

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**

TOPOLOGIJA NUKLEOSOMA U KROMATINSKOJ STRUKTURI

TOPOLOGY OF NUCLEOSOMES IN CHROMATIN STRUCTURE

SEMINARSKI RAD

Frano Vučković  
Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)  
Mentor: prof. dr. sc. Višnja Besendorfer

Zagreb, 2009.

# Sadržaj

1. Uvod .....	2
2. Općenito o strukturi kromosoma .....	3
3. Modeli kromatinskih (30 nm) niti .....	6
3.1. Solenoidni model .....	8
3.2. Model zavijene vrpce .....	10
3.3. Dvopočetni ukriženi model .....	12
3.4. Nesekvencijski jednopočetni model .....	14
4. Literatura .....	16
5. Sažetak .....	18
6. Summary .....	18

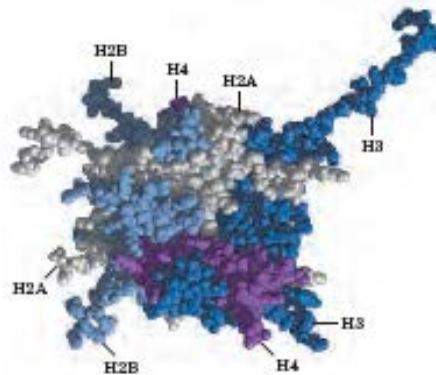
# 1. Uvod

U svih eukariotskih stanica, njihov genetski material, tj. molekule DNA, su u pravilu mnogo duže nego što je promjer jezgre u kojoj se nalaze. Da bi mogle stati u jezgru, molekule DNA moraju se u stanici nalaziti u kompaktnom obliku, kromosomu. Sam kromosom građen je od molekule DNA i proteina, tj. kromatina. Unutar kromatina nukleinska kiselina vezana je na bazične proteine, histone, koji svojim pozitivnim nabojem neutraliziraju negativan naboj nukleinskih kiselina, smanjujući time elektrostatska odbijanja što u konačnici rezultira gustim slaganjem nukleinske kiseline, tj. kompaktnijim oblikom. Pojedinačni kromosomi vidljivi su samo u svojem najkondenziranijem obliku, za vrijeme mitoze, dok u ostatku ciklusa, interfazi, puno su manje kondenzirani. Tijekom interfaze samo mali dio cjelokupnog kromatina nalazi se u stupnju kondenziranosti usporedivim sa onim u mitozu kojeg nazivamo heterokromatinom, dok je većina kromatina izrazito slabo kondenzirana. Takav kromatin nazivamo eukromatinom, i samo DNA unutar njega može biti aktivna, tj. može biti transkribirana.

DNA unutar kromatina pakirana je na više strukturalnih razina. Prvu razinu predstavlja nukleosom koji svojom strukturom omogućava transkripciju, nakon vlastitog remodeliranja. Druga strukturalna razina, kromatinska nit (30 nm), predstavlja transkripcijski inaktivan kromatin. I dok se danas o strukturi nukleosoma praktično sve zna, o kromatinskoj niti ali i o višim razinama strukture kromatina, iako su predmet istraživanja već trideset godina, još se uvijek malo toga zna. Razumjevanje viših strukturalnih organizacija kromatina, te procesa kojima nastaju, izrazito je bitno da bi mogli shvatiti regulaciju procesa kao što su rekombinacija i popravak, te regulaciju transkripcije i replikacije koja ima važnu ulogu kod diferencijacije stanica.

## 2. Općenito o strukturi kromosoma

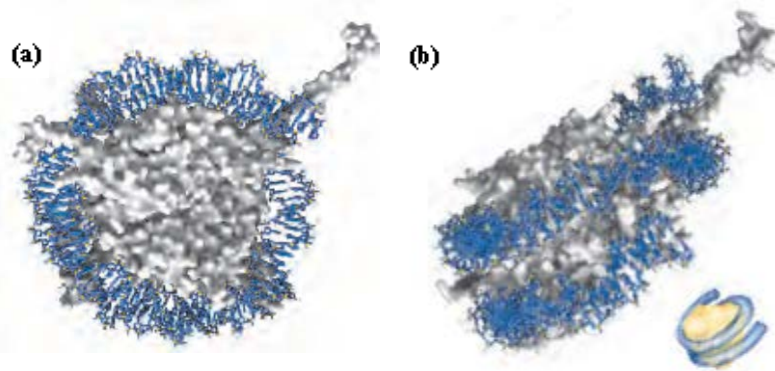
Iako su eukariotski kromosomi strukturno veoma kompleksni, i što se međusobno veoma razlikuju u građi, veličini i obliku, svi oni su na određenoj razini strukture jednostavni i na isti način građeni. Prvu razinu strukture i osnovnu strukturnu jedinicu kromosomskog materijala, tj. kromatina, predstavlja nukleosom, koji je karakterističan za sve eukariote. To je tvorba nalik disku, promjera 11 nm i visine 6 nm, koja sadrži oko 200 parova baza DNA, omotanih i organiziranih oko proteinske jezgre, koju grade po dvije kopije od četiri histonska proteina, H2A, H2B, H3 i H4, te H1 (koji se ne nalazi u proteinskoj jezgri). Osam histona složeno je u jedan  $(H3)_2(H4)_2$  tetramer te u dva H2A-H2B dimera koji zajedno čine oktamer (sl.1). Tetramer u svih eukariota ima istu funkciju stabilizacije čitave strukture, na što upućuje i izrazito konzervirana aminonkiselinska sekvenca histona H3 i H4. Za histone karakterističan je aminoterminalni rep koji strši iz same jezgre nukleosoma. Ti repovi sadrže bazične aminokiseline arginin i lizin čijim se kovalentnim modifikacijama moduliraju svojstva nukleosoma što igra bitnu ulogu u svim aktivnostima DNA (Kornberg 1977).



**Slika 1.** Prikaz strukture proteinske jezgre nukleosoma, histonskog oktamera, gdje je svaki histon prikazan drugom bojom. (Nelson i Cox 2008)

Sama nukleosomalana DNA može se podijeliti na DNA srži i poveznčku DNA. Njezina veličina nije ista za sve eukariote, te se za većinu organizama kreće od 180 bp do

200 bp, iako postoje i ekstremni slučajevi od 150 bp pa sve do 260 bp. Ona nije ista ni za sve stanice jednog organizma, jer u odraslom organizmu, svaka vrsta tkiva, to jest svaki tip stanice ima drugačiju vrijednost. Od ukupne nukleosomalne DNA, 146 bp optada na DNA srži koja je vezana i omotana oko histonskog oktamera, i njezina je veličina ista za sve eukariote, tj. ne ovisi o ukupnoj veličini nukleosomalne DNA (sl.2). DNA srži vezana je na način da stvara lijevu solenoidnu superzavonicu koja se omata oko histonskog oktamera 1,65 puta, pri čemu struktura same DNA varira unutar srži nukleosoma, od 10,7 bp/zavoju u sredini strukture, pa do 10 bp/zavoju na krajevima strukture. Preostalu nukleosomalnu DNA predstavlja povezujuća DNA, koja nije vezana za sam oktamer nego se nalazi između dvije nukleosomalne srži, međusobno ih povezujući. Za razliku od DNA srži, veličina povezujuće DNA nije jedinstvena, nego varira od 8 bp do 114 bp po nukleosomu. Ona nije “slobodna” izvan nukleosomalne srži, nego je vezana za histon H1, čija je funkcija vezana uz stabilizaciju viših kromatinskih struktura.



**Slika 2.** Prikaz, (a) odozgor (b) i sa strane, strukture nukleosoma oko kojeg je omotano 146 bp DNA. Vezujući se na proteinsku srž nukleosoma, DNA stvara lijevu solenoidnu superzavojnicu koja se omata oko srži 1,8 puta. (Nelson i Cox 2008)

Iako se nukleosom može formirati neovisno o sekvenci DNA, u živim organizmima nukleosom se uvijek nalazi na istim pozicijama, a na njegovu formaciju utječu dva faktora. Prvi faktor je sama sekvenca DNA, tj. njezina mogućnost da se dva puta zavije oko histonskog oktamera, što zahtijeva kompresiju malih utora DNA zavojnice koji su okrenuti prema oktameru. Iz razloga što A-T bogate sekvence lagano komprimiraju svoje male utore, nukleosomi će se u pravilu formirati na segmentima DNA koji sadrže kratke i isprekidane A-T sekvence. Drugi faktor koji utječe na poziciju nukleosoma je prisutnost

nehistonskih proteina koji su također vezani na DNA, sprečavajući nastanak nukleosoma na pozicijama na kojima se nalaze, te na taj način ograničavajući nastajanje nukleosoma na preostalim pozicijama. Nehistonski proteini su izrazito bitni za jednolično pozicioniranje nukleosoma, jer u njihovom odsustvu nukleosomi će biti formirani, ali nepravilno, sa različitim veličinama poveznice DNA, što bi uzrokovalo nemogućnost organizacije kromatinskih struktura višeg reda (McGhee 1983, Lewin 2008).

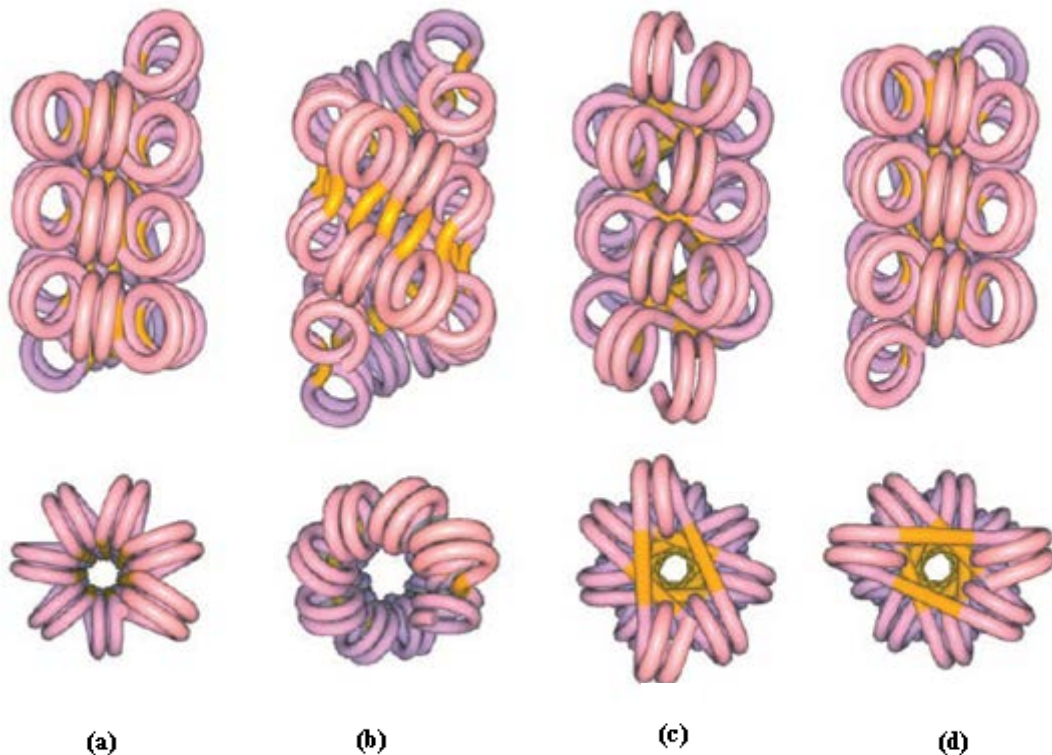


**Slika 3. Pakiranje DNA u eukariotskih kromosoma.** Model prikazuje nekoliko razina strukturne organizacije nukleosoma koji objašnjavaju pojavu kondenzacije DNA u kromosomu. (Nelson i Cox 2008)

Namatanje DNA oko nukleosoma stvara 7 puta kompaktniju strukturu od ravne DNA, no konačna struktura kromosoma je 10 000 puta kompaktnija od ravne DNA, što dovodi do zaključka da između postoji još nekoliko razina strukturne organizacije (sl.3). Drugu razinu strukture predstavlja kromatinske niti debljine 30 nm, koja stvara 100 puta kompaktniju strukturu, za čiju je organizaciju potreban histon H1. Ova struktura karakteristična je samo za one regije DNA koje nisu aktivne, tj. koje se ne transkribiraju, dok se transkribirajuće regije nalaze u manje organiziranim strukturama, bez prisustva histona H1. Kromatinske niti daljnjim zavijanjem stvaraju petlje koje sadrže oko 75 000 bp. Takve petlje u pravilu sadrže grupu gena, sa povezanim funkcijama, koji se zajedno transkribiraju. Petlje zavijajući u lijevu solenoidnu superzavojnici stvaraju rozete, koje sadrže po 6 petlji, a rozete dalje stvaraju lijevu solenoidnu superzavojnici. Više razine kromatinske strukture vjerojatno se razlikuju od regije do regije, od kromosoma do kromosoma, i od vrste do vrste, te ne postoji jedinstveni model koji bi opisao sve strukture, no princip je kod svih eukariota isti, a obuhvaća stvaranje superzavoja, koji onda tvore druge superzavoje, i tako sve do formiranja samog kromosoma (Nelson i Cox 2008).

### 3. Modeli kromatinskih (30 nm) niti

Točna struktura kromatinske niti nije u potpunosti poznata. Na temelju brojnih istraživanja i dobivenih rezultata (često međusobno oprečnih), u zadnjih trideset godina nastali su brojni modeli koji pokušavaju objasniti njezinu strukturu. Svi modeli prihvaćaju pretpostavku da nukleosomi unutar kromatinskih niti stvaraju lijevu zavojnicu, da se unutar jednog zavoja nalazi oko sedam nukleosoma te da je za strukturu potreban histon H1, ali se razlikuju s obzirom na put poveznice DNA, te ih dijelimo na solenoidni model, model zavijene vrpce, dvopočetni ukriženi model te nesekvencijski jednopočetni model (sl. 4).



**Slika 4. Modeli kromatinske (30 nm) niti.** Prikazi modela sa strane i odozgor, (a) solenoidalni model, (b) model zavijene vrpce, (c) dvopočetni ukriženi model i (d) nesekvencijski jednopočetni model. (Dorigo i sur. 2004)

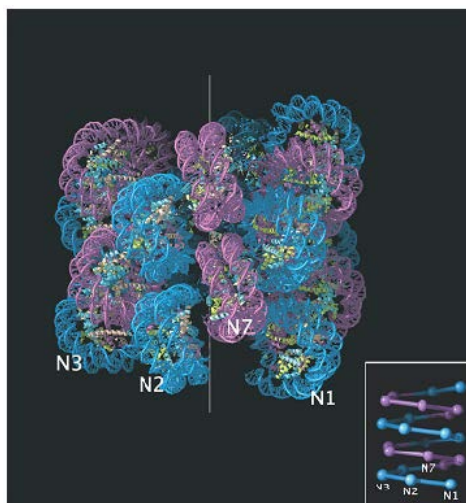
Solenoidni model pretpostavlja da se dva nukleosoma koja se na molekuli DNA nalaze jedan uz drugog, također nalaze jedan uz drugog unutar lijeve zavojnice, pri čemu je vezujuća DNA gusto pakirana između dva nukleosoma. Model zavijene vrpce pretpostavlja da 30 nm-nit nastaje omatanjem zigzag forme oko površine nalik cilindru gdje se unutar zavojnice formiraju dva reda nukleosoma, pri čemu je vezujuća DNA relaksirana (ravna) i paralelna sa osi zavojnice. Dvopočetni ukriženi model pretpostavlja da lijeva zavojnica nastaje zavijanjem zigzag forme oko svoje osi simetrije pri čemu se formiraju dva reda nukleosoma, gdje su nukleosomi koji su na molekuli DNA jedan uz drugog unutar zavojnice jedan nasuprot drugog (nesekvencijski), a vezujuća DNA presjeca srž 30 nm-niti, te je okomita na os zavojnice. Nesekvencijski jednopočetni model pretpostavlja nesekvencijski raspored nukleosoma i vezujuću DNA okomitu u odnosu na os zavojnice kao i ukriženi model, pri čemu u ovom modelu zavojnica ne nastaje iz zigzag forme te ne stvara dva niza nukleosoma nego samo jedan (Williams i sur. 1986).

Svi navedeni modeli se odnose na put koji radi veznička DNA no današnjom tehnologijom i metodama taj se put ne može točno odrediti, te se kod istraživanja 30 nm-niti mjere neke druge karakteristike koje su direktno povezane sa putom vezničke DNA, a to su ovisnost promjera niti o veličini vezničke DNA, interakcije među nukleosomima, položaj histona H1, gustoća niti tj. omjer mase po jedinici dužine te digestija kromatina nukleazama. Nijedan od ovih modela se ne uklapa, tj. nije kompatibilan sa svim rezultatima no isto tako nijedno mjerenje nije u potpunosti isključilo bilo koji od ova četiri modela (Staynov i sur. 2007).



### 3.1. Solenoidni model

Solenoidni model (sl.5) ujedno je i prvi model koji je objašnjavao strukturu 30 nm-niti, a postavili su ga Finch i Klug (1976), kojeg su temeljili na postojanju 11 nm nukleofilamenta. Nukleofilament predstavlja kontinuirani niz nukleosoma koji nastaje pri niskoj ionskoj jakosti i u odsustvu histona H1, odmotavanjem lijeve solenoidne zavojnice za koju su pretpostavili da se u stanici nalazi u obliku 30 nm-niti koju je Davies (1974) pronašao u kondenziranim interfaznim kromosomima. To su dokazali na način da kada bi u sustavu sa 30 nm-niti smanjivali ionsku jakost i odstranjivali histon H1, iz niti bi nastajao nukleofilament debljine 11 nm, a u obrnutom procesu iz 11 nm-nukleofilamenta nastala bi 30 nm-nit. Također difrakcijom x-zraka nad 30 nm-niti dobili su difrakcijski maksimum za vrijednost od 110 nm koju su protumačili da odgovara visini jednog perioda zavojnice, tj. udaljenosti dva zavoja, nukleofilamenta unutar zavojnice, što u ovom modelu odgovara promjeru nukleofilamenta. Broj nukleosoma po zavoju odredili su pregledavanjem 30 nm-niti pod elektronskim mikroskopom, gdje je broj varirao od 4 pa do 10 nukleosoma po zavoju, ali se uglavnom kretao oko 6 i 7 nukleosoma. Također su pretpostavili da je zavojnica jednapočetna, tj. da je građena od samo jednog nukleofilamenta iz razloga što su elektronskomikroskopskim proučavanjem primijetili i zaključili da je kut nagiba zavoja unutar zavojnice premalen da bi u zavojnicu na taj način stala dva nukleofilamenta (Fintch i sur. 1976).

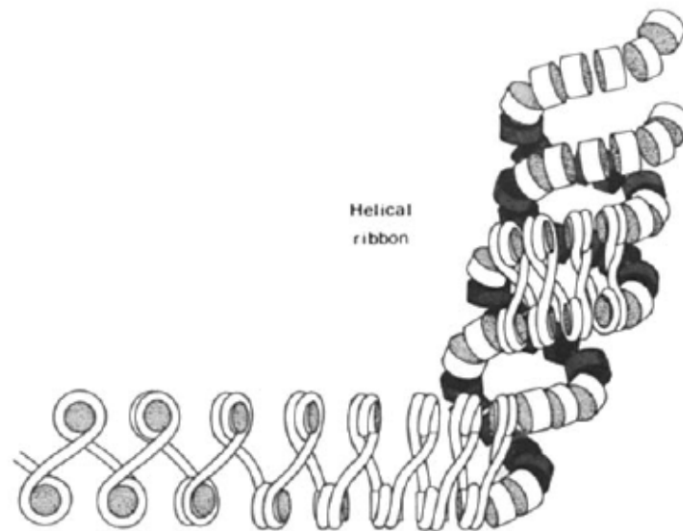


**Slika 5. Solenoidni model.** Naizmjenični zavoji zavojnice označeni su različitim bojama. U kutu se nalazi shematski prikaz koji prikazuje put DNA u modelu. (Robinson i sur. 2006)

Model su proširili McGhee i sur. (1983) koji su pretpostavili da se veznička DNA nalazi zapakirana između dva nukleosoma pri čemu bi unutrašnjost 30 nm-niti trebala biti ispunjena otapalom (prazna), interakcije među nukleosomima trebale bi biti neočuvane (nekonzervirane) odnosno ovisiti o duljini vezničke DNA te bi broj nukleosoma po zavoju trebao biti nejednolik (gustoća niti nije konstantna) tj. ovisio bi o duljini vezničke DNA. Ovakav “klasični” solenoidni model modificirao je Butler (1984) koji je pretpostavio da se veznička DNA nalazi unutar srži 30 nm-niti te je u tom slučaju promjer niti neovisan o duljini vezničke DNA, gustoća niti konstantna te nukleosomske interakcije konzervirane (Williams i sur. 1986).

### 3.2. Model zavijene vrpce

Model zavijene vrpce postavili su Worcel i sur. (1981) i Woodcock i sur. (1984), potaknuti postojanjem tzv. zigzag forme. To je forma u kojoj struktura kromosom-veznička DNA-kromosom stvara zigzag uzorak pri čemu nastaje struktura nalik traci koja se sastoji od dva paralelna niza nukleosoma povezanih relaksiranom (ravnom) vezničkom DNA. Eksperimentalno može nastati prilikom tranzicije 11 nm nukleofilamenta u 30 nm-nit i obrnuto, pri čemu zigzag forma predstavlja prijelazni oblik između ove dvije strukture, pri niskoj ionskoj jakosti. Takva ravna traka, tj. zigzag forma, jednostavnim zavijanjem oko površine nalik valjku stvara “dvolančanu” zavojnicu, tj. 30 nm-nit sa dva niza nukleosoma gdje vezniča DNA “preskače” (po zigzag uzorku) s jednog niza nukleosoma na drugi u smjeru paralelno sa osi zavojnice (sl.6). Dokaz su našli u elektronskomikroskopskim snimkama u kojima zigzag forma glatko prelazi u 30 nm-nit, što sugerira da nema dodatnih promjena u strukturi, tj. u interakciji nukleosoma. U ovom modelu promjer zavojnice ne bi ovisio o duljini vezničke DNA, jer bi smjer produljenja vezničke DNA bio okomit na smjer širenja zavojnice, dok bi gustoća zavojnice, tj. omjer mase i duljine zavojnice bio proporcionalan sa duljinom vezničke DNA.

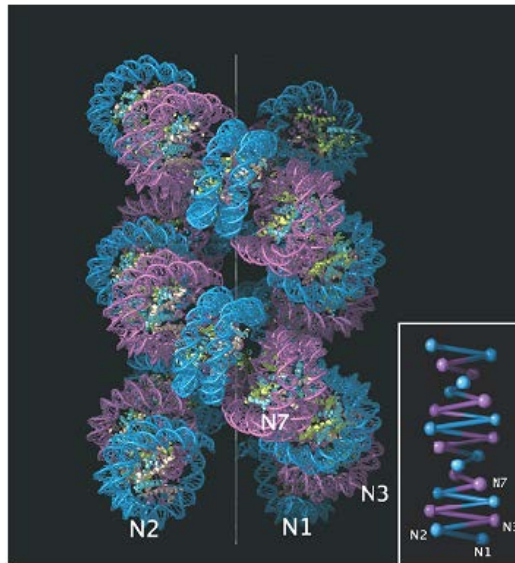


**Slika 6. Model zavijene vrpce.** Prikaz namatanja niza nukleosoma iz zigzag forme u formu zavijene vrpce. (Woodcock i sur. 1984)

Worcelov i Woodcockov model se međusobno donekle razlikuju u putu vezničke DNA, gdje u Worcelovom modelu nukleosomalna DNA radi oko 1,5 zavoja oko proteinske srži sa  $L=1$  (vezni broj), dok kod Woodcocka DNA radi puna dva kruga oko proteinske srži sa  $L=2$  po nukleosomu. Histon H1 u ovom modelu nalazi se uvijek na istom mjestu vezan na proteinsku srž na ulazu i izlazu nukleosomalne DNA iz kromatosoma (proteini srži + DNA srži), neovisno o duljini vezničke DNA, a nalazi se negdje između unutrašnjosti i površine 30 nm-niti. U konačnici za ovaj model karakterističan je period zavojnice od 22 nm (koji može biti i veći, ovisno o duljini vezničke DNA) što je i logično zato jer u ovom modelu imamo dva niza nukleosoma a ne jedan te je ovaj period duplo veći nego period u modelu s jednim nizom nukleosoma (solenoidni model, per. 11 nm), zatim konzervirane interakcije među nukleosomima, te dinukleosom kao asimetrična funkcionalna jedinica zavojnice, što potvrđuje i digestija 30 nm niti DNazom I, koja stvara fragmente veličine dvaju nukleosoma (Woodcock i sur. 1984).

### 3.3. Dvopočetni ukriženi model

Dvopočetni ukriženi model postavili su Williams i sur. (1986) u kojem je 30 nm-nit građena od “trake” nukleosoma, koju stvara zigzag forma. Takva traka, da bi stvorila 30 nm-nit, mora se zavijati oko svoje osi simetrije pri čemu nastaje dvolančana lijeva zavojnica, tj. zavojnica sa dva niza nukleosoma (sl.7). U takvom modelu veznička DNA nalazi se u unutrašnjosti 30 nm-niti, relaksirana i ravna, pri čemu prelazi sa jedne strane zavojnice na drugu, sa jednog niza nukleosoma na drugi, te se u ovom modelu dva susjedna nukleosoma uvijek nalaze u različitim nizovima.



**Slika 7. Dvopočetni ukriženi model.** Naizmjenični parovi nukleosoma označeni su različitim bojama. U kutu se nalazi shematski prikaz koji prikazuje put DNA u modelu. (Robinson i sur. 2006)

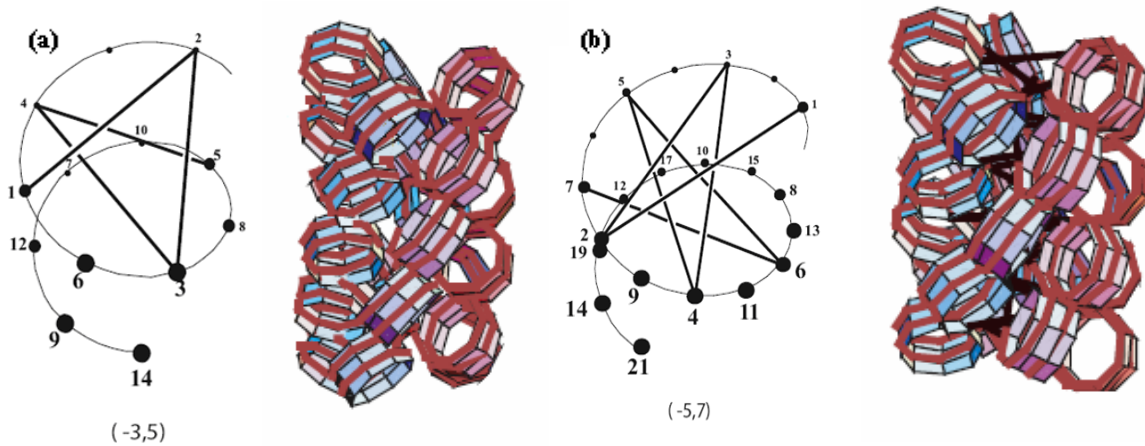
Zbog pretpostavljenog većeg nagiba pojedinačnog zavoja, unutar zavojnice, u odnosu na model zavijene vrpce, udaljenost između dva niza nukleosoma po ovom modelu je 13 nm, odnosno period zavojnice je 26 nm. S obzirom da je smjer vezničke DNA okomit na os zavojnice, povećanjem vezničke DNA trebalo bi doći do porasta promjera same zavojnice. Da bi dokazali ovisnost promjera o veličini vezničke DNA izolirali su kromatin iz nekoliko različitih organizama, sa različitom veličinom vezničke DNA, te su difrakcijom x zraka te elektronskom mikroskopijom određivali promjer 30 nm-niti u različitim uzorcima. Dobiveni rezultati pokazivali su linearnu ovisnost

promjera niti i vezničke DNA. Model također pretpostavlja da su interakcije među nukleosomima konzervirane, što bi za posljedicu imalo ovisnost linearne gustoće 30 nm niti o promjeru niti, tj. o duljini vezničke DNA. To su dokazali mjerenjem linearne gustoće 30 nm-niti dvaju uzoraka, sa različitim duljinama vezničke DNA gdje je 30 nm nit sa većom vezničkom DNA imala veću linearnu gustoću. Priroda interakcija oktamera i histona H1, tj. pozicija histona H1 unutar 30 nm-niti po ovom modelu nije točno određena, ali se pretpostavlja da se orijentacija i pozicija histona H1 mijenja ovisno o promjeru same 30 nm-niti. Williams i sur. (1986) također smatraju da se rezultati digestije kromatina DNazom I poklapaju s njihovim modelom pri čemu je osnovna građevna jedinica 30 nm-niti asimetrična i sastoji se od samo jednog nukleosoma (Williams i sur. 1986).

### 3.4. Nesekvencijski jednopočetni model

Nesekvencijski jednopočetni model postavio je Staynov (1983), po kojem susjedni nuklesomi unutar 30 nm-niti nisu poredani sekvencijski, nego se nalaze jedan nasuprot drugome povezani transverznom vezničkom DNA (prelazi sa jedne strane 30 nm-niti na drugu) pri čemu, za razliku od dvopočetnog ukriženog modela, stvaraju samo jedan niz nukleosoma. Model smatra da je struktura 30 nm niti konstanta unutar svih viših eukariota, tj. da promjer nije niti proporcionalan veličini vezničke DNA, oslanjajući se na rezultate dobivene kristalizacijom nukleosoma unutar niti, niti rezultatu nukleazne digestije, te rezultatu mjerenja promjera niti u ovisnosti o veličini vezničke DNA. Kristalografski rezultati ukazuju da je 30 nm-nit izrazito kompaktna struktura, gdje postoje izrazito bliski i jaki nukleosom-nukleosom kontakti, što upućuje na to da se interakcije među njima ne bi trebale lako mijenjati (pa tako i struktura niti), tj. da dva susjedna nukleosoma uvijek imaju točno definiranu orijentaciju u međusobnim odnosima (tj. struktura, pa tako i promjer niti se ne mijenja sa promjenom veličine vezničke DNA). Rezultati nukleazne digestije (stvaranje dinuklesoma) ukazuju, po ovom modelu, da u odnosu na os simetrije 30 nm niti svi nuklesomi nemaju istu orijentaciju nego da alteriraju, tj. da svaki parni nukleosom ima jednu a svaki neparni drugu orijentaciju, čime eliminira sve ostale modele (naravno, ako je pretpostavka točna) po kojima svi nuklesomi imaju istu orijentaciju (Staynov i Proykova 2008). Glavni dokaz za neovisnost strukture o veličini vezničke DNA predstavljaju mjerenja promjera niti u ovisnosti o vezničkoj DNA, gdje je DNA diskretno povećavana od 177 do 237 bp, za iznos od 10 bp. Rezultati toga rada pokazali su da ne postoji linearna ovisnost između promjera niti i vezničke DNA, ali da postoje dvije različite strukture niti, prva koja je karakteristična za vezničku DNA od 177 do 207 sa promjerom niti od 33 nm, i druga koja je karakteristična za vezničku DNA od 217 do 237 sa promjerom od 44 nm (Robinson i sur. 2006). Da bi se objasnili svi navedeni rezultati uvedena su dva različita nesekvencijska jednopočetna modela, gdje svaki model objašnjava po jednu dobivenu strukturu. Prvi model sa (-3,5) rasporedom nukleosoma objašnjava 33 nm-nit, tj. vrijedi za kratke vezničke DNA, a pretpostavlja da su nuklesomi u niti raspoređeni na način da se drugi nukleosom (drugi u nizu na

molekuli DNA) nalazi u zavojnici tri mjesta ispred prvog nukleosoma, a treći nukleosom se nalazi pet mjesta iza drugog nukleosoma (sl.8,a). Drugi model sa  $(-5,7)$  rasporedom nukleosoma objašnjava 44 nm-nit, vrijedi za veće duljine vezničke DNA, a pretpostavlja da su nukleosomi u niti raspoređeni na način da se drugi nukleosom nalazi 5 mjesta ispred prvog nukleosoma, a treći nukleosom sedam mjesta iza drugog nukleosoma (sl.8,b).



**Slika 8. Nesekvencijski jednopčetni model.** Shematski prikaz puta niza nukleosoma u zavojnici, te prikaz modela u slučaju (a)  $(-3,5)$  rasporeda nukleosoma i (b)  $(-5,7)$  rasporeda nukleosoma. (Staynov i sur.2007)

Ovi modeli dobro odgovaraju eksperimentalnim podacima iz razloga što se vrijednosti dobivene teorijskim proračunima relativno dobro poklapaju sa rezultatima eksperimenta, tj. matematički dobivene vrijednosti za promjer niti su jako slične sa promjerima niti dobivenih eksperimentalno. Ovaj model se ne orijentira na termodinamiku ovakve strukture, tj. na energetska povoljnost nastanka 30 nm-niti, niti na rješavanje precizne strukture 30 nm-niti, nego pokušava naći topološki moguću strukturu, tj. realan raspored nukleosoma u prostoru koji bi mogao postojati bez obzira na veličinu vezničke DNA (Staynov i Proykova 2008).



## 4. Literatura

- Butler, P.J.G. (1984). A defined structure of the 30 nm chromatin fibre which accommodates different nucleosomal repeat lengths. *Eur. Mol. Biol. Org.* 3, 2599-2604.
- Davies, H.G. (1968). Electron-microscope observations on the organization of heterochromatin in certain cells. *J. Cell Sci.* 3, 129-150.
- Dorigo, B., Schalch, T., Kulangara, A., Duda, S., Schroeder, R. R., Richmond, T. J. (2004). Nucleosome arrays reveal the two-start organization of the chromatin fiber. *Science* 306, 1571- 1573.
- Finch, J. T., Klug, A. (1976). Solenoidal model for superstructure in chromatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73, 1897- 1901.
- Kornberg, R. D. (1977). Structure of chromatin. *Annu. Rev. Biochem.* 46, 931-954.
- Lewin, B. (2008): Genes IX. Jones and Barlet Publishers, 40 Tall Pine Drive, Sudbury, MA 10776, str. 771.
- McGhee, J. D., Felsenfeld, G. (1980). Nucleosome structure. *Annu. Rev. Biochem.* 49, 1115-1156.
- Mcghee, J.D., Nickol, J.M., Felsenfeld, G., Rao, D.C. (1983). Higher order structure of chromatin: orientation of nucleosomes within the 30 nm chromatin solenoid is independent of species and spacer length. *Cell.* 33,831-841.
- Nelson, D. L., Cox, M. M. (2008): Lehninger Principles of Biochemistry, 5th Edition. W.H. Freeman and Company, 41 Madison Avenue, new York, NY10010, str. 969.
- Robinson, P. J. J., Fairall, L., Huynh, V. A. T., Rhodes, D. (2006). EM measurements define the dimensions of the “30-nm” chromatin fiber: Evidence for a compact, interdigitated structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 6506- 6511.
- Staynov, D.Z.. (1983). Possible nucleosome arrangements in the higherorder structure of chromatin. *Int. J. Biol. Macromol.* 5, 3-10.
- Staynov, D. Z., Proykova, Y. G. (2008). Topological constraints on the possible structures of the 30 nm chromatin fibre, *Chromosoma* 117, 67-76.

- Williams, S. P., Athey, B. D., Muglia, L. J., Schappe, R. S., Gough, A. H., Langmore, J. P. (1986). Chromatin fibers are left-handed double helices with diameter and mass per unit length that depend on linker length. *Biophys. J.* 49, 238-248.
- Woodcock, C. L. F., Frado, L.-L. Y., Rattner, J. B. (1984). The higher-order structure of chromatin: evidence for a helical ribbon arrangement. *The Journal of Cell Biology* 99, 42-45.
- Worcel, A., Strogatz, S., Riley, D. (1981). Structure of chromatin and the linking number of DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 1461-1465.

## 5. Sažetak

DNA u eukariotskih kromosoma organizirana je u nukleosome, strukture građene od proteina i DNA, koje predstavljaju osnovnu građevnu i funkcionalnu jedinicu kromosomskog materijala, kromatina. Smatanjem niza nukleosoma nastaje viša razina strukture, kromatinska nit debljine 30 nm. I dok se o strukturi nukleosoma danas praktički sve zna, o 30 nm-niti ali i o višim razinama strukture kromatina još se uvijek malo zna.

U ovom radu izloženi su modeli koji pokušavaju objasniti strukturu kromatinske niti: solenoidni model, model zavijene vrpce, dvopočetni ukriženi model te nesekvencijski jednopočetni model, sa razlikom u putu koji prelazi DNA između dva nukleosoma. Razumijevanje strukture 30 nm-niti od izuzetne je važnosti za shvaćanje regulacije procesa transkripcije, rekombinacije, DNA popravka te replikacije.

## 6. Summary

DNA in eukaryotic chromosomes is organized in the nucleosomes, structures which contain proteins and DNA, and which represent elementary structural and functional unit of chromosomal material, chromatin. Arrays of nucleosomes are folded into higher order structure, 30 nm chromatin fiber. Although the structure of nucleosome is known in smallest detail, only a few facts are known about 30 nm fibre and higher chromatin structures.

In this work, I exposed models for structure of 30 nm chromatin fibers: solenoid, twisted-ribbon, two-started crossed-linker and one-started nonsequential model, with difference in the path of DNA between two nucleosomes. Uncovering of 30 nm fibre structure is crucial for understanding the regulation of processes such as transcription, recombination, DNA repair and replication.

