

К ВОПРОСУ О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ РЕСВЕРАТРОЛА С НУКЛЕОСОМАМИ

© 2023 г. Н.В. Малюченко*, #, Т.В. Андреева*, О.В. Гераськина*, Н.С. Герасимова*,
А.В. Любительев*, А.В. Феофанов*, В.М. Студитский*, **

*Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Ленинские горы, 1/12, Москва, 119234, Россия

**Программа эпигенетики рака, Центр исследований рака Фокс Чейз, Филадельфия,
штат Филадельфия 19111-2497, США

#E-mail: mal_nat@mail.ru

Поступила в редакцию 30.11.2022 г.

После доработки 30.11.2022 г.

Принята к публикации 07.12.2022 г.

Природный полифенол ресвератрол обладает противовоспалительными, антиоксидантными, противоопухолевыми и геропротекторными свойствами. Широкий спектр активностей ресвератрола определяется его способностью модулировать разнообразные сигнальные пути в клетке и взаимодействовать с различными молекулами-мишенями. Известно, что ресвератрол взаимодействует с ДНК, но влияние этого взаимодействия на структуру хроматина не изучено. В настоящей работе исследовано влияние ресвератрола на структуру нуклеосомы — функциональной и структурной единицы хроматина. Методами флуоресцентной микроскопии одиночных нуклеосом на основе фёрстеровского резонансного переноса энергии и анализа изменений в электрофоретической подвижности нуклеосом в полиакриламидном геле установлено, что при концентрации ~100 мкМ ресвератрол оказывает влияние на конформацию линкерных участков ДНК и ограничивает конформационную динамику ДНК вблизи границы нуклеосомы, но не вызывает значительных изменений в укладке нуклеосомной ДНК на октамере гистонов. Небольшое по сравнению с кверцетином влияние на структуру нуклеосомы предположительно определяется способом связывания ресвератрола в узкой бороздке ДНК.

Ключевые слова: ресвератрол, хроматин, нуклеосома, *spFRET*, *TIRF*.

DOI: 10.31857/S0006302923030067, **EDN:** FQONOR

Природный полифенол ресвератрол (3,5,4'-тригидроксистильбен) относится к группе производных стильбена и существует в виде *цис*- и *транс*-изомеров. Биологически активным является *транс*-изомер (рис. 1а) [1]. Ресвератрол синтезируется в виноградных, арахисовых и ягодных видах растений, включая чернику, клюкву, малину и шелковицу [2–4]. Большое количество ресвератрола накапливается в растениях в ответ на стресс, например, при воздействии ультрафиолетового излучения, озона, тяжелых металлов или после физического повреждения [2, 5, 6]. Доказана активация синтеза ресвератрола и его фунгицидное действие в ответ на атаку инфекционных агентов, в частности грибка *Botrytis cinerea* [4,5].

Сокращения: *spFRET*-микроскопия — флуоресцентная микроскопия одиночных нуклеосом на основе фёрстеровского резонансного переноса энергии, *TIRF* — флуоресценция при полном внутреннем отражении возбуждающего света.

Ресвератрол активирует врожденный защитный механизм растений и обеспечивает устойчивость к болезням. Поступая в организм человека вместе с пищей, ресвератрол потенциально может проявлять антиоксидантную, антиатеросклеротическую, антиагрегантную, противовоспалительную, антибактериальную, противовирусную, противогрибковую, геропротекторную, противоопухолевую и липолитическую активность [3, 7–13]. Множественность биологических эффектов ресвератрола определяется его способностью в микромолярном диапазоне концентраций модулировать различные клеточные сигнальные пути и взаимодействовать с функционально важными молекулами-мишенями, среди которых НАД⁺-зависимая деацетилаза (*SIRT1*), циклооксигеназы, липооксигеназы, ДНК-метилтрансферазы, факторы транскрипции (*NF-κB*), цитокины, ДНК-полимераза α, топоизомераза II, аденилатциклаза, фосфодиэстераза, аденозинмонофос-

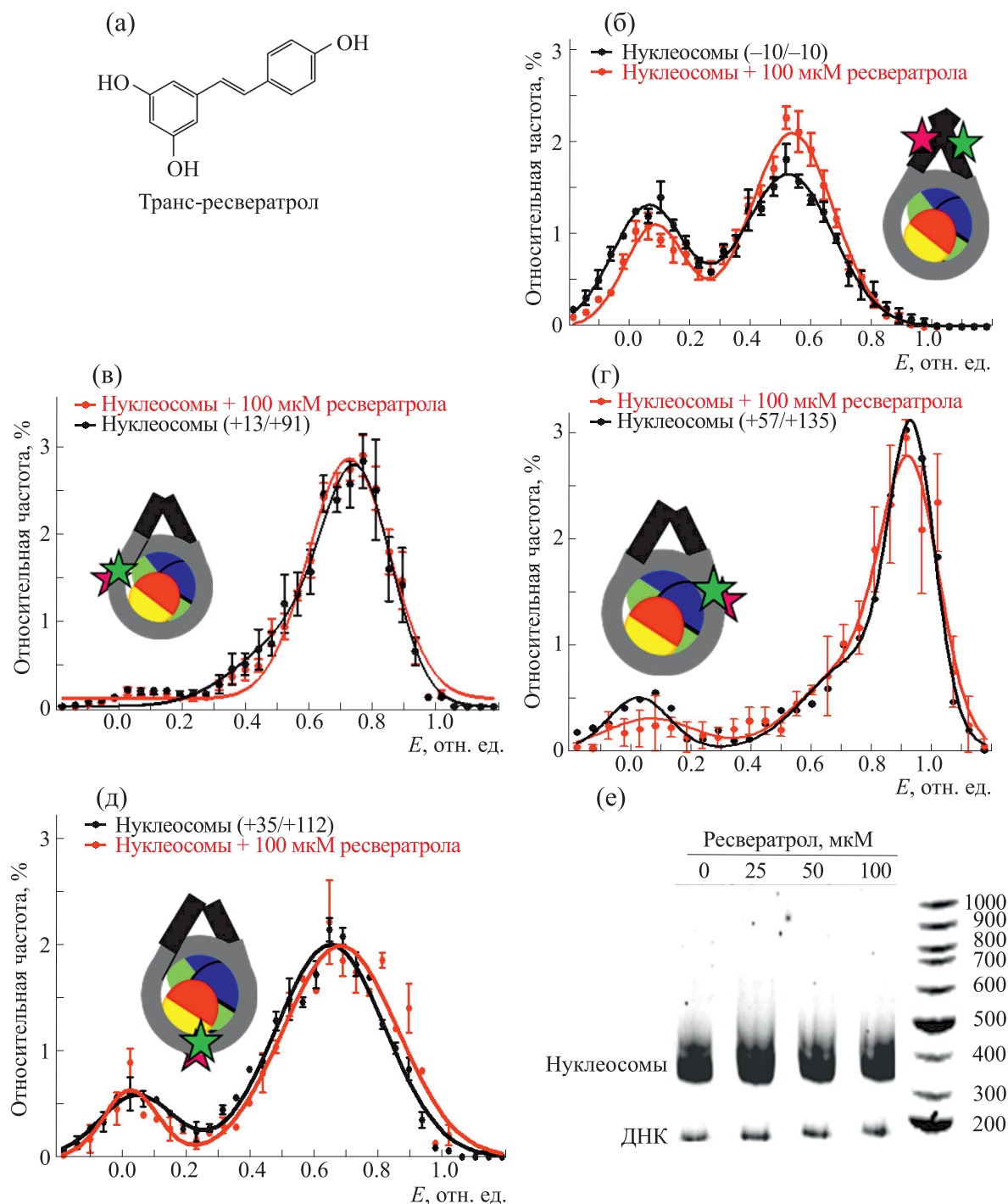


Рис. 1. Исследование взаимодействия ресвератрола с нуклеосомами методами spFRET-микроскопии и электрофореза в полиакриламидном геле. (а) — Структурная формула транс-ресвератрола; (б)–(д) — профили распределения нуклеосом по эффективности FRET в присутствии и в отсутствие 100 мкМ ресвератрола. Исследованы нуклеосомы, в которых флуоресцентные метки Cy3/Cy5 находятся в спиральных линкерной ДНК на расстоянии 10 п.н. от границы кор-нуклеосомы (б), в соседних супервитках нуклеосомной ДНК вблизи границ кор-нуклеосомы в положениях 13 и 91 п.н. (в), в положениях 57 и 135 п.н. (г) или далеко от границы нуклеосомы в положениях 35 и 112 п.н. (д). На рис. (е) — электрофорез в полиакриламидном геле нуклеосом, проинкубированных с различными концентрациями ресвератрола (25, 50 и 100 мкМ).

фаткиназа, рибонуклеотидредуктаза, ароматаза и рецепторы эстрогена [14–17]. В настоящее время ведется более 150 клинических испытаний с использованием ресвератрола (<https://clinicaltrials.gov>). Растущий интерес к возможному применению ресвератрола в качестве лекарственного средства определяет необходимость токсикологических исследований данного полифенола, и в частности, его генотоксичности [17]. Установлено, что полифенол взаимодействует с ДНК [18–21], и предполагается, что изменения, индуцируемые им в структуре хроматина, могут являться триггером, запускающим сигнальную сеть, связанную с экспрессией серин-треониновой протеинкиназы АТМ и отвечающую за репарацию ДНК, остановку клеточного цикла и активацию апоптоза [17]. С целью проверки гипотезы о возможном влиянии ресвератрола на структуру хроматина в настоящей работе изучено взаимодействие этого полифенола с нуклеосомами. Нуклеосома является функциональной и структурной единицей хроматина, а исследования нуклеосом *in vitro* позволяют прояснить механизмы многих процессов, происходящих в клеточном ядре [22].

Для изучения взаимодействия с ресвератролом использовали моонуклеосомы, собранные на основе октамера гистонов и флуоресцентно-меченой матрицы ДНК, содержащей нуклеосом-позиционирующую последовательность. Исследования выполнены с применением методов флуоресцентной микроскопии одиночных нукле-

осом на основе фёрстеровского резонансного переноса энергии (spFRET-микроскопии) в растворе и анализа изменений в электрофоретической подвижности комплексов нуклеосом с ресвератролом в полиакриламидном геле. Динамика изменений структуры иммобилизованных нуклеосом в комплексе с ресвератролом была исследована методом spFRET-микроскопии на основе эффекта полного внутреннего отражения (TIRF-spFRET-микроскопии).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали *транс*-ресвератрол (*транс*-3,4',5'-тригидроксистерилбен) фирмы Roth (Германия).

Для spFRET-микроскопии флуоресцентно-меченные ДНК-матрицы длиной 187 п.н. получали методом полимеразной цепной реакции с использованием плазмиды pTZ57R, содержащей нуклеосом-позиционирующую последовательность 603 [23]. Для амплификации использовали синтетические олигонуклеотиды, меченные флуорофорами Cy3 и Cy5 («Lumiprobe», Россия). Нуклеотидные последовательности праймеров для синтеза матрицы ДНК, меченной Cy3 и Cy5 по тимином в положениях 13 и 91 п.н. и 35 и 112 п.н. от начала последовательности 603, были опубликованы ранее [24]. Для синтеза матрицы ДНК, меченной Cy3 и Cy5 по тимином в положениях 57 и 135 п.н. от начала последовательности 603, использовали следующие праймеры:

Д-прямой – 5'-CAAGCGACACCGGCACTGGGCCCGGTTTCGCGCTCCCGCCTTCCGTGTGTTGTCGTCTCTCGGGCGTCTAAGTACGC[Cy3-dT]TAGGC-3';

Д-обратный – 5'-GAACCATGATGGGCACTGGGTACCCAGGGACT[Cy5-dT]GAAGTAATAAGGAC-3'.

Для мечения линкерных участков ДНК на расстоянии 10 п.н. от начала и конца нуклеосом-пози-

ционирующей последовательности в матрице ДНК длиной 227 п.н. [25] использовали праймеры:

Л-прямой – 5'-ACACGGCGCACTGCCAACCCAAACGACACCT[Cy3-dT]GCACGAG-3';

Л-обратный – 5'-TAAGGCGAATTCACAACCTTTTGGCAAGAAT[Cy5-dT]ATGAGCT-3'.

Полученные ДНК-матрицы использовали для сборки нуклеосом методом ступенчатого диализа против буферных растворов с понижающейся ионной силой [28]. Донором гистонов служил хроматин без линкерных гистонов, выделенный из эритроцитов кур, как описано ранее [28].

Для проведения экспериментов с использованием TIRF-микроскопии были синтезированы флуоресцентно-меченные моонуклеосомы с линкерным участком ДНК длиной 123 п.н. с биотином на 5'-конце.

Для этого флуоресцентно-меченные ДНК-матрицы инкубировали с ферментом TspRI, формируя «липкий» 3'-конец, и очищали методом препаративного электрофореза в 1.5%-м агарозном геле с добавкой 4 М мочевины. На ДНК-матрицах с «липким» концом собирали нуклеосомы по методике [28], как описано выше.

Биотинилированный линкерный фрагмент ДНК, готовили по методике [27], используя заправочные олигонуклеотиды:

bio282Forwhst – 5'-биотин-CCGGGATCCAGATCCCGAAAATTTA-3';

134rev40 – 5'-CGCGAAGTGGGCCCCAGTGCCGGTGTGCTTGGGTTGGCT-3'.

Этот фрагмент ДНК обрабатывали ферментом TspRI для создания липкого 5'-конца и очищали методом препаративного электрофореза в 1.5%-м агарозном геле с добавкой 4 М мочевины, используя набор реактивов Cleanup Standard («Евроген», Россия). Полученный биотинилированный фрагмент ДНК лигировали к нуклеосоме с «липким» концом с использованием ДНК-лигазы фага T4 при 4°C в течение 16 ч.

Для spFRET-микроскопии в растворе использовали установку LSM710-Confocor3 (Zeiss, Германия) с системой детекции на основе лавинных фотодиодов как описано ранее [29]. Концентрацию нуклеосом в растворе (~1 нМ) подбирали таким образом, чтобы в фокусе лазера в любой момент времени находилось не более одной нуклеосомы. Время диффузии нуклеосомы через фокус лазера составляет <6 мс. Нуклеосомы в концентрации ~1 нМ, содержащие пару FRET-меток Cy3/Cy5, инкубировали с различными концентрациями ресвератрола (25–100 мкМ) в течение 20 мин в пробирках с низкой адгезией в буфере TB150 (20 мМ Трис-НСl (pH 7.5), 5 мМ MgCl₂, 150 мМ KCl, 1 мМ β-меркаптоэтанол). Концентрации ресвератрола были выбраны на основании данных о ДНК-тропных свойствах полифенола [18, 19]. Препараты переносили в лунки силиконовой кюветы (Ibidi, Германия), прикрепленной к покровному стеклу (Assistent, Германия). Измеренные интенсивности флуоресценции меток Cy3 и Cy5 в составе одиночных нуклеосом использовали для расчета коэффициента близости *E*, как описано ранее [30]. Коэффициент *E* является аналогом эффективности FRET без учета поправок на квантовые выходы флуорофоров и чувствительность системы детекции. Для анализа измеренных сигналов и расчета частотных распределений нуклеосом по величине *E* использовали программу FRETty (<https://github.com/intbio/FRETty>). Выборку значений *E* измеренных частиц (не менее 3000 частиц) представляли в виде частотного распределения (*E*-профиля). Измерения выполняли не менее чем в трех независимых экспериментах, а рассчитанные *E*-профили усредняли и аппроксимировали линейной суперпозицией нескольких гауссовых распределений, описывающих отличающиеся по структуре субпопуляции нуклеосом.

Для измерений методом TIRF-spFRET-микроскопии биотинилированные нуклеосомы с метками в положениях 13 и 91 п.н. или 35 и 112 п.н. иммобилизовали на стеклах, покрытых монослоем полиэтиленгликоль-силана с 1%-й добавкой биотинилированного полиэтиленгликоль-силана и активированных стрептавидином, как описано ранее [27]. Измерения выполняли с использованием экспериментальной установки с чувствительностью на уровне одиночных моле-

кул на основе инвертированного флуоресцентного микроскопа Axio Observer D1 (Zeiss, Германия) с лазерным модулем и адаптором для TIRF-микроскопии [27]. Флуоресценцию Cy3 возбуждали лазером с длиной волны 514 нм, мощность на образце составляла 300 мкВт. Изображения нуклеосом регистрировали с помощью объектива αPlan-FLUAR100×/1.45 Oil (Zeiss, Германия) и системы OptoSplitII (Cairn Research Ltd., Великобритания) синхронно в каналах флуоресценции Cy3 и Cy5. Измерения выполняли в растворе 20 мМ Трис-НСl (pH 8.0), 150 мМ KCl, 5 мМ MgCl₂. Ресвератрол добавляли к иммобилизованным нуклеосомам в конечной концентрации 100 мкМ из раствора 10 мМ в диметилсульфоксиде, инкубировали 10 мин, а затем анализировали методом TIRF-spFRET-микроскопии. В контрольных измерениях нуклеосомы прединкубировали (10 мин) с 1%-м диметилсульфоксидом. Временные серии изображений нуклеосом (100–150 изображений на серию) измеряли в течение 30 с с интервалом 300 мс (экспозиция 240 мс, нуклеосомы с метками в положениях 35 и 112 п.н.) или 200 мс (экспозиция 140 мс, нуклеосомы с метками в положениях 13 и 91 п.н.). В измеренных сериях для каждой нуклеосомы рассчитывали динамику величины *E* во времени и строили частотное распределение состояний нуклеосомы по величине *E*. С учетом данных, полученных методом spFRET-микроскопии в растворе, для дальнейшего анализа отбирали нуклеосомы, имеющие *E*-профили с максимумом > 0.4. Эти *E*-профили проверяли на соответствие нормальному распределению, используя критерий нормальности Д'Агостина–Пирсона. По общей совокупности данных для отобранных нуклеосом (50–100 частиц) рассчитывали обобщенное частотное распределение состояний нуклеосом по величине *E*, описывали его как суперпозицию двух нормальных (гауссовых) распределений и сравнивали в отсутствие и в присутствии ресвератрола.

Влияние ресвератрола на структуру нуклеосом изучали по изменению электрофоретической подвижности комплексов в 5%-м полиакриламидном геле в нативных условиях. Перед нанесением на гель нуклеосомы (2–3 нМ) инкубировали с различными концентрациями (25–100 мкМ) ресвератрола в буфере TB150 в течение 20 мин при 25°C. Электрофорез проводили в течение 1 ч при температуре 4°C. Полученные гели анализировали с помощью сканера Amersham Typhoon RGB Imager (Cytiva, США), регистрируя флуоресценцию меток, введенных в ДНК-матрицу.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследований методом spFRET-микроскопии влияния ресвератрола на структуру нуклеосом в области линкерной ДНК использовали

нуклеосомы с метками в спиральных линкерной ДНК ($N(-10, -10)$, рис. 1б). Наличие и характер изменений в структуре нуклеосом анализировали, сравнивая профили распределения нуклеосом по величине E (E -профили), измеренные методом spFRET-микроскопии до и после инкубации нуклеосом с ресвератролом.

E -профили нуклеосом $N(-10, -10)$ характеризуются наличием двух приблизительно равных по величине пиков (рис. 1б). Пик в области больших значений E соответствует субпопуляции нуклеосом, у которых спирали линкерной ДНК в области расположения меток сближены друг с другом и находятся на расстоянии ~ 5 нм, а пик в области малых E — субпопуляции, в которой эти спирали находятся на увеличенном (7–8 нм) расстоянии друг от друга. Наличие у нуклеосом двух конформаций линкерной ДНК, распознаваемых методом spFRET-микроскопии, согласуется с данными, опубликованными ранее для нуклеосом с иным расположением меток в области линкерной ДНК [25]. Было обнаружено, что ресвератрол оказывает влияние на конформацию линкерных участков ДНК при концентрациях близких к 100 мкМ: субпопуляция нуклеосом со сближенными линкерами достоверно ($p < 0.05$) возрастает от 61 ± 1 до $71 \pm 4\%$ (рис. 1б).

Для изучения влияния ресвератрола на структуру нуклеосомы в коровой области использовали три варианта меченая нуклеосомной ДНК: вблизи границы нуклеосомы ($N(+13, +91)$ или $N(+57, +135)$, рис. 1в и 1д соответственно) и в области, удаленной от границы нуклеосомы ($N(+35, +112)$, рис. 1г). В этих нуклеосомах метки Cy3 и Cy5 располагались на соседних супервитках ДНК на расстоянии, обеспечивающем эффективный FRET между ними. E -профили всех вариантов нуклеосом, меченных в коровой области, характеризуются интенсивным пиком в области больших значений E и минорным пиком в области малых E (рис. 1в–д). Такие E -профили отражают доминирование в растворе субпопуляции нуклеосом с нативной укладкой супервитков нуклеосомной ДНК на октамере гистонов в области расположения меток. Минорный пик в области низких значений E отражает присутствие в растворе нуклеосом с нарушенной укладкой нуклеосомной ДНК, и/или свободной ДНК, образующейся при диссоциации нуклеосом. После инкубации нуклеосом с ресвератролом в концентрации 25–100 мкМ E -профили не изменяются (рис. 1в–д), что указывает на отсутствие ресвератрол-индуцированных изменений структуры в кор-нуклеосоме, включая области вблизи и на значительном удалении от границы нуклеосомы (рис. 1в–д).

Методом электрофореза в ПААГ в нативных условиях установлено, что при концентрациях

ресвератрола 25–100 мкМ он не вызывает ни диссоциации нуклеосом с появлением свободной ДНК, ни существенных изменений в подвижности нуклеосом, указывающих на значительное изменение структуры нуклеосом (рис. 1е), что согласуется с данными spFRET-микроскопии.

Измерения свободно диффундирующих нуклеосом методом spFRET-микроскопии характеризуют структуру нуклеосом только в момент их прохождения через фокус лазерного луча. Для изучения структурной динамики нуклеосомы были иммобилизованы через длинный биотинилированный фрагмент линкерной ДНК на поверхности монослоя полиэтиленгликоля, нанесенного на стекло, и исследованы методом TIRF-spFRET микроскопии (рис. 2). Сравнительный анализ E -профилей, построенных на основе всех измеренных в динамике структурных состояний (значений E) для выборки нуклеосом $N(+35, +112)$, не выявил ни до, ни после образования комплекса с ресвератролом (100 мкМ) существенных динамических изменений структуры нуклеосом в области, удаленной от ее границы (рис. 2д). Анализ иммобилизованных нуклеосом $N(+13, +91)$ с метками в положениях 13 и 91 п.н. показал, что E -профили индивидуальных нуклеосом на основе величин E , измеренных в динамике (рис. 2в,г), не соответствуют критерию нормальности (данные не показаны) и, по-видимому, отражают существование как минимум двух структурных состояний, в которых может находиться каждая нуклеосома. Аналогичный вывод был сделан при анализе E -профилей индивидуальных комплексов нуклеосом $N(+13, +91)$ с ресвератролом (100 мкМ). Сравнение E -профилей, рассчитанных на основе всех измеренных в динамике значений E для выборки нуклеосом $N(+13, +91)$ выявило отличия E -профилей нуклеосом и их комплексов с ресвератролом (рис. 2е). С учетом вывода о возможном существовании двух структурных состояний E -профили нуклеосом и их комплексов с ресвератролом были представлены в виде суперпозиции двух гауссовых пиков с максимумами 0.46 и 0.82 (рис. 2ж,з). Эти пики соответствуют двум конформациям, между которыми нуклеосома может осуществлять переход в динамике. Для нуклеосом $N(+13, +91)$ заселенности состояний $E = 0.46$ и $E = 0.82$ составляют соответственно 70 и 30%, а для комплексов с ресвератролом — 82 и 18%. Поэтому можно предположить, что ресвератрол вблизи границы нуклеосомы стабилизирует конформацию с $E = 0.46$, затрудняя переход нуклеосомы в конформацию с $E = 0.82$.

Исследования показали, что взаимодействие с нуклеосомой без внесения значительных изменений в ее структуру существенно отличает ресвератрол от полифенола кверцетина, который по данным spFRET-микроскопии при 24 мкМ вызывает значительные изменения в укладке нуклеосом-

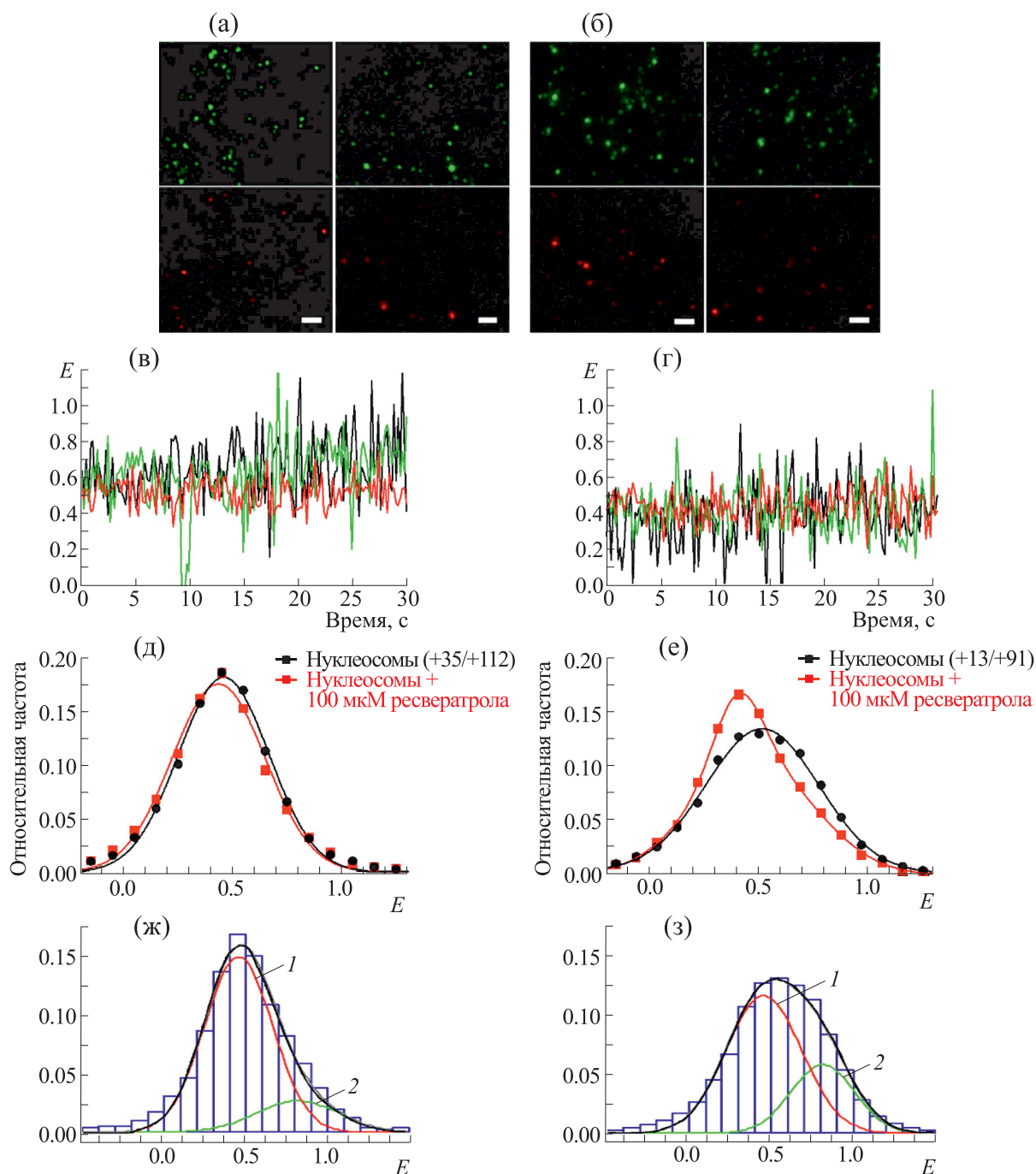


Рис. 2. Исследование взаимодействия ресвератрола с нуклеосомами методом TIRF-spFRET микроскопии. (а), (б) — Изображения одиночных иммобилизованных нуклеосом N(+35, +112) (а) и N(+13, +91) (б), полученные методом TIRF-микроскопии: флуоресценция Cy3 и Cy5 в результате FRET-эффекта в составе нуклеосом при возбуждении Cy3 длиной волны 514 нм. Масштабная метка — 2 мкм. (в), (г) — Измерения динамики величины FRET (E) одиночных нуклеосом N(+13, +91) в отсутствие (в) и в присутствии (г) ресвератрола (100 мкМ). Данные получены с временным разрешением 0.2–0.3 с. (д), (е) — Частотные распределения состояний нуклеосом N(+35, +112) (д) и N(+13, +91) (е) по величине E , рассчитанные на основе всех измеренных в динамике значений E для выборки иммобилизованных нуклеосом в отсутствие и в присутствии ресвератрола (100 мкМ). (ж), (з) — Представление E -профилей, показанных на панели (е), в виде суперпозиции (черная линия) двух гауссовых пиков с максимумами $E = 0.46$ (кривые 1) и $E = 0.82$ (кривые 2).

ной ДНК на октамере гистонов в 40% нуклеосом [31]. По данным спектроскопии кругового дихроизма и флуоресцентного анализа конкуренции

кверцетина с интеркалятором акридиновым оранжевым за связывание с ДНК, основным типом взаимодействия кверцетина с ДНК является

интеркаляция между парами нуклеотидов [21]. Ресвератрол, по данным спектроскопии ЯМР, кругового дихроизма и флуоресцентного анализа, связывается в узкой бороздке ДНК [20, 21, 32]. Анализ взаимодействия ресвератрола с ДНК из тимуса телят свидетельствует, что константа диссоциации комплекса варьирует в диапазоне 52–180 мкМ в зависимости от температуры раствора [18, 19]. Разница в типе взаимодействия кверцетина и ресвератрола с нуклеосомами, как предполагается, связана со стабилизированной планарной структурой кверцетина, облегчающей интеркаляцию [21].

Проведенные исследования позволяют заключить, что ресвератрол не обладает выраженной способностью дестабилизировать структуру хроматина в контексте нуклеосом. Однако для ресвератрола в комплексе с нуклеосомной ДНК возрастает вероятность взаимодействия с ферментами, которые участвуют в метаболизме ДНК и являются мишенями полифенола. В частности, адресность и функциональные последствия ингибирования топоизомеразы II [17, 33] нуклеосом-связанным ресвератролом могут быть существенно более выражены, чем в нуклеоплазме, а ингибирование ДНК-полимеразы α [17] может значительно затруднять репарацию нуклеосомной ДНК. В свою очередь, учитывая данные о слабом влиянии ресвератрола на структуру нуклеосом (рис. 1), наблюдаемые в клетках ресвератрол-опосредованная активация АТМ-киназы и последующий апоптоз [17, 33], вероятно, связаны с репликативным стрессом, а не с изменением структуры хроматина, вызываемым ресвератролом.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено с использованием инфраструктурных возможностей Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология» и ЦКП ИБХ 2020 (<http://ckp.ibch.ru/devices>).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-74-20018).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. S. Tangutoori, P. Baldwin, and S. Sridhar, *Maturitas*, **81** (1), 5 (2015).
2. M. Jhanji, C. N. Rao, and M. Sajish, *GeroScience*, **43**, 1171 (2021).
3. R. Pangeni, J. K. Sahni, J. Ali, et al., *Expert Opin. Drug Deliv.*, **11**, 1285 (2014).
4. B. Tian and J. Liu, *J. Sci. Food Agricult.*, **100**, 1392 (2020).
5. L. Bavaresco, *Drugs Exp. Clin. Res.*, **29**, 181 (2003).
6. D. Delmas, A. Lancon, D. Colin, et al., *Curr. Drug Targets*, **7**, 423 (2006).
7. I. Arora, M. Sharma, and T. O. Tollefsbol, *Int. J. Mol. Sci.*, **20** (18), 4567 (2019).
8. F. Islam, M. H. Nafady, M. R. Islam, et al., *Mol. Neurobiol.*, **59**, 4384 (2022).
9. S. A. Almatroodi, M. A. Alsahli, A. S. M. Aljohani, et al., *Molecules*, **27**, 2665 (2022).
10. A. Kumar, B. D. Kurmi, A. Singh, and D. Singh, *Exploration of Targeted Anti-Tumor Therapy*, **3**, 643 (2022).
11. D. Fan, C. Liu, Z. Zhang, et al., *Molecules*, **27** (21), 7524 (2022).
12. P. Pan, J. Li, W. Lin, and G. Long, *Intervirology*, **65**, 206 (2022).
13. K. I. Kirsanov, O. A. Vlasova, T. I. Fetisov, et al., *Adv. Mol. Oncol. (In Russian)*, **5** (4), 41 (2018).
14. L. X. Zhang, C. X. Li, M. U. Kakar, et al., *Biomed. Pharmacotherapy*, **143**, 112164 (2021).
15. A. Shaito, A. M. Posadino, N. Younes, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 2084 (2020).
16. K. T. Howitz, K. J. Bitterman, H. Y. Cohen, et al., *Nature*, **425**, 191 (2003).
17. S. A. Gatz and L. Wiesmuller, *Carcinogenesis*, **29**, 321 (2008).
18. S. Zhang, X. Sun, Z. Jing, and F. Qu, *Spectrochim. Acta. Part A: Mol. Biomol. Spectroscopy*, **82**, 213 (2011).
19. C. N. N'Soukpoe-Kossi, P. Bourassa, J. S. Mandeville, et al., *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **151**, 69 (2015).
20. S. Kumar, P. Kumar, and M. S. Nair, *Spectrochim. Acta. Part A – Mol. Biomol. Spectroscopy*, **252**, 119488 (2021).
21. C. Ji, X. Yin, H. Duan, and L. Liang, *Int. J. Biol. Macromolecules*, **168**, 775 (2021).
22. O. I. Kulaeva, D. A. Gaykalova, N. A. Pestov, et al., *Nature Struct. Mol. Biol.*, **16**, 1272 (2009).
23. A. Thastrom, P. T. Lowary, H. R. Widlund, et al., *J. Mol. Biol.*, **288**, 213 (1999).
24. N. V. Malyuchenko, D. O. Koshkina, A. N. Korovina, et al., *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.*, **75**, 142 (2020).

25. A. V. Lyubitelev, M. S. Mikhaylova, N. V. Maluchenko, et al., *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.*, **71**, 108 (2016).
26. Н. С. Герасимова, А. Н. Коровина, Д. А. Афонин и др., *Биофизика*, **67**, 222 (2022).
27. K. S. Kudryashova, O. V. Chertkov, Y. O. Ivanov, et al., *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.*, **71**, 97 (2016).
28. D. A. Gaykalova, O. I. Kulaeva, V. A. Bondarenko, and V. M. Studitsky, *Methods Mol. Biol.*, **523**, 109 (2009).
29. N. V. Maluchenko, D. K. Nilov, S. V. Pushkarev, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **22** (22), 12127 (2021).
30. K. S. Kudryashova, O. V. Chertkov, D. V. Nikitin, et al., *Methods Mol. Biol.*, **1288**, 395 (2015).
31. T. Andreeva, A. Lyubitelev, E. Bondarenko, et al., *Microscopy and Microanalysis*, **27**, 1740 (2021).
32. M. S. Nair, S. D'Mello, R. Pant, and K. M. Poluri, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **170**, 217 (2017).
33. B. Demoulin, M. Hermant, C. Castrogiovanni, et al., *Toxicology in vitro*, **29**, 1156 (2015).

On the Interaction of Resveratrol with Nucleosomes

**N.V. Maluchenko*, T.V. Andreeva*, O.V. Geraskina*, N. S. Gerasimova*, A.V. Lubitelev*,
A.V. Feofanov*, and V.M. Studitsky*. ****

**Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119234 Russia*

***Cancer Epigenetics Program, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA 19111-2497, USA*

The natural polyphenol resveratrol has anti-inflammatory, antioxidant, antitumor and geroprotective properties. The wide range of resveratrol activities is determined by its ability to modulate a variety of signaling pathways in the cell and interact with various target molecules. It is known that resveratrol interacts with DNA, but the effect of this interaction on the structure of chromatin has not been studied. In this work, we studied the effect of resveratrol on the structure of the nucleosome, the functional and structural unit of chromatin. Fluorescent microscopy of single nucleosomes based on Förster resonance energy transfer and analysis of changes in the electrophoretic mobility of nucleosomes in polyacrylamide gel showed that, at a concentration of ~100 μ M, resveratrol affects the conformation of DNA linker regions, limits the conformational dynamics of DNA near the nucleosome boundary, but does not cause significant changes in the folding of nucleosomal DNA on the histone octamer. A small effect of resveratrol on the structure of the nucleosome compared to quercetin is presumably determined by the binding mode of resveratrol in a minor groove of DNA.

Keywords: resveratrol, chromatin, nucleosome, spFRET, TIRF