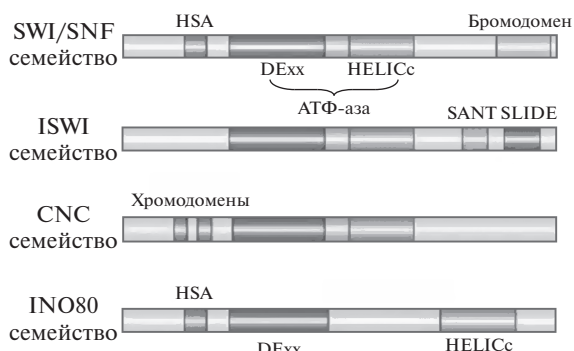
### ВВЕДЕНИЕ

Ядерная ДНК клеток эукариот находится в комплексе с гистонами и негистоновыми белками, образуя хроматин. Гистоны обеспечивают сверхспирализацию и компактизацию ДНК, а хроматин участвует в процессах репликации, транскрипции, репарации и рекомбинации. Основной структурной единицей хроматина является нуклеосома, состоящая из фрагмента ДНК длиной 147 п.н., накрученного на октамер гистонов НА2, НАВ, НЗ и Н4. Длина линкерной ДНК между нуклеосомами составляет в среднем около 60 п.н. С **этом** участком ДНК взаимодействует линкерный гистон Н1. Для всех гистонов, кроме Н4, найдены альтернативные варианты, которые могут входить в состав нуклеосом. Кроме того, в составе нуклеосом гистоны могут подвергаться ковалентной модификации: ацетилированию, метилированию, фосфорилированию и т.д. Процессы, связанные с изменением состава гистонов

(“обмен гистонов”) и их конформации, играют важную роль в контроле экспрессии генов, формировании эпигенетической памяти клетки и регуляции процесса репарации ДНК. Перестройки хроматина, сборка и разборка нуклеосом сопровождают все процессы, происходящие в клетке с участием генетического материала. Изменение нуклеосомной композиции хроматина протекает с участием особых белковых комплексов, которые носят название факторов, ремоделирующих хроматин (ФРХ) [1–5].

ФРХ представляют собой АТР-зависимые мультисубъединичные комплексы, способные нековалентно менять структуру нуклеосомы. Все ФРХ содержат коровую каталитическую субъединицу с АТР-разным доменом, который входит в суперсемейство 2 (SF2, или SNF2) ДНК-хеликаз. ФРХ используют энергию гидролиза АТР для изменения упаковки хроматина путем перемещения, дестабилизации, реструктуризации нуклеосом, а

Принятые сокращения: ФРХ – факторы, ремоделирующие хроматин; РСТ – случайный конический наклон; ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия; 3D – трехмерный; 2D – двухмерный; НК – негативное контрастирование; STEM – сканирующая трансмиссионная электронная микроскопия.



**Рис. 1.** Особенности доменного строения АТРазной субъединицы ФРХ разных семейств (из [1]).

также полного или частичного отделения гистоновых комплексов от ДНК [1, 6, 7]. Совместно с другими белковыми факторами ФРХ участвуют в регуляции степени упаковки хроматина, что необходимо для регуляции доступности определенных участков ДНК (энхансеров, промоторов, участков инициации репликации) для связывания регуляторных белков в процессах транскрипции, репликации, репарации и рекомбинации ДНК. Доступность ДНК может быть изменена путем перемещения, частичного или полного удаления нуклеосом, или “откручивания” участка ДНК от октамера гистонов.

Почти все процессы, происходящие с ДНК, организованной в хроматин, требуют участия ФРХ. Во-первых, после завершения репликации специализированные комплексы ФРХ обеспечивают правильное распределение нуклеосом вдоль ДНК. Во-вторых, ФРХ необходимы для осуществления транскрипции и репликации, а также регуляции этих процессов. Благодаря функционированию ФРХ открываются важные *cis*-регуляторные элементы ДНК, недоступные вследствие плотной упаковки нуклеосом. Кроме того, ФРХ необходимы для элонгации репликации и транскрипции. По ходу движения ДНК- и РНК-полимераз участки матрицы освобождаются от нуклеосом, а затем необходимо формирование нуклеосом на ДНК. Специализированные ФРХ способны облегчать движение полимераз. ФРХ могут занимать участки ДНК, лишённые нуклеосом. В-третьих, в ходе репарации и рекомбинации специализированные ФРХ обеспечивают мобильность нуклеосом, освобождая участки ДНК для взаимодействия с соответствующими ферментами.

Все ФРХ обладают рядом общих свойств:

- их аффинность к нуклеосомам выше, чем к ДНК;
- содержат домены, способные распознавать ковалентные модификации гистонов;

- имеют ДНК-зависимый АТРазный домен, работающий как ДНК-транслоцирующий мотор, который разрушает взаимодействие ДНК-гистоны;

- содержат домены или субъединицы, регулирующие АТРазный домен;

- содержат домены или субъединицы, взаимодействующие с другими хроматиновыми или транскрипционными факторами.

В настоящее время на основании структурных и биохимических особенностей выделяют четыре семейства ФРХ: SWI/SNF, ISWI, Mi-2/CHD и SWR/INO80. Каталитические субъединицы всех ФРХ имеют консервативный АТРазный домен, но различаются наличием или отсутствием других дополнительных доменов (рис. 1)

АТРазный домен состоит из двух частей: DExx и HELICc, которые у представителей семейств SWI/SNF, ISWI, Mi-2/CHD находятся недалеко друг от друга, а у представителей семейства SWR/INO80 удалены на большее расстояние. Для семейства SWI/SNF характерно присутствие бромодомена (последовательность длиной около 110 аминокислотных остатков, специфично связывающая ε-аминоацетильные остатки лизина в гистонах). На N-конце представителей семейств SWI/SNF и SWR/INO80 имеется хеликаза/SANT-ассоциированный домен (HSA-домен). Предполагается, что этот домен участвует в связывании с ДНК. Представители семейства ISWI содержат SANT-SLIDE-домен, вовлеченный в связывание с гистонами. Тандем хромодоменов, узнающих метилированные остатки лизина в гистонах, характерен для представителей семейства Mi-2/CHD.

## ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ФРХ

Анализ трехмерной структуры ФРХ представляет сложную задачу. Во-первых, у высших эукариот ФРХ образуют мультисубъединичные комплексы с молекулярной массой от 300 кДа до 1.5 МДа [1, 8]. Во-вторых, ФРХ могут содержать от одной до 15 различных субъединиц. И, наконец, ФРХ плохо поддаются сборке *in vitro*, что требует выделения нативных образцов из клеток эукариот. Несмотря на большое количество исследований, механизмы действия различных ФРХ остаются предметом обсуждений, в частности, в силу их разнообразия. Пролить свет на функциональные особенности представителей разных семейств ФРХ может знание структурных характеристик одиночных ФРХ и их комплексов с нуклеосомой.

Основными методами, используемыми для получения структурной информации о макромолекулах, являются рентгеноструктурный анализ и электронная микроскопия. Большой размер и гетерогенность ФРХ осложняют кристаллизацию.

Семейства ФРХ и их представители, у которых определена полная или частичная ПЭМ-структура

Семейство	ФРХ с описанной трехмерной структурой	Метод получения структуры	Максимальное разрешение, Å
SWI/SNF	RSC [9–12]	НК*, Крио-ЭМ	25
	PBAF [13]	НК	43
	SWI/SNF [14, 15]	НК, Крио-ЭМ	23
ISWI	CHRAC [16]	НК	27
	ACF [17]	НК	27
	ISW1a-АТРаза [18]	Крио-ЭМ	22
Mi-2/CHD	Нет	–	–
SWR/INO80	INO80 [19]	НК	17.5
	SWR1 [20]	Крио-НК	28

\* НК – негативное контрастирование солями тяжелых металлов.

К настоящему моменту получены кристаллические структуры только отдельных доменов некоторых ФРХ, поэтому целесообразно использовать метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) макромолекул. ПЭМ требует небольшого количества образца и позволяет получить информацию о трехмерной структуре объекта, которую в дальнейшем можно уточнить с использованием кристаллографических данных об отдельных элементах ФРХ.

Электронно-микроскопическое исследование макромолекул – мощное средство визуализации структурных деталей. Реконструкция трехмерной структуры макромолекул становится возможной, потому что на препарате очищенные молекулярные комплексы находятся в виде изолированных частиц, как правило, отличающихся по своей ориентации. Каждая электронная микрофотография содержит набор двумерных проекций трехмерных объектов. Для того, чтобы определить оригинальную структуру, различные виды объектов необходимо выровнять и совместить.

Почти все существующие к настоящему моменту представления о структуре ФРХ получены методами ПЭМ макромолекул (таблица).

Критический шаг в получении трехмерной реконструкции – построение первичной модели. К факторам, осложняющим получение качественной трехмерной структуры ФРХ методом ПЭМ, относятся:

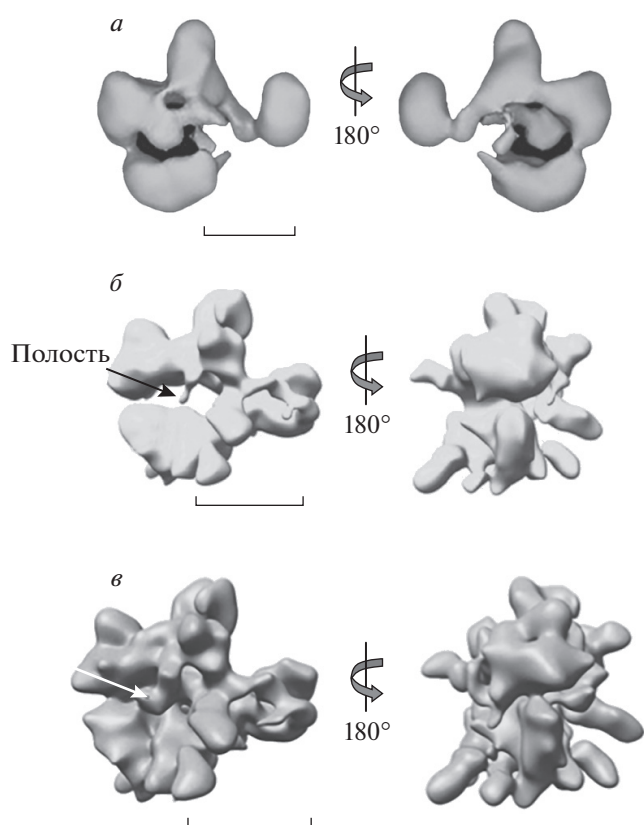
- отсутствие в большинстве случаев у комплексов симметрии;
- высокая конформационная подвижность комплексов;
- гетерогенность образцов;
- сложность получения достаточного количества стабильных ФРХ с нуклеосомой.

Далее мы рассмотрим роль этих факторов в определении некоторых трехмерных реконструкций ФРХ.

### *Электронная микроскопия с негативным контрастированием образцов*

Простейший способ изучения структуры макромолекулярных комплексов в растворе или суспензии изолированных макромолекул с низкой (менее 0.1 мг/мл) концентрацией – негативное контрастирование, при котором к образцу, нанесенному на сетку, добавляется водный раствор соли тяжелого металла, как правило, 1–2% уранилацетата, избыток жидкости удаляется, а образец высушивается [21]. Уранилацетат – наиболее широко используемый краситель, дающий высокий контраст, хотя некоторые белковые структуры лучше сохраняются в других контрастерах, таких как соли вольфрама или молибдена [21, 22]. Контрастер формирует электронноплотную оболочку на поверхности изучаемого объекта, что позволяет получить информацию о размере, форме и симметрии частиц белка, а также дает представление об однородности образца. Метод называется негативным контрастированием, потому что макромолекулы видны как светлые, не связанные краситель, области. Некоторые молекулы хорошо сохраняются при негативном окрашивании, но, как правило, комплексы могут несколько сплюснуться или распасться во время окрашивания и последующей сушки на воздухе. Если молекулы занимают не случайную, а фиксированную ориентацию на подложке, то приходится применять метод случайного конического наклона (random conical tilt RCT) [9, 11]. Для этого изображение объектов на сетке получают съемкой одной и той же области под разными углами (например, 0° и 50°).

Методом негативного контрастирования получены структуры RSC [9–12], PBAF [13], SWI/SNF [14], CHRAC [16], ACF [17] и INO80 [19] (рис. 2–4).



**Рис. 2.** Определение структуры ФРХ RSC методами негативного контрастирования и крио-ПЭМ. В каждом случае показаны два вида реконструкций, отличающиеся друг от друга поворотом на 180 градусов вокруг вертикальной оси. *a* – Структура фактора RSC с негативным контрастированием [9]. *б* – Структура фактора RSC в крио-ПЭМ [12]. Полость показана черной стрелкой. *в* – Трехмерная реконструкция комплекса RSC с нуклеосомой на основании данных крио-ПЭМ [12]. Центральная полость, видимая на (*в*), занята гистонами (белая стрелка).

### Комплекс RSC

ПЭМ-данные о структуре негативно контрастированного RSC-комплекса иллюстрируют рассмотренные проблемы. Из четырех опубликованных к настоящему времени ПЭМ-структур RSC, две получены методом случайного конического наклона [9, 11]. Показана конформационная подвижность и возможная биохимическая гетерогенность образцов [9–12], а также анизотропное уплощение структур вследствие высушивания образца на воздухе [9, 11].

Тем не менее, эти данные позволили впервые получить трехмерные реконструкции фактора RSC (одна из них представлена на рис. 2*a*) и выявили в составе RSC четыре домена, расположенные в форме буквы “С”. Эти домены окружают центральную полость, размеры которой сопоставимы с размерами нуклеосомы. Полученные с низким (25–40 Å) разрешением структуры позво-

лили выдвинуть гипотезу о функционировании фактора RSC. К сожалению, ни одна из этих структур не была получена в комплексе с нуклеосомой, что свидетельствовало о нестабильности комплекса *in vitro*. Поэтому для интерпретации реконструкций кристаллическая структура нуклеосомы [23] (PDB ID code 1AOI) была профильтрована с низким разрешением и помещена в центральную полость (рис. 4*a, б*).

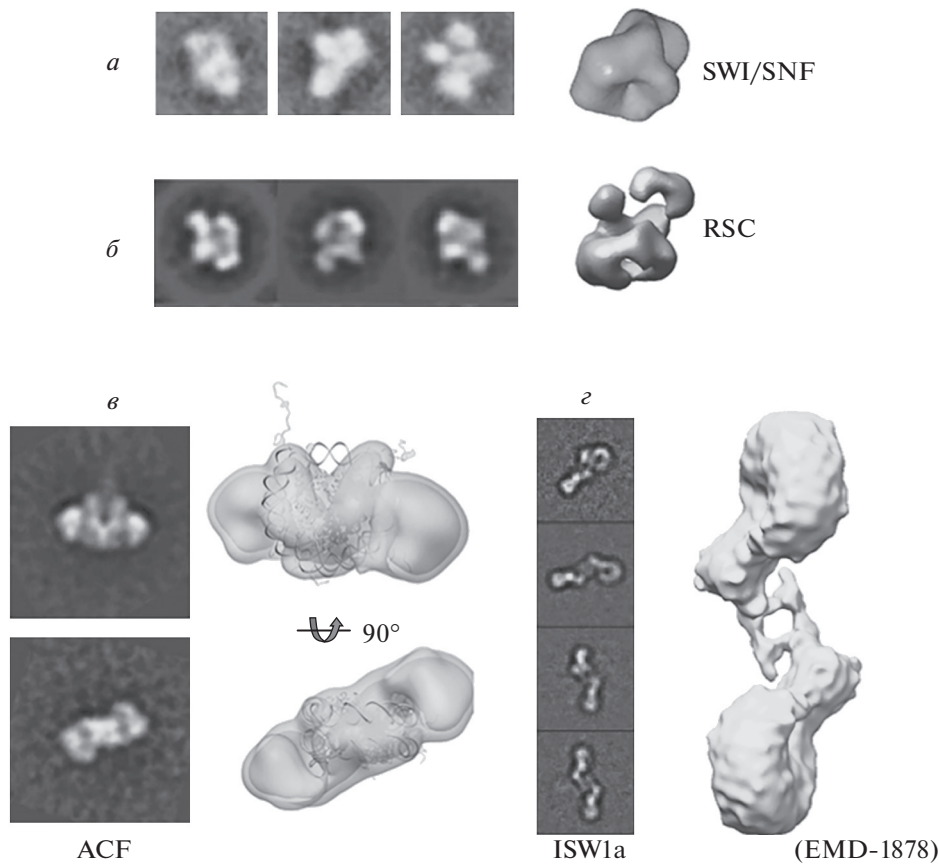
### Криоэлектронная микроскопия (крио-ПЭМ) ФРХ

Крио-ПЭМ позволяет стабилизировать образцы в нативном гидратированном состоянии. Быстрая заморозка используется для приведения образца в твердое состояние без обезвоживания и/или образования кристаллов льда, образец поддерживают при низкой температуре во время обработки и в процессе наблюдения в электронном микроскопе. Низкая температура значительно уменьшает эффекты повреждения образца электронным пучком [21, 24, 25]. Криоэлектронная микроскопия обеспечивает возможность получения высокого разрешения, однако изображения характеризуются низким соотношением сигнал/шум, что может затруднять обработку данных и вносить артефакты. Для преодоления этих трудностей обычно используют сравнение с данными, полученными ранее при помощи негативного контрастирования.

С использованием крио-ПЭМ получены только несколько реконструкций ФРХ: SWR1 [20], SWI/SNF [15], а также уточненная структура комплекса RSC [12] с разрешением около 25 Å (рис. 2*б*). Для выравнивания крио-изображений RSC использовали полученную ранее структуру этого же комплекса с негативным контрастированием (рис. 2*a*) [9]. Крио-исследование подтвердило, что комплекс образован четырьмя доменами и имеет центральную полость, в которую можно вписать нуклеосому. Впервые получена реконструкция комплекса RSC с нуклеосомой (рис. 2*в*, [12]). С этой целью к ФРХ *in vitro* был добавлен четырехкратный избыток нуклеосом и построена разностная карта между структурами одиночного ФРХ и ФРХ-нуклеосомы, где разностная плотность имела размеры октамера гистонов, но без ДНК. Это может свидетельствовать в пользу того, что взаимодействие RSC с гистонами происходит в отсутствие ДНК.

### ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ СИММЕТРИИ

Объект, изучаемый с помощью ПЭМ, может обладать симметрией. Различные виды симметрии (кристаллическая, спиральная, икосаэдрическая, ротационная) увеличивают отношение сигнал/шум в образце и уменьшают количество изображений, необходимых для трехмерной реконструкции. К сожалению, большинство ФРХ



**Рис. 3.** Значение факторов симметрии. В каждом случае слева показаны проекции, а справа – структуры комплексов. *a* – Структура SWI/SNF, полученная методом STEM [14]. *б* – Структура RSC [10], полученная методом RCT. *в* – Структура димера каталитических субъединиц ACF с нуклеосомой (обладает псевдосимметрией типа C2) [17]. *з* – Структура комплекса HSS-Ioc3-45N0 (ISW1a-deltaATPase-нуклеосома) с симметрией типа C2 [18]. Указан номер в базе данных EMDB.

не обладают симметрией, что усложняет процесс реконструкции и не позволяет устранять дефекты, которые могут быть привнесены в процессе получения трехмерной структуры.

#### *Несимметричные ФПХ (факторы SWI/SNF, RSC и PBAF)*

С целью иллюстрации структурного разнообразия несимметричных ФПХ мы сравнили трехмерные реконструкции дрожжевых ФПХ – SWI/SNF [14] и RSC [9]. Обе структуры получены методом негативного контрастирования и имеют высокую степень сходства аминокислотной последовательности. Тем не менее, трехмерные структуры SWI/SNF и RSC значительно различаются. В частности, структура SWI/SNF более компактна и характеризуется равномерным распределением электронной плотности (рис. 3*a*), в то время как RSC имеет архитектуру в виде кольца с доменами, окружающими центральную полость (рис. 3*б*). Необходимо отметить, что некоторые двумерные проекции комплекса SWI/SNF, использованные

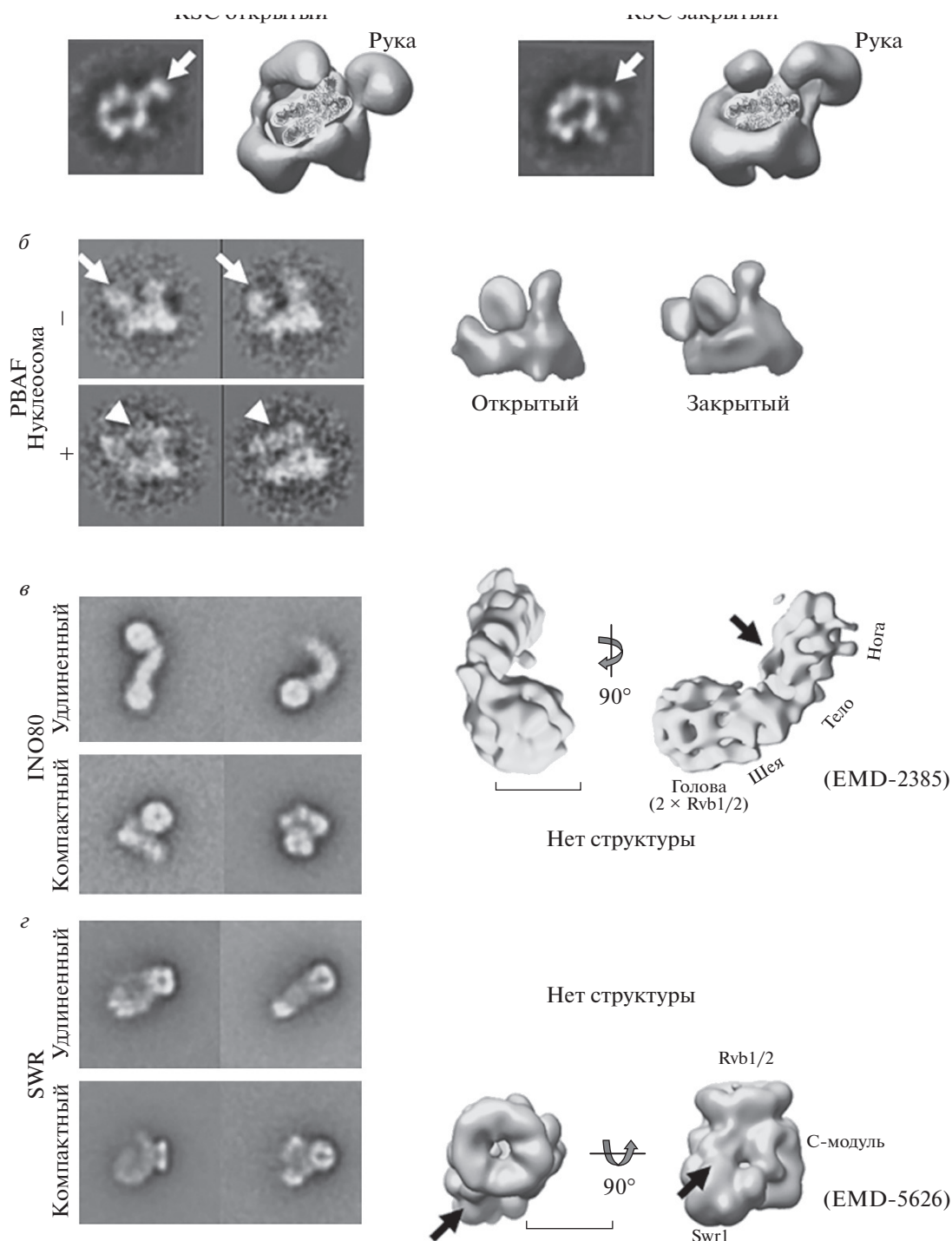
в ходе реконструкции, обладали значительным сходством с проекциями комплексов RSC, в частности, имели четыре характеристических домена (рис. 3*a*, *б*, левые панели). Остается неясным, отражают ли существующие различия действительные структурные особенности, или обусловлены потерей сходства из-за использования различающихся техник реконструирования (RCT и STEM).

В свою очередь, RSC дрожжей ФПХ [9–12] и PBAF человека [13], несмотря на отсутствие консервативности на уровне аминокислотной последовательности, имеют сходную архитектуру [10] (рис. 3*a*, *б*). Представляется вероятным, что это обусловлено сходным механизмом действия [12].

#### *Симметричные ФПХ: факторы ACF и ISW1a*

Некоторые ФПХ имеют ротационную симметрию или псевдосимметрию.

Изображенная на рис. 3*в* реконструкция представляет собой фрагмент комплекса ACF, включающий каталитическую ATPазную субъединицу



**Рис. 4.** Конформационная подвижность ФРХ. В каждом случае слева показаны проекции, а справа структуры комплексов. *а* – Структуры RSC в открытой и закрытой конформациях [10]. Стрелками показаны домены в различных положениях. *б* – Взаимодействие PBAF с нуклеосомой. Стрелки показывают на впадину в структуре, вершины треугольников – на нуклеосому [13]. *в* – Структура INO80 [29]. *г* – Структура SWR1 [29]. Указаны номера в базе данных EMDB.

SNF2h и вспомогательную субъединицу Acf1. Реконструкция получена с использованием негативного контрастирования с разрешением 27 Å. Классификация проекций изображений выдели-

ла три различных типовых класса, причем каждый обладал псевдосимметрией типа 2C, отражающей взаимодействие двух мономеров SNF2h с нуклеосомой. Для интерпретации этой рекон-

струкции использовали кристаллическую структуру нуклеосомы [23]. Электронная плотность, соответствующая нуклеосомной ДНК, не была реконструирована на всем ее протяжении, как и в случае RSC [12], также свидетельствуя в пользу того, что при ремоделировании хроматина ДНК отворачивается от октамера гистонов. Расположение двух ACF-моторов друг напротив друга позволяет быстро менять направление движения нуклеосомы для достижения определенного расстояния между ними. Известно также, что ДНК отворачивается от октамера гистонов при транскрипции через нуклеосому [26].

Другая структура с C2-симметрией получена для комплекса ISW1a-(ΔATPаза) с нуклеосомой с использованием крио-ПЭМ [18] (рис. 3г). В полученную с разрешением 24 Å электронную плотность для идентификации встраивали кристаллические структуры HSS-1oc3 и нуклеосомы [27]. Взаимодействие в комплексе ISW1a-(ΔATPаза)-нуклеосома ограничивается линкерной ДНК и фрагментом ДНК, следующим за линкерным. Показано, что ISW1a может взаимодействовать с двумя линкерными участками ДНК одновременно. С учетом биохимических данных [18] предложен механизм ISW1a-зависимого перераспределения нуклеосом, работающий по принципу, фундаментально отличающемуся от механизма у ACF (см. ниже).

### КОНФОРМАЦИОННАЯ ПОДВИЖНОСТЬ ФРХ

К общим свойствам ФРХ относится их конформационная подвижность, приводящая к появлению двумерных проекций макромолекул, в которых домены могут располагаться в различных ориентациях (рис. 4).

Например, RSC и PBAF имеют C-образную структуру с четырьмя доменами, окружающими центральную полость (рис. 4а, б). С помощью электронной микроскопии обнаружены различные положения доменов в образце без нуклеосом. Для классификации проекций определяли ориентацию и расположение путем перекрестного сравнения различных изображений и/или сравнения с проекционными изображениями трехмерной модели. Сопоставление и анализ конформаций показал, что у RSC подвижность обнаруживается в самом крупном правом домене, “руке” (рис. 4а, стрелки) [10] и менее выражена в нижнем домене [9, 11, 12]. У PBAF подвижен верхний левый домен (рис. 4б, белые стрелки). На основании подвижности участков для факторов RSC и PBAF предложены закрытая и открытая конформации.

При добавлении мононуклеосом к PBAF процент образования комплексов в образце был низ-

ким (около 5%) [13]. В результате классификации изображений, содержащих комплексы, удалось получить несколько проекций изображений с дополнительной электронной плотностью в области между подвижным и неподвижным доменами (рис. 4б, вершины треугольников), однако данных было недостаточно для получения трехмерной реконструкции комплекса PBAF-нуклеосома.

Большая часть ФРХ в образцах без нуклеосом находится в открытой конформации. Возможность размещения нуклеосомы в центральной полости PBAF оценивают путем докинга кристаллической структуры нуклеосомы (PDB 1AOI [23]), отфильтрованной с соответствующим разрешением (20–25 Å). Докинг проводится в свободную область, ограниченную подвижными доменами ФРХ (рис. 4а, б) [10, 13]. Размеры центральных полостей RSC и PBAF хорошо соответствуют размерам нуклеосомы в открытой и закрытой конформации, что может свидетельствовать в пользу модели “гибкой руки” (см. далее) в ходе ремоделирования хроматина [10]. Показано, что предпочтительным субстратом для RSC является именно одиночная нуклеосома. Ранее установили, что RSC связывает нуклеосому с наномольной аффинностью [28] и препятствует воздействию на нуклеосомную ДНК различных нуклеаз [9]. Кроме того, данные о связывании нуклеосомы в центральной полости RSC и PBAF согласуются с результатами футпринтинга нуклеосомной ДНК нуклеазами [10, 13].

Представители семейства SWR/INO80 функционируют как АТР-зависимые ДНК-транслоказы, использующие энергию гидролиза АТР для нарушения ДНК-гистоновых взаимодействий в процессе обмена димера H2A.Z/H2B на H2A/H2B. На сегодняшний день получены три структуры представителей данного семейства: две для дрожжевого INO80 с использованием негативного контрастирования и крио-ПЭМ [19] и одна для SWR1 дрожжей с использованием крио-негативной ПЭМ и сшивки образца [20]. Эти структуры значительно различаются между собой. INO80 представляет собой вытянутую молекулу (рис. 4в), а SWR1 – компактную (рис. 4г). В составе INO80 выделены четыре субдомена, организованных в структуру сходной с эмбрионом формы по типу “голова-шея-тело-нога”. При интерпретации результатов додекамер Rvb1/2 поместили в область “головы”, исходя из размеров этого домена [19].

В компактной структуре SWR1 (рис. 4г) домен, имеющий псевдо-6-лучевую структуру соответствовал гетерогексамеру субъединиц Rvb1/2. Кроме того, идентифицированы N- и C- модули и Swr1-домен [20]. Таким образом, структуры двух представителей семейства (SWR и INO80) различаются. Согласно модели, подтвержденной изучением проекций изображений комплексов

INO80-нуклеосома в негативном контрастировании, нуклеосома располагается внутри центрального желоба INO80 (рис. 4в, стрелка). Предполагали, что гибкая “нога” способна разгибаться (открытое положение) и сгибаться (закрытое положение) в процессе ремоделирования хроматина [19].

Для изучения связывания нуклеосом фактором SWR1 с разрешением 34 Å получена структура комплекса SWR1-нуклеосома [20]. Сравнение этой структуры со структурой апо-SWR1 (без нуклеосомы) выявило дополнительную плотность поверх центрального углубления между кольцом Rvb1/Rvb2 и АТРазой Swg1 (рис. 4г, возможное положение нуклеосомы показано стрелками). Однако размеры этой плотности были недостаточными для докинга нуклеосомы, что, возможно, связано с конформационной и биохимической гетерогенностью данного ФРХ.

Недавно Watanabe и соавт. [29] показали, что проекционные изображения двух разных ФРХ (INO80-С и SWR-С) сходны и представлены в обоих образцах в двух конформациях: удлиненной и компактной (рис. 4в, г). Это может свидетельствовать в пользу того, что на самом деле оба ФРХ из семейства SWR/INO80 имеют схожую структуру, но реконструкция INO80 получена в удлиненной (активной) конформации, а SWR1 — в закрытой (компактной). Видимо, между представителями семейств SWI/SNF и SWR/INO80 существует больше структурных сходств, чем представлялось ранее [29]. Тем не менее, имеются и существенные отличия: нуклеосома у представителей SWI/SNF помещается внутри комплекса (рис. 2в, рис. 4а, б), а у SWR/INO80 — сбоку (рис. 4в, г). Такое положение нуклеосомы дестабилизирует комплексы и затрудняет получение структур с высоким разрешением.

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ СТРУКТУР

Для определения доменного строения ФРХ и выдвижения гипотез об их функционировании необходимо правильно интерпретировать получаемые структуры. В результате можно делать выводы о конформационных изменениях макромолекул и их взаимодействиях с лигандами.

### *Встраивание кристаллических структур*

Все трехмерные структуры ФРХ получены с разрешением 17.5–43 Å, что не позволяет идентифицировать α-спирали белков. Поэтому для более точной интерпретации кристаллические структуры отдельных доменов встраивают в получаемые ПЭМ-карты. Кристаллические структуры полноразмерных комплексов ФРХ в базе PDB отсутствуют из-за их конформационной подвижности и невозможности кристаллизации. Однако

получены кристаллические структуры отдельных доменов ISW1a [18] и INO80/SWR1: изолированных доменов Rvb1/2 [30–34] и YEATS-субъединицы Taf14 [55], актинсвязывающих субъединиц Arp4 и Arp8 [35–37]. Для интерпретации структуры INO80, додекамер Rvb1/2 и домен Snf2 встраивали в электронную плотность INO80, остальные структурные модули были соотнесены с их субкомплексами с использованием аффинных меток [18].

### *Мечение с помощью аффинных меток*

Локализацию модулей Arp8, Nhp10 и Arp5 в комплексе INO80 определяли с использованием аффинных меток DID1 [18, 38]. В результате удалось картировать домены Arp5, Arp8, Nhp10, less2 и less6 в электронной плотности INO80 путем выявления дополнительной плотности, соответствующей аффинной метке в районе этих доменов.

### *Методы сшивки (cross-link)*

Взаимодействие INO80 с нуклеосомой изучали с использованием методов сшивки и масс-спектрометрии (XL-MS) [39]. Всего обнаружено 52 сшивки, из которых 35 внутри гибких хвостов гистонов, а 17 между структурными частями гистонов и INO80, что позволило приблизительно определить позицию нуклеосомы (рис. 4в, стрелка) [18]. Сшивки гистонов H2A и H2B свидетельствовали в пользу того, что димер H2A/H2B расположен в области “шеи” INO80, что обуславливает АТР-зависимую хемомеханическую активность Snf2-домена. Предполагается, что он может терять контакт с ДНК и обмениваемыми димерами гистонов H2A.Z/H2B и H2A/H2B.

### *Картирование методом вычитания электронной плотности*

Для картирования доменов, соответствующих С- и N-концевым доменам комплекса SWR, были синтезированы субкомплексы без этих доменов и рассчитаны их трехмерные структуры. Построение карт различий между укороченными структурами субкомплексов и исходной полной структурой SWR1 позволило локализовать соответствующие С- и N-модули. Этот же метод использовали для определения положения нуклеосомы в комплексах с SWR1 [20], INO80 [18], RSC [12] и PBAF [13]. Проекции комплексов с нуклеосомой выявили дополнительную электронную плотность (стрелки на рис. 4б).



*Модели функционирования ФРХ,  
основанные на структурных данных*

При сравнении структур, относящихся к различным классам, можно изучать закономерности их строения, соотнося их с функциональной ролью отдельных доменов. Совместный анализ данных, полученных различными методами (включая биохимические и биофизические), позволяет подтвердить или опровергнуть гипотезы о функционировании такого рода молекулярных машин, как ФРХ. Анализ пространственных структур позволил установить, что при взаимодействии ФРХ с нуклеосомой образуются различные структурные комплексы, которые помогают перемещать нуклеосомную ДНК, участвуют в обмене гистонов либо распределяют нуклеосомы на равных расстояниях друг от друга вдоль ДНК. Выдвинут ряд гипотез о функционировании ФРХ в ходе ремоделирования хроматина.

**1. ФРХ окружает нуклеосому: гипотеза “гибкой руки”.** Так называемая гипотеза “гибкой руки” была выдвинута более 10 лет назад при изучении конформационных изменений в комплексе RSC [9] и развита в дальнейшем, когда получили несколько других структур для членов этого семейства [12, 13, 40]. Белки семейства SWI/SNF играют роль в перемещении ДНК вдоль нуклеосомы, а также участвуют в отделении нуклеосом (при их потере на интенсивно транскрибируемых генах) и в частичной потере гистонов (в ходе транскрипции нуклеосомной ДНК). Участие ФРХ в этих процессах необходимо для разрыва и восстановления контактов между гистонами и ДНК [6, 41, 42].

Гипотеза “гибкой руки” предполагает, что ФРХ взаимодействует с нуклеосомой, находясь в открытой конформации (рис. 4а, б), а затем переходит в закрытую путем перемещения одного (РВАФ) или нескольких (RSC) доменов. При этом нуклеосома оказывается внутри и с двух или более сторон окружена ФРХ (рис. 5). Трехмерные структуры ФРХ RSC и РВАФ (рис. 4а, б) пространственно организованы таким образом, что центральная область может быть сайтом связывания нуклеосомы. Прямое подтверждение этого получено путем сопоставления проекций комплекса РВАФ-нуклеосома (рис. 4б).

Ранее предположили, что АТФ-зависимое перемещение ДНК вокруг нуклеосомы в ходе ремоделирования происходит путем изгибания двойной спирали [7, 43], что приводит к образованию большой петли (более 100 п.н.) [44, 45]. Однако отмечено, что в закрытой конформации в полости могут размещаться только небольшие петли (менее 20 п.н.). Образование петель большого размера будет приводить к нестыковке (ДНК не будет помещаться в области), в результате чего нуклеосомная ДНК будет доступна растворителю. В противном случае необходимы значитель-

ные конформационные перестройки, чтобы разместить петлю большого размера [46]. По-видимому, взаимодействие ФРХ с нуклеосомой вызывает частичное раскручивание ДНК. С этим согласуется полученная крио-ПЭМ структура RSC [12], которая не позволяет идентифицировать электронную плотность нуклеосомной ДНК.

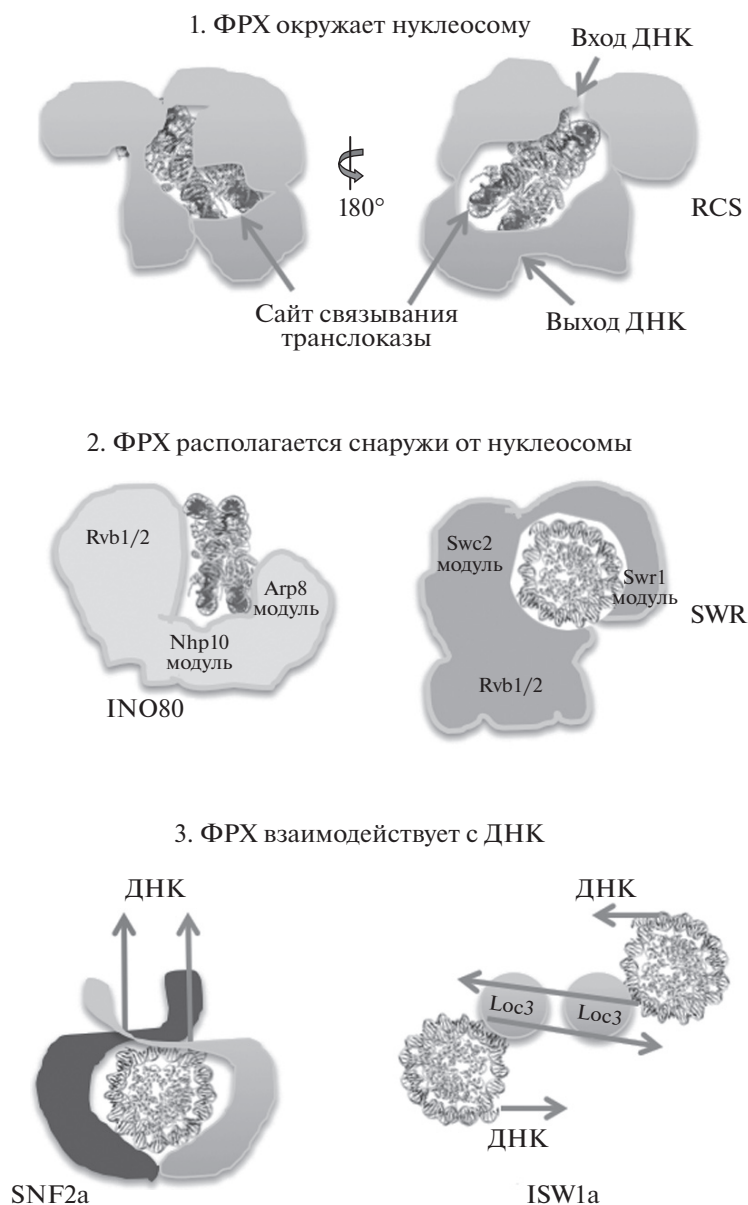
**2. Локализация ФРХ снаружи от нуклеосомы: гипотеза “вытеснения гистонов”.** Предложенный механизм взаимодействия ФРХ семейства SWR/INO80 с нуклеосомой при обмене гистоновых инвариантов отличается от уже описанного механизма функционирования SWI/SNF. При обмене гистонов [47, 48] “резидентный” димер H2A/H2B вытесняется из нуклеосомы и на его место вставляется димер H2A.Z/H2B [20].

Предполагается, что у ФРХ SWR/INO80 гексамер Rvb1/Rvb2 играет роль структурной платформы для размещения модулей, взаимодействующих с различными субстратами (рис. 5). Это подтверждают результаты анализа трехмерной карты SWR1, сохраняющей свои структурные характеристики независимо от присутствия отдельных модулей [20]. Подобная структурная платформа предложена также для INO80 [49] и гистонацетильтрансферазы SAGA [50].

**3. ФРХ взаимодействует с ДНК: гипотеза “скольжения”.** Для контроля распределения нуклеосом вдоль ДНК ФРХ взаимодействуют не с кор-нуклеосомой, а с линкерными участками ДНК и/или немодифицированными участками гистонов [51]. ФРХ SNF2h [17] и ISW1a [18] участвуют в распределении нуклеосом различными способами (рис. 5).

В первом случае на одну нуклеосому приходится два мономера SNF2h, но только один из них использует энергию АТФ. Этот мономер взаимодействует с N-концом гистона H4 и с соответствующим линкерным участком ДНК. Более длинный линкерный участок ДНК стимулирует АТФазную/транслоказную активность SNF2h [52–55], приводя к формированию мостика между двумя мономерами SNF2h. Каталитическая АТФазная субъединица Swi/Snf2 разрушает ДНК-гистоновые взаимодействия [55, 56] и формирует либо суперспиральный изгиб ДНК [57], либо “бегающую петлю” [58]. В результате образуются нуклеосомы с линкерными участками ДНК одинаковой длины с обеих сторон (рис. 5).

Комплекс ISW1a связывается с линкерным участком ДНК, который в дальнейшем будет транслоцирован. Как только линкерный участок достигает нужной длины, ISW1a блокирует дальнейшую транслокацию.



**Рис. 5.** Модели взаимодействия различных ФРХ с нуклеосомой, предложенные на основе структурных исследований. 1. RSC в закрытой конформации окружает нуклеосому. 2. Нуклеосома не полностью окружена ФРХ INO80 и SWR. 3. Слева – модель образования комплекса нуклеосомы с двумя комплексами SNF2h. Справа – гипотетическая модель транслокации с помощью ISW1a.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Расшифровка механизмов функционирования ФРХ еще только начинается. Для получения структур без симметрии с разрешением лучше 6 Å требуется гораздо больше изображений одиночных частиц, чем для получения структур с симметрией. Конформационная подвижность усложняет реконструкции, так как необходимо обрабатывать еще большее количество данных, чтобы разделить структуры с различными конформациями. Эта проблема решается с использованием современных криомикроскопов с автоматизированной

сборкой данных, позволяющих получать миллионы изображений одиночных частиц за несколько часов. Кроме того, современные подходы к обработке изображений и использование суперкомпьютеров обеспечивают обработку больших объемов данных для получения трехмерных реконструкций с разрешением, близким к атомарному. Однако интерпретация различных конформаций может производиться только после подтверждения гипотез биохимическими методами.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-14-00031).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Clapier C.R., Cairns B.R. 2009. The biology of chromatin remodeling complexes. *Annu. Rev. Biochem.* **78**, 273–304.
2. Vignali M., Hassan A.H., Neely K.E., Workman J.L. 2000. ATP-dependent chromatin-remodeling complexes. *Mol. Cell. Biol.* **20**, 1899–1910.
3. Lai A.Y., Wade P.A. 2011. Cancer biology and NuRD: A multifaceted chromatin remodeling complex. *Nat. Rev. Cancer.* **11**, 588–596.
4. Conaway R.C., Conaway J.W. 2009. The INO80 chromatin remodeling complex in transcription, replication and repair. *Trends Biochem. Sci.* **34**, 71–77.
5. Yen K., Vinayachandran V., Pugh B.F. 2013. SWR-C and INO80 chromatin remodelers recognize nucleosome-free regions near +1 nucleosomes. *Cell.* **154**, 1246–1256.
6. Becker P.B., Horz W. 2002. ATP-dependent nucleosome re-modeling. *Annu. Rev. Biochem.* **71**, 247–273.
7. Saha A., Wittmeyer J., Cairns B.R. 2006. Chromatin remodelling: the industrial revolution of DNA around histones. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 437–447.
8. Gangaraju V.K., Bartholomew B. 2007. Mechanisms of ATP dependent chromatin remodeling. *Mutat. Res.* **618**, 3–17.
9. Asturias F.J., Chung W.H., Kornberg R.D., Lorch Y. 2002. Structural analysis of the RSC chromatin-remodeling complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **99**, 13477–13480.
10. Leschziner A.E., Saha A., Wittmeyer J., Zhang Y., Bustamante C., Cairns B.R., Nogales E. 2007. Conformational flexibility in the chromatin remodeler RSC observed by electron microscopy and the orthogonal tilt reconstruction method. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104**, 4913–4918.
11. Skiniotis G., Moazed D., Walz T. 2007. Acetylated histone tail peptides induce structural rearrangements in the RSC chromatin remodeling complex. *J. Biol. Chem.* **282**, 20804–20808.
12. Chaban Y., Ezeokonkwo C., Chung W.H., Zhang F., Kornberg R.D., Maier-Davis B., Lorch Y., Asturias F.J. 2008. Structure of a RSC–nucleosome complex and insights into chromatin remodeling. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **15**, 1272–1277.
13. Leschziner A.E., Lemon B., Tjian R., Nogales E. 2005. Structural studies of the human PBAF chromatin-remodeling complex. *Structure (Cab).* **13**, 267–275.
14. Smith C.L., Horowitz-Scherer R., Flanagan J.F., Woodcock C.L., Peterson C.L. 2003. Structural analysis of the yeast SWI/SNF chromatin remodeling complex. *Nat. Struct. Biol.* **10**, 141–145.
15. Dechassa M.L., Zhang B., Horowitz-Scherer R., Persinger J., Woodcock C.L., Peterson C.L., Bartholomew B. 2008. Architecture of the SWI/SNF-nucleosome complex. *Mol. Cell. Biol.* **28**(19), 6010–6021.
16. Hu M., Zhang Y.B., Qian L., Brinas R.P., Kuznetsova L., Hainfeld J.F. 2008. Three-dimensional structure of human chromatin accessibility complex hCHRAC by electron microscopy. *J. Struct. Biol.* **164**, 263–269.
17. Racki L.R., Yang J.G., Naber N., Partensky P.D., Acevedo A., Purcell T.J., Cooke R., Cheng Y., Narlikar G.J. 2009. The chromatin remodeller ACF acts as a dimeric motor to space nucleosomes. *Nature.* **462**, 1016–1021.
18. Yamada K., Frouws T.D., Angst B., Fitzgerald D.J., DeLuca C., Schimmele K., Sargent D.F., Richmond T.J. 2011. Structure and mechanism of the chromatin remodelling factor ISW1a. *Nature.* **472**, 448–453.
19. Tosi A., Haas C., Herzog F., Gilmozzi A., Berninghausen O., Ungewickell C., Gerhold C.B., Lakomek K., Aebersold R., Beckmann R., Hopfner K.-P. 2013. Structure and subunit topology of the INO80 chromatin remodeler and its nucleosome complex. *Cell.* **154**, 1207–1219.
20. Nguyen Q.V., Ranjan A., Stengel F., Wei D., Aebersold R., Wu C., Leschziner A.E. 2013. Molecular architecture of the ATP-dependent chromatin-remodeling complex SWR1. *Cell.* **154**, 1220–1231.
21. Orlova E., Saibil H. 2011. Structural analysis of macromolecular assemblies by electron microscopy. *Chem. Rev.* **111**, 7710–7748.
22. Sherman M.B., Orlova E.V., Terzyan S.S., Kleine R., Kiselev N.A. 1981. On the negative straining of the protein crystal structure. *Ultramicroscopy.* **7**(2), 131–138.
23. Luger K., Mäder A.W., Richmond R.K., Sargent D.F., Richmond T.J. 1997. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature.* **6648**, 251–260.
24. Dubochet J., Adrian M., Chang J.J., Homo J.C., Lepault J., McDowell A.W., Schultz P. 1988. Cryo-electron microscopy of vitrified specimens. *Q. Rev. Biophys.* **2**, 129–228.
25. Dobro M.J., Melanson L.A., Jensen G.J., McDowell A.W. 2010. Plunge freezing for electron cryomicroscopy. *Methods Enzymol.* **481**, 63–82.
26. Gaykalova D., Kulaeva O., Volokh O., Shaytan A., Fukai Hsieh, Kirpichnikov M., Sokolova O., Studitsky V. 2015. Structural analysis of nucleosomal barrier to transcription. [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1508371112](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1508371112).
27. Davey C.A., Sargent D.F., Luger K., Mäder A.W., Richmond T.J. 2002. Solvent mediated interactions in the structure of the nucleosome core particle at 1.9 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **319**, 1097–1113.
28. Lorch Y., Cairns B.R., Zhang M., Kornberg R.D. 1998. Activated RSC-nucleosome complex and persistently altered form of the nucleosome. *Cell.* **94**, 29–34.
29. Watanabe S., Tan D., Lakshminarasimhan M., Washburn M.P., Hong E.J., Walz T., Peterson C.L. 2015. Structural analyses of the chromatin remodelling enzymes INO80-C and SWR-C. *Nat. Commun.* **6**, 7108.
30. Gorynia S., Bandejas T.M., Pinho F.G., McVey C.E., Vonrhein C., Round A., Svergun D.I., Donner P., Matias P.M., Carrondo M.A. 2011. Structural and functional insights into a dodecameric molecular machine – the RuvBL1/RuvBL2 complex. *J. Struct. Biol.* **176**, 279–291.

31. Lopez-Perrote A., Munoz-Hernandez H., Gil D., Llorca O. 2012. Conformational transitions regulate the exposure of a DNA-binding domain in the RuvBL1-RuvBL2 complex. *Nucl. Acids Res.* **40**, 11086–11099.
32. Matias P.M., Gorynia S., Donner P., Carrondo M.A. 2006. Crystal structure of the human AAA+ protein RuvBL1. *J. Biol. Chem.* **281**, 38918–38929.
33. Puri T., Wendler P., Sigala B., Saibil H., Tsaneva I.R. 2007. Dodecameric structure and ATPase activity of the human TIP48/TIP49 complex. *J. Mol. Biol.* **366**, 179–192.
34. Torreira E., Jha S., Lopez-Blanco J.R., Arias-Palomo E., Chacon P., Canas C., Ayora S., Dutta A., Llorca O. 2008. Architecture of the pontin/reptin complex, essential in the assembly of several macromolecular complexes. *Structure.* **16**, 1511–1520.
35. Fenn S., Breitsprecher D., Gerhold C.B., Witte G., Faix J., Hopfner K.P. 2011. Structural biochemistry of nuclear actin-related proteins 4 and 8 reveals their interaction with actin. *EMBO J.* **30**, 2153–2166.
36. Gerhold C.B., Winkler D.D., Lakomek K., Seifert F.U., Fenn S., Kessler B., Witte G., Luger K., Hopfner K.P. 2012. Structure of actin-related protein 8 and its contribution to nucleosome binding. *Nucl. Acids Res.* **40**, 11036–11046.
37. Saravanan M., Wuerges J., Bose D., McCormack E.A., Cook N.J., Zhang X., Wigley D.B. 2012. Interactions between the nucleosome histone core and Arp8 in the INO80 chromatin remodeling complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **109**, 20883–20888.
38. Flemming D., Thierbach K., Stelter P., Boettcher B., Hurt E. 2010. Precise mapping of subunits in multiprotein complexes by a versatile electron microscopy label. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **17**, 775–778.
39. Herzog F., Kahraman A., Boehringer D., Mak R., Bracher A., Walzthoeni T., Leitner A., Beck M., Hartl F.U., Ban N., Malmstrom L., Aebersold R. 2012. Structural probing of a protein phosphatase 2A network by chemical cross-linking and mass spectrometry. *Science.* **337**, 1348–1352.
40. Leschziner A.E. 2011. Electron microscopy studies of nucleosome remodelers. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **6**, 709–718.
41. Flaus A., Owen-Hughes T. 2001. Mechanisms for ATP-dependent chromatin remodelling. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **11**, 148–154.
42. Narlikar G.J., Fan H.Y., Kingston R.E. 2002. Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription. *Cell.* **108**, 475–487.
43. Lorch Y., Davis B., Kornberg R.D. 2005. Chromatin remodeling by DNA bending, not twisting. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**, 1329–1332.
44. Zofall M., Persinger J., Kassabov S.R., Bartholomew B. 2006. Chromatin remodeling by ISW2 and SWI/SNF requires DNA translocation inside the nucleosome. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **13**, 339–346.
45. Lia, G., Praly, E., Ferreira, H., Stockdale, C., Tse-Dinh, Y. C., Dunlap, D., Croquette V., Bensimon D., Owen-Hughes T. 2006. Direct observation of DNA distortion by the RSC complex. *Mol. Cell.* **21**, 417–425.
46. Tanga L., Nogales E., Ciferri C. 2010. Structure and function of SWI/SNF chromatin remodeling complexes and mechanistic implications for transcription. *Progr. Biophys. Mol. Biol.* **102**, 122–128.
47. Luk E., Ranjan A., Fitzgerald P.C., Mizuguchi G., Huang Y., Wei D., Wu C. 2010. Stepwise histone replacement by SWR1 requires dual activation with histone H2A.Z and canonical nucleosome. *Cell.* **143**, 725–736.
48. Mizuguchi G., Shen X., Landry J., Wu W.-H., Sen S., Wu C. 2004. ATP-driven exchange of histone H2AZ variant catalyzed by SWR1 chromatin remodeling complex. *Science.* **303**, 343–348.
49. Kapoor P., Chen M., Winkler D.D., Luger K., Shen X. 2013. Evidence for monomeric actin function in INO80 chromatin remodeling. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **20**, 426–432.
50. Chittuluru J.R., Chaban Y., Monnet-Saksouk J., Carrozza M.J., Sapountzi V., Selleck W., Huang J., Utley R.T., Cramet M., Allard S., Cai G., Workman J.L., Fried M.G., Tan S., Côté J., Asturias F.J. 2011. Structure and nucleosome interaction of the yeast NuA4 and Piccolo-NuA4 histone acetyltransferase complexes. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **18**, 1196–1203.
51. Boyer L.A., Latek R.R., Peterson C.L. 2004. The SANT domain: a unique histone-tail-binding module? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **5**, 158–163.
52. Stockdale C., Flaus A., Ferreira H., Owen-Hughes T. 2006. Analysis of nucleosome repositioning by yeast ISWI and Chd1 chromatin remodeling complexes. *J. Biol. Chem.* **281**, 16279–16288.
53. Whitehouse I., Stockdale C., Flaus A., Szczelkun M.D., Owen-Hughes T. 2003. Evidence for DNA translocation by the ISWI chromatin-remodeling enzyme. *Mol. Cell. Biol.* **23**, 1935–1945.
54. Yang J.G., Madrid T.S., Sevastopoulos E., Narlikar G.J. 2006. The chromatin-remodeling enzyme ACF is an ATP-dependent DNA length sensor that regulates nucleosome spacing. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **13**, 1078–1083.
55. Zofall M., Persinger J., Kassabov S.R., Bartholomew B. 2006. Chromatin remodeling by ISW2 and SWI/SNF requires DNA translocation inside the nucleosome. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **13**, 339–346.
56. Schwanbeck R., Xiao H., Wu C. 2004. Spatial contacts and nucleosome step movements induced by the NURF chromatin remodeling complex. *J. Biol. Chem.* **279**, 39933–39941.
57. Havas K., Flaus A., Phelan M., Kingston R., Wade P.A., Lilley D.M., Owen-Hughes T., 2000. Generation of super-helical torsion by ATP-dependent chromatin remodeling activities. *Cell.* **103**, 1133–1142.
58. Langst G., Becker P.B. 2001. ISWI induces nucleosome sliding on nicked DNA. *Mol. Cell.* **8**, 1085–1092.

## Structural Studies of Chromatin Remodelling Factors

O. I. Volokh<sup>1</sup>, N. I. Derkacheva<sup>2</sup>, V. M. Studitsky<sup>1,3</sup>, O. S. Sokolova<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>*Biological Faculty, Moscow State University, Moscow, 119234 Russia*

<sup>2</sup>*Evdokimov MSMSU, Biochemistry Department, Moscow, 127473 Russia*

<sup>3</sup>*Fox Chase Cancer Center, 19111, Philadelphia, PA, USA*

*\*e-mail: sokolova184@gmail.com*

Changes of chromatin structure require participation of protein complexes – factors remodelling chromatin (FRC). FRC are ATP-dependent multisubunit complexes, which can modify nucleosome structure without covalent modifications of its components. FRC act together with other protein factors to regulate chromatin compactness. Currently four FRC families are distinguished based on their structural and biochemical characteristics: SWI/SNF, ISWI, Mi-2/CHD and SWR/INO80. X-ray diffraction analysis and electron microscopy are the main methods to obtain structural information about macromolecules. Due to size, complexity and heterogeneity of FRC, X-ray diffraction analysis is complicated and transmission electron microscopy (TEM) has become the main method of structural evaluation of FRC. In this review all currently known structures of FRC and their complexes with nucleosomes obtained by TEM are discussed.

**Keywords:** chromatin remodelling factors, transmission electron microscopy, chromatin, transcription nucleosome