



УДК 547.962

ИССЛЕДОВАНИЕ САМОАССОЦИИ ГИСТОНОВ *H4*
И *H2a* ГИДРОДИНАМИЧЕСКИМИ И ОПТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИЗаленский А. О. *, Рамм Е. И., Осипова Т. Н.,
Воробьев В. И.Институт цитологии Академии наук СССР, Ленинград;
Институт биологии моря ДВНЦ АН СССР, Владивосток *

С помощью оптических и гидродинамических методов исследованы структурные переходы в гистонах *H4* и *H2a* в процессе их самоассоциации. В растворах низкой ионной силы ($\mu \leq 0,01$) вне зависимости от температуры гистоны ведут себя как низкомолекулярные вещества. В этих условиях полипептидные цепи обоих белков содержат преимущественно участки с конформацией левой спирали типа *poly-L*-пролин II. Добавление соли при низких температурах (2°) приводит к образованию α -спиральных участков. При повышении температуры солевых растворов гистон *H4* образует высокомолекулярные агрегаты, содержащие до 30% β -структуры, которые при седиментации ведут себя как индивидуальные взаимодействующие частицы с константой седиментации $s_{20,w}^0$ 37 S. В отличие от *H4* гистон *H2a* образует димеры с $s_{20,w}^0$ 2,4 S, содержащие только α -спиральные участки. На основе полученных и имеющихся в литературе данных, а также теоретического рассмотрения первичных структур предложены схемы самосборки гистонов *H4* и *H2a*.

Многочисленные исследования последних лет, посвященные выяснению структуры хроматина (см. обзор [1]), показали, что существенную роль в ее формировании играют специфические гистон-гистоновые взаимодействия. При этом многие черты этих взаимодействий гистонов в составе хроматина сходны с взаимодействиями, которые проявляют гистоны в растворах высокой ионной силы *in vitro* [2]. Согласно данным физико-химических исследований [3—12], ассоциация гистонов в растворе сопровождается образованием α -спиральных участков и межмолекулярных β -структур. Уточнение механизмов гистон-гистоновых взаимодействий требует проведения комплексных исследований, выполненных различными физическими методами в тождественных экспериментальных условиях. Настоящая работа посвящена изучению самоассоциации гистонов *H2a* и *H4* в широком интервале ионных сил и концентраций белков методами скоростной седиментации и кругового дихроизма. При этом нами учитывались также факторы температуры и времени, от которых, как известно, зависит процесс агрегации гистона *H4* [5].

Седиментационное поведение гистонов. Независимо от факторов времени и температуры в растворах низкой ионной силы ($\leq 0,01$ M NaCl) гистон *H4* в седиментационных опытах ведет себя как низкомолекулярное вещество (таблица). Увеличение концентрации соли до 0,05 M приводит к качественному изменению картины. Происходит агрегация гистона, выражающаяся в появлении на седиментационных диаграммах второго пика, соответствующего высокомолекулярному компоненту. При этом равновесие

Гидродинамические характеристики гистонов *H4* и *H2a*

Препараты	Ионная сила раствора NaCl, M	Диализ 12 ч			
		при 4°		при 20°	
		с, мг/мл	* $s_{20,w}^0$, S	с, мг/мл	$s_{20,w}^0$, S
Гистон <i>H4</i>	0,01	5	0,6	5	0,6
	0,05	5	1 (45) 28 (55)	5	19,3
	0,15	5	1 (42) 27 (58)	4,5	25,0
	0,2	5	1 (31) 29 (69)	0,5	35,5
	0,3	—	—	—	—
	0,6	—	—	6,8	22,6
	0,001	—	—	0,5	39,0
Гистон <i>H2a</i>	0,2	—	—	6	500 (гель)
	0,2	—	—	4	1
				4	2,4

* Для двухкомпонентной системы в скобках приведена весовая доля каждого компонента на седиментационной кривой.

между низкомолекулярной и высокомолекулярной формами существенно зависит от температуры раствора и времени, прошедшего после добавления соли в водный раствор гистона. Оно может быть полностью смещено в сторону полимерного состояния *H4* путем непродолжительного прогревания при 40° либо 12-часового диализа при 20° (таблица). Важной характеристикой самоассоциации гистона *H4* является высокая однозначность процесса: в широком интервале ионных сил (вплоть до 0,3 M) седиментационные характеристики высокомолекулярных образований остаются практически одинаковыми. В этом смысле мы можем говорить о специфичной самосборке. Более того, данные по концентрационной зависимости коэффициента седиментации при 0,15 M NaCl после продолжительного диализа при 20° (рис. 1) свидетельствуют, что ассоциаты *H4* ведут себя в растворе как монодисперсный набор индивидуальных, не взаимодействующих частиц с $s_{20,w}^0$ 37 S. Известно, что для процессов неспецифической агрегации характерна криволинейная зависимость $1/s$ от концентрации с наклоном, противоположным наклону, полученному нами. Высокомолекулярные ассоциаты *H4* в интервале ионных сил от 0,05 до 0,3 M устойчивы: ни их выдерживание в течение 72 ч при 20°, ни дополнительное прогревание при 40° не изменяют значения $s_{20,w}^0$.

Если ионная сила раствора превосходит 0,3 M, то мы переходим в новую область, в которой проявляются более сильные межмолекулярные взаимодействия. При 0,6 M NaCl весь материал переходит в гель с $s_{20,w}^0$ 500 S. Вероятно, этот процесс связан с дальнейшей агрегацией тех ассоциатов *H4*, которые были характерны для более низких ионных сил.

Таким образом, мы можем выделить три области ионных сил, в которых межмолекулярные взаимодействия гистона *H4* принципиально различаются: 1) $< 0,05$ M NaCl, молекулы слабо взаимодействуют между собой, образуя низкомолекулярные димерные комплексы [6]; 2) интервал 0,05—0,3 M NaCl, область существования специфических, устойчивых, высокомолекулярных ассоциатов с $s_{20,w}^0$ 37 S; 3) $> 0,3$ M NaCl, образование геля.

Самоассоциация гистона *H2a* происходит иначе. Из результатов таблицы следует, что повышение ионной силы раствора вплоть до 0,2 M NaCl приводит лишь к незначительной агрегации этого белка. Образования структур, подобных высокомолекулярным ассоциатам *H4*, не происходит. Слабая тенденция к самоагрегации для гистона *H2a* подтверждается и данными по исследованию светорассеяния [12]. Для этого гистона в отли-

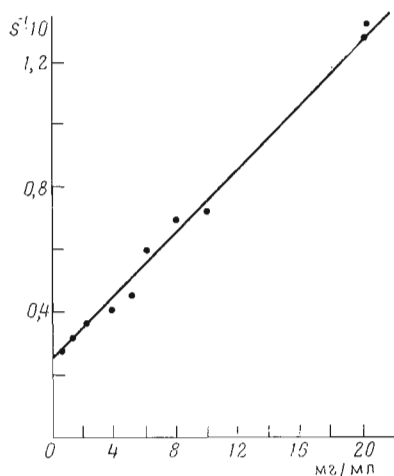


Рис. 1

Рис. 1. Концентрационная зависимость коэффициента седиментации $s'_{20,w}$ высокомолекулярных ассоциатов гистона H_4 в 0,15 М NaCl после продолжительного диализа при 20°

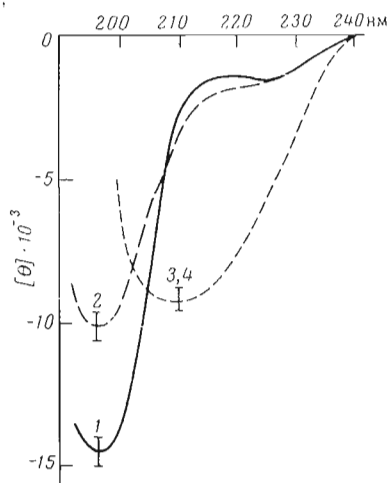


Рис. 2

Рис. 2. Спектры КД гистона H_4 в растворах NaCl; приведена ионная сила, М (температура): 1 — 0,001 (2°), 2 — 0,001 (25°), 3 — 0,15 (25°, после длительного прогрева), 4 — 0,3 (25°, после длительного прогрева)

Рис. 3. Спектры КД гистона H_4 в растворах NaCl при низкой температуре (2°) и ионной силе 0,001 (1), 0,15 (2), 0,20 (3), 0,30 М (4). На врезке разностный спектр КД $[\theta]_3 - [\theta]_1$

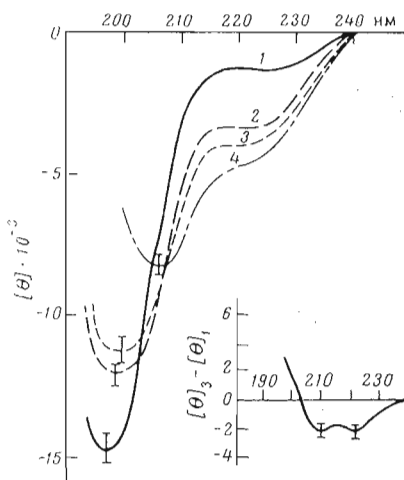


Рис. 3

чие от H_4 , как известно, отсутствует зависимость межмолекулярных взаимодействий от времени и температуры [9].

Исследование КД. Какие изменения во вторичной структуре гистонов лежат в основе описанных процессов самоагрегации? Для ответа на этот вопрос параллельно с седиментационными опытами мы проводили измерение КД гистонов H_4 и H_{2a} .

Как видно из спектров КД гистона H_4 в воде при нейтральном pH (рис. 2), в растворах очень низкой ионной силы ($\mu \leq 0,001$) КД; этого белка характеризуется плечом в длинноволновой части спектра, вблизи 215—220 нм и глубокой отрицательной полосой при 197 нм (кривые 1 и 2). Такой тип спектра КД свидетельствует о том, что полипептидная цепь гистона H_4 при этих условиях содержит в основном участки вытянутой левой спирали типа *poly-L*-пролин II. Наличие подобной конформации в гистонах и, в частности, в N-концевых участках гистона H_4 было продемонстрировано нами ранее [13—16]. При понижении температуры в спектре КД наблюдается усиление характерного для конформации вытянутой левой спирали положительного вклада в области 215—220 нм с одновременным увеличением интенсивности отрицательной полосы КД около 197 нм (кривая 1, рис. 2).

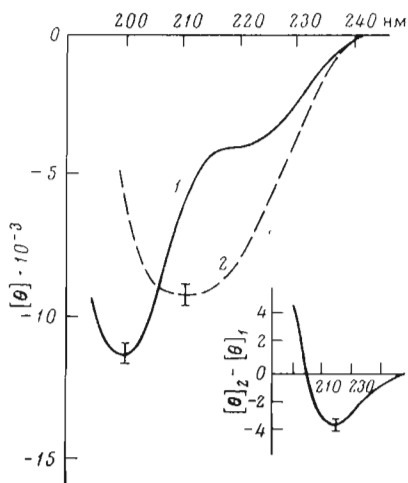


Рис. 4

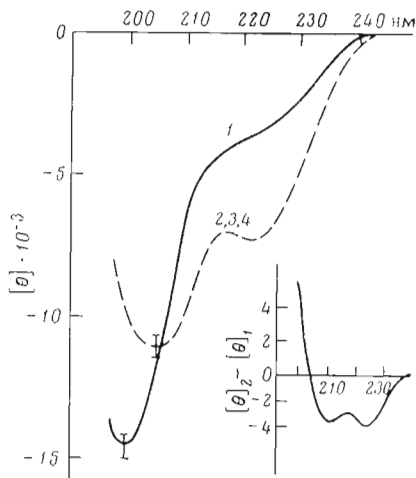


Рис. 5

Рис. 4. Спектры КД гистона *H4* в 0,2 М NaCl при 2° (1) и 25° после длительного прогрева (2). На врезке разностный спектр КД $[\theta]_2 - [\theta]_1$

Рис. 5. Спектры КД гистона *H2a* в растворах NaCl; приведена ионная сила, М (температура): 1 — 0,001 (2°), 2 — 0,2 (2°), 3 — 0,2 (27°), 4 — 0,2 (27°, после прогрева при 40°, 1 ч). На врезке разностный спектр КД $[\theta]_2 - [\theta]_1$

Повышение ионной силы раствора вызывает изменения во вторичной структуре гистона *H4*. Кривые 3 и 4 рис. 2 представляют собой спектр КД этого белка в условиях, когда все молекулы *H4* включены в специфические ассоциаты. Широкая отрицательная полоса КД с максимумом около 210 нм свидетельствует как об увеличении доли α -спиральных структур, так и об образовании значительных количеств β -структур.

Следует отметить, что спектр КД гистона *H4* не зависит ни от ионной силы раствора в области $0,15 \leq \mu \leq 0,3$ М NaCl, ни от концентрации белка в интервале от 0,05 до 1 мг/мл, т. е. конформация *H4* в специфических ассоциатах стабильна.

Процесс самосборки гистона *H4* в полимерные формы зависит от ряда внешних факторов (ионная сила, температура, время с момента добавления соли). Вследствие этого представлялось интересным выяснить влияние каждого из этих факторов в отдельности.

На рис. 3 представлены спектры КД гистона *H4*, измеренные при низкой температуре (2°) сразу же после добавления соли, при различных ионных силах. В аналогичных условиях, согласно данным Айзенберга [4—6], агрегация практически отсутствует. Разностный спектр КД (рис. 3) имеет два характерных для α -спирали минимума при 210 и 222 нм. При увеличении ионной силы раствора интенсивность этих минимумов увеличивается, что свидетельствует о росте доли α -спиральных участков в этих условиях.

Результаты наших опытов показывают, что при указанных условиях, по-видимому, не наблюдается образование заметных количеств β -структурных участков в гистоне *H4*. Однако сравнение спектров КД *H4* в 0,2 М NaCl при 2° и после длительного диализа при 20° (рис. 4) свидетельствует о появлении β -структур в процессе нагревания. Следовательно, повышение температуры является необходимым условием образования значительного количества β -структурных участков. Поскольку при этом образуются высокомолекулярные ассоциаты гистона *H4*, их формирование, очевидно, связано с образованием β -складчатой структуры.

Иначе ведет себя гистон *H2a*. Спектры КД, представленные на рис. 5, свидетельствуют о том, что в растворе низкой ионной силы (μ 0,001) этот белок, по-видимому, содержит небольшое количество α -спиралей, в то

время как основная часть его полипептидной цепи содержит участки с конформацией левой спирали типа *poly-L*-пролин II (см. кривая 1, рис. 5) и не содержит участков β -типа.

Повышение ионной силы раствора до 0,2 приводит к значительному увеличению степени α -спиральности этого белка, которое не зависит от температуры и времени, прошедшего с момента добавления соли — спектр КД после прогрева *H2a* в 0,2 М NaCl при 40° в течение 1 ч или при 20° в течение 10 ч не изменяется (см. кривые 2—4, рис. 5). Сравнение спектров КД, приведенное на рис. 5, свидетельствует о том, что при этом не происходит существенного образования β -структурных участков.

Таким образом, результаты настоящей работы показывают, что как процессы агрегации гистонов *H2a* и *H4*, так и лежащие в их основе конформационные перестройки вторичных структур этих белков оказываются различными.

Конформационные переходы и межмолекулярные взаимодействия гистонов H4 и H2a в процессе их самоассоциации. Теоретическое рассмотрение первичной структуры гистона *H4* [17] показывает, что в С-концевой половине молекулы на участке 50—75 может возникать α -спиральная структура, стабилизируемая внутримолекулярными электростатическими и гидрофобными взаимодействиями. Экспериментальные данные (в частности, [4] и настоящая работа) указывают на возникновение 15% α -спирали при повышении ионной силы раствора. Этот быстро протекающий во времени процесс, по терминологии Айзенберга [4], не чувствителен к температуре среды и является первым этапом в сборке молекул *H4* в специфические агрегаты. При спирализации участка 50—75 гистона *H4* резко возрастает линейная плотность гидрофобных аминокислотных остатков, входящих в его состав: остатки Val⁵⁷, Leu⁵⁸, Val⁶⁰, Phe⁶¹, Leu⁶², Val⁶⁵, Ile⁶⁶, Ala⁶⁹, Val⁷⁰ образуют сплошной гидрофобный кластер, расположенный на поверхности спиральной структуры (рис. 6а). Возможно, что, стремясь избежать термодинамически невыгодного контакта с водным окружением, гидрофобные участки, принадлежащие разным молекулам, слипаются между собой, образуя димеры. На процесс димеризации указывают данные группы Айзенберга по концентрационной зависимости анизотропии флуоресценции [6]. По-видимому, на этом заканчиваются структурные перестройки в гистоне *H4* на стадии быстрого процесса.

Можно предположить, что экранирование заряженных групп в целом гистоне *H4*, приводящее к образованию α -спиральных участков и димеризации, является необходимым предварительным условием для дальнейшей сборки молекул *H4* в высокомолекулярные ассоциаты. Повышение температуры каким-то образом активизирует этот процесс. С увеличением температуры начинается ассоциация молекул *H4* в высокомолекулярные, сравнительно монодисперсные частицы с константой седиментации около 37S, устойчивые в интервале ионных сил 0,05—0,3 М. Наши результаты показывают, что зависящий от температуры и времени процесс самосборки существенно связан с образованием β -структуры. Формирование примерно 30% β -формы в медленном процессе агрегации гистона *H4* наблюдалось в работах [4, 18]. Недавно методом инфракрасной спектроскопии было показано, что в гистоне *H4* образуется β -складчатая структура с антипараллельной укладкой цепей [18]. В работе [19] продемонстрировано, что агрегация гистона *H4* в 0,1 М NaCl не происходит, если от полипептидной цепи отщепить С-концевой участок 84—102. Можно думать, что межмолекулярная β -структура, стабилизирующая высокополимерную форму *H4*, локализована на С-конце молекулы, правее Met⁸⁴.

Одной из возможных моделей, описывающих конформационные переходы и межмолекулярные взаимодействия гистона *H4*, представляется схема, изображенная на рис. 6а. Принцип укладки полипептидных цепей друг относительно друга соответствует максимально плотной упаковке гидрофобных областей молекул и антипараллельному расположению

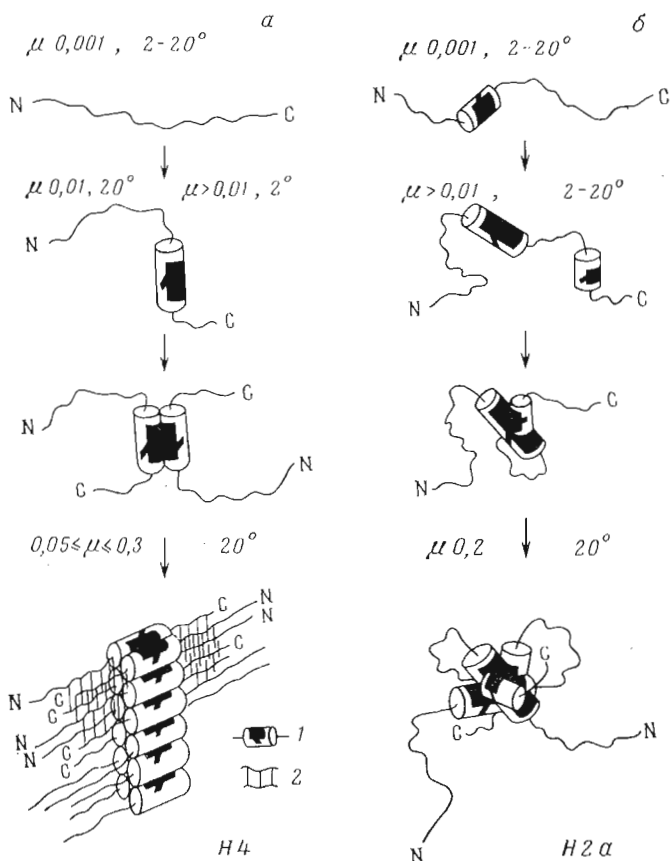


Рис. 6. Схема предполагаемых механизмов самоассоциации гистонов $H4$ (а), $H2a$ (б): 1 — α -спираль, 2 — β -структура

участков цепей в β -конформации [18]. Похожая цепь конформационных переходов при повышении ионной силы предлагается на основании данных ЯМР в работе [8].

Для гистона $H2a$ теоретическое рассмотрение первичной структуры предсказывает возможность образования двух фрагментов α -спиральной структуры на участках 56—71 и 88—96 [20]. Наши экспериментальные данные подтверждают возможность образования α -спиральной структуры у этого гистона. Кроме того, согласно данным ЯМР [10], участок молекулы с 25-го по 113-й аминокислотный остаток вовлечен во внутри- и межмолекулярные взаимодействия.

Гистон $H2a$ богат гидрофобными аминокислотными остатками (большинство из них расположено на участке 30—115 молекулы). Казалось бы, этот белок должен проявлять сильную тенденцию к самоагрегации. Однако наши результаты показывают противоположное. Можно предположить, что образование 2 фрагментов α -спирали, разделенных протяженным участком, включающим остатки пролина, ведет при ионных силах $> 0,1$ M NaCl [10] к внутримолекулярной глобуляризации участка 39—96 за счет гидрофобных взаимодействий между двумя α -спиральными участками (рис. 6б). Значительное уменьшение гидрофобности поверхности молекулы $H2a$ после внутримолекулярной глобуляризации и наличие положительно заряженного участка 118—129 на С-конце молекулы (в дополнение к N-концевому) могут препятствовать образованию высокомолекулярных форм $H2a$. В 0,2 M NaCl происходит образование димеров

H2a, что следует из полученной нами величины $s_{20,w}^0$ 2,4 S, а также из данных работ [2, 7].

Таким образом, сравнительное изучение гистонов *H4* и *H2a* позволило выявить значительную разницу в характере их агрегации. В отличие от гистона *H4* процесс агрегации *H2a* не зависит от времени и температуры и идет значительно слабее с образованием большого количества α -спиральных структур. Специфический характер гистон-гистоновых взаимодействий, продемонстрированный нами в модельных опытах, может являться одним из механизмов, регулирующих локальную компактизацию ДНК в хроматине.

Экспериментальная часть

Выделение и очистка гистонов. Гистон *H4* выделяли из вилочковой железы телят по методу Джонса [21] и переосаждали. Белок растворяли в 8 М мочеvine, 0,02 н. HCl в концентрации 100 мг/мл и инкубировали 48 ч при 40°, затем раствор разбавляли вдвое 0,02 н. HCl и наносили на колонку с сефадексом G-100 (100 × 2 см), уравновешенную 0,02 н. HCl. Белок, содержащийся во второй фракции, осаждали ацетоном, промывали ацетоном и эфиром и высушивали под вакуумом. Чистота фракции *H4*, определенная электрофоретически и из сравнения аминокислотного состава с известным по первичной структуре [22], превышала 98%. Гистон *H2a* получали по модифицированному [23] методу Джонса и дважды переосаждали. Чистота конечного продукта превышала 90%.

Приготовление препаратов. Белки растворяли в холодной (4°) дважды дистиллированной воде и смешивали с равным объемом раствора NaCl заданной ионной силы. Конечная концентрация белка изменялась в интервале 0,05—20 мг/мл, а ионная сила раствора — в интервале 0,001—0,6 М. В большинстве экспериментов проводили диализ в течение 10—12 ч при 20 или 4°. В части опытов после диализа при 4° применяли часовую инкубацию при 40° («диализ с прогреванием»). Точную концентрацию белка определяли непосредственно перед опытом по методу Лоури [24], используя в качестве стандарта общий гистон.

Аналитическое ультрацентрифугирование. Скоростную седиментацию проводили на аналитической ультрацентрифуге марки Beckman Model E (США) при 20° и скоростях 42040, 35600, 31140 об/мин. Использовали двухсекторные кюветы с подслаиванием. Регистрацию проводили с помощью оптической системы Филпота — Свенсона. Приведение к величинам $s_{20,w}^0$ осуществлялось согласно общепринятым процедурам.

Круговой дихроизм. Спектры КД в области 190—240 нм снимали на регистрирующем спектрополяриметре «Cary-60» (США) с приставкой для измерения КД (модель 6001 CD). Прибор калибровали водным раствором d-10-камфорсульфоновой кислоты и свежеприготовленным водным раствором сахарозы [25]. Измерения проводили при 2° в кварцевых кюветах с длиной оптического пути от 0,001 до 2,0 см, для температурных измерений использовали термостатированную кювету с длиной пути 0,1 см. Значения молекулярной эллиптичности $[\theta]_L$ рассчитывали на моль аминокислотных остатков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Elgin S. C. R., Weintraub H. (1975) Ann. Rev. Biochem., 44, 725—774.
2. Weintraub H., Palter K., Van Lente F. (1975) Cell, 6, 85—110.
3. Bradbury E. M., Crane-Robinson C. (1971) in Histones and Nucleohistones (Philips D.M.P., ed.), pp. 85—136, Plenum Publishing Co., N. Y.
4. Li H. J., Wickett R., Craig A. M., Isenberg I. (1972) Biopolymers, 11, 375—397.
5. Smerdon M. J., Isenberg I. (1973) Biochem. and Biophys. Res. Commun., 55, 1029—1034.
6. Smerdon M. J., Isenberg I. (1974) Biochemistry, 13, 4046—4049.

7. Sperling R., Bustin M. (1975) *Biochemistry*, **14**, 3322—3334.
8. Lewis P., Bradbury E. M., Crane-Robinson C. (1975) *Biochemistry*, **14**, 3391—3400.
9. D'Anna J. A., Isenberg I. (1974) *Biochemistry*, **13**, 2093—2097.
10. Bradbury E. M., Cary P. D., Crane-Robinson C., Rattle H. W. E., Boublick M., Sautiere P. (1975) *Biochemistry*, **14**, 1876—1885.
11. Osipova T. N., Ramm E. I., Zаленский A. O., Vorob'ev V. I. (1975) Symposium on structure and function of chromatin, p. 28, Varna.
12. Морозкин В. А., Заленский А. О., Фрисман Э. В., Воробьев В. И. (1975) Материалы III Всесоюзной конференции «Конформационные изменения биополимеров в растворах», с. 91—92, Тбилиси.
13. Рамм Е. И., Божков В. М., Воробьев В. И. (1975) Труды 5-го Всесоюзного симпозиума по структуре и функции клеточного ядра, с. 89, Новосибирск.
14. Божков В. М., Воробьев В. И., Есипова Н. Г., Зинченко Л. М., Лобачев В. М., Рамм Е. И. (1975) Материалы III Всесоюзной конференции «Конформационные изменения биополимеров в растворах», с. 117—118, Тбилиси.
15. Есипова Н. Г., Рамм Е. И., Лобачев В. М., Воробьев В. И. (1976) *Биофизика*, **21**, 582—584.
16. Рамм Е. И., Корякина Н. И., Писаченко А. И., Лобачев В. М., Есипова Н. Г., Буриченко В. К., Лазарев Ю. А., Воробьев В. И. (1977) *Биофизика*, **22**, 32—37.
17. Воробьев В. И., Бириштейн Т. М., Алексанин В. И., Заленский А. О. (1972) *Молекулярн. биология*, **6**, 346—352.
18. Shestopalov B. V., Chirgadze Yu. N. (1976) *Eur. J. Biochem.*, **67**, 123—128.
19. Ziccardi R., Schumacher V. (1973) *Biochemistry*, **12**, 3231—3235.
20. Заленский А. О. (1975) Канд. дис. «Анализ аминокислотных последовательностей в гистонах: эволюция и структура гистонов», Институт цитологии АН СССР, Л.
21. Johns E. V. (1964) *Biochem. J.*, **105**, 611—614.
22. De Lange R. F., Faudbrough D. M., Smith E. L., Bonner J. (1969) *J. Biol. Chem.*, **244**, 319—334.
23. Андреева Е. В., Костылева Е. И., Пинаев Г. П., Тартаковский А. Д. (1972) Материалы научной конференции Института цитологии АН СССР, с. 5—6, Л.
24. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Farr A. L., Randall R. J. (1951) *J. Biol. Chem.*, **193**, 265—273.
25. Cassim J. J., Yang J. T. (1969) *Biochemistry*, **8**, 1947—1951.

Поступила в редакцию
4.VII.1977

После доработки
10.XI.1977

INVESTIGATION OF HISTONE *H4* AND *H2a* SELF-ASSOCIATION BY HYDRODYNAMIC AND OPTICAL METHODS

ZALENSKY A. O.*, RAMM E. I., OSIPOVA T. N.,
VOROB'EV V. I.

*Institute of Cytology, Academy of Sciences of the USSR,
Leningrad; Institute of Marine Biology, Far East Scientific
Center of the Academy of Sciences of the USSR, Vladivostok **

The structural transitions in histones *H4* and *H2a* during their self-association have been investigated by the optical and hydrodynamic methods. In low ionic strength ($\mu \leq \leq 0.01$) solutions the histones behave as low molecular weight substances, the temperature exerting no effect on their characteristics. Under these conditions the polypeptide chains of the two histones are found to contain large amount of left-handed helical structure of *poly-L*-proline II type. On increasing salt-concentration at low temperature (2°) the α -helix content gradually increases. Raising the temperature in the same ionic-strength conditions leads to the formation of high molecular weight aggregates of *H4* which contain up to 30% of β -sheet structure. These aggregates behave as individual, monodisperse, non-interacting particles with the sedimentation constant $s_{20,w}^0$ about 37 S. Unlike histone *H4*, histone *H2a* forms dimers of the sedimentation constant $s_{20,w}^0 = 2.4$ S which contain only α -helical regions. Based on the present results and those found in literature, as well as from histone primary structure analysis, the schemes of histone *H4* and *H2a* self-association are proposed.