

УДК 536.758

А. Н. КАМЛЮК¹, А. В. ШИРКО²

ВЛИЯНИЕ ОДНОНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ НА РАСПРОСТРАНЕНИЕ КОЛЕБАНИЙ ВДОЛЬ ДВОЙНОЙ СПИРАЛИ ДНК

¹*Командно-инженерный институт МЧС Республики Беларусь*²*Белорусский государственный технологический университет**(Поступила в редакцию 15.12.2011)*

В работе предложен метод теоретического определения числа и мест однонитевых разрывов ДНК по характеру прохождения продольной волны вдоль поврежденной молекулы. Моделью молекулы ДНК являлась линейная цепочка n взаимодействующих частиц, соединенных между собой двойной пружиной. Сделано предположение о том, что таким же способом происходит обнаружение однонитевых разрывов в ядре клетки.

Введение. Ионизирующее излучение, воздействуя на живой организм, вызывает в нем обратимые и необратимые изменения, которые приводят к различным биологическим последствиям [1–5]. Среди разнообразных форм повреждений клетки, вызванных излучением, наиболее важной является повреждение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), в которой закодирована информация, контролирующая структуру и функции клетки, а также ее воспроизведение. Ионизирующее излучение может причинить различные типы повреждений ДНК: образование в ДНК внутри- и межцепочечных сшивок, радиационно-химическое окисление пиримидиновых и дезаминирование пуриновых оснований, а также однонитевые и двунитевые разрывы. Эти повреждения возникают как в результате непосредственного действия элементарных частиц с высокой энергией (альфа-частицы, нейтроны, электроны) и коротковолнового излучения (гамма-, рентгеновское, ультрафиолетовое излучение), так и вследствие действия свободных радикалов и растворимых веществ.

Разрывы цепей ДНК являются одной из причин гибели делящихся клеток.

В клетке существует система репарации наследственного материала, которая исправляет большую часть однонитевых разрывов ДНК и химических модификаций. Однако межцепочечные сшивки плохо устранимы, а двунитевые разрывы вообще неустраняемы.

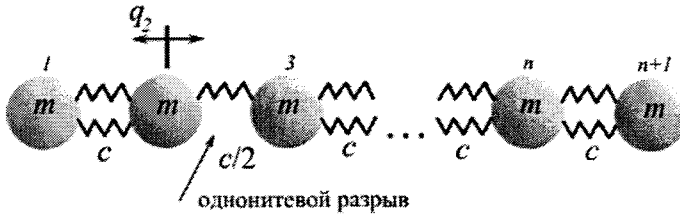


Рис. 1. Модель молекулы ДНК с однонитевыми разрывами: c – константа упругого взаимодействия; q_2 – отклонение второй частицы от равновесного положения; m – частица с массой 660 а. е. м. (пара нуклеотидов)

В данной работе теоретически изучается влияние однонитевых разрывов ДНК на прохождение продольной волны вдоль поврежденной ДНК. Для этого исследования необходимо правильно подобрать динамическую модель: она должна быть простой, но в ней необходимо учитывать двуспиральность ДНК [6].

Модель. Наиболее простой моделью двойной спирали ДНК является линейная цепочка n взаимодействующих частиц. Каждая частица представляет пару нуклеотидов (нуклеотид включает азотистое основание, дезоксирибозу и фосфат) и имеет массу $m = 660$ а. е. м. В модели учитывается взаимодействие только ближайших соседей, которое моделируется парой пружин (рис. 1).

Рассмотрим прохождение продольной волны через цепочку одномассовых частиц. В качестве обобщенных координат q_i выбираем отклонения частиц от их равновесных положений. Составим систему уравнений Лагранжа для цепочки n частиц:

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\partial T}{\partial \dot{q}_i} \right) + \frac{\partial U}{\partial q_i} = 0, \quad i = 1, \dots, n, \quad (1)$$

где $T = 1/2 m \sum \dot{q}_i^2$ – кинетическая энергия системы частиц (массы частиц не изменяются); U – потенциальная энергия взаимодействия между частицами.

Предполагается, что повреждения молекулы, связанные с однонитевыми разрывами, приводят к двукратному уменьшению силы взаимодействия. В рассматриваемой модели это соответствует удалению одной пружины.

Исследуем движение продольной волны вдоль цепочки линейно взаимодействующих частиц. В этом случае потенциал взаимодействия имеет вид

$$U = 1/2 \sum c_i (q_{i+1} - q_i)^2. \quad (2)$$

Тогда система уравнений Лагранжа приводится к виду

$$\begin{aligned} m\ddot{q}_1 + c_1 q_1 - c_2 (q_2 - q_1) &= 0, \\ m\ddot{q}_i + c_i (q_i - q_{i-1}) - c_{i+1} (q_{i+1} - q_i) &= 0, \quad i = 2, \dots, n-1, \\ m\ddot{q}_n + c_n (q_n - q_{n-1}) &= 0, \end{aligned} \quad (3)$$

где $c_i = c$ – константа взаимодействия соседних пар нуклеотидов (частиц). В случае неповрежденной цепи $c_i = c_{st} = 240$ пН/Å (жесткость молекулы ДНК при

растяжении [7]). При одностороннем разрыве жесткость уменьшается в два раза – $c_i = c_{st} = 120$ пН/Å.

Рассмотрим участок цепи ДНК длиной $n = 100$ пар нуклеотидов (частиц). Причем частица $n + 1$ (в нашем случае это частица 101), согласно модели (3), будет неподвижна. Возмущение в систему будем вносить отклоняя в начальный момент времени первую частицу на 1 Å от положения равновесия, т. е. $q_1(0) = 1 \text{ Å}$.

Анализ колебаний. Первоначально решим систему (3) для неповрежденной цепочки (взаимодействие между всеми частицами одинаково) и рассмотрим поведение 1-й и 100-й частиц на временном интервале 12 мкс (рис. 2). Интегрирование уравнений (3) производится численно с помощью пакета Maple. В начальный момент времени все частицы, кроме первой, находятся в положении равновесия и состоянии покоя. Выбор граничного условия $q_1(0)$ произволен, его величина будет влиять только на амплитуды колебаний частиц в цепочке.

Из рис. 2 видно, что колебания 1-й частицы (выведенной из состояния равновесия в начальный момент времени) очень быстро затухают (хотя система является консервативной). Время релаксации составляет около 2 мкс. Примерно через

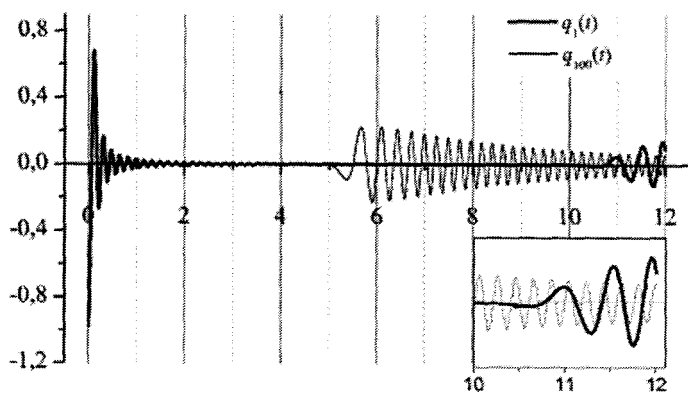


Рис. 2. Колебания 1-й (жирная линия) и 100-й (тонкая линия) частиц в неповрежденной цепочке

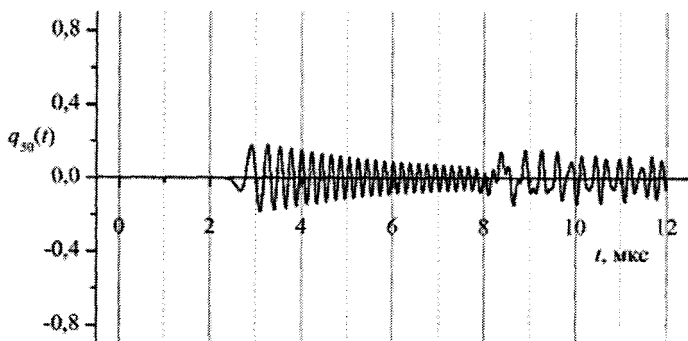


Рис. 3. Колебания 50-й частицы в неповрежденной цепочке

5 мкс волна достигает 100-й частицы и возбуждает ее, однако по сравнению с 1-й частицей время релаксации 100-й частицы будет значительно выше.

Решение показывает, что за 10 мкс продольная волна, возбужденная первой частицей, дошла до правого края цепочки (до 101 частицы), отразилась и вернулась обратно, тем самым вновь возбуждая первую частицу, однако на более низких частотах (см. врезку на рис. 2). Зная, что за 10 мкс волна проходит 100 частиц в одном направлении и 100 частиц в другом можно определить скорость продвижения волны как $v = 200/10 = 20$ нуклеотидов/мкс.

Рассмотрим колебательное движение в середине цепочки. Так 50-я частица возбуждается через 2,5 мкс, однако она не успевает релаксировать и на 8-й секунде встречается с отраженной волной (рис. 3), при этом колебания перестают быть периодическими и движение частицы определяется интерференцией двух волн.

Рассчитаем среднюю кинетическую энергию частиц (пар нуклеотидов) за указанное время наблюдения $t_H = 12$ мкс:

$$T_i = \langle E \rangle_i = \frac{m \langle v_i^2 \rangle}{2} = \frac{\int_0^{t_H} \dot{q}_i^2 dt}{t_H}. \quad (4)$$

Это распределение средней кинетической энергии по частицам можно также интерпретировать как распределение «температуры» вдоль цепочки. Интегрирование уравнения (4) производится численно.

Как видно из рис. 4, температура на первых пяти частицах быстро уменьшается и далее до середины цепочки практически не изменяется. Примерно после 60-й частицы температура начинает колебаться с нарастанием амплитуды.

Это можно объяснить тем, что частицы, находящиеся ближе к левому концу цепочки, до прихода отраженной волны достаточно долго находятся в релаксированном состоянии, а вклад вторичного возбуждения невелик, поэтому температура

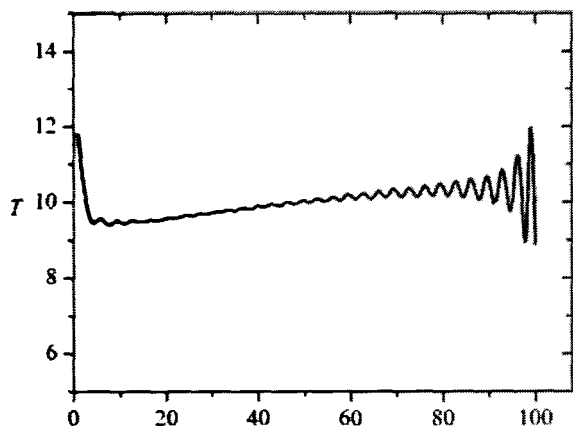


Рис. 4. Изменение температуры вдоль неповрежденной цепочки

на этом участке стремится к равновесному значению за время наблюдения (определяемому первичным возбуждением). Частицы же, находящиеся ближе к правому краю цепочки, не успевают релаксировать и на первичное возбуждение от волны, вызванной первой частицей, накладывается вторичное возбуждение, вызванное отраженной волной, следовательно, температура не приходит к равновесному значению.

Зная поведение продольной волны при ее продвижении вдоль неповрежденной цепочки ДНК, можно

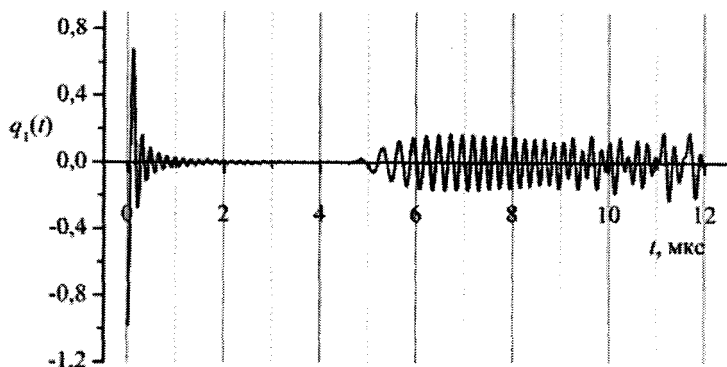


Рис. 5. Колебания 1-й частицы в цепочке, имеющей два односторонних разрыва с неизвестным положением

увидеть существенные отличия при прохождении волны вдоль цепочки, имеющей односторонние разрывы (повреждения). Предположим, что участок ДНК длиной 100 пар нуклеотидов имеет два односторонних разрыва. Причем в модели цепочки эти разрывы моделируются случайным образом. Поставим задачу определить локализацию этих разрывов. Как и в предыдущем случае возбудим первую частицу и рассмотрим продвижение продольной волны вдоль цепочки.

Первая частица передает колебательную энергию второй и как в случае цельной цепочки переходит в состояние покоя через 2 мкс (время релаксации, рис. 5).

Однако в отличие от цельной неповрежденной цепочки, в которой повторное возбуждение частицы происходит через 10 мкс (рис. 2), в случае поврежденной цепочки частица повторно возбудилась через 4,5 мкс. Это свидетельствует о том, что отраженная волна пришла раньше, отразившись от дислокации цепочки. Под дислокацией будем понимать место одностороннего разрыва цепочки, которое вызывает неоднородность ее упругих свойств. По времени вторичного возбуждения можно судить о расстоянии до дислокации, а по характеру этого возбуждения о количестве дислокаций.

Так, на рис. 5 видно, что после вторичного возбуждения (на 4,5 мкс) колебательный процесс имеет явно периодический характер и этот периодический характер сохраняется до 7 мкс. Далее колебания входят в непериодический цикл ($t > 7$ мкс). Это свидетельствует о том, что частица, не успев вернуться к равновесному состоянию, подверглась воздействию еще одной волны (третьей) и результат непериодичности колебаний определяется наложением двух волн. Эта третья волна возбуждения не связана с отражением от правого конца цепочки (от 101 частицы), так как мы уже видели (рис. 2), что такая волна приходит только через 10 мкс. А это означает, что третье возбуждение частицы вызвано волной отраженной от еще одной дислокации.

Таким образом, анализируя колебательное движение частицы (не обязательно первой), можно судить о числе повреждений в цепочке и примерных местах их локализаций.

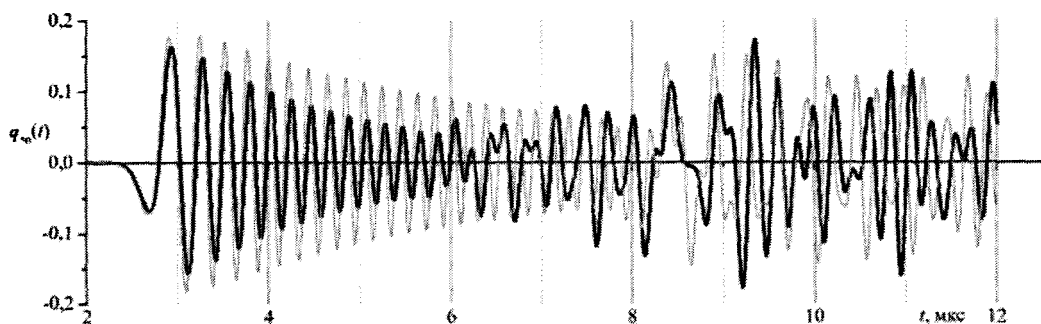


Рис. 6. Колебания 50-й частицы в неповрежденной цепочке (серый цвет) и в цепочке, имеющей две дислокации (черный цвет)

Например, для сравнения колебательного движения 50-й частицы, уже показанного для неповрежденной цепочки (рис. 3), рассмотрим ее поведение в случае поврежденной цепи (рис. 6). Для удобства сопоставления на рис. 6 колебания частицы в неповрежденной цепочке показаны серым цветом.

Анализируя рис. 6, можно утверждать, что между 1-й и 50-й частицами имеется повреждение (дислокация). Это следует из того, что амплитуда колебаний частицы в поврежденной цепочке меньше по сравнению с амплитудой колебаний той же частицы в неповрежденной цепочке. Уменьшение амплитуды объясняется эффектом отражения волны от дислокации: часть энергии отражается от дислокации, часть проходит по цепочке дальше, что определяет колебательное движение с меньшими амплитудами. Кроме того, так как возбуждения частицы в обоих случаях происходят в один и тот же момент времени (около 2,5 мкс), можно говорить, что скорость распространения продольной волны практически не зависит от наличия дислокаций.

Так же из рис. 6 видно, что между 50-й и 101-й частицами имеется еще одна дислокация. Мы уже видели (рис. 5), что нарушение периодичности колебаний связано с наложением идущих навстречу друг другу волн. И если для частицы в неповрежденной цепи это нарушение периодичности происходит через 8 мкс в результате набегания вторичной волны, отраженной от края цепочки, то для частицы в поврежденной цепочке отклонение от периодичности колебаний наступает уже через 6 мкс (участок $6 \text{ мкс} < t < 8 \text{ мкс}$ на рис. 6). Это связано только с отражением волны от дислокации, локализованной между 50-й и 101-й частицами.

На рис. 6 при $t > 8 \text{ мкс}$ можно различить и третью «ударную» волну, которая прошла через дислокацию, отразилась от правого конца цепочки и вернулась к рассматриваемой. Однако в этом случае движение частицы уже носит достаточно случайный характер. Поэтому рассматривать колебательные движения частиц на временах, больших времени прохождения волны в обе стороны, нет смысла, так как на каждой дислокации волны будут раздваиваться, число их будет постоянно увеличиваться, волны будут интерферировать, в результате чего движение частиц в цепочке приобретет абсолютно случайный характер.

Метод определения однопонитевых повреждений в ДНК. Определить точное место дислокаций в цепочке, исследуя колебательное движение частиц достаточно сложно. Для этого нужно точно детектировать время вторичного возбуждения рассматриваемой частицы и знать скорость распространения волны. Особенно сложно этим путем определить более двух дислокаций.

Для точного определения места дислокаций рассмотрим распределение средней кинетической энергии частиц (температуры) за указанное время наблюдения $t_H = 12$ мкс используя (4). На рис. 7 показано распределение температуры вдоль неповрежденной цепочки, цепочки с двумя и тремя дислокациями.

На рис. 7 очень хорошо видны места дислокаций. График показывает, что для цепочки с двумя однопонитевыми разрывами дислокации расположены между 44-й и 45-й частицами и между 79-й и 80-й частицами, для цепочки с тремя однопонитевыми разрывами дислокации локализуются между 32-й и 33-й частицами, между 50-й и 51-й частицами и между 72-й и 73-й частицами.

Ступенчатый характер кривых объясняется частичным отражением продольных волн от дислокаций. Рассмотрим цепочку с тремя дислокациями (график *в* на рис. 7). Волна, возбужденная первой частицей, набегаем на дислокацию 32–33, частично отражается от нее и частично проходит дальше, но с меньшей энергией (скачок 32–33). Видно, что «температура» частиц с 1 по 32 (график *в* на рис. 7) выше температуры этих же частиц при неповрежденной цепочке (график *а* на рис. 7). Это связано с тем, что в неповрежденной цепочке эти частицы релаксируют и достаточно долго находятся практически в положении равновесия (рис. 2). В поврежденной же цепочке волна отражается от дислокации и набегаем на колеблющиеся частицы, не давая им релаксировать. То же самое происходит на дислокации 50–51 и дислокации 79–80, тем самым распределение «температуры» вдоль цепочки носит ступенчатый характер, со ступенями в местах дислокаций.

Так как рассматриваемая система является консервативной, то энергия ее должна сохраняться на рассматриваемом промежутке времени $t_H = 12$ мкс вне зависимости от наличия дислокаций, т. е.

$$\bar{E} = \sum_n \langle E \rangle_i = \text{const.}$$

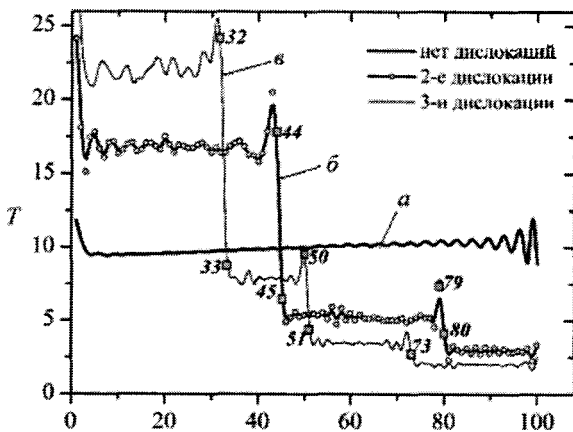


Рис. 7. Изменение температуры вдоль цепочки: *а* – без дислокаций; *б* – с двумя дислокациями; *в* – с тремя дислокациями

Из рис. 7 видно, что закон сохранения выполняется. Если посчитать среднюю кинетическую энергию цепочек, показанных на рис. 7, получим:

- 1) для цепочки без дислокаций $\bar{E} = 1000,14$ единиц,
- 2) для цепочки с двумя дислокациями $\bar{E} = 1000,23$ единиц,
- 3) для цепочки с тремя дислокациями $\bar{E} = 1000,23$ единиц,

что свидетельствует о сохранении энергии в системе и правильности наших расчетов.

Заключение. Таким образом, если известно распределение «температуры» по длине цепочки, можно легко определять место дислокаций, т. е. повреждений ДНК в виде однонитевых разрывов. Если предположить, что в ядре клетки имеется механизм, с помощью которого возможно фиксировать изменение температуры по длине макромолекулярной цепочки, то методом, описанным в этой работе, информация о количестве и местах расположения однонитевых разрывов поступает к ДНК. Впоследствии существующая система репарации устраняет обнаруженные повреждения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Ф10М-013).

Литература

1. Шевченко В. А., Померанцева М. Д. Генетические последствия действия ионизирующих излучений. М., 1985. – 279 с.
2. Нефедов И. Ю., Нефедова И. Ю., Палыга Г. Ф. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2000. Т. 40, № 4. С. 358–372.
3. Минаев Б. Ф., Евтухов Ю. В., Минаева В. А. // Біополімери і клітина. 2005. Т. 21, № 4. С. 351–357.
4. Barber R. C., Nichebotham P., Hatch T. et al. // Oncogene. 2006. Vol. 25. P. 7336–7342.
5. Bouffler S. D., Bridges B. A., Cooper D. N. et al. // Radiat. Res. 2006. Vol. 165, N 3. P. 249–268.
6. Якушевич Л. В. Нелинейная физика ДНК. М.; Ижевск, 2007. – 252 с.
7. Zdravkovic S., Sataric M. // Phys. Rev. E. 2006. Vol. 73. P. 021905–1–11.

A. N. KAMLUK, A. V. SHIRKO

THE INFLUENCE OF SINGLE-STRAND BREAKS ON THE PASSAGE OF A LONGITUDINAL WAVE ALONG THE DOUBLE HELIX DNA

Summary

In this paper, we propose a theoretical method for evaluation of the number and locations of single-strand breaks in DNA using a change in the passage of a longitudinal wave along the double helix. A linear chain of n interacting particles connected by a pair of springs is taken as a model of the DNA molecule. It is suggested that the same method can be used for detection of single-strand breaks in cell nucleus.