

А.Н. Камлюк, ассистент; В.Б. Немцов, профессор

ВЛИЯНИЕ ИОННОГО ОКРУЖЕНИЯ НА УПРУГИЕ СВОЙСТВА МОЛЕКУЛЫ ДНК

The influence of ion environment on the elastic characteristics of a DNA molecule is investigated.

Молекула ДНК является двухцепочечным биополимером. Две ее сахаро-фосфатные цепи закручены друг вокруг друга так, что образуется правозакрученная двойная спираль.

Благодаря уникальной структуре молекулы ДНК ее упругие свойства сильно влияют на биологические функции. Деформации двойной цепи ДНК, такие, как растяжение, изгиб молекулы, кручение одной нуклеотидной цепи относительно второй, имеют важное биологическое значение. Например, во время рекомбинации ДНК рекомбинантные белки типа А полимеризуются вдоль матричной ДНК, и молекула при этом растягивается в 1.5 раза по сравнению с ее контурной длиной в расслабленном состоянии [1].

Сама идея изучения реакции молекулы ДНК на механическое воздействие так же стара, как и открытие самой двойной спирали [2]. Однако детальное исследование упругости ДНК стало возможным только в последнее время благодаря использованию оптических пинцетов, атомной и флюоресцентной микроскопии.

В работе [3] для описания упругих свойств молекулы использовали ее модель в виде двух параллельно работающих винтовых пружин, витки которых представляют собой сахаро-фосфатные остова вместе с жестко связанными с ними азотистыми основаниями.

Такая модель возможна, поскольку в силу своей макроскопичности биополимерная молекула характеризуется упругостью на изгиб и кручение, а также другими макроскопическими свойствами [4].

При этом жесткости на изгиб и кручение стержней, образующих спираль, выражаются через жесткости на изгиб и кручение самой молекулы ДНК. Последние определяются через персистентные длины для изгиба и кручения, которые оцениваются из экспериментальных данных в зависимости от ионных условий, в которых находится молекула ДНК.

Таким образом, использование модели в виде двух пружин связано с реальными особенностями (двойная спираль) молекулы ДНК. Однако следует отметить, что жесткость на изгиб и кручение изолированного сахаро-фосфатного остова, конечно же, существенно отличается от соответствующих жесткостей упругих винтовых стержней в нашей модели.

Кроме того, по своему химическому строению две винтовые линии у молекулы ДНК ориентированы в противоположных направлениях [5]. Однако для нашей физической модели указанная особенность не имеет значения.

Оценка упругих характеристик с учетом указанных особенностей молекулы проводилась на базе теории упругости цилиндрических витых пружин [6–8] с помощью интегралов Мора и с учетом геометрических параметров самой молекулы ДНК.

В настоящей работе изложенный ранее подход для определения упругих характеристик обобщается с учетом влияния ионного окружения молекулы ДНК.

Оценим жесткости на изгиб x_b и кручение x_t остова, используя формулы для жесткостей на кручение f и изгиб g самой молекулы, полученные в работе [3]:

$$f = \frac{2 \sin \alpha}{\left(\frac{\cos^2 \alpha}{x_b} + \frac{\sin^2 \alpha}{x_t} \right)}, \quad (1)$$

$$g = \frac{4 \sin \alpha}{\frac{1 + \sin^2 \alpha}{x_b} + \frac{\cos^2 \alpha}{x_t}}, \quad (2)$$

где α – угол подъема винтовой линии спирали молекулы ДНК.

Следует отметить, что f и g представляют собой силовые константы, отнесенные к расстоянию между ближайшими азотистыми основаниями. Аналогичный смысл имеют и жесткости x_b и x_t .

Решая уравнения (1) и (2) относительно x_b и x_t , получаем

$$x_b = \frac{3 \cos^2 \alpha - 2}{2 \sin \alpha \left(\frac{\cos^2 \alpha}{f} - \frac{2 \sin^2 \alpha}{g} \right)}, \quad (3)$$

$$x_t = \frac{3 \cos^2 \alpha - 2}{2 \sin \alpha \left(\frac{\cos^2 \alpha - 2}{f} + \frac{2 \cos^2 \alpha}{g} \right)}. \quad (4)$$

Отметим, что рассчитанные жесткости x_b и x_t учитывают не только жесткости сахаро-фосфатных остовов, но и взаимодействие азотистых оснований между собой вдоль оси молекулы (так называемый стекинг оснований) и взаимодействие их с помощью водородных связей.

В последнее время экспериментально [9] изучена зависимость персистентной длины P молекулы от ионных условий, в которых она пребывает. В таблицах 1 и 2 экспериментальные данные содержатся во втором столбце, а в последующих столбцах упомянутых таблиц приведены результаты расчета.

При этом в таблице 1 представлены соответствующие значения рассматриваемых параметров для плазмидной ДНК, в то время как в таблице 2 имеются данные для молекулы ДНК бактериофага λ .

Из формул (3) и (4) видно, что жесткости на изгиб и кручение остова молекулы ДНК являются функциями жесткостей изгиба и кручения самой молекулы, значения которых, в свою очередь, зависят от ионных условий. Поэтому представляется возможность оценить жесткости на изгиб и кручение остова молекулы ДНК в виде зависимости их от параметров среды, в которой находится исследуемая молекула.

При этом жесткость молекулы ДНК на изгиб рассчитывается по персистентной изгибной длине с помощью формулы

$$g = \frac{PRT}{h},$$

где R – газовая постоянная; T – абсолютная температура; h – период вдоль оси спирали, то есть расстояние между ближайшими азотистыми основаниями. То есть здесь силовая константа g отнесена к одному моллю вещества.

Таблица 1

Влияние ионного окружения на упругие характеристики плазмидной ДНК

Буфер компонентов	P , нм	g/RT	f/RT	x_b/RT	x_t/RT
10 мМ Na^+	47.4	139.4	209,1	761.6	64.2
10 мМ Na^+ + 10 мкМ Spd^{3+}	40.7	119.7	178	609.4	55.6
10 мМ Na^+ + 100 мкМ Spd^{3+}	38.7	113.8	171.1	634.2	52.2
10 мМ Na^+ + 200 мкМ Spd^{3+}	40.3	118.5	178.2	661.4	54.4
10 мМ Na^+ + 300 мкМ Spd^{3+}	38.9	114.4	172	637.5	52.5

Персистентную длину на кручение экспериментально установить сложнее, чем на изгиб. Поэтому положим, что жесткости на изгиб и кручение изменяются одинаковым образом в зависимости от изменения ионного окружения. Кроме того, будем исходить из соотношения, по которому персистентной длине на изгиб, равной 50 нм, соответствует персистентная длина на кручение, равная 75 нм [2]. Тогда, учитывая сказанное выше, можем оценить значения персистентной длины на кручение по персистентной длине на изгиб.

Примем во внимание геометрические параметры молекулы ДНК по [5]: шаг спирали $H=10h=3.4$ нм; диаметр витка сахара-фосфатного остова $d=2$ нм; $\text{tg}\alpha=H/\pi d$.

Результаты расчета жесткостей на изгиб и кручение остова плазмидной молекулы ДНК представлены в таблице 1, а для молекулы ДНК бактериофага λ – в таблице 2.

Таблица 2

Влияние ионного окружения на упругие характеристики молекулы ДНК бактериофага λ

Буфер компонентов	P , нм	g/RT	f/RT	x_b/RT	x_t/RT
1.86 мМ Na^+	86.2	253.5	381	1408.2	116.4
1.86 мМ Na^+ + 25 мкМ CoHex	14.8	43.5	65.4	242.3	20
9.3 мМ Na^+ + 25 мкМ CoHex	15	44.1	66.3	245.6	20.2
186 мМ Na^+ + 25 мкМ CoHex	51.5	151.4	227	824.1	69.7
1.86 мМ Na^+ + 100 мкМ Spd^{3+}	32.4	95.3	143.2	528.4	43.8
9.3 мМ Na^+ + 100 мкМ Spd^{3+}	44.8	131.8	198.1	732.5	60.5
186 мМ Na^+ + 100 мкМ Spd^{3+}	48	141.2	212.3	787	64.8
186 мМ Na^+	54.1	159.1	239.2	886.3	73

Из таблицы 1 видно, что добавление в буфер, где находится молекула ДНК, к моновалентной соли с концентрацией 10 мМ Na^+ трехвалентных катионов спермидина³⁺ (Spd^{3+}) приводит к уменьшению значений жесткости на изгиб и кручение остова молекулы ДНК. При этом повышение концентрации трехвалентных катионов спермидина³⁺ не приводит к существенному изменению значений упругих характеристик молекулы ДНК.

Из таблицы 2 видно, что при постоянной концентрации трехвалентных катионов гексамина кобальта III (CoHex) или спермидина³⁺ и постепенном увеличении концентрации моновалентной соли происходит увеличение значений жесткости на изгиб и кручение остова молекулы.

Отметим, что если молекула ДНК находится в буфере моновалентной соли (таблица 2) при отсутствии мультивалентных катионов, то при повышении ее концентрации жесткость на изгиб и кручение уменьшается, что подробно обсуждалось в работе [10].

При низкой концентрации моновалентной соли (менее 10 мМ Na⁺) в присутствии трехвалентных катионов гексамина кобальта III (CoHex) жесткости на изгиб и кручение остова значительно меньше, чем в присутствии катионов спермидина³⁺. Это свидетельствует о том, что гексамин кобальта III (CoHex) является более сильным конденсирующим агентом по сравнению со спермидином.

Таким образом, видно, что упругие характеристики молекулы ДНК существенно зависят от ионного окружения. Поэтому этот фактор необходимо учитывать при моделировании статистики деформированного состояния молекулы ДНК, а также ее динамики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Haijun Zhou, Yang Zhang and Zhong-can Ou-Yang. Elastic property of single double-stranded DNA molecules: Theoretical study and comparison with experiments // *Phys. Rev. E.*—2000.—V.62, N1.—P.1045–1058.
2. Kamien R.D., Lubensky T. C., Nelson P., O'Hern C.S. Direct determination of DNA twist-stretch coupling // *Europhys. Lett.*—1997.—V.38, N3.—P.237–242.
3. Nemtsov V.B, Kamlyuk A.N. Evaluation of the force constant of a DNA molecule using its model in the form of coil springs // *Journal of Engineering Physics and Thermophysics.*—2001.—V.74, N. 5.—P.1253–1261.
4. Немцов В.Б. Неравновесная статистическая механика систем с ориентационным порядком. Мн.: Тэхналогія, 1997.—278 с.
5. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. М.: Мир, 1987.—584 с.
6. Феодосьев В. И. Избранные задачи и вопросы по сопротивлению материалов. М.: Наука, 1973.—400 с.
7. Феодосьев В. И. Сопротивление материалов. М.: Наука, 1986.—512 с.
8. Тимошенко С. П. Сопротивление материалов. Т.2. М.: Наука, 1965.
9. Baumann G. et al. Stretching of single collapsed DNA molecules // *Biophys. J.*—2000.—V. 78.— P. 1965–1978.
10. Hagerman P.J. Flexibility of DNA // *Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.*—1988.—V.17.— P. 265–286.

УДК 536.758

А.Н. Камлюк, ассистент

НИЗКОЧАСТОТНЫЕ КОЛЕБАНИЯ МОЛЕКУЛЫ ДНК В ВЯЗКОМ РАСТВОРЕ

The dynamics of low-frequency vibrations of double-stranded DNA molecules in a viscous fluid is investigated. The structure of the low-frequency macromolecule vibration spectrum is determined.

Исследование низкочастотных колебаний ($\omega < 200 \text{ см}^{-1}$) молекулы ДНК представляет значительный интерес. Такие колебания, как правило, охватывают всю структуру молекулы ДНК и характеризуют ее конформационное состояние в целом. В результате этого низкочастотные колебания могут играть важную роль в актах биологического функционирования биополимера.

В недавней работе [1] сообщалось, что амплитуды смещений оснований в молекуле ДНК, полученные экспериментально, меньше по сравнению с их теоретическими