

## АНАЛИЗ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ЛИНКЕРНЫХ БЕЛКОВ ХРОМАТИНА НМGB1, Н1 И ИХ КОМПЛЕКСОВ

© 2023 г. Е.В. Чихиржина\*, А.М. Поляничко\*, \*\*, #

\*Институт цитологии РАН, Тихорецкий просп., 4, Санкт-Петербург, 194064, Россия

\*\*Санкт-Петербургский государственный университет,  
Университетская наб., 7–9, Санкт-Петербург, 199034, Россия

#E-mail: a.polyanichko@spbu.ru

Поступила в редакцию 30.03.2023 г.

После доработки 20.04.2023 г.

Принята к публикации 03.05.2023 г.

Негистоновый хромосомный белок НМGB1 и гистон Н1 представляют собой линкерные белки хроматина. Функции линкерных белков тесно связаны с их конформационным состоянием. В настоящее время активно изучается строение белков, играющих ключевую роль в формировании высших уровней структурной организации хроматина. В данной работе проведен сравнительный анализ вторичной структуры линкерного гистона Н1 и негистонового белка НМGB1. Методами кругового дихроизма в УФ-области и ИК-Фурье-спектроскопии показано, что положительно заряженный гистон Н1 связывается с С-концевым фрагментом НМGB1, стабилизируя образующийся комплекс и индуцируя формирование дополнительных  $\alpha$ -спиральных участков в обоих белках.

*Ключевые слова:* линкерный гистон Н1, негистоновый хромосомный белок НМGB1, ИК-Фурье-спектроскопия, круговой дихроизм.

DOI: 10.31857/S0006302923050071, EDN: PHSQYC

ДНК в ядре эукариотической клетки входит в состав сложного ДНК-белкового комплекса, способного обеспечивать не только его функционирование, но и при необходимости высокую степень компактизации [1–6]. ДНК-связывающие белки в ядре клетки можно условно разделить на две большие группы – гистоновые и негистоновые белки хроматина. К первым относятся коровые гистоны (Н2А, Н2В, Н3 и Н4), составляющие белковую частицу, вокруг которой закручена двойная спираль ДНК, и линкерный гистон Н1, взаимодействующий с ДНК на межнуклеосомных (линкерных) участках [3, 4, 6]. Среди остальных (т. е. негистоновых) белков хроматина наиболее многочисленны представители обширной группы белков с высокой электрофоретической подвижностью (High Mobility Group, или НМG), некоторые из которых, так называемые белки НМGB, также функционируют в межнуклеосомных областях хроматина [5, 7–9]. Эти белки активно участвуют не только в регуляции структуры хроматина, но и принимают непосредственное участие во многих клеточных процессах, таких

как транскрипция, репарация, рекомбинация и др. [5, 7, 10].

Гистон Н1 состоит из центрального глобулярного домена и двух неупорядоченных участков на обоих концах полипептидной цепи [4, 11, 12]. Связывание гистона Н1 с ДНК происходит по большой бороздке за счет глобулярного домена белка [4, 6]. Основными структурными элементами белка НМGB1 являются два структурно консервативных НМGB-домена, соединенных коротким линкером, и неупорядоченный отрицательно заряженный С-концевой участок, состоящий из непрерывной последовательности остатков глутаминовой и аспарагиновой аминокислот [5, 7, 9]. Белок НМGB1 взаимодействует с ДНК по малой бороздке посредством двух НМGB-доменов, индуцируя заметный (до 130°) изгиб двойной спирали в направлении большой бороздки [7]. При этом неупорядоченный С-концевой участок НМGB1 выступает в качестве модулятора межмолекулярных взаимодействий [5, 9]. Связываясь с ДНК по разным бороздкам, Н1 и НМGB1 не только изменяют структуру ДНК сходным образом, но и способны узнавать и предпочтительно взаимодействовать с участками

*Сокращения:* КД – круговой дихроизм, ИК – инфракрасный.

ДНК, обладающими различными структурными нарушениями [3, 13, 14].

Функции линкерных белков тесно связаны с их конформационным состоянием [9, 15–17]. В настоящее время активно изучается строение белков, играющих ключевую роль в формировании высших (наднуклеосомных) уровней структурной организации хроматина. Наиболее распространенным методом первичного исследования структуры биополимеров является метод кругового дихроизма (КД) в ультрафиолетовом диапазоне [18–26]. Этот метод позволяет оценивать основные параметры вторичной структуры белков и нуклеиновых кислот, однако имеет ограниченную применимость для изучения вторичной структуры белков в составе надмолекулярных комплексов. По этой причине за последнее время вырос интерес к анализу колебательных спектров биомолекул. В частности, анализ спектров инфракрасного (ИК) поглощения позволяет получить более точную и обширную информацию о вторичной структуре белковой молекулы [27–29] по сравнению с традиционными методами кругового дихроизма в ультрафиолетовом диапазоне.

В данной работе проведен сравнительный анализ вторичной структуры линкерного гистона Н1 и негистонового белка НМGB1 с помощью КД-спектроскопии в ультрафиолетовой области спектра и ИК-Фурье-спектроскопии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ядерные белки НМGB1 (мол. масса 26500 Да) и Н1 (мол. масса 21000 Да) выделяли из тимуса теллят экстракцией 5%-й хлорной кислотой с последующим осаждением 5.5 объемами подкисленного ацетона при  $-20^{\circ}\text{C}$  в соответствии с ранее описанной методикой [30]. Чистоту белков проверяли методом электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия [31]. КД-спектры белков регистрировали на дихрографе Mark V (Jobin Yvon, Франция) в цилиндрических кварцевых кюветах с длиной оптического пути 0.5 см в диапазоне длин волн 200–260 нм. Степень  $\alpha$ -спиральности оценивали с использованием сервера K2D3 [32], а также по величине молярной эллиптичности при 222 нм  $[\theta_{222}]$  [33], используя соотношение:

$$\alpha(\%) = \frac{[\theta_{222}] + 3000}{39000}.$$

Для измерения ИК-спектров готовили водные растворы белков и их комплексов в присутствии 15 мМ NaCl, которые затем подвергали лиофилизации. Таблетированные образцы готовили при помощи ручного пресса согласно описанной ра-

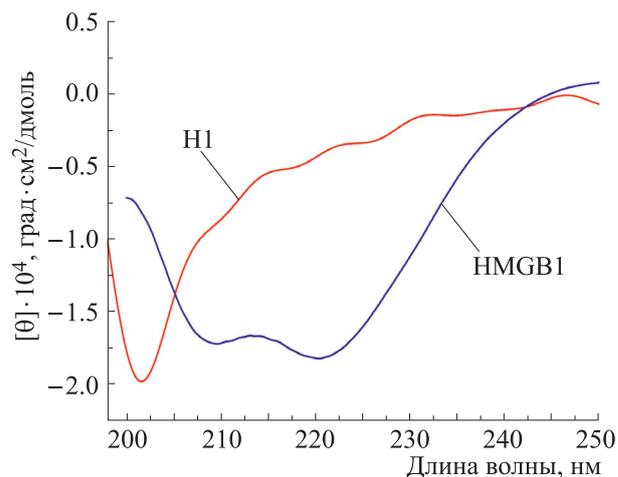


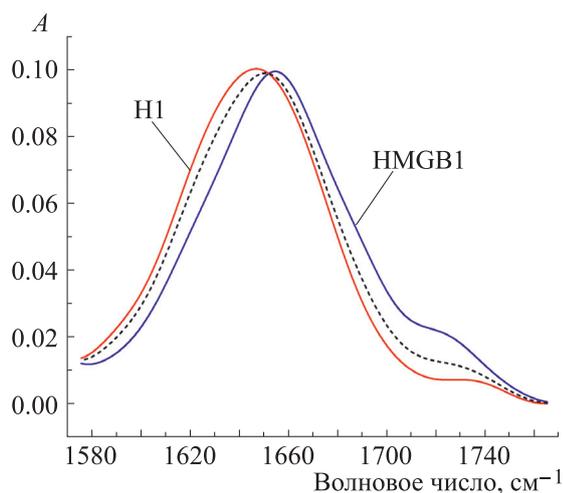
Рис. 1. КД-спектры негистонового белка НМGB1 и линкерного гистона Н1.

нее методике [34]. Полученные образцы исследовали в таблетках KBr на ИК-Фурье-спектрометре Nicolet 6700 (Thermo Scientific, США), снабженном низкошумящим МСТ (HgCdTe) детектором. Регистрацию спектров проводили с разрешением  $2\text{ см}^{-1}$  и усредняли по 128 накоплениям. Первичную обработку и анализ спектров проводили с помощью программного обеспечения, поставляемого с прибором.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для анализа вторичной структуры линкерного гистона Н1 и негистонового белка НМGB1 мы использовали метод кругового дихроизма в ультрафиолетовом диапазоне. Характерные КД-спектры белков представлены на рис. 1. В спектре гистона Н1 доминирует отрицательная полоса с минимумом в окрестности 200 нм. Такая форма спектра характерна для полипептидных цепей с преимущественно неупорядоченной структурой. Количественная оценка степени  $\alpha$ -спиральности дает для гистона Н1 величину порядка 15%. КД-спектр белка НМGB1 имеет характерный для  $\alpha$ -спиральной структуры профиль с двумя минимумами при 209 и 222 нм. Количественный анализ этого спектра позволяет получить оценку доли  $\alpha$ -спиральных участков в белковой молекуле около 55%.

Несмотря на то, что линкерный гистон Н1 и негистоновый белок НМGB1 изучаются на протяжении многих лет, до сих пор нет исчерпывающих данных об их пространственной структуре, полученных прямыми методами, такими как рентгеноструктурный анализ или метод ядерного магнитного резонанса. На сегодняшний день ре-



**Рис. 2.** Спектры ИК-поглощения негистонового белка HMGB1 и линкерного гистона H1 в области полосы «Амид I», полученные в таблетках KBr. Прерывистой линией представлен спектр эквимолярной «смеси» H1/HMGB1, полученный как сумма экспериментальных спектров отдельных белков, приведенных к соответствующей концентрации.

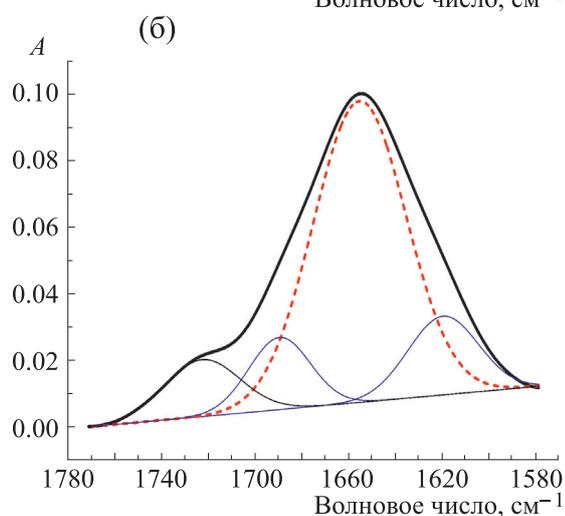
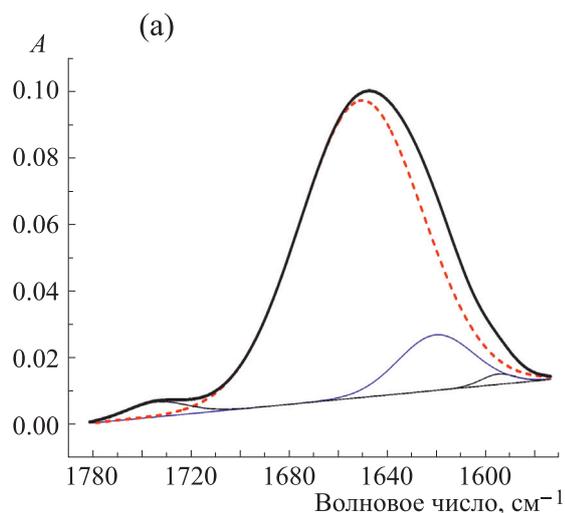
шены лишь структуры отдельных изолированных HMGB-доменов некоторых белков семейства HMGB [11, 12, 35] и глобулярного домена гистона H1. Не так давно для этих белков были получены предсказания пространственной структуры на основе численного эксперимента при помощи алгоритма AlphaFold [36–39].

Полученные результаты хорошо согласуются с опубликованными ранее экспериментальными данными. Анализ предсказанной структуры дает следующие оценки для основных параметров вторичной структуры белков. Полипептидная цепь линкерного гистона H1 содержит около 20%  $\alpha$ -спиральных участков и порядка 80% участков в неупорядоченной конформации. У негистонового белка HMGB1 в состав  $\alpha$ -спиралей входят от 55% до 65% аминокислотных остатков. Разброс в 10% связан с тем, что  $\alpha$ -спиральность на уровне 55% обусловлена консервативной структурой HMGB-доменов в составе белка и подтверждена экспериментально. Кроме того, численный эксперимент предсказал возможность формирования ещё 10%  $\alpha$ -спиралей в отрицательно заряженном C-концевом фрагменте белка. Несмотря на то, что прямые структурные данные, подтверждающие такую возможность, в настоящее время отсутствуют, этот результат согласуется с анализом ранее проведенных спектроскопических исследований [40].

Особенностью белков HMGB1 и H1 является наличие большого числа заряженных аминокислотных остатков. Однако в физиологических условиях заряды этих белков противоположны по знаку. В составе HMGB1 преобладают отрицательно заряженные группы, преимущественно за счет дикарбоновых аминокислот C-концевого фрагмента, тогда как гистон H1, богатый остатками лизина и аргинина, заряжен положительно. Обладая противоположными зарядами, эти белки способны образовывать достаточно устойчивый комплекс, и в физиологических условиях проявляют склонность к агрегации, что приводит к значительному рассеянию света в образце [28, 30, 41, 42]. Последнее обстоятельство не позволяет получить КД-спектры, пригодные для анализа вторичной структуры таких систем [27, 41]. По этой причине для изучения структуры этих белков в составе комплекса мы использовали метод ИК-спектроскопии.

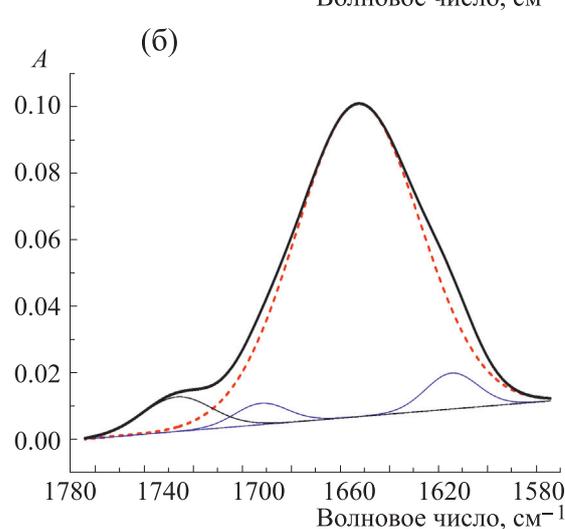
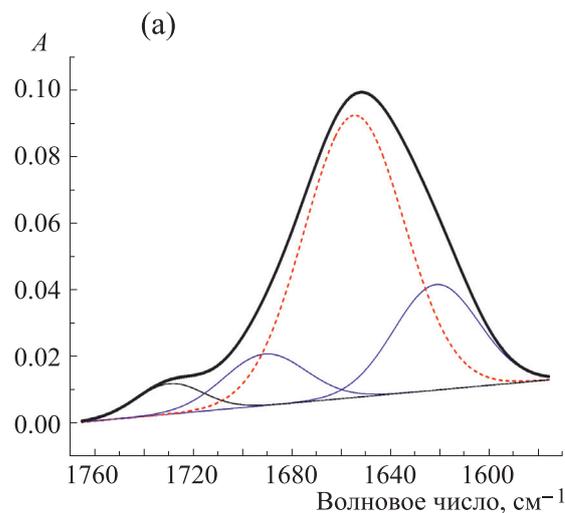
Пептиды и белки содержат в своей структуре многочисленные амидные группы, колебания которых отчетливо проявляются в их ИК спектрах. Характерные частоты этих колебаний находятся вблизи 1650, 1540 и 1240  $\text{см}^{-1}$ , а соответствующие им полосы в ИК-спектре обычно называются полосами «Амид I», «Амид II» и «Амид III» соответственно. Данные спектральные полосы обусловлены преимущественно валентными колебаниями связей C=O, N-H, C-N и деформационными колебаниями группы CNH в составе пептидной группы [43]. Для определения параметров вторичной структуры белков по спектрам ИК поглощения мы анализировали полосу «Амид I» (1700–1600  $\text{см}^{-1}$ ), представляющую собой суперпозицию колебаний, соответствующих разным конформациям полипептидных цепей (рис. 2). Эти колебания дают информацию об  $\alpha$ -спиральных,  $\beta$ -структурах различного типа и неупорядоченных участках белка. Отнесение полос поглощения в ИК спектре белков различным типам вторичной структуры было описано ранее (см обзор [44] и ссылки в нем).

Для разложения полосы «Амид I» на составляющие анализировали спектр второй производной, согласно описанной ранее методике [45,46]. Долю каждого типа вторичной структуры оценивали как площадь под соответствующим контуром, отнесенную к общей площади полосы «Амид I». Этот подход успешно применялся ранее для определения вторичной структуры различных белков [44–48]. В данной работе мы провели анализ вторичной структуры линкерного гистона H1 и негистонового белка HMGB1.



**Рис. 3.** Разложение полосы «Амид I» линкерного гистона Н1 (а) и негистонного хромосомного белка НМGB1 (б) методом второй производной. Прерывистой линией представлены доминирующие в разложениях полосы с максимумом: (а) при  $1650\text{ см}^{-1}$ , соответствует неупорядоченной структуре полипептидной цепи; (б) при  $1654\text{ см}^{-1}$ , соответствует  $\alpha$ -спиральной структуре полипептидной цепи.

Результаты разложения полосы «Амид I» в спектрах белков представлены на рис. 3. Анализ полученных результатов показывает, что в составе полосы «Амид I» спектра гистона Н1 можно выделить несколько составляющих, причем основной вклад (около 85%) приходится на полосу с максимумом в окрестности  $1650\text{ см}^{-1}$ , соответствующую неупорядоченной структуре полипептидной цепи. Аналогичное разложение полосы «Амид I» в спектре НМGB1 демонстрирует, что основной вклад (около 65%) приходится на составляющую с максимумом в окрестности  $1655\text{ см}^{-1}$ , соответствующую  $\alpha$ -спиральным участкам. Полученные результаты находятся в разумном согласии как с ре-



**Рис. 4.** Разложение полосы «Амид I» методом второй производной для спектра эквимольной «смеси» Н1/НМGB1, полученного как сумма экспериментальных спектров отдельных белков, приведенных к соответствующей концентрации (а); спектра комплекса линкерного гистона Н1 и негистонного хромосомного белка НМGB1 (б). Прерывистой линией представлена доминирующая в разложениях полоса с максимумом при  $1654\text{ см}^{-1}$ , соответствующая  $\alpha$ -спиральной структуре полипептидной цепи.

зультатами анализа КД-спектров, так и с теоретически предсказанными структурами.

Анализ вторичной структуры белков в составе комплекса Н1-НМGB1 даст ответ на вопрос, сопровождается ли формирование белкового комплекса изменением структуры белков. Опираясь на полученные выше данные КД- и ИК-спектроскопии, можно ожидать, что если формирование комплекса Н1-НМGB1 не приводит к изменениям вторичной структуры белков, то общее содержание  $\alpha$ -спиральных участков в комплексе составит порядка 60%. На рис. 2 представлен спектр

«смеси» H1/HMGB1, полученный как сумма экспериментальных спектров отдельных белков, приведенных к соответствующей концентрации. Анализ полосы «Амид I» этого спектра (рис. 4а) показал, что в разложении доминирует полоса с максимумом в окрестности  $1654 \text{ см}^{-1}$ , соответствующая  $\alpha$ -спиральным элементам. Количественная оценка  $\alpha$ -спиральности «смеси» белков дает величину 62%, близкую к ожидаемой. Для анализа изменений вторичной структуры белков, вызванных их взаимодействием, мы проанализировали ИК спектр их комплекса (рис. 4б). Количественный анализ разложения полосы «Амид I» дает оценку степени  $\alpha$ -спиральности в комплексе на уровне 85%. Данный результат показывает, что взаимодействие белков HMGB1 и H1 сопровождается изменением вторичной структуры, как минимум одного из белков.

Опираясь на результаты предсказания структуры HMGB1 [38], можно предположить, что увеличение доли  $\alpha$ -спиральных участков в составе этого белка возможно за счет структуризации С-концевой последовательности дикарбоновых аминокислот. Обладая отрицательным зарядом, данная последовательность принимает активное участие в межмолекулярных взаимодействиях, в том числе с другими белками, за счет взаимодействия с их положительно заряженными группами [5, 7, 9, 35]. Такой механизм, вероятнее всего, реализуется и при взаимодействии с линкерным гистоном H1, богатым остатками лизина и аргинина, несущими положительный заряд [4, 49, 50]. Однако увеличение доли  $\alpha$ -спиральных участков в эквимольном комплексе более чем на 20% по сравнению с исходным уровнем не может объясняться только лишь изменениями в структуре HMGB1, так как соответствует увеличению  $\alpha$ -спиральности белка HMGB1 до уровня, превышающего 100%. Вместе с тем, согласно ранее опубликованным данным, для гистона H1 при некоторых межмолекулярных взаимодействиях также характерно формирование новых  $\alpha$ -спиральных участков [4, 19]. Поэтому при взаимодействии между гистоном H1 и негистоновым белком HMGB1, скорее всего, наблюдается изменение в структуре обоих белков.

Таким образом, опираясь на полученные результаты, мы предполагаем, что положительно заряженный гистон H1 связывается с С-концевым фрагментом HMGB1, стабилизируя образующийся комплекс и индуцируя формирование дополнительных  $\alpha$ -спиральных участков в обоих белках. Следует отметить, что, хотя реальный процент состава вторичной структуры в растворе, скорее всего, отличается от цифр, определенных в сухом состоянии, тем не менее наблюдаемое

увеличение  $\alpha$ -спиральности отражает изменения вторичной структуры белков происходящих при формировании комплексов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ вторичной структуры ядерных белков линкерного гистона H1 и негистонового белка HMGB1 с использованием двух различных подходов (КД- и ИК-спектроскопии) дает хорошо согласующиеся между собой результаты. Взаимодействие белков HMGB1 и H1 очень быстро приводит к образованию в растворе достаточно крупных рассеивающих комплексов, что затрудняет анализ КД-спектров в ультрафиолетовой области. Вместе, даже такие относительно крупные белковые комплексы не рассеивают свет в инфракрасной области спектра, что позволяет анализировать вторичную структуру белков в комплексе по их спектрам ИК поглощения.

На основании анализа данных ИК-спектроскопии мы предположили, что первичное образование комплекса происходит за счет электростатического взаимодействия между отрицательно заряженным С-концевым участком HMGB1 и положительно заряженными группами гистона H1. Последующее изменение вторичной структуры белков в комплексе приводит к образованию дополнительных  $\alpha$ -спиральных участков в обоих белках. Мы полагаем, что полученные данные будут полезны при изучении структурных перестроек в хроматине на наднуклеосомном уровне. В частности, механизмы взаимодействия белков на межнуклеосомном участке хроматина, подобные тем, что были описаны в данной работе, могут оказаться существенными также в процессах эпигенетического регулирования степени компактизации хроматина. На сегодняшний день остается открытым вопрос и о взаимодействии определенных вариантов гистона H1 с белком HMGB1, и о том, какое влияние эти взаимодействия могут оказывать на структуру и конкретные функции генома. Кроме того, знание механизма взаимодействия гистона H1 и белка HMGB1 необходимо для понимания механизмов их взаимодействия с другими молекулами-партнерами при формировании сложных функционально-значимых комплексов в хроматине.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием оборудования Научного парка СПбГУ (ресурсные центры «Оптические и лазерные методы исследования вещества», «Центр диагностики функциональных материалов для медицины фармакологии и наноэлектроники», «Криогенный отдел»).

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- C. L. Woodcock and R. P. Ghosh, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2**, a000296 (2010).
- K. Luger, M. L. Dechassa, and D. J. Tremethick, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **13**, 436 (2012).
- A. E. White, A. R. Hieb, and K. Luger, *Sci. Rep.*, **6**, 19122 (2016).
- Е. В. Чихиржина, Т. Ю. Старкова и А. М. Поляничко, *Биофизика*, **63**, 1070 (2018).
- E. V. Chikhirzhina, T. Y. Starkova, A. Beljajev, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 7948 (2020).
- Е. В. Чихиржина, Т. Ю. Старкова и А. М. Поляничко, *Биофизика*, **65**, 237 (2020).
- R. Reeves, *DNA Repair*, **36**, 122 (2015).
- Е. В. Чихиржина, А. М. Поляничко и Т. Ю. Старкова, *Цитология*, **62**, 716 (2020).
- E. V. Chikhirzhina, T. Yu. Starkova, and A. M. Polyanychko, *Biophysics*, **66**, 373 (2021).
- A. Raucci, S. Di Maggio, F. Scavello, et al., *Cell Mol. Life Sci.*, **76**, 211 (2019).
- V. Ramakrishnan, J. T. Fich, V. Graziano, et al., *Nature*, **362**, 219 (1993).
- C. Cerf, G. Lippens, V. Ramakrishnan, et al., *Biochemistry*, **33**, 11079 (1994).
- Y. V. Postnikov and M. Bustin, *Biochim. Biophys. Acta*, **1859**, 462 (2016).
- F. Totsingan and A. J. Jr. Bell, *Prot. Sci.*, **22**, 1552 (2013).
- Е. В. Чихиржина, Е. И. Костылева, А. М. Поляничко и В. И. Воробьев, *Цитология*, **40**, 883 (1998).
- M. Watson, K. Stott, and J. O. Thomas, *Mol. Biol.*, **374**, 1286 (2007).
- K. Stott, M. Watson, F. S. Howe, et al., *J. Mol. Biol.*, **403**, 706 (2010).
- J. Zlatanova and J. Yaneva, *DNA Cell Biol.*, **10**, 239 (1991).
- Е. И. Рамм, Е. В. Чихиржина, Е. И. Костылева и В. И. Воробьев, *Биохимия*, **59**, 150 (1995).
- N. J. Greenfield, *Nature Protocols*, **1**, 2876 (2006).
- Е. В. Чихиржина, А. М. Поляничко, Е. И. Костылева и В. И. Воробьев, *Молекуляр. биология*, **45**, 356 (2011).
- A. M. Polyanychko, V. V. Andrushchenko, P. Bour, et al., In *Circular Dichroism: Theory and Spectroscopy*, ed. by D. S. Rodgers (Nova Science Publishers, N.-Y., 2012), pp. 67–126.
- A. Micsonai, F. Wien, L. Kerna, and J. Kardos, *Biophys. Comput. Biol.*, **112**, E3095 (2015).
- Е. В. Чихиржина, Е. И. Костылева, В. И. Воробьев и А. М. Поляничко, *Цитология*, **60**, 923 (2018).
- Y. Izumi, K. Matsuo, K. Fujii, et al., *J. Radiat. Res.*, **59**, 108 (2018).
- A. J. Miles, R. W. Janes, and B. A. Wallace, *Chem. Soc. Rev.*, **50**, 8400 (2021).
- A. Polyanychko and H. Wieser, *Biopolymers*, **78**, 329 (2005).
- A. Polyanychko and E. Chikhirzhina, *J. Mol. Struct.*, **1044**, 167 (2013).
- А. М. Поляничко, В. И. Воробьев и Е. В. Чихиржина, *Молекуляр. биология*, **47**, 338 (2013).
- Е. В. Чихиржина, А. М. Поляничко, А. Н. Скворцов и др., *Молекуляр. биология*, **36**, 525 (2002).
- U. K. Laemmli, *Nature*, **227**, 680 (1970).
- A. Louis-Jeune, M. A. Andrade-Navarro, and C. Perez-Iratxeta, *Proteins*, **80**, 374 (2012).
- J. A. Morrow, M. L. Segall, S. Lund-Katz et al., *Biochemistry*, **39** (38), 11657 (2000).
- Е. Е. Тымченко, А. А. Солдатова, Е. В. Чихиржина и А. М. Поляничко, *Биофизика*, **67**, 22 (2022).
- A. M. Read, P. D. Cary, C. Crane-Robinson, et al., *Nucl. Acids Res.*, **21**, 3427 (1993).
- J. Jumper, R. Evans, A. Pritzel, et al., *Nature*, **596**, 583 (2021).
- M. Varadi, S. Anyango, M. Deshpande, et al., *Nucl. Acids Res.*, **50** (D1), D439 (2022).
- <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P10103>.
- <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q0I1J2>.
- Т. Ю. Родионова, Е. В. Чихиржина, В. И. Воробьев и А. М. Поляничко, *Журн. структур. химии*, **50**, 1009 (2009).
- M. Polyanychko, E. V. Chikhirzhina, A. N. Skvortsov, et al., *J. Biomolec. Struct. Dyn.*, **19**, 1053 (2002).
- L. A. Kohlstaedt and R. D. Cole, *Biochemistry*, **3**, 570 (1994).
- S. Kint and Y. A. Tomimatsu, *Biopolymers*, **18**, 1073 (1979).
- A. Barth, *Biochim. Biophys. Acta*, **1767**, 1073 (2007).
- А. М. Поляничко, Н. М. Романов, Т. Ю. Старкова и др., *Цитология*, **56**, 316 (2014).
- Е. А. Тельная, Л. В. Плотникова, А. Д. Гарифуллин и др., *Биофизика*, **65**, 1154 (2020).
- Л. В. Плотникова, А. М. Поляничко, М. В. Успенская и др., *Вестн. Санкт-Петербургского ун-та*, **4**, 34 (2017).
- Л. В. Плотникова, М. О. Кобелева, Е. В. Борисов и др., *Цитология*, **60**, 1037 (2018).
- J. Allan, T. Mitchell, and N. Harborne, *J. Mol. Biol.*, **187**, 591 (1986).
- R. Vila, I. Ponte, M. Collado, et al., *J. Biol. Chem.*, **276**, 46429 (2001).
- Е. И. Рамм, Е. В. Чихиржина, Е. И. Костылева и В. И. Воробьев, *Биохимия*, **59**, 150 (1995).

## **Analysis of the Secondary Structure of Chromatin Linker Proteins HMGB1, H1 and Their Complexes**

**E.V. Chikhirzhina\* and A.M. Polyanichko\*, \*\***

*\*Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, Tikhoretsky prosp. 4, Saint-Petersburg, 194064 Russia*

*\*\*St Petersburg State University, Universitetskaya nab. 7–9, Saint-Petersburg, 199034 Russia*

The nonhistone chromosomal protein HMGB1 and histone H1 are chromatin linker proteins. The functions of linker proteins are closely related to their conformational state. Currently, the structure of proteins that play a key role in the formation of higher levels of chromatin structural organization is being actively studied. In this work, a comparative analysis of the secondary structure of the linker histone H1 and the nonhistone protein HMGB1 was carried out. By using UV-circular dichroism and FTIR spectroscopy it was shown that the positively charged histone H1 binds to the C-terminal fragment of HMGB1, stabilizing the resulting complex and inducing the formation of additional  $\alpha$ -helical regions in both proteins.

*Keywords: linker histone H1, nonhistone chromosomal protein HMGB1, FTIR spectroscopy, circular dichroism*