

Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова
Національної академії наук України
Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ПЕРЕПЕЛИЦЯ СЕРГІЙ МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 538.9; 539.1; 539.2; 544.6; 577

ДИСЕРТАЦІЯ

СТРУКТУРА ТА ДИНАМІКА ВПОРЯДКУВАННЯ ПРОТИЙОНІВ

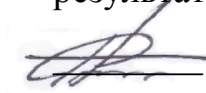
НАВКОЛО ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК

01.04.02 – теоретична фізика

03.00.02 – біофізика (фізико-математичні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 С.М. Перепелиця

Київ - 2023

АНОТАЦІЯ

Перепелиця С.М. Структура та динаміка впорядкування протийонів навколо подвійної спіралі ДНК. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук за спеціальностями 01.04.02 – теоретична фізика, 03.00.02 – біофізика (фізико-математичні науки). – Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова Національної академії наук України. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, МОН України Київ, 2023.

У природних умовах ДНК має форму подвійної спіралі, всередині якої містяться пари нуклеотидів, що кодують генетичну інформацію, а зовні знаходиться негативно заряджений цукро-фосфатний остов. Кожна фосфатна група остова ДНК містить заряд, що дорівнює заряду електрона. Для стабілізації структури подвійної спіралі ДНК необхідно, аби заряди фосфатних груп нейтралізувалися позитивно зарядженими мобільними іонами (протийонами), що знаходяться у розчині, або позитивно зарядженими структурними елементами на поверхні білкових молекул, з якими взаємодіє ДНК в клітині організму. Протийонами, як правило, є іони металів, наприклад, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} та інші, а також молекулярні іони, наприклад, поліаміни (путресцин²⁺, спермідин³⁺, спермін⁴⁺). У роботі досліджувалася роль іонів металів та молекулярних іонів в структурній динаміці подвійної спіралі, розвинуто концепцію динамічного впорядкування протийонів навколо макромолекули ДНК.

У вступі обґрунтовано тему дисертації та сформульовано мету та головні задачі дослідження.

У розділі 1 наведено необхідну для розуміння матеріалу дисертації інформацію про макромолекулу ДНК, стабільність структури подвійної спіралі та роль іон-гідратного середовища у формуванні її фізичних властивостей. Систематизовано інформацію відносно наявних результатів експериментальних і теоретичних досліджень структури та динаміки подвійної спіралі ДНК з проти-

йонами та молекулами води. Наведено ключові результати, що були одержані в рамках кандидатської дисертації автора і, які були далі використані в представленій роботі.

У розділі 2 сформульовано концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК, згідно з якою протийони навколо подвійної спіралі формують регулярну структуру, подібну до ґратки іонного типу. Охарактеризовано властивості іон-фосфатної ґратки у випадку різних форм ДНК з різними протийонами металів. Показано, що стабільність різних форм подвійної спіралі знаходиться у порядку: $B > C > D$. Обґрунтовано необхідність пошуку специфічних коливань протийонів відносно фосфатних остова ДНК, що мають проявлятися низькочастотному коливному спектрі ($< 200 \text{ см}^{-1}$).

Розвинуто моделі для дослідження низькочастотних коливань ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ та Mg^{2+} в різному положенні відносно фосфатних груп. Розглянуто випадки правої і лівої подвійної спіралі, враховуючи особливості структури різних форм ДНК, а також характерне розташування протийонів в структурі подвійної спіралі. У результаті одержано аналітичні вирази для розрахунку частот і амплітуд коливань структурних елементів подвійної спіралі. Знайдено необхідні розрахункові параметри.

На основі напівкласичної теорії розвинуто підхід для описання інтенсивностей мод конформаційних коливань ДНК в низькочастотних спектрах комбінаційного розсіювання. У результаті одержано аналітичні вирази для інтенсивностей смуг в низькочастотному спектрі ДНК, що характеризують конформаційні коливання подвійної спіралі. Визначено необхідні структурні та валентнооптичні параметри нуклеотидів ДНК для розрахунку інтенсивностей.

У розділі 3 за допомогою побудованого в даній роботі підходу розраховано частоти та амплітуди конформаційних коливань ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ і Mg^{2+} . Оцінено інтенсивності мод конформаційних коливань ДНК в спектрі комбінаційного розсіювання світла. Для протийонів Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+ показано, що моди іон-фосфатних коливань знаходяться в діапазоні від 100 до 180 см^{-1} , залежно від типу протийону і форми подвійної спіралі. Частота іон-

фосфатних коливань зменшується зі збільшенням маси іона, а інтенсивність коливань навпаки зростає. Для Cs-ДНК виявлено, що мода іон-фосфатних коливань проявляється у вигляді інтенсивної смуги в спектрі комбінаційного розсіювання світла біля 115 см^{-1} , а у випадку Na-ДНК інтенсивність спектру в цій області значно нижча. Цей результат повністю узгоджується з експериментом та підтверджує існування моди іон-фосфатних коливань. У випадку лівозакрученої подвійної спіралі Z-ДНК визначено нову моду іон-фосфатних коливань близько частоти 150 см^{-1} , яка характеризує коливання протийонів Mg^{2+} по відношенню до фосфатних груп різних ланцюгів остова макромолекули. Інтенсивність цієї моди досить висока, тому вона спостерігається в експериментальних спектрах комбінаційного розсіювання Z-ДНК.

Розділі 4 присвячено дослідженню проявів впорядкування протийонів в деяких експериментах. Зокрема, вивчено формування текстур у плівках ДНК з солями LiCl, NaCl, KCl, RbCl та CsCl. Для розчину тимусної ДНК з концентрацією 10 ммоль/л NaCl, KCl та RbCl після випаровування було отримано плівки з дендритними текстурами, тоді як у випадку CsCl текстури у плівках було зафіксовано лише при концентрації 30 ммоль/л надлишку солі у вихідному розчині. У випадку солі LiCl текстури плівок ДНК не спостерігалися у всьому аналізованому діапазоні концентрацій надлишку солі. Аналіз параметрів плівок ДНК з різними солями показав, що випаровування розчину призводить до кристалізації іонів солі на макромолекулі ДНК та утворення комплексів ДНК із сіллю. Показано, що присутність макромолекули ДНК посилює кристалізацію солі порівняно з розчином без ДНК. Було виявлено, що властивість надлишку солі утворювати кристалічні структури знижується як $\text{KCl} > \text{NaCl} > \text{RbCl} > \text{CsCl} > \text{LiCl}$, що узгоджується з експериментальними даними.

Досліджено впорядкування протийонів навколо ДНК за допомогою методу електропровідності водних розчинів ДНК з сіллю KCl ($0 - 2\text{ моль/л}$) при різних температурах ($28 - 70\text{ }^{\circ}\text{C}$). Порівняння електропровідності розчину ДНК з додаванням солі та розчину електроліту без ДНК показало, що при концентрації нижче, ніж $0,4\text{ моль/л}$ (критична концентрація) електропровідність розчинів

ДНК є вищою за електропровідність відповідного розчину електроліту. Починаючи з критичної концентрації електропровідність електроліту вища за електропровідність розчину ДНК. Результати експерименту пояснено в рамках моделі, що ґрунтується на концепції динамічної іон-фосфатної гратки ДНК.

Проведено молекулярно-динамічне моделювання для системи К-ДНК у зовнішньому електричному полі, що напрямлено паралельно і перпендикулярно осі подвійної спіралі. Показано, що протийони біля подвійної спіралі суттєво уповільнюються порівняно з розчином вільної солі: всередині ДНК рухливість протийонів у 6 разів нижча ніж у іонів в розчині KCl (близько 0,35 мСм/см). У випадку паралельної орієнтації електричного поля ДНК можна розглядати як провідник, який містить лінійний кор макромолекули, що конденсує протийони. У випадку електричного поля, перпендикулярного до подвійної спіралі, при високих напругах (~2000 мВ) спостерігалось плавлення ДНК, що відомо в літературі як *field-induced melting*.

У розділі 5 з урахуванням відмінностей властивостей протийонів у внутрішній та зовнішній областях ДНК була розроблена аналітична модель для опису захоплення одновалентних протийонів усередині жолобів подвійної спіралі. За основу була взята модель теорії конденсації протийонів Меннінга. У результаті показано, що для В-ДНК кількість захоплених одновалентних протийонів знаходиться в діапазоні від 0,16 до 0,43 на одну фосфатну групу. Кількість протийонів, які можуть бути локалізовані у внутрішніх областях подвійної спіралі ДНК набагато менша, ніж загальна кількість конденсованих протийонів. Проведені в роботі молекулярно-динамічні симуляції В-ДНК з протийонами K^+ підтверджують результати запропонованої моделі.

Методом молекулярної динаміки досліджено динаміку вільних та захоплених протийонів Na^+ , K^+ , Cs^+ та Mg^{2+} навколо фрагмента подвійної спіралі ДНК. Встановлено, що розташування протийонів відносно атомів подвійної спіралі суттєво залежить від характеру їхньої гідратації. Перша гідратна оболонка Mg^{2+} та Na^+ складалася з 6 молекул води, а у випадку Cs^+ і K^+ – з 10 і 7 молекул води відповідно. Позитивно гідратовані іони Mg^{2+} та Na^+ взаємодіють з атомами

ДНК переважно опосередковано через молекули води, а негативно гідратовані іони Cs^+ і K^+ частіше утворюють прямі контакти. Взаємодіючи з атомами макромолекули, Cs^+ і K^+ можуть дегідратуватися на 5 і 3 молекули води відповідно, що дає змогу цим іонам проходити крізь гідратну оболонку ДНК вглиб подвійної спіралі. Час перебування протийонів у мінорному жолобі набагато більший, ніж у головному жолобі, а у випадку протийонів Cs^+ він може досягати 10 нс. У цьому масштабі часу протийони накопичуватися в мінорному жолобі, утворюючи регулярну впорядковану структуру вздовж подвійної спіралі, подібну до ґратки іонного кристалу.

На основі молекулярно-динамічних симуляцій досліджено динаміку молекул води в гідратній оболонці позитивно (Na^+) та негативно (K^+ та Cs^+) гідратованих протийонів навколо подвійної спіралі ДНК. Показано, що динаміка молекул води у гідратній оболонці протийонів залежить від їхньої локалізації навколо подвійної спіралі, що є проявом взаємодії молекул води у гідратних оболонках ДНК та протийонів. Найбільший час перебування молекули води спостерігається для протийонів у мінорному жолобі подвійної спіралі: близько 50 пс для протийону Na^+ і менше 10 пс для протийонів K^+ та Cs^+ . У головному жолобі і поза подвійною спіраллю характерний час осідлого життя молекул води в гідратній оболонці протийону значно нижчий.

У розділі 6 проведено молекулярно-динамічне моделювання взаємодії протийонів Na^+ з подвійною спіраллю ДНК у водному розчині з молекулами пероксиду водню (H_2O_2). Показано, що протийони Na^+ розподіляються навколо ДНК так само, як і у водному розчині без пероксиду водню. Молекули H_2O_2 можуть входити в гідратну оболонку іону Na^+ , витісняючи з неї одразу дві молекули води. Дослідження конкурентного зв'язування молекул пероксиду водню та води з фосфатними групами остова подвійної спіралі показало, що молекули пероксиду водню зв'язуються з атомами кисню O_1 та O_2 фосфатних груп, витісняючи молекули води з гідратної оболонки. Аналіз можливих структур, які можуть бути утворені молекулою H_2O_2 у комплексі з фосфатною групою ДНК, показав, що найбільш імовірними є комплекси, в яких молекула пероксиду вод-

ню зв'язана з одним з атомів кисню фосфатної групи одним водневим зв'язком, є домінуючими. Також можливі комплекси, в яких молекула H_2O_2 зв'язана з фосфатною групою за допомогою двох водневих зв'язків, або за допомогою водневого зв'язку та контакту, опосередкованого протийоном Na^+ .

У розділі 7 проведено молекулярно-динамічне моделювання взаємодії ДНК з молекулярними протийонами – молекулами поліамінів. Для путресцину²⁺, спермідину³⁺ та сперміну⁴⁺ показано, що вони переважно локалізуються в міночному жолобі подвійної спіралі, що характеризується найменшою шириною. У випадку розглянутого фрагмента ДНК найвужчою областю є мінорний жолоб з послідовністю нуклеотидів ААТТ. Для визначення фізичного механізму переважного зв'язування поліамінів було розроблено феноменологічну модель, яка дозволила оцінити вільну енергію системи як функцію локалізації поліаміну. Оцінені енергії системи показують, що найвужчий жолоб подвійної спіралі енергетично сприйнятливий для взаємодії з поліамінами.

У областях, де відбуваються ДНК-ДНК контакти, молекули поліамінів, що взаємодіють з подвійною спіраллю, утворюють поперечні зшивки і мають тенденцію орієнтуватися паралельно фосфатним групам остова подвійної спіралі, які можуть належати до різних макромолекул. Показано, що на дуже короткій відстані (20 Å) спермідин³⁺ ефективно застрягає між молекулами ДНК у своїх сайтах зв'язування. Збільшуючи міжспіральну відстань до 25 Å, поліаміни переміщуються від одного місця зв'язування до іншого. Збільшення відстані між спіралями ДНК до 30 Å призводить до збільшення мобільності спермідину³⁺, таким чином скорочуючи час перебування в міжспіральному просторі. Беручи до уваги, що локалізація молекул спермідину³⁺ у мінорному жолобі є більш імовірною в областях ААТТ та АТАТ, робиться припущення, що утворення поліамінних поперечних зшивок може регулюватися послідовністю нуклеотидів.

Ключові слова: ДНК, протийон, вода, пероксид водню, поліамін, путресцин²⁺, спермідин³⁺, спермін⁴⁺, поліелектроліт, конформаційні коливання, низькочастотні спектри, гідратація, конденсація, молекулярна динаміка, текстура, електропровідність, ґратка.

ABSTRACT

Perepelytsya S.M. Structure and dynamics of counterion ordering around the DNA double helix. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Physical and Mathematical Sciences in the specialties 01.04.02 – theoretical physics, 03.00.02 – biophysics (physical and mathematical sciences). – Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2023.

Under natural conditions, DNA has the form of a double helix, which contains nucleotide pairs encoding genetic information, and the outside is a negatively charged sugar-phosphate backbone. Each phosphate group of the DNA backbone contains a charge that is equal to the charge of an electron. To stabilize the structure of the DNA double helix, phosphate charges must be neutralized by positively charged mobile ions (counterions) from solution or by positively charged structural elements on the surface of protein molecules with which the DNA macromolecule interacts in a living cell. The counterions are usually metal ions, such as Na^+ , K^+ , Mg^{2+} and others, as well as molecular ions, such as polyamines (putrescine²⁺, spermidine³⁺, spermine⁴⁺). In the present work, the structural dynamics of DNA with the metal ions and active molecules have been studied. A concept of dynamical ordering of counterions around DNA is developed.

In the Introduction, the topic of the research has been formulated as well as goal and problems of the study.

Section 1 provides information on the structure of DNA, the stability of the double helix, and the role of the ion-hydrate medium in the formation of the physical properties of the macromolecule, which is necessary for understanding the material. The information about the results of experimental and theoretical studies of the structure and dynamics of the DNA double helix with counterions and water molecules is systematized. The key results obtained within the framework of the author's Ph.D.

thesis and which were further used in the presented work have been presented. Unsolved problems concerning the study of DNA with counterions have been formulated.

Section 2 formulates the concept of the dynamical DNA ion-phosphate lattice, according to which the counterions around the double helix form a regular structure similar to the ionic lattice. The properties of the ion-phosphate lattice are characterized for the case of different forms of DNA double helix with different counterions. The stability of different forms of the double helices is shown to form the order: $B > C > D$. The necessity of searching for specific vibrations of counterions relative to the phosphate backbone of DNA, which should be observed in the low-frequency vibrational spectra ($< 200 \text{ cm}^{-1}$), is grounded.

The models for the study the low-frequency vibrations of DNA with Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ and Mg^{2+} counterions in different positions with respect to the phosphate groups of the right-handed DNA double helix have been developed. Different cases of the left- and right-handed double helices with the counterions in different positions in the DNA structure have been considered. As the result, the formulae for the frequencies and amplitudes of vibrations of the double helix structure elements have been obtained. The necessary calculation parameters were found.

On the basis of the semiclassical theory, an approach has been developed for the description of the intensities of the modes of DNA conformational vibration in the low-frequency Raman spectra. As the result, analytical expressions have been obtained for the intensities of the bands in the low-frequency spectrum of DNA, which characterize the conformational vibrations of the double helix. The structural and valence-optical parameters of DNA nucleotides that are necessary for the calculations of the intensities have been determined.

In Section 3, using the approach developed in this work, the frequencies and amplitudes of DNA conformational vibrations with Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , and Mg^{2+} counterions have been calculated. The intensities of the modes in the Raman low-frequency spectra have been estimated. For Na^+ , K^+ , Rb^+ and Cs^+ counterions, it was shown that the modes of ion-phosphate vibrations are in the range from 100 to 180

cm^{-1} , depending on the type of counterion and the form of the double helix. The frequency of the ion-phosphate vibrations decreases as the ion mass increases, while the intensity of vibrations, on the contrary, increases. For Cs-DNA, the mode of ion-phosphate vibrations in the Raman spectrum has been found as intensive band 115 cm^{-1} , while in the case of Na-DNA, the intensity of the spectrum in this region is much lower. This result agrees with the experiment and confirms the existence of the ion-phosphate vibration mode. In the case of Z-DNA, a new mode of ion-phosphate vibrations near a frequency of 150 cm^{-1} has been determined. This mode characterizes the vibrations of Mg^{2+} counterions with respect to the phosphate groups of different strands in Z-DNA double helix. The intensity of this mode is rather high, making possible the observation in the experimental Raman spectra.

Section 4 is dedicated to the study of the manifestations of counterion ordering in some experiments. In particular, the texture formation in DNA films with LiCl, NaCl, KCl, RbCl, and CsCl salts has been studied. For the calf thymus DNA solution with 10 M concentration of NaCl, KCl and RbCl after evaporation the films with dendritic textures have been obtained, while in the case of CsCl the textures in the films have been observed only at the concentration 30 M of excess salt in the initial solution. In the case of the LiCl salt, the textures in DNA film have not been observed in the entire analysed range of excess salt concentrations. The analysis of the parameters of DNA films with different salts showed that evaporation of the solution leads to crystallization of salt ions on the DNA macromolecule and the formation of DNA complexes with salt. The presence of a DNA macromolecule has been shown to enhance the crystallization of the salt compared to a solution without DNA. The property of excess salt to form crystalline structures has been found in the order $\text{KCl} > \text{NaCl} > \text{RbCl} > \text{CsCl} > \text{LiCl}$ that is in agreement with the experiment.

The ordering of counterions around DNA has been studied by electrical conductivity of aqueous solutions of DNA with KCl salt in concentration range from 0 to 2 M and at different temperatures ($28 - 70 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Comparison of the electrical conductivity of the DNA solution with the added salt and electrolyte solution without DNA has been shown that at a concentration lower than 0,4 M (critical concentration) the elec-

trical conductivity of DNA solutions is higher than the electrical conductivity of the corresponding electrolyte solution. Starting from the critical concentration, the electrical conductivity of the electrolyte is higher than the electrical conductivity of the DNA solution. The results of the experiment have been explained in terms of the developed model based on the concept of a dynamic ion-phosphate lattice.

The molecular dynamics simulations of K-DNA in an external electric field parallel to and perpendicular to the axis of the double helix has been carried out. The counterions near the double helix have been shown to be significantly slowed down compared to the free salt solution. Inside DNA, the mobility of counterions is 6 times lower than that of ions in a KCl solution (about 0,35 mS/cm). In the case of a parallel orientation of the electric field to the macromolecule, DNA can be considered as a wire consisting of a linear core condensing counterions around. In the case of an electric field perpendicular to the double helix, at high voltages (~ 2000 mV) the melting of DNA has been observed that is known in the literature as *field-induced melting*.

In Section 5, taking into account the difference between properties of counterions in the inner and outer regions of DNA, an analytical model has been developed to describe the trapping of univalent counterions inside the grooves of the double helix. The model of the Manning's theory of counterion condensation has been taken as a basis. As a result, the number of trapped univalent counterions in B-DNA has been found in the range from 0,16 to 0,43 per phosphate group. The number of counterions that can be localized in the inner regions of the DNA double helix is much lower than the total number of condensed counterions. The performed in the present work, molecular dynamics simulations for B-DNA with K^+ counterions confirm the results of the proposed model.

The dynamics of Na^+ , K^+ , Cs^+ and Mg^{2+} counterions in the ion-hydration shell of a fragment of the DNA double helix has been studied within the framework of molecular dynamics methods. It has been established that the distribution of counterions with respect to the atoms of the double helix essentially depends on the nature of their hydration. The first hydrate shell of Mg^{2+} and Na^+ consisted of 6 water molecules, and in the case of Cs^+ and K^+ – of about 10 and 7 water molecules, respectively. Posi-

tively hydrated Mg^{2+} and Na^+ ions interact with DNA atoms, mainly indirectly through water molecules; negatively hydrated Cs^+ and K^+ ions can form direct contacts. Interacting with the atoms of the macromolecule, Cs^+ and K^+ can be dehydrated by 5 and 3 molecules of water, respectively, which allow these ions to squeeze through the hydration shell of DNA deep inside the double helix. The residence time of counterions in the minor groove is much longer than in the major groove, and in the case of Cs^+ counterions it can reach 10 ns. At this timescale the counterions are accumulated in the minor groove, forming a regular ordered structure along the double helix, resembling the ionic lattice.

Using the molecular dynamics simulations, the dynamics of water molecules in the hydrated shell of positively (Na^+) and negatively (K^+ and Cs^+) hydrated counterions around the DNA double helix has been studied. The dynamics of water molecules in the hydrated shell of counterions has been shown to be depended on their localization around the double helix, which is a manifestation of the interaction of water molecules in the hydrated shell of DNA and counterions. The longest residence time of the water molecule is observed for counterions in the minor groove of the double helix: about 50 ps for Na^+ counterion and less than 10 ps for K^+ and Cs^+ counterions. In the major groove and outside the double helix, the characteristic residence time of water molecules in the hydrate shell of the counterion is much lower.

In Section 6, the molecular dynamics study of the distribution of Na^+ around the DNA double helix in aqueous solution with hydrogen peroxide (H_2O_2) has been carried out. The obtained distribution of counterions around DNA in the presence of hydrogen peroxide is the same as in the case of solution without H_2O_2 . The study of competitive binding of hydrogen peroxide and water molecules with the phosphate groups of the macromolecule backbone has shown that the hydrogen peroxide molecules bind to the O_1 and O_2 oxygen atoms of the phosphate groups of the double helix backbone, substituting the water molecules from the hydrate shell. The analysis of the possible structures that can be formed by the H_2O_2 molecule in complex with the phosphate group of DNA showed that four complexes are the most probable. The complexes in which the hydrogen peroxide molecule is bonded to one of the oxygen

atoms of the phosphate group by one hydrogen bond are dominant. The complexes in which the H_2O_2 molecule is bonded to the phosphate group by two H-bonds or via an H-bond and an ion-mediated contact were found also possible.

In Section 7, the molecular dynamics modelling of the interaction of DNA with molecular counterions, polyamine molecules, has been carried out. The putrescine²⁺, spermidine³⁺, and spermine⁴⁺ have been shown to be predominantly localized in the grooves of the double helix (mainly minor groove), which is characterized by the smallest width. In the case of the considered DNA fragment, the narrowest region is a minor groove with a sequence of nucleotides AATT. To determine the physical mechanism of preferential binding of polyamines, a phenomenological model was developed that made it possible to estimate the free energy of the system as a function of polyamine localization. The estimated energies of the system show that the narrow groove of the double helix is energetically favourable for the interaction with polyamines.

In regions, where DNA-DNA contacts occur, the polyamine molecules interacting with the double helix form the cross-links and tend to orient themselves parallel to the phosphate groups of the double helix backbone, which may belong to different macromolecules. It has been shown that, at a very short distance (20 Å between helical axes), spermidine³⁺ located between DNA molecules effectively gets stuck in its binding sites. By increasing the spacing to 25 Å, the polyamines can move from one binding site to another. The increase of the distance between axes of DNA helices to 30 Å leads to the increase of the mobility of spermidine³⁺, thus reducing the residence time in the space between helices. Considering that the localization of spermidine³⁺ molecules in the minor groove is more likely in the AATT and ATAT regions, the formation of polyamine cross-links are suggested to be regulated by the nucleotide sequence.

Keywords: DNA, counterion, water, hydrogen peroxide, polyamine, putrescine²⁺, spermidine³⁺, spermine⁴⁺, polyelectrolyte, conformational vibrations, low-frequency spectra, hydration, condensation, molecular dynamics, textures, electrical conductivity, lattice.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати

*Статті в журналах, які входять до наукометричної бази даних SCOPUS
та/або переліку МОН України входять*

1. T. Vasiliu, F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, and **S. Perepelytsya**, *Caging polycations: Effect of increasing confinement on the modes of interaction of spermidine³⁺ with DNA double helices*, *Frontiers in Chemistry*, **10**, 836994 (2022). <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.836994> (Q1)
2. **S.M. Perepelytsya** and O.O. Zdorevskyi, *Counterion atmosphere around DNA double helix: Trapping of counterions at the nanoscale*, *Low Temperature Physics*, **48**, No. 4, pp. 293-300 (2022). <https://doi.org/10.1063/10.0009733> (Q3)
3. **S. Perepelytsya**, J. Uličný, and S. N. Volkov, *Molecular dynamics study of the competitive binding of hydrogen peroxide and water molecules with DNA phosphate groups*, *European Biophysics Journal*, **50**, 759-770 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00249-021-01522-8> (Q3)
4. **S.M. Perepelytsya**, *Positively and negatively hydrated counterions in molecular dynamics simulations of DNA double helix*, *Ukrainian Journal of Physics*, **65**, No. 6, 510-520 (2020). <https://doi.org/10.15407/ujpe65.6.510> (Q4)
5. O.O. Zdorevskyi and **S.M. Perepelytsya**, *Dynamics of K⁺ counterions around DNA double helix in the external electric field: A molecular dynamics study*, *European Physical Journal E*, **43**, 77 (2020). <https://doi.org/10.1140/epje/i2020-12000-0> (Q2)
6. **S. Perepelytsya**, J. Uličný, A. Laaksonen, and F. Mocci, *Pattern preferences of DNA nucleotide motifs by polyamines putrescine²⁺, spermidine³⁺ and spermine⁴⁺*, *Nucleic Acids Research*, **47**, 6084-6097 (2019). <https://doi.org/10.1093/nar/gkz434> (Q1)

7. **S. Perepelytsya**, *Hydration of counterions interacting with DNA double helix: A molecular dynamics study*, Journal of Molecular Modeling **24**, 171 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00894-018-3704-x> (Q3)
8. O.O. Liubysh, A.V. Vlasiuk, and **S.M. Perepelytsya**, *Structurization of counterions around DNA double helix: A molecular dynamics study*, Ukrainian Journal of Physics, **60**, 433-442 (2015). <https://doi.org/10.15407/ujpe60.05.0433> (Q4)
9. O.O. Liubysh, O.M. Alekseev, S.Y. Tkachov, and **S.M. Perepelytsya**, *Effect of ionic ordering in conductivity experiments of DNA aqueous solutions*, Ukrainian Journal of Physics, **59**, 480-488 (2014). <https://doi.org/10.15407/ujpe59.05.0479> (Q4)
10. **S.M. Perepelytsya**, G.M. Glibitskiy, and S.N. Volkov, *Texture formation in DNA films with alkali metal chlorides*, Biopolymers, **99**, 508-516 (2013). <https://doi.org/10.1002/bip.22209> (Q1)
11. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Vibrations of ordered counterions around left- and right-handed DNA double helices*, Journal of Physics: Conference Sereries, **438**, 012013 (2013). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/438/1/012013>
12. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Dynamics of ion-phosphate lattice of DNA in left-handed double helix form*, Ukrainian Journal of Physics **58**, 554-561 (2013). <https://doi.org/10.15407/ujpe58.06.0554> (Q4)
13. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Conformational vibrations of ionic lattice in DNA: Manifestation in the low-frequency Raman spectra*, Journal of Molecular Liquids, **164**, 113-119 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2011.04.015> (Q2)
14. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Low-frequency vibrations of DNA with counterions in cross-stranded position*, Ukrainian Journal of Physics **55**, 1182-1188 (2010). (Q4) <http://archive.ujp.bitp.kyiv.ua/files/journals/55/11/551104p.pdf>
15. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Intensities of DNA ion-phosphate modes in the low-frequency Raman spectra*, European Physics Journal E **31**, 201 (2010). <https://doi.org/10.1140/epje/i2010-10566-6> (Q1)

16. **С.М. Перепелиця**, С.Н. Волков, *Інтенсивності смуг низькочастотного спектру КР ДНК з легкими та важкими протиіонами*, Вісник 23, 5-19 (2009). <https://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk/article/view/4267>
17. Л.А. Булавін, Г.М. Вербінська, О.А. Загородня, **С.М. Перепелиця**, О.Г. Вареня, Т.А. Кравцова, *Визначення енергії взаємодії між водою та молекулами ДНК методом випаровування*, Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія «Фізико-математичні науки» №3, 295-298 (2009). https://bphm.knu.ua/index.php/bphm/issue/view/21/2009_3
18. Л.А. Булавін, Д.О. Шамайко, О.М. Алексєєв, **С.М. Перепелиця**, *Час життя протиіонів натрію в іон-гідратному шарі молекули ДНК*, Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія «Фізико-математичні науки», №2, 198-203 (2008). https://bphm.knu.ua/index.php/bphm/issue/view/16/2008_2
19. Л.А. Булавін, О.А. Загородня, **С.М. Перепелиця**, Т.А. Кравцова, *Дослідження гомогенності систем вода - ДНК*, Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія «Фізико-математичні науки» №3, 249-250 (2010). https://bphm.knu.ua/index.php/bphm/issue/view/25/2010_3
20. Л.А. Булавін, О.Г. Вареня, Г.М. Вербінська, О.А. Загородня, **С.М. Перепелиця**, *Вивчення динаміки випаровування краплин рідинних систем ДНК-вода*, Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія «Фізико-математичні науки» №3, 242-244 (2008). https://bphm.knu.ua/index.php/bphm/issue/view/17/2008_3
21. L. Engelbrecht, F. Mocci, Y. Wang, and **S.M. Perepelytsya**, T. Vasiliu, A. Laaksonen, *Molecular perspective on solutions and liquid mixtures from modelling and experiment. In: Soft Matter Systems for Biomedical Applications. Springer Proceedings in Physics, Vol 266. (Springer, Cham., 2022), pp. 55–84.* https://doi.org/10.1007/978-3-030-80924-9_3
22. F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, and **S. Perepelytsya**, *DNA-polyamine interactions: Insight from molecular dynamics simulations on the sequence-specific binding of spermidine³⁺*, in *Soft Matter Systems*

for Biomedical Applications. Springer Proceedings in Physics, Vol 266 (Springer, Cham., 2022), pp. 163–192. https://doi.org/10.1007/978-3-030-80924-9_6

Додаткові публікації за темою дисертації

23. **С.М. Перепелиця**, *Динамічне впорядкування іонів металів навколо подвійної спіралі ДНК*, Вісник НАН України №1, с. 89-95 (2014). http://nbuv.gov.ua/UJRN/vnanu_2014_1_11

24. Л.А. Булавін, О.Ю. Актан, Ю.Ф. Забашта, **С.М. Перепелиця**, О.С. Свечнікова, С.П. Сенчуров, *Медична Фізика : Підручник. У 4 т. Т. 2. Експеримент у Медичній Фізиці, Vol. 2* (Видавничо-поліграфічний центр “Київський університет” Київ, 2011). 312 с.

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

25. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Conformational vibrations of DNA with counterions in the low frequency Raman spectra*, AIP Conference Proceedings 1267, 658-659 (2010); <https://doi.org/10.1063/1.3482735>

26. F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, **S. Perepelytsya**, *Mechanisms of spermidine³⁺ interactions with the DNA double helix at the nanoscale*. 7-th International Conference Naobiophysics: Fundamental and Applied Aspects. October 4-10, 2021, Verkin ILTPE of NASU, Kharkov, Ukraine. Book of Abstracts – P. 77.

27. F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, **S. Perepelytsya**, *Structural organization of spermidine³⁺ molecules around the DNA double helix at the DNA-DNA interface*. International Conference on Interfaces. September 21-25, 2021, Santa Margherita di PULA (CA), Sardinia, Italy. Book of Abstracts – P. 119.

28. F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, **S. Perepelytsya**, *Modeling the specific interaction of metal and molecular counterions with DNA double helix*. Записки Української науково-дослідницької асоціації: тези допові-

дей Всеукраїнської конференції наукових дослідників. Львів, 19-25 вересня 2021. – Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2021. – 188 с.. 19-25 вересня 2021. Львів, Україна. С. 179.

29. O. Zdorevskyi, **S. Perepelytsya**, *Molecular dynamics study of the interaction of K^+ counterions with DNA double helix in an external electric field*, 13th EBSA congress, July 24–28, 2021, Vienna, Austria. Eur. Biophys. J., 2021, V.38, p. S160.
<https://doi.org/10.1007/s00249-021-01558-w>

30. **S. Perepelytsya**, J. Uličný, A. Laaksonen, F. Mocci, *Modeling the structure and dynamics of DNA with organic and inorganic counterions*. Final AMMODIT Conference “Mathematics for Life Sciences”. Institute of Mathematics of NAS of Ukraine, March 18-22, 2019. Kyiv, Ukraine. Book of abstracts – P. 32 (**Invited**)

31. **S. Perepelytsya**, J. Uličný, A. Laaksonen, F. Mocci, *Modeling specific interaction of polyamines with DNA double helix*, Bogolyubov Kyiv Conference Problems of Theoretical and Mathematical Physics. September 24-26, 2019. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts – P. 64.

32. **S.M. Perepelytsya**, J. Uličný, *Specific binding of polyamines with DNA double helix: a molecular dynamics study*, 8th International Conference “Physics of liquid matter: Modern problems”, May 18-22, 2018, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts – P. 92.

33. **S.M. Perepelytsya**, *Hydration of DNA counterions: a molecular dynamics study*, 8th International Conference “Physics of liquid matter: Modern problems”, May 18-22, 2018, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts – P. 80.

34. **S.M. Perepelytsya**, *Dynamics of ordered counterions in the ion-hydrate shell of DNA double helix*, Conference on Atomistic Simulations of Biomolecules: towards a Quantitative Understanding of Life Machinery. March 6 – 10, 2017, The Abdus Salam Center for Theoretical Physics, Trieste, Italy.
<https://indico.ictp.it/event/7610/session/4/contribution/3/> (**Invited**)

35. **S.M. Perepelytsya**, *Dynamics of counterions in the ion-hydrate shell of DNA double helix: a molecular dynamics study*, Ulam Computer Simulations Workshop. “Challenges & Opportunities in Molecular Simulations”. June 21-24, 2017, Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine. Book of abstracts – P.42.

36. **S.M. Perepelytsya**, *Dynamics and ordering of counterions in hydration shell of DNA double helix*, Workshop on Water at the Interface between Biology, Chemistry, Physics and Material Sciences. October 5 – 9, 2015, The Abdus Salam Center for Theoretical Physics, Trieste, Italy. <https://indico.ictp.it/event/a14247/other-view?view=ictp timetable>

37. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Dynamics and ordering of DNA counterions*, 4th International Conference “Nanobiophysics: fundamental aspects and applications”, October 1 – 4, 2015, Institut of Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts – P. 21.

38. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Dynamics and stability of DNA ion-phosphate lattice*, 6th International Conference “Physics of Liquid Matter Modern Problems”, May 23 – 27, 2014, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts, P. 125.

39. O.O. Liubysh, A.N. Alekseev, S.Yu. Tkachov, **S.M. Perepelytsya**, *Effect of counterion ordering in conductivity experiments of DNA aqueous solutions*, 6th International Conference “Physics of Liquid Matter Modern Problems”, May 23 – 27, 2014. Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts. – P. 150.

40. O.O. Liubysh, A.V. Vlasiuk, **S.M. Perepelytsya**, *Structuring features of Na⁺, K⁺, and Cs⁺ counterions in DNA ion-hydrate shell: a molecular dynamics study*, 4th Young Scientist Conference “Problems of Theoretical Physics”, November 25 – 27, 2014. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 49-50.

41. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Manifestations of dynamic ordering of counterions around DNA*, 3rd International Conference “Nanobiophysics: fundamental

and applied aspects”. October 7-10, 2013, B. Verkin ILTPE of NASU, Kharkiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 40.

42. **S.M. Perepelytsya**, G.M. Glibitskiy, S.N. Volkov, *Texture formation in DNA films with alkali metal chlorides*, 3rd International Conference “Nanobiophysics: fundamental and applied aspects”. October 7-10, 2013, B. Verkin ILTPE of NASU, Kharkov, Ukraine. Book of Abstracts – P. 71.

43. O.O. Liubysh, O.M. Alekseev, S.Yu. Tkachev, **S.M. Perepelytsya**, *Ionic ordering in conductivity experiments of DNA aqueous solutions*, Youth Scientist Conference “Problems of theoretical physics”. December 24-27, 2013. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 36.

44. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Manifestation of ion-phosphate vibrations in the low-frequency Raman spectra*, International Conference “Problems of Theoretical Physics” dedicated to Alexander S. Davydov's 100th birthday. October 8-12, 2012. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 31.

45. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Dynamic ordering of counterions around DNA helix*, International Conference “Dynamics of Systems on the Nanoscale” DySoN Conference 2012, September 30 – October 4, St. Petersburg. Book of Abstracts – P. 32.

46. **S.M. Perepelytsya**, G.M. Glibitskiy, S.N. Volkov, *Possible mechanism of formation of anisotropic textures in DNA*. Planer-Smoluchoeski Soft Matter Workshop on Liquid Crystal Colloids., October 5-7, 2011. Franko Lviv National University - Institute of Condensed Matter Physics of the NAS of Ukraine, Lviv, Ukraine. Book of abstracts – P. 67.

47. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Conformational vibrations of Z-DNA*, Young Conference “Modern problems of theoretical physics”. December 21-23, 2011. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 37.

48. P.I. Kutova and **S.M. Perepelytsya**, *Electro-conductivity of DNA water solutions with NaCl excess salt*, Youth Scientist Conference “Problems of theoretical physics”. December 21-23, 2011. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 94.

49. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Counterion vibrations in DNA low-frequency Raman spectra*, 5th International conference on Physics of liquid matter: Modern problems. Kyiv, May 21-24, 2010. Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts. – P. 239.

50. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Conformational vibrations of ion lattice in DNA solution*. EMLG-JMLG Annual Meeting 2010. Complex liquids: Modern problems in exploration, understanding and application. Lviv, September 5-9, 2010. Franko Lviv National University - Institute of Condensed Matter Physics of the NAS of Ukraine, Lviv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 130-131.

51. **S.M. Perepelytsya**, G.M. Glibitskii, S.N. Volkov, *Influence of DNA conformational vibrations on the formation of anisotropic film textures*, Youth Scientist Conference “Problems of theoretical physics”. December 22-24, 2010. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 94.

52. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Dynamics of DNA ion-phosphate lattice at nano-scale*, International Conference “Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects”, Kharkiv, October 5 – 8, 2009. Book of Abstracts. – P. 40.

53. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Vibrations of DNA with light and heavy counterions in low-frequency Raman spectra*, 7th European Biophysical Congress, July 11 – 15, 2009, Genoa, Italy. Eur. Biophys. J., 2009, **38**, p. S81.
<https://doi.org/10.1007/s00249-009-0483-4>

54. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Low-frequency Raman spectra of DNA with counterions*, Conference for the Young Scientists “Modern Problems of Theoretical Physics”, December 24-26, 2009. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 63.

ЗМІСТ

	ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	28
	ВСТУП	29
РОЗДІЛ 1	РОЛЬ ПРОТИЙОНІВ ТА ВОДИ У ФОРМУВАННІ СТРУКТУРИ ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК (огляд літератури)	43
	1.1. Структура подвійної спіралі молекули ДНК	43
	1.2. Гідратація макромолекули ДНК	48
	1.3. Роль протийонів у стабілізації структури подвійної спіралі ДНК	51
	1.3.1. Характеристика взаємодії іонів металів з ДНК	51
	1.3.2. Взаємодія молекулярних протийонів з ДНК	55
	1.4. Явище конденсації протийонів ДНК, поліелектролітні моделі	57
	1.5. Молекулярно-динамічні дослідження системи ДНК з протийонами	63
	1.5.1. Деякі особливості методу молекулярної динаміки ДНК	63
	1.5.2. Деякі результати моделювання системи ДНК з протийонами методом молекулярної динаміки	64
	1.6. Конформаційні коливання подвійної спіралі ДНК з протийонами	66
	1.6.1. Вплив протийонів на низькочастотний спектр ДНК	66
	1.6.2. Модель конформаційних коливань ДНК з протийонами	70
	1.6.3. Частоти і амплітуди коливань ДНК з протийонами	77
	ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ	80
РОЗДІЛ 2	МОДЕЛІ ДИНАМІКИ ІОН-ФОСФАТНОЇ ГРАТКИ ДНК	84
	2.1. Структурна і стабільність іон-фосфатної ґратки ДНК	84
	2.1.1. Структура іон-фосфатної ґратки ДНК	84

	2.1.2. Електростатична енергія іон-фосфатної ґратки ДНК	85
	2.2. Модель динаміки іон-фосфатної ґратки ДНК з протийонами у випадку міжланцюжкової нейтралізації фосфатних груп	93
	2.3. Модель динаміки іон-фосфатної ґратки лівозакрученої спіралі ДНК з протийонами	99
	2.4. Параметри моделей ДНК з протийонами	110
	2.5. Підхід до описання інтенсивностей низькочастотних спектрів комбінаційного розсіювання ДНК	121
	2.5.1. Напівкласична теорія інтенсивностей коливальних моди в спектрах комбінаційного розсіювання молекул	121
	2.5.2. Підхід до розрахунку інтенсивностей смуг в низькочастотному спектрів комбінаційного розсіювання ДНК	122
	2.5.3. Валентно-оптичні параметри структурних елементів ДНК	130
	ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ	131
РОЗДІЛ 3	ПРОЯВИ ВПОРЯДКУВАННЯ ПРОТИЙОНІВ У НИЗЬКОЧАСТОТНИХ СПЕКТРАХ ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК	133
	3.1. Частоти і амплітуди конформаційних коливань різних форм ДНК з протийонами	133
	3.1.1. Частоти та амплітуди конформаційних коливань ДНК з протийонами в одноланцюжковому і міжланцюжковому положеннях	133
	3.1.2. Частоти і амплітуди коливань Z-ДНК з протийонами	139
	3.2. Низькочастотні спектри комбінаційного розсіювання різних форм подвійної спіралі ДНК з різними протийонами	146
	ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ	156
РОЗДІЛ 4	ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПОРЯДКУ-	159

ВАННЯ ПРОТИЙОНІВ У ВОДНИХ РОЗЧИНАХ ДНК З СОЛЯМИ ЛУЖНИХ МЕТАЛІВ

4.1.	Прояви впорядкування протийонів при формуванні текстур в плівках ДНК з різними солями лужних металів	159
4.1.1.	Формування текстур у висушених плівках ДНК	159
4.1.2.	Експериментальне дослідження текстуроутворення у плівках ДНК з хлоридами лужних металів	161
4.1.3.	Формування патернів в плівках ДНК	164
4.1.4.	Моделювання сольових комплексів ДНК	166
4.2.	Ефекти впорядкування протийонів в експериментах з електропровідності водних розчинів ДНК з солями лужних металів	173
4.2.1.	Електропровідність водних розчинів ДНК	174
4.2.2.	Експериментальне дослідження електропровідності водних розчинів ДНК	175
4.2.3.	Модель електропровідності водних розчинів ДНК	181
4.2.4.	Молекулярно-динамічне моделювання ДНК з протийонами K^+ у зовнішньому електричному полі	186
	ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ	203
РОЗДІЛ 5	РОЗПОДІЛ ТА ВПОРЯДКУВАННЯ ПРОТИЙОНІВ НАВКОЛО ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК: МОЛЕКУЛЯРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ТА КОМП'ЮТЕРНІ СИМУЛЯЦІЇ	206
5.1.	Дослідження розподілу протийонів між внутрішніми і зовнішніми областями подвійної спіралі ДНК	206
5.1.1.	Іонна атмосфера ДНК в рамках спрощених поліелектролітних моделей	206
5.1.2.	Побудова спрощеної поліелектролітної ДНК моделі з урахуванням захоплених протийонів	208
5.1.3.	Аналіз функції захоплення протийонів	212
5.1.4.	Модельні оцінки кількості захоплених протийонів	215
5.1.5.	Порівняння результатів моделі захоплених проти-	218

	йонів з молекулярно-динамічними симуляціями для ДНК з протийонами K^+	
5.2.	Моделювання розподілу протийонів навколо подвійної спіралі ДНК методом молекулярної динаміки	222
5.2.1.	Молекулярно-динамічна симуляція ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Cs^+ та Mg^{2+}	223
5.2.2.	Розподіл протийонів навколо фрагменту подвійної спіралі ДНК	229
5.3.	Ефекти гідратації протийонів та вплив на взаємодію з атомними групами подвійної спіралі ДНК в молекулярно-динамічному моделюванні	238
5.3.1.	Структура гідратної оболонки протийонів в різних областях подвійної спіралі ДНК	238
5.3.2.	Енергетичні та динамічні характеристики молекул води в гідратній оболонці протийонів, що знаходяться в різних областях подвійної спіралі ДНК	254
	ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ	267
РОЗДІЛ 6	ВПЛИВ МОЛЕКУЛ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ НА СТРУКТУРУВАННЯ ПРОТИЙОНІВ МЕТАЛІВ НАВКОЛО ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК: МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ	270
6.1.	Моделювання подвійної спіралі ДНК з пероксидом водню та протийонами натрію методом молекулярної динаміки	270
6.1.1.	Утворення пероксиду водню в живій клітині та проблема взаємодії з макромолекулою ДНК	270
6.1.2.	Молекулярно-динамічні симуляції систем з пероксидом водню	273
6.2.	Структура сольватної оболонки фосфатних груп остова подвійної спіралі ДНК у водному розчині пероксиду водню та іонів натрію	277

6.2.1. Розрахунок радіальних функцій розподілу для змодельованих систем	277
6.2.2. Радіальні функції розподілу для пероксиду водню	279
6.2.3. Радіальні функції розподілу для молекул води	282
6.2.4. Радіальні функції розподілу для протийонів	284
6.2.5. Сольватна оболонка іонів Na^+ в розчині	286
6.3. Комплекси молекул пероксиду водню з фосфатними групами остова подвійної спіралі ДНК	289
6.4. Можливе біологічне значення формування комплексів молекул пероксиду водню з фосфатними групами остова подвійної спіралі ДНК	294
ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ	297
РОЗДІЛ 7 МОДЕЛЮВАННЯ ДИНАМІКИ ТА СТРУКТУРУВАННЯ ПОЛКАТІОНІВ ПРИРОДНИХ ПОЛІАМІНІВ НАВКОЛО ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК	299
7.1. Специфічність взаємодії путресцину ²⁺ , спермідину ³⁺ і сперміну ⁴⁺ до різних нуклеотидних мотивів ДНК	299
7.1.1. Дослідження розподілу природних поліамінів навколо подвійної спіралі ДНК	299
7.1.2. Молекулярно-динамічне моделювання взаємодії молекул поліамінів з нескінченною подвійною спіраллю ДНК	300
7.1.3. Аналіз розподілу поліамінів навколо подвійної спіралі ДНК	306
7.1.4. Електростатична модель взаємодії молекули поліаміну з подвійною спіраллю ДНК.	314
7.1.5. Механізм взаємодії молекул природних поліамінів з ДНК в жолобах подвійної спіралі	321
7.2. Дослідження методом молекулярної динаміки індукованої спермідином ³⁺ конденсації двох фрагментів ДНК	324
7.2.1. Конденсація ДНК: експеримент та моделі	325

7.2.2.	Деталі молекулярно-динамічних симуляцій ДНК з спермідином ³⁺	326
7.2.3.	Розподіл молекул спермідину ³⁺ навколо подвійної спіралі у випадку вільних фрагментів ДНК	333
7.2.4.	Залежність характеру розподілу молекул спермідину ³⁺ від послідовності пар нуклеотидів ДНК	339
7.2.5.	Характеристика ДНК-ДНК взаємодії	343
7.2.6.	Розподіл спермідину ³⁺ в міжспіральній області на різних відстанях між ДНК	347
7.2.7.	Розподіл протийонів металів навколо ДНК в системах з спермідином ³⁺	362
ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ		364
ВИСНОВКИ		367
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		370
ДОДАТОК А	Список опублікованих робіт за темою дисертації	407
ДОДАТОК Б	Частоти та амплітуди конформаційних коливань ДНК з протийонами	417
ДОДАТОК В	Деякі деталі молекулярно-динамічного дослідження ДНК з протийонами у зовнішньому електричному полі	421
ДОДАТОК Г	Деякі деталі молекулярно-динамічного дослідження систем ДНК з протийонами Na ⁺ , K ⁺ , Cs ⁺ , Mg ²⁺	425
ДОДАТОК Д	Деталі молекулярно-динамічного дослідження взаємодії Na ⁺ з ДНК у водному розчині з H ₂ O ₂	446
ДОДАТОК Е	Деталі молекулярно-динамічного дослідження взаємодії поліамінів з подвійною спіраллю ДНК	469
ПОДЯКИ		499

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ДНК	дезоксирибонуклеїнова кислота
РНК	рибонуклеїнова кислота
КР	комбінаційне розсіяння
ЯМР	ядерно-магнітний резонанс
МД	молекулярна динаміка
A	нуклеотид аденін
G	нуклеотид гуанін
T	нуклеотид тимін
C	нуклеотид цитозин
jI	область головного жолоба всередині подвійної спіралі ДНК
mI	область мінорного жолоба всередині подвійної спіралі ДНК
jX	область головного жолоба ззовні подвійної спіралі ДНК
mX	область мінорного жолоба ззовні подвійної спіралі ДНК
RDF	радіальна функція розподілу
PMF	потенціал середньої сили
RMSD	середньоквадратичне відхилення
NAMD	програма для молекулярно-динамічних симуляцій “ <i>Nanoscale Molecular Dynamics</i> ”
VMD	програма для візуалізації та аналізу молекулярних систем “ <i>Visual Molecular Dynamics</i> ”
VDM	мапа об’ємної густини “ <i>Volume Density Map</i> ”
CHARMM	силове поле “ <i>Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics</i> ”
AMBER	силове поле “ <i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i> ”
CN	координаційне число (в дослідженнях систем ДНК з поліамінами)
EE	відстань між кінцевими атомами молекули поліаміну

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Для розуміння фізичних механізмів функціонування макромолекули ДНК в живому організмі, а також для можливого її застосування в технологіях, важливим є вивчення ролі іонів металів і молекулярних іонів (протийонів) в структуроутворенні ДНК та її конформаційній динаміці [1–3]. Розуміння особливої ролі протийонів відзначалася ще в перших роботах Дж. Уотсона і Ф. Кріка [4], де було запропоновано модель ДНК у вигляді подвійної спіралі, а також в експериментальних дослідженнях Р. Франклін структури ДНК [5,6]. З того часу проблемі взаємодії протийонів з ДНК присвячено велику кількість робіт (наприклад, див. роботи [7–13] та посилення в них), які довели визначальну роль протийонів у багатьох фізичних механізмах, на яких ґрунтуються процеси біологічного функціонування ДНК.

Важливість взаємодії іонів металів і молекулярних іонів з ДНК обумовлена тим, що в природних умовах ДНК має форму подвійної спіралі, зовні якої знаходиться негативно заряджений цукро-фосфатний остов, а всередині містяться пари нуклеотидів, що кодують генетичну інформацію [14]. Кожна фосфатна група остова ДНК містить заряд, що дорівнює заряду електрона. Для стабілізації структури подвійної спіралі ДНК необхідно, аби заряди фосфатних груп нейтралізувалися позитивно зарядженими мобільними іонами, що знаходяться у розчині, або позитивно зарядженими структурними елементами на поверхні білкових молекул, з якими взаємодіє макромолекула ДНК в клітині організму. Протийонами, як правило, є іони металів, наприклад, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} та інші, а також молекулярні іони, наприклад, поліаміни (путресцин $^{2+}$, спермідин $^{3+}$, спермін $^{4+}$). Протийони разом з молекулами води формують навколо подвійної спіралі іон-гідратну оболонку, яка є необхідною структуроутворюючою складовою подвійної спіралі ДНК.

Розподіл протийонів навколо ДНК, зазвичай, характеризують в термінах поліелектролітних моделей [15,16], в яких іони представляються як позитивно заряджений континуум (іонна атмосфера), що нейтралізує поліаніон. Такий пі-

дхід вдало описує усереднені характеристики системи протийонів, які, зокрема спостерігаються в експериментах з малокутового розсіювання рентгенівських променів на водних розчинах ДНК та інших експериментах [17–19]. Водночас, континуальне представлення не дає можливості врахування та розгляду низки ефектів, які пов'язані з розміром протийонів, характером їхньої гідратації, масою, а у випадку молекулярних протийонів також і конформаційною гнучкістю молекул. Як показано в багатьох дослідженнях [12] і, зокрема, в представленій дисертації, усі ці властивості суттєво впливають на характер взаємодії протийонів з ДНК і відіграють надзвичайно важливу роль в біологічних процесах. Для розуміння специфічних властивостей іон-гідратної оболонки ДНК в представленій роботі розвивається концепція динамічної іон-фосфатної ґратки, в рамках якої протийони навколо ДНК розглядаються не як континуум, а як впорядкована система подібна до іонної ґратки. Протийони в структурі динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК знаходяться в стані динамічної рівноваги і можуть перебувати, як в безпосередньому контакті з атомами макромолекули, так і на певній відстані навколо подвійної спіралі.

В рамках концепції динамічної іон-фосфатної ґратки можна дослідити ефекти, які спостерігаються в експериментах та комп'ютерних симуляціях. Зокрема, важливим є пояснення виявлених якісних змін форми низькочастотних спектрів комбінаційного розсіювання світла (КР) розчинів ДНК ($<200\text{ см}^{-1}$), які відбуваються під впливом іонів металів [20–25]. Впорядкування протийонів ДНК може також спостерігатися в експериментах з електропровідності водних розчинів ДНК [21–25], а також в експериментах з дослідження текстур, що виникають у висушених плівках ДНК [26–28]. Важливим для пояснення виявлених особливостей розподілу протийонів навколо подвійної спіралі є взаємозв'язок між молекулами води гідратних оболонок іонів і ДНК [12]. Ефекти сольватації протийонів можуть значною мірою визначати їхнє впорядкування навколо подвійної спіралі ДНК і є мало дослідженими. Також залишається невизначеним вплив складу розчинника на характер взаємодії протийонів з ДНК. Зокрема, як показують численні дослідження [29], актуальним є розгляд систе-

ми, в якій присутні молекули пероксиду водню (H_2O_2), що за своїм складом ідентичні до молекул води, проте мають принципові відмінності в своїй структурі. Вивчення експериментальних проявів впорядкування молекулярних протийонів (поліамінів) навколо подвійної спіралі ДНК, що обумовлені конформаційними властивостями цих молекул [30,31].

Для інтерпретації наявних експериментальних даних та здійснення передбачень необхідно розробити нові фізичні моделі та провести низку комп'ютерних симуляцій різних систем ДНК з різними протийонами. Зокрема, для інтерпретації ефектів впливу протийонів на низькочастотний спектр ДНК необхідно розробити моделі конформаційних коливань ДНК з протийонами, а також метод розрахунку інтенсивностей мод низькочастотних спектрів КР ДНК. Для визначення фізичних механізмів, що обумовлюють вплив на електропровідність водних розчинів ДНК та формування текстур в плівках ДНК, необхідно розробити нові фізичні моделі формування комплексів іонів з ДНК. Визначення ролі сольватації іонів металів для їхнього розподілу навколо подвійної спіралі потребує проведення молекулярно-динамічних симуляцій ДНК з різними іонами металів у водному розчині та у розчині за присутності молекул пероксиду водню. Дослідження впорядкування молекулярних протийонів може бути ефективно виконано в рамках методу молекулярної динаміки для систем ДНК з природними поліамінами.

Таким чином, тема дисертації є новою і представляє значний інтерес для розуміння фізичних механізмів взаємодії іонів металів і молекулярних іонів з подвійною спіраллю ДНК. В основу дисертаційного дослідження покладено концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК, яка дає можливість дослідити принципово нові фізичні властивості системи ДНК з протийонами.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Результати досліджень, які складають представлену дисертацію, були одержані під час виконання науково-дослідних робіт, які входили до тематичного плану Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова Національної академії наук України:

- «Керована динаміка збуджень в молекулярних та нано- системах зі складною геометричною структурою» 2006-2010pp., відомча тема Відділення фізики і астрономії НАН України (РК №0105U008397);
- «Фундаментальні властивості фізичних систем в екстремальних умовах» 2008-2011pp., цільова тема Відділення фізики і астрономії НАН України (РК №0107U000396);
- «Ефективне керування динамікою нелінійних збуджень в макромолекулярних та магнітних нано-системах» 2011-2015pp., відомча тема Відділення фізики і астрономії НАН України (РК №0110U007540);
- «Конформаційні коливання Z-ДНК з різними протийонами в низькочастотному спектрі комбінаційного розсіяння світла» 2011-2012pp. грант НАН України для молодих вчених (РК №0111U008199);
- «Динаміка протиіонів в іон-гідратній оболонці ДНК» 2012р. грант Президента України для молодих вчених (РК №0112U007406);
- «Динаміка та структурування протиіонів навколо подвійної спіралі ДНК» 2014р., відомча тема Відділення фізики і астрономії НАН України (РК №0114U000687);
- «Мікроскопічні та феноменологічні моделі фундаментальних фізичних процесів у мікро- та макросвіті» 2012-2016pp., цільова тема Відділення фізики і астрономії НАН України (РК №0112U000056);
- «Особливості механічних, електронних та магнітних процесів у низьковимірних системах на наномасштабах» 2016–2020 pp., відомча тема Відділення фізики і астрономії НАН України (РК №0116U003192);
- «Структура та динаміка статистичних і квантово-польових систем» 2017–2021 pp., цільова тема Відділення фізики і астрономії НАН України (РК №0117U000240);
- «Моделювання конкурентного зв'язування молекул води і пероксиду водню з атомними групами ДНК» 2017–2018 pp., проєкт цільової програма

НАН України «Грид-інфраструктура і грид-технології для наукових і науково-прикладних застосувань» (РК №0118U000662);

- «Функціональні властивості матеріалів перспективних для нанотехнологій» 2020-2021рр., пріоритетна тема Відділення фізики і астрономії НАН України КПКВК6541230 (РК №0120U100858);
- «Властивості низьковимірних функціональних матеріалів на наномасштабах» 2020–2024 рр., відомча тема Відділення фізики і астрономії НАН України (РК №0120U100855);
- «Комп’ютерне моделювання багаточастинкових систем із кулонівською взаємодією: від плазми до біологічних макромолекул» 2019–2020 рр., грант НАН України для молодих вчених (РК № 0119U102721).

Мета і завдання дослідження. *Мета* – дослідити структурні та динамічні властивості впорядкування іонів металів та молекулярних іонів навколо макромолекули ДНК та визначити їхній вплив на структуру та конформаційну динаміку подвійної спіралі.

Для досягнення поставленої мети було виконано наступні *завдання*.

1. Обґрунтувати концепцію динамічного впорядкування протийонів навколо подвійної спіралі ДНК у вигляді регулярної структури іон-фосфатної ґратки.
2. Побудувати моделі конформаційних коливань ДНК з протийонами, що можуть знаходитися в різних положеннях відносно фосфатних груп остова ДНК для випадку правозакрученої та лівозакрученої подвійних спіралей.
3. Розробити підхід для описання інтенсивностей мод низькочастотних коливань ДНК з протийонами в спектрах комбінаційного розсіювання світла.
4. За допомогою розвинутих моделей конформаційної динаміки ДНК та підходу для описання інтенсивностей коливальних мод розрахувати низькочастотні спектри комбінаційного розсіяння світла В-ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ і Cs^+ .

5. За допомогою розвинутих моделей конформаційної динаміки для лівої подвійної спіралі та підходу для описання інтенсивностей коливальних мод розрахувати низькочастотний спектр Z-ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ і Mg^{2+} .
6. Використовуючи концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК, дослідити фізичний механізм формування текстур у плівках ДНК з солями LiCl , NaCl , KCl , RbCl та CsCl .
7. Використовуючи концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК дослідити ефекти впорядкування іонів металів в експериментах з електропровідності водних розчинів макромолекули ДНК з доданою сіллю KCl .
8. За допомогою методу молекулярної динаміки дослідити динаміку протийонів K^+ у зовнішньому електричному полі. Розглянути випадки розташування протийонів в різних областях навколо подвійної спіралі.
9. В рамках методу молекулярної динаміки та підходів поліелектролітних моделей дослідити особливості впорядкування одновалентних протийонів металів всередині жолобів подвійної спіралі ДНК.
10. Методом молекулярної динаміки дослідити роль характеру гідратації протийонів Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} для їхнього розподілу навколо подвійної спіралі ДНК.
11. Дослідити характер впорядкування протийонів Na^+ навколо подвійної спіралі ДНК в присутності молекул пероксиду водню. Визначити характерні комплекси протийонів з фосфатними групами остова подвійної спіралі ДНК та молекулами H_2O_2 .
12. Методом молекулярної динаміки дослідити впорядкування та специфічний характер взаємодії молекулярних протийонів – поліамінів путресцину²⁺, спермідину³⁺ і сперміну⁴⁺ з подвійною спіраллю ДНК.
13. Методом молекулярної динаміки визначити впорядкування молекул спермідину³⁺ в комплексах макромолекул ДНК та з'ясувати роль поліамінів в стабілізації ДНК-ДНК контактів.

Об'єкт дослідження - впорядкування протийонів навколо подвійної спіралі ДНК.

Предмет дослідження - структурні та динамічні властивості впорядкування протийонів навколо макромолекули ДНК та його взаємозв'язок з конформаційною динамікою подвійної спіралі.

Методи дослідження. У представленій роботі використовувалася низка методів дослідження.

Теоретичні методи. Для побудови моделей конформаційної динаміки ДНК з протийонами було використано методи динамічної теорії кристалічної ґратки. Для побудови підходу до розрахунку інтенсивностей в низькочастотних спектрах комбінаційного розсіяння світла ДНК було використано напівкласичну теорію інтенсивностей коливальних спектрів.

Обчислювальні методи. Числове моделювання систем ДНК з протийонами металів та молекулярними йонами здійснювалося методами класичної молекулярної динаміки. Комп'ютерні симуляції проводилися із застосуванням потужностей обчислювальних кластерів Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова Національної академії наук України, Університету Вісконсину (Wisconsin, USA), Університету імені П.Й. Шафарика в Кошиці (Košice, Slovak Republic), Шведської національної обчислювальної інфраструктури (SNIC, Sweden), Університету Кальярі (Cagliari, Italy).

Експериментальні методи. Дослідження електропровідності водних розчинів ДНК проводилися за допомогою методів кондуктометрії на кафедрі молекулярної фізики фізичного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Дослідження текстур висушених плівок ДНК з різними солями металів проводилися із застосуванням спеціальної експериментальної методики, розробленої в Інституті радіофізики і електроніки ім. О.Я. Усикова НАН України (Харків).

Наукова новизна отриманих результатів. У представленій дисертації вперше було одержано низку важливих наукових результатів, що стосуються

взаємодії протийонів металів та молекулярних іонів з подвійною спіраллю ДНК.

1. Запропоновано нову концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК, яка представляє протийони навколо подвійної спіралі у вигляді впорядкованої системи зарядів, подібної до ґратки іонного типу.

2. Побудовано нові моделі конформаційних коливань ДНК для випадку правих подвійних спіралей (*B*-, *A*- і *D*-форми) та лівих подвійних спіралей *Z*-ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , що знаходяться в різних положеннях відносно фосфатних груп остова макромолекули.

3. Розвинуто новий підхід для описання інтенсивностей мод низькочастотних коливань ДНК з протийонами в спектрах комбінаційного розсіювання світла.

4. Вперше одержано модельні низькочастотні спектри комбінаційного розсіювання подвійної спіралі ДНК з протийонами і показано, що у випадку ДНК з легкими протийонами (Na^+ і K^+) моди розтягу водневих зв'язків та внутрішньонуклеозидних коливань характеризуються смугами поблизу 60, 80 та 100 cm^{-1} , а у випадку ДНК з важкими протийонами (Rb^+ і Cs^+) в спектрі формується єдина інтенсивна смуга біля 115 cm^{-1} за рахунок мод іон-фосфатних коливань.

5. Вперше змодельовано низькочастотні спектри комбінаційного розсіювання лівої подвійної спіралі *Z*-ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ і Mg^{2+} і визначено нову моду іон-фосфатних коливань *Z*-ДНК, яка знаходиться біля 150 cm^{-1} і характеризує коливання протийонів Mg^{2+} відносно фосфатних груп різних тяжів подвійної спіралі.

6. Запропоновано новий фізичний механізм формування текстур у плівках ДНК із солями LiCl , NaCl , KCl , RbCl та CsCl , що ґрунтується на концепції динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК. Показано, що ДНК є центром кристалізації для солей, здатність яких утворювати кристалічні структури в системах з ДНК визначається порядком: $\text{KCl} > \text{NaCl} > \text{RbCl} > \text{CsCl} > \text{LiCl}$.

7. Виявлено нові ефекти структурування протийонів ДНК, що проявляються в експериментах з електропровідності водних розчинів ДНК з додаванням

солі KCl. Показано, що при концентраціях солі $<0,4$ моль/л протийони є менш зв'язаними з ДНК, а при підвищенні концентрації солі вони конденсуються на макромолекулі з подальшим формуванням ДНК-сольових комплексів.

8. Вперше за допомогою методу молекулярної динаміки спостережено ефект плавлення ДНК під дією зовнішнього електричного поля ~ 2000 мВ (*field-induced melting*). Показано, що протийони всередині жолобів подвійної спіралі ДНК мають у шість разів нижчу рухливість, ніж у розчині. У випадку паралельної до макромолекули орієнтації електричного поля вони затримуються довше в областях з вужчим мінорним жолобом ДНК.

9. Розроблено нову модель для опису захоплення одновалентних протийонів усередині жолобів подвійної спіралі ДНК. Показано, що кількість захоплених протийонів знаходиться в діапазоні від 0,16 до 0,43 на одну фосфатну групу.

10. Вперше методом молекулярної динаміки досліджено вплив характеру гідратації протийонів металів на їхню взаємодію з подвійною спіраллю ДНК. Протийони з позитивним характером гідратації (Na^+ та Mg^{2+}) утворюють переважно опосередковані водою контакти з ДНК, а протийони з негативним характером гідратації (K^+ та Cs^+) проникають крізь гідратну оболонку ДНК вглиб подвійної спіралі, утворюючи регулярну структуру вздовж подвійної спіралі.

11. Вперше проведено систематичне дослідження методом молекулярної динаміки для подвійної спіралі ДНК у водному розчині з протийонами Na^+ та молекулами пероксиду водню. Виявлено характерні комплекси молекул пероксиду водню з фосфатними групами остова подвійної спіралі ДНК.

12. В рамках молекулярно-динамічного моделювання вперше показано, що молекули природних поліамінів путресцину²⁺, спермідину³⁺ та сперміну⁴⁺ переважно локалізуються у мінорному жолобі макромолекули ДНК з послідовністю нуклеотидів типу ААТТ, що обумовлено природним звуженням мінорного жолоба подвійної спіралі в цій області.

13. Вперше за допомогою методу молекулярної динаміки охарактеризовано динаміку молекул спермідину³⁺ в області між двома різними макромолекулами ДНК. Показано, що концентрація молекул спермідину³⁺ в міжспіральної

області збільшується зі зменшенням відстані між ДНК, а на дуже коротких відстанях спермідин³⁺ формує міжспіральні зшивки, які стабілізують ДНК-ДНК контакти.

Практичне значення отриманих результатів. Одержані наукові результати мають практичне значення і застосовуються в різних сферах.

1. Побудований в дисертації підхід для розрахунку низькочастотних спектрів ДНК з протийонами може застосовуватися для інтерпретації експериментальних спектрів комбінаційного розсіяння світла.

2. Запропонований механізм формування ДНК-сольових комплексів, які виникають у висушених плівках ДНК з солями лужних металів, може бути взятий за основу для розробки біомедичних тестів на основі ДНК.

3. Виявлені властивості специфічної взаємодії молекул поліамінів (путресцину²⁺, спермідину³⁺ і сперміну⁴⁺) з подвійною спіраллю ДНК можуть бути застосовані в розробці біологічно активних молекул з терапевтичними властивостями, а також в розробці функціональних матеріалів з керованими властивостями.

4. Виявлені властивості комплексів молекул пероксиду водню з ДНК можуть бути використані для вдосконалення іонної терапії ракових захворювань.

5. Інформація про виявлений вплив гідратації іонів металів на динаміку протийонів та їхню взаємодію з подвійною спіраллю ДНК може бути використана в підготовці експериментальних зразків та розробці лікарських засобів.

6. Спостережений в молекулярно-динамічних симуляціях відомий ефект плавлення подвійної спіралі ДНК під дією зовнішнього електричного поля може бути застосований для розробки технологій на основі ДНК, де можуть використовуватися сильні електричні поля.

Особистий внесок здобувача. Представлена дисертаційна робота є науковою працею, в якій висвітлено самотійні оригінальні дослідження автора, що дозволило вирішити поставлені завдання. Робота містить теоретичні результати, результати комп'ютерних симуляцій, результати аналізу експериментів і висновки, отримані або сформульовані дисертантом особисто. Використані в

дисертації ідеї, положення чи гіпотези інших авторів мають відповідні посилання і використані лише для підкріплення ідей здобувача. Усі наукові результати, положення і висновки, що виносяться на захист, отримані здобувачем особисто. Дисертант висловлює подяку д-р фіз.-мат. наук С.Н. Волкову, з яким було визначено напрям дисертаційного дослідження.

Публікації [32–37], що стосуються дослідження ролі гідратації протийонів для їхнього впорядкування навколо подвійної спіралі ДНК, виконані автором одноосібно. У роботах, опублікованих спільно із співавторами, внесок дисертанта полягав у такому. У роботах [38,39,48–56,40–47] здобувачем побудовано моделі конформаційної динаміки ДНК з протийонами та розроблено підхід до розрахунку інтенсивностей смуг коливань в низькочастотному спектрі комбінаційного розсіяння світла ДНК, спільно з співавтором написано тексти робіт. У роботах [57,58] дисертантом була поставлена задача з дослідження розподілу протийонів навколо подвійної спіралі ДНК методом молекулярної динаміки, здійснювалося наукове керівництво дослідженнями і підготовлено початкові рукописи робіт. У роботах [59–63] здобувачем була запропонована задача з дослідження електропровідності водних розчинів ДНК, розроблено моделі для описання експериментальних результатів і підготовлено початкові рукописи робіт. У роботах [64–66] дисертант брав участь в постановці задачі з дослідження водних розчинів ДНК методом випаровування краплин, розробці методики приготування зразків і написанні текстів рукописів робіт. У роботах [67–70] здобувачем проведено аналіз експериментальних даних, побудовано моделі фізичного механізму формування ДНК-сольових комплексів для пояснення формування текстур у висушених плівках ДНК, спільно з співавторами підготовлено рукописи робіт. У роботах [71,72] дисертантом була поставлена задача, що стосується дослідження динаміки протийонів ДНК у зовнішньому електричному полі методом молекулярної динаміки, здійснювалося наукове керівництво роботою, спільно з співавтором написано тексти рукописів робіт. У роботі [73] здобувачем була поставлена задача, здійснювалося наукове керівництво дослідженнями, побудовано нову поліелектролітну модель ДНК, та підготовле-

но основний текст рукопису статті. У роботі [74] дисертантом було проведено молекулярно-динамічні симуляції систем ДНК з протийонами та пероксидом водню, зроблено обробку промодельованих траєкторій, спільно зі співавторами підготовлено рукопис статті. У роботах [75–78] здобувачем проведено молекулярно-динамічні симуляції систем ДНК з поліамінами, зроблено обробку промодельованих траєкторій, запропоновано модель взаємодії поліамінів з ДНК, спільно з співавторами підготовлено рукописи робіт. У роботах [79–84] дисертантом проведено аналіз молекулярно-динамічних траєкторій для визначення розподілу протийонів навколо макромолекули ДНК, запропоновано модель взаємодії поліамінів з подвійною спіраллю, спільно з співавторами підготовлено рукописи робіт. У підручнику [85] здобувачем підготовлено розділ, що стосується дослідження низькочастотних спектрів ДНК.

Апробація результатів дисертації. Матеріали роботи пройшли апробацію на наукових конференціях:

- 1st, 3rd, 4th, 7th International Conference Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects, Oktober 5 – 8, 2009 (Kharkiv, Ukraine), 7-10 October 2013 (Kharkiv, Ukraine), October 1 – 4, 2015 (Kyiv, Ukraine), October 4-10, 2021 (Kharkiv, Ukraine);
- 4th, 5th, 6th, 8th International Conference “Physics of Liquid Matter: Modern Problems”, 23 – 26 May, 2008; 21 – 24 May, 2010; May 23 – 27, 2014; May 18 – 22, 2018; (Kyiv, Ukraine);
- 1st, 2nd, 3rd, 5th Conference for the Young Scientists "Modern Problems of Theoretical Physics", 24-26 December, 2009; 22-24 December, 2010 (Kyiv, Ukraine); Kyiv 21-23 December, 2011; Kyiv 24-27 December, 2013; November 25 – 27, 2014; (Kyiv, Ukraine);
- Всеукраїнська конференція наукових дослідників, 19-25 вересня, 2021 (Львів, Україна);
- Final AMMODIT Conference “Mathematics for Life Sciences”. March 18-22, 2019 (Kyiv, Ukraine);

- Scientific Summer School “Molecular Modeling: Real Applications and New Approaches” July 29 – August 2, 2019 (Sardagna, Italy);
- Bogolyubov Kyiv Conference Problems of Theoretical and Mathematical Physics, September 24-26, 2019 (Kyiv, Ukraine);
- Conference on Atomistic Simulations of Biomolecules: towards a Quantitative Understanding of Life Machinery. March 6 – 10, 2017, The Abdus Salam Center for Theoretical Physics (Trieste, Italy);
- Ulam Computer Simulations Workshop. “Challenges & Opportunities in Molecular Simulations”. 21-24 June 2017 (Lviv, Ukraine);
- International Conference “Dynamics of Systems on the Nanoscale” September 30 – October 4, 2012 (St. Petersburg);
- Workshop on Water at the Interface between Biology, Chemistry, Physics and Material Sciences. The Abdus Salam Center for Theoretical Physics, October 5 – 9, 2015 (Trieste, Italy);
- International Conference “Problems of Theoretical Physics” dedicated to Alexander S. Davydov’s 100th birthday. 8-12 October 2012 (Kyiv, Ukraine);
- Planer-Smoluchowski Soft Matter Workshop on Liquid Crystal Colloids. October 5-7, 2011 (Lviv, Ukraine);
- EMLG-JMLG Annual Meeting 2010. Complex liquids: Modern problems in exploration, understanding and application. 5-9 September, 2010 (Lviv, Ukraine);

на численних наукових семінарах та наукових зібраннях, зокрема:

- Department of Biophysics at the University of P. J. Šafárik in Košice. April 22, 2016; December 5; 2017; November 27, 2018 (Košice, Slovakia);
- The Abdus Salam Center for Theoretical Physics. Condensed Matter and Statistical Physics Section, June 28, 2016 (Trieste, Italy);
- Dipartimento di Scienze Chimiche e Geologiche Dell' Università degli Studi di Cagliari, July 24, 2019 (Cagliari, Italy);
- Biomolecular Modelling course. Institute of Mathematics of the NAS of Ukraine. Kyiv, May 8-16, 2018 (Kyiv, Ukraine);

- Засідання Президії НАН України, 2 Жовтня, 2013 (Київ, Україна);
- 7th Workshop on Soft Matter Physics. Institute of Condensed Matter Physics of the NAS of Ukraine. November 2, 2012 (Lviv, Ukraine);
- Seminar in Frankfurt Institute for Advanced Studies (FIAS), November 28, 2012 (Frankfurt am Main, Germany)
- Засідання Київського біофізичного товариства: 20.05.2009; 17.05.2011; 24.12.2012; 27.05.2015; 27.10.2015; 19.11.2019 (Київ, Україна);
- Семінари в Інституті теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова Національної академії наук України: 15.09.2008; 24.11.2008; 22.09.2010; 22.12.2011; 18.12.2014; 23.02.2018; 22.05.2019; 10.03.2021 (Київ, Україна);
- Семінари в Інституті радіофізики та електроніки ім. О.Я. Усикова Національної академії наук України : 7.10.2009; 9.12.2011, 26.02.2015 (Харків, Україна).

Публікації. Матеріали дисертації викладено в 54 публікаціях, з яких 21 робота – статті в наукових журналах, 2 роботи – розділи в колективній монографії видавництва Springer, 1 – розділ підручнику. 18 публікацій індексуються наукометричною базою даних Scopus. Статті опубліковано в профільних наукових журналах, зокрема таких: Nucleic Acids Research (Q1, імпакт фактор 11,5), Frontiers in Chemistry (Q1, імпакт фактор 4,9), European Physical Journal E (Q1, імпакт фактор 2,1), Biopolymers (Q1, імпакт фактор 2,6), Journal of Molecular Liquids (Q2, імпакт фактор 1,6), European Biophysics Journal (Q3, імпакт фактор 2,1), Journal of Molecular Modeling (Q3, імпакт фактор 1,3), Low Temperature Physics (Q3, імпакт фактор 0,8), Ukrainian Journal of Physics (Q4, імпакт фактор 0,7) та інші. Виступи на наукових зібраннях за результатами проведених досліджень відображено в 30 тезах доповідей та матеріалах конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з вступу, семи розділів, висновків, списку використаних джерел, що містить 380 посилань на 35 сторінках, і шести додатків. Загальний обсяг роботи становить 499 сторінок. Основний текст дисертації складає 311 сторінок (сторінки, які повністю зайняті рисунками або таблицями не враховувалися). Загальна кількість рисунків і таблиць – 103 і 30 відповідно (без урахування тих, що в додатках).

РОЗДІЛ 1

РОЛЬ ПРОТИЙОНІВ ТА ВОДИ У ФОРМУВАННІ СТРУКТУРИ ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК (огляд літератури)

1.1. Структура подвійної спіралі молекули ДНК

Ще з перших досліджень механізмів передачі та збереження спадкової інформації, історія яких розпочалася ще у ІХХ столітті з робіт моравського священика і вченого-біолога Грегора Менделя [86], стало зрозуміло, що генетична інформація є дискретною. Невдовзі, шведський фізик і біолог Фредріх Мішер виділив речовину з ядра клітини, яку назвав нуклеїном [87]. Подальші дослідження хіміків і біологів вказували на те, що нуклеїн складаються з білків і дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) [2]. Певний час в наукових колах точилася дискусія з приводу того, які саме молекули відповідають за збереження генетичної інформації – ДНК чи білки, і у 1943 р. було проведено експерименти, які остаточно довели, що такою молекулою є саме молекула ДНК [88]. Інтерес до молекули ДНК був надзвичайно високим, і наприкінці 40-х – початку 50-х років минулого століття розгорнулося змагання за те, хто перший зможе розгадати структуру цієї надзвичайно важливої молекули [89].

На той час вже було відомо, що структурними елементами в ДНК є нуклеотиди, які бувають чотирьох типів: аденін (А), тимін (Т), гуанін (G) і цитозин (С) (Рис. 1.1). За допомогою серії експериментів Ервін Чаргафф у 1949р. встановив, що, незалежно від організму, для нуклеотидів в ДНК завжди виконується правило: кількість молекул аденіну завжди дорівнює кількості молекул тиміну, а кількість молекул гуаніну завжди відповідає кількості молекул цитозину [90,91]. Це правило назвали правилом комплементарності Чаргаффа і, як виявилось згодом, воно є прямим наслідком принципів структурної організації макромолекули ДНК.

Для вирішення проблеми визначення структури молекули ДНК хімічних і біологічних методів було недостатньо, і був необхідний експериментальний фі-

зичний метод, який би дозволив визначити положення атомів у структурі молекули. Водночас, інтерес фізиків до біологічних об'єктів починав зростати. У зв'язку з цим слід відзначити роль видатного фізика-теоретика Ервіна Шредінгера, який в своїй книзі «Що таке життя з точки зору фізики» привернув увагу вчених-фізиків до проблем біології [92]. Також у цій книзі він зробив далекоглядне припущення про те, що генетична інформація може бути записана за допомогою аперіодичного кристалу, яким виявився полінуклеотидний ланцюг молекули ДНК – молекулярний кристал.

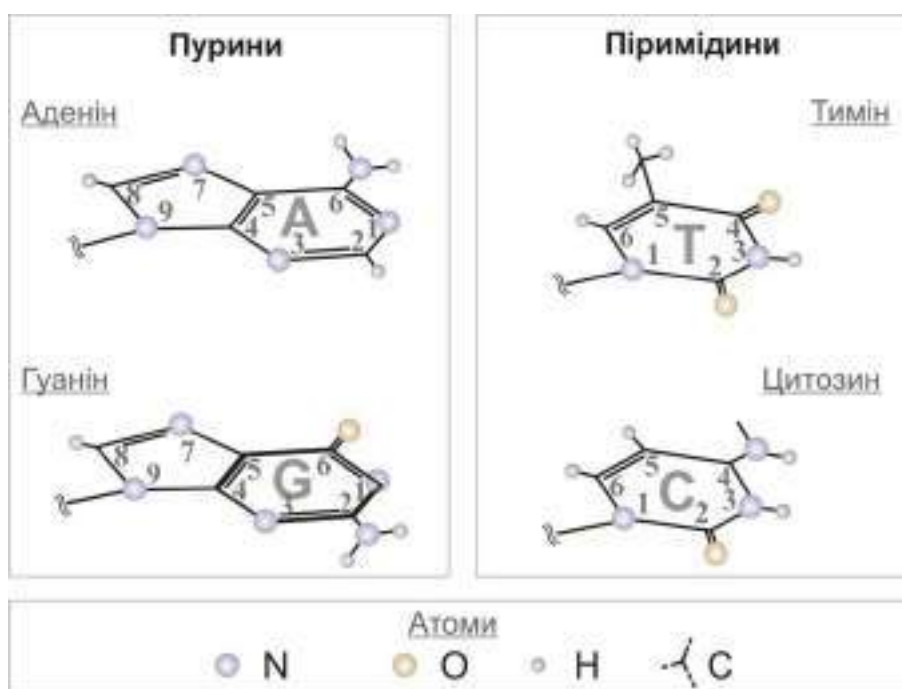


Рис. 1.1. Структура азотистих основ ДНК. Хвилястими лініями показано місця приєднання азотистих основ до дезоксирибози в структурі ДНК.

Ключовим експериментальним методом в дослідженні структури ДНК став метод рентгеноструктурного аналізу, який на той час активно розвивався у Великій Британії, головним чином, в Кавендішській лабораторії. Проте дослідження ДНК велися й в іншій установі – Імперіал Коледжі, де, фактично незалежно працювали дві експериментальні групи під керівництвом Моріса Уілкінса і Розалінди Франклін. Ними було одержано серію рентгенограм вологих во-

локон ДНК [5,6,93], які стали єдиним експериментом, на який того часу можна було розраховувати при моделюванні структури макромолекули ДНК.

Користуючись усіма відомими даними, першими, хто побудував успішну модель ДНК, стали Джеймс Уотсон і Френсіс Крік, які працювали в Кавендішській лабораторії [4]. Модель Уотсона і Кріка представляла молекулу ДНК у вигляді двох ланцюжків нуклеотидів, які обвиваються один навколо одного, утворюючи подвійну спіраль (Рис. 1.2а). В середині подвійної спіралі знаходяться пари нуклеотидів, які з'єднані між собою водневими зв'язками у відповідності до правила компліментарності Чаргаффа. Комплементарні азотисті основи, що зв'язуються водневими зв'язками в подвійній спіралі ДНК, зараз називають уотсон-кріківськими парами. Назовні подвійної спіралі знаходиться остов, що складається з фосфатних груп та кілець дезоксирибози (Рис. 1.2б).

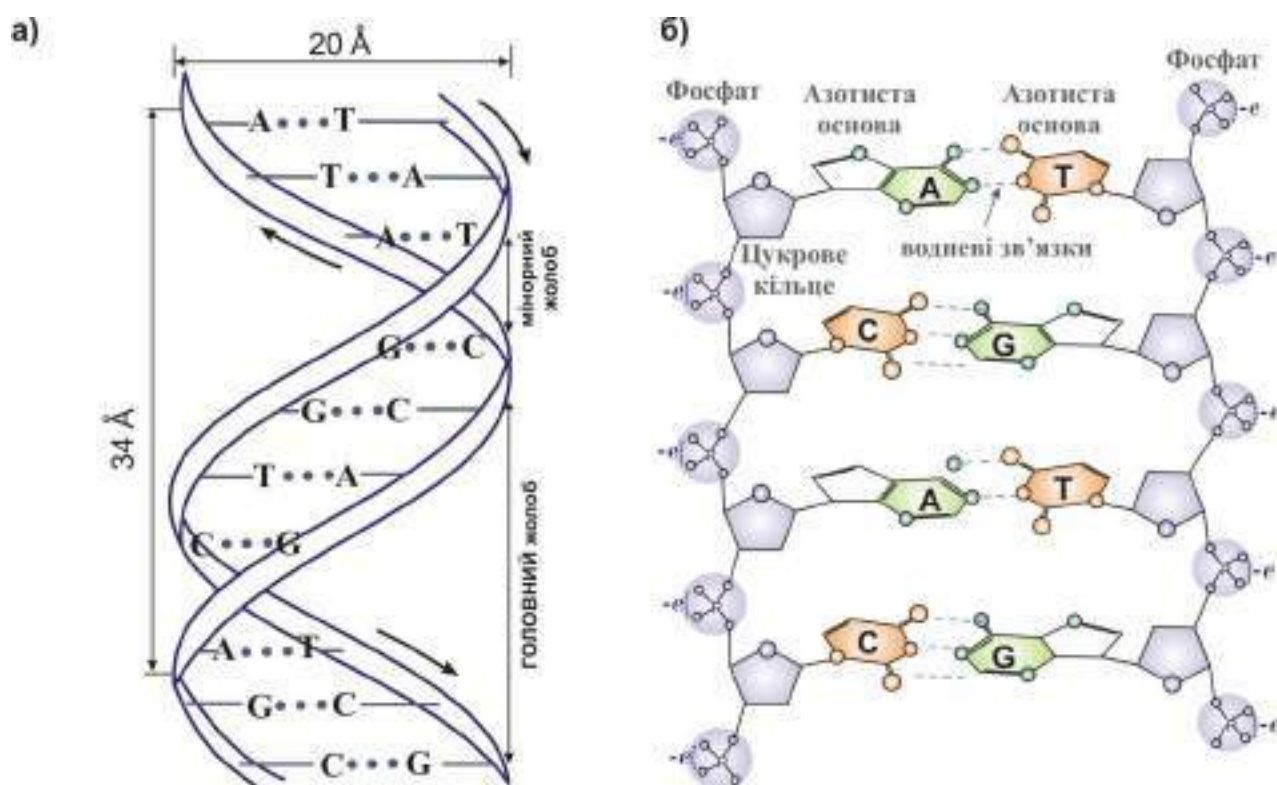


Рис. 1.2. Схематичне зображення структури подвійної спіралі ДНК. [34,85] а) Подвійна спіраль ДНК. б) Спарювання азотистих основ в уотсон-кріківських парах ДНК.

Слід зазначити, що їхня модель не була першою. Так, незадовго перед публікацією моделі Уотсона і Кріка, знаменитий хімік Лайнус Полінг запропонував свою власну модель, в якій він представляв молекулу ДНК у вигляді потрійного ланцюжка. В цій моделі цукро-фосфатний остов знаходиться всередині макромолекули ДНК, а нуклеїнові основи напрямлені назовні у розчин [94]. Проте, ця модель виявилася хибною, оскільки, як відомо, азотисті основи є гідрофобними, а фосфатні групи – гідрофільними, і тому таке розташування остова і азотистих основ, як у моделі Полінга, є енергетично не вигідним. Також слід відзначити внесок Розалінди Франклін в дослідження структури ДНК. Зокрема те, що вона висловила своє бачення принципів побудови ДНК раніше публікації моделі подвійної спіралі Уотсоном і Кріком. Ґрунтуючись на власних експериментальних даних й інтуїції, вона окреслила можливий принцип побудови структури молекули ДНК, де особливу роль було відведено іонам Na^+ , що були присутні у зразках. Вона вважала, що саме іони мають нейтралізувати негативно заряджені фосфатні групи остова ДНК [5,6]. Також вона була першою, хто експериментально виявив вплив вологості зразків на структуру подвійної спіралі ДНК. Внесок Розалінди Франклін у експериментальне обґрунтування моделі подвійної спіралі ДНК на сьогодні визнано як беззаперечний факт [95].

Подвійна спіраль ДНК характеризується кроком спіралі, кутом повороту сусідніх пар нуклеотидів одна відносно одної (спіральний твіст), шириною та глибиною жолобів подвійної спіралі та іншими більш детальними параметрами структури [14]. Зараз відомо, що, залежно від умов зовнішнього середовища, подвійна спіраль ДНК може знаходитися в *B*-, *A*- та *Z*-формах. Кожна стабільна конформація ДНК має свій набір середніх значень параметрів структури. Наприклад, у випадку канонічної *B*-форми макромолекули ДНК середні значення для кроку спіралі – 34 Å, для твіста – 36 °, ширин мінорного і головного жолобів – 12 і 17 Å, відповідно [14]. Ширина жолобу подвійної спіралі визначається як найкоротша відстань між різними тяжами подвійної спіралі ДНК (Рис. 1.2а). Для інших конформацій ДНК ці параметри змінюються. Подвійна спіраль молекули ДНК є поліморфною структурою, яка може приймати різні конформації,

і при подальшому викладенні матеріалу необхідні параметри подвійної спіралі для кожної конформації ДНК будуть окремо уточнюватися.

В умовах водного середовища подвійна спіраль ДНК знаходиться в *B*-формі, тому довгий час вважали, що лише ця конформація ДНК є біологічно активною. Проте подальші дослідження показали, що в процесах біологічного функціонування подвійна спіраль ДНК може набувати *A*- та *Z*-подібних форм [96,97]. Дослідження конформаційного стану ДНК в різних формах подвійної спіралі є надзвичайно важливими для розуміння механізмів нуклеїново-білкового впізнавання, зокрема, та процесів біологічного функціонування ДНК в цілому.

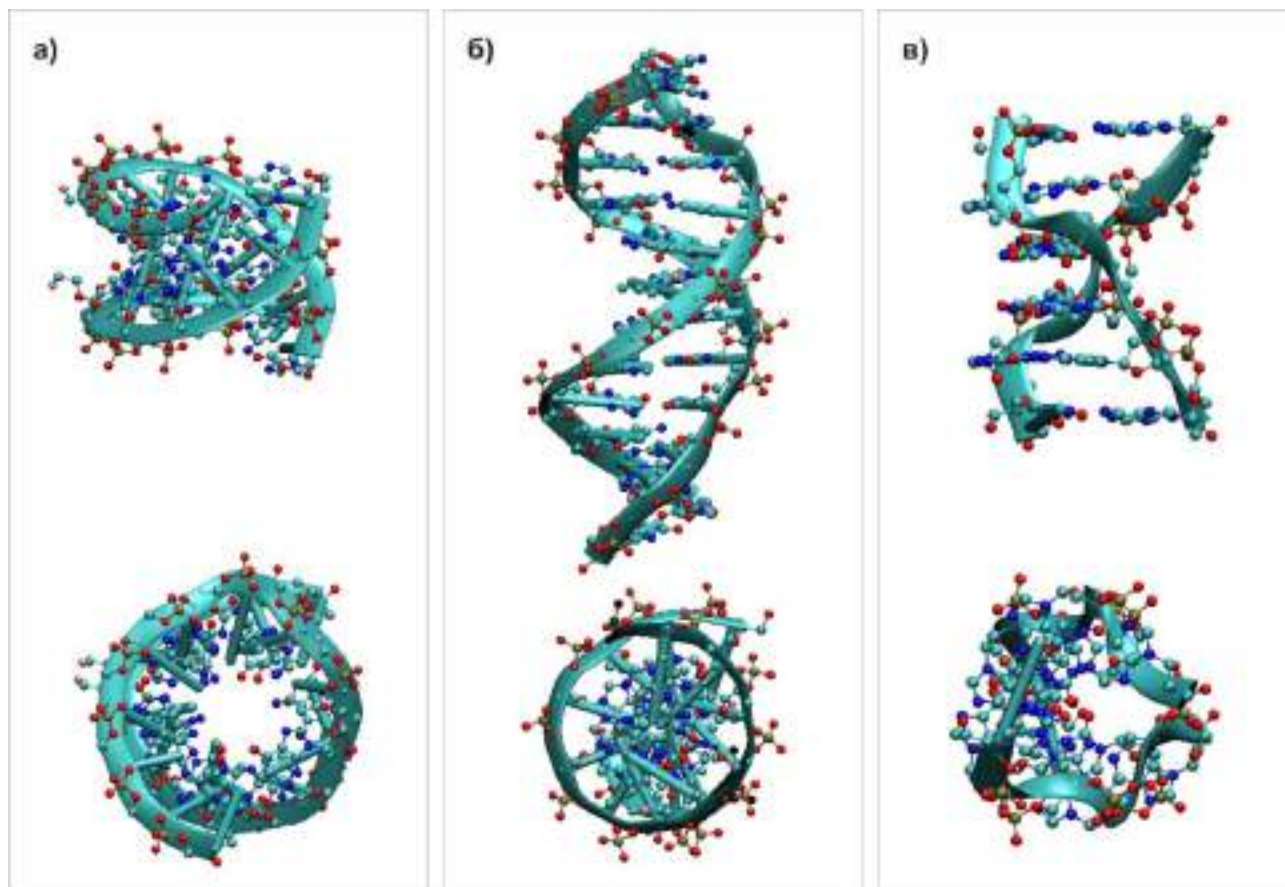


Рис. 1.3. Структура молекули ДНК в різних формах подвійної спіралі. Зверху – вигляд з боку, внизу – вигляд з торця подвійної спіралі. а) *A*-ДНК. За даними рентгеноструктурного аналізу [98] (pdb 1I0G). б) *B*-ДНК. За даними рентгеноструктурного аналізу [99] (ndb BD0012). в) *Z*-ДНК. За даними рентгеноструктурного аналізу [100] (pdb 362D). Для візуалізації структур використано програмну VMD [101].

1.2. Гідратація макромолекули ДНК

Структурні елементи нуклеотидів ДНК по-різному взаємодіють з водою. Фосфатні групи містять електронегативні атоми кисню, які утворюють водневі зв'язки і у водному розчині добре гідратуються. На противагу, нуклеїнові основи містять ароматичні кільця, що зменшують здатність формувати водневі зв'язки. Лише певні бокові групи нуклеїнових основ та окремі атоми здатні утворювати водневі зв'язки, а саме атоми O₆, N₃, N₇, N₂, N₆ пуринів і O₄, O₂, N₄ піримідинів (Рис. 1.1). Таким чином, в структурі ДНК є гідрофільні і гідрофобні групи. Розуміння того, що гідрофільні фосфатні групи мають знаходитися назовні макромолекули ДНК, а гідрофобні азотисті основи – всередині було визначальним для побудови моделі подвійної спіралі ДНК Уотсоном і Кріком [4].

У зв'язку з тим, що ефекти гідрофобності і гідрофільності можуть виникати лише у полярному розчиннику (у випадку біологічних молекул у водному розчині), то присутність молекул води навколо ДНК є критично важливою для формування структури подвійної спіралі. Молекули води формують навколо ДНК гідратну оболонку, яка за своїми властивостями суттєво відрізняється від об'ємної води [2]. Беручи до уваги структуроутворююче значення води для подвійної спіралі, гідратну оболонку ДНК вважають невід'ємною частиною її структури. Зміни гідратного середовища індукують зміни в структурі та динаміці подвійної спіралі, про що свідчать численні експериментальні і теоретичні дослідження [2,3,102].

Формування правої подвійної спіралі починається тільки за наявності приблизно 20 молекул води на пару нуклеотидів [2,103,104], при цьому може утворитися *A*-подібна форма подвійної спіралі (Рис. 1.3а). У випадку, коли кількість води досягає приблизно 40 молекул на пару нуклеотидів, подвійна спіраль ДНК приймає *B*-форму (Рис. 1.3б). Назви *A*- та *B*-форм подвійної спіралі ДНК походять з експериментальних робіт Франклін, де вона так назвала рентгеноструктурні знімки, що було отримано для випадку волокон ДНК з малим (~75% в.в.) та високим (~92% в.в.) вмістом води [5]. Якщо кількість води у зра-

зках складає величину <20 молекул води на пару нуклеотидів, ДНК переходить із стану подвійної спіралі у розупорядкований неструктурований стан [2]. Проте навіть в абсолютно сухому стані в зразках ДНК знаходиться певна кількість молекул води. Як показують експериментальні дані [104], у висушених плівках ДНК міститься від 3 до 6 молекул води на пару нуклеотидів.

Гідратна оболонка ДНК має досить різні структурні властивості у випадку внутрішньої та зовнішньої областей подвійної спіралі [2,3,103–105]. За своїми динамічними властивостями молекули води першої гідратної оболонки В-ДНК можна розділити на два типи [1–3]. Перший гідратний шар формують молекули води, локалізовані у внутрішніх областях подвійної спіралі, а саме у головному та мінорному жолобах ДНК (Рис. 1.4). У жолобах подвійної спіралі фізичні властивості гідратної оболонки ДНК істотно відрізняються від властивостей об'ємної води [2,99,102,106,107]. У мінорному жолобі подвійної спіралі середній час осілого життя молекули води найбільший (до 100 пс), а у головному жолобі він приблизно вдвічі менший, ніж у мінорному жолобі [102,107].

Другий тип гідратної води складається з молекул води, локалізованої назовні подвійної спіралі поблизу фосфатних груп остова макромолекули. Як показують дослідження [108], динаміка молекул води у внутрішньому і зовнішньому гідратних областях ДНК не корельованою і може розглядатися незалежно, що проявляється також за різними діапазонами часів осілого життя молекул води. Поблизу фосфатних груп остова подвійної спіралі молекули води перебувають в середньому протягом 10 пс [102,107]. Молекули води другої гідратної оболонки утворюють водневі зв'язки з молекулами води першої і третьої гідратних оболонок. Корельована динаміка молекул води поступово зменшується з віддаленням від поверхні біомолекули аж до відстані близько 10 Å [109]. Таку відстань можна розглядати як зовнішню межу гідратної оболонки макромолекули.

Слід зазначити, що в мінорному жолобі подвійної спіралі ДНК може утворюватися впорядкована структура з молекул води, яка зв'язує водневими зв'язками атоми азотистих основ таким чином, що формується ланцюжок молекул води вздовж макромолекули. Схема водного хребта показана на Рис. 1.5.

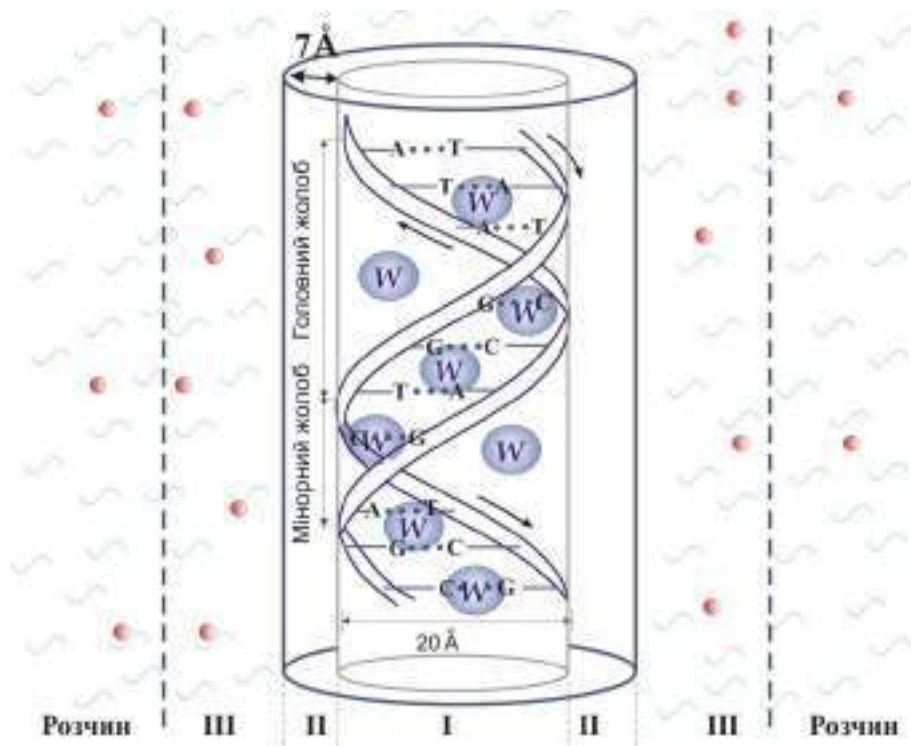


Рис. 1.4. Схема структури гідратної оболонки подвійної спіралі ДНК.

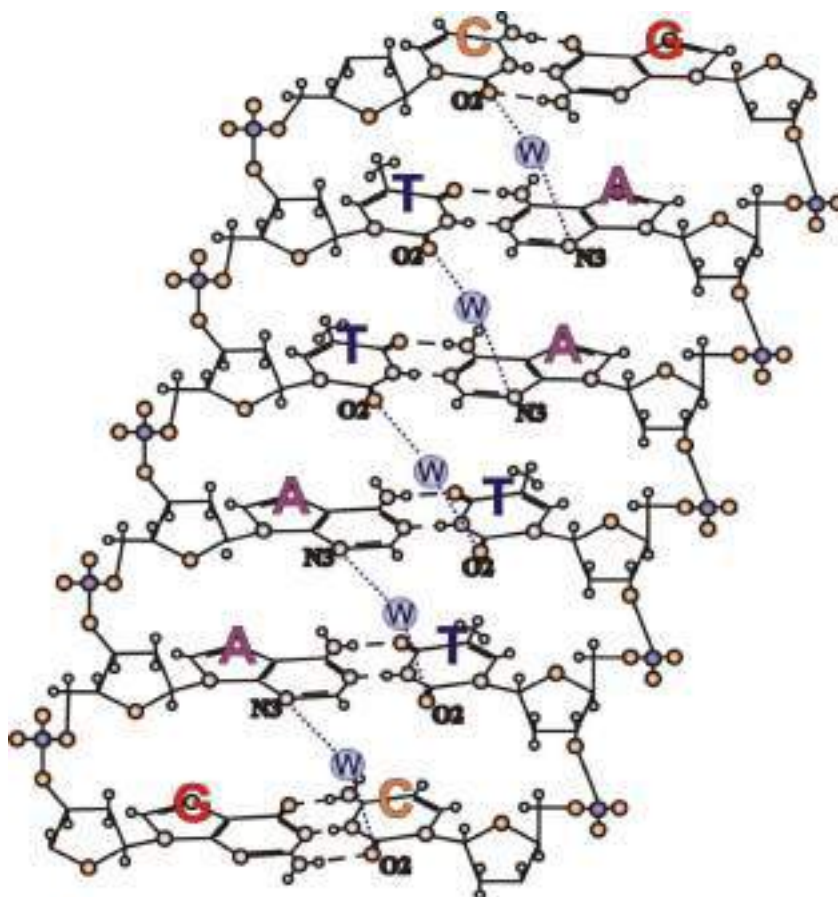


Рис. 1.5. Молекули води у водному хребті полінуклеотиду ДНК CGCGAATTCGCG [106].

Середній час перебування молекул води у гідратному хребті може становити понад 100 пс [107,110,111]. Така структура вперше спостерігалася експериментально за допомогою методу рентгеноструктурного аналізу на зразках кристалів полінуклеотиду CGCGAATTCGCG [106]. У випадку послідовності пар основ ААТТ молекули води з'єднують атоми N₃ пуринів та O₂ піримідинів, формуючи гідратаційний хребет [99]. Полінуклеотид з 12 пар основ з такою послідовністю називають додекамером Дікерсона-Дрю за іменами авторів, що вперше досліджували його експериментально.

1.3. Роль протийонів у стабілізації структури подвійної спіралі ДНК

1.3.1. Характеристика взаємодії іонів металів з ДНК. Молекула ДНК є кислотою в тому сенсі, що фосфатні групи остова мають один атом кисню, до якого також може приєднуватися атом водню. У водному середовищі при фізіологічних рН цей атом водню відщеплюється і молекула ДНК переходить у депротонований стан [14]. Це призводить до того, що фосфатні групи остова подвійної спіралі стають зарядженими. Таким чином, в природних умовах кожна фосфатна група ДНК несе на собі електростатичний заряд, який дорівнює заряду електрона (-e). Оскільки мінімальна відстань між фосфатними групами в структурі подвійної спіралі ДНК порівняно мала (біля 10 Å), вони мають відштовхуватися між зі значною силою. Елементарні оцінки показують, що енергія електростатичного відштовхування для такої системи більше ніж вдвічі перевищує енергію водневих зв'язків. Тому для стабілізації подвійної спіралі ДНК необхідно, аби фосфатні групи нейтралізувалися.

За фізіологічних умов фосфатні групи нейтралізуються позитивно зарядженими іонами. Такі іони ще називають протийонами¹. Як правило, роль протийонів відіграють іони металів K⁺ і Mg²⁺, а також молекулярні іони (спермідин³⁺, спермін⁴⁺), що завжди присутні в клітині в достатній кількості. За певних

¹ В представлений дисертації автор використовує терміни «протийон» відповідно до рекомендацій, що наведено в Англійсько-українсько-англійському словнику наукової мови (фізика та споріднені науки) [380].

умов в клітину можуть потрапляти й інші йони, непритаманні системі, але це вже буде скоріше викликати негативні біологічні наслідки. Проте в експериментах використовується різні іони. Це пов'язано з тим, що за певних умов ті чи інші йони, проявляючи свої специфічні властивості, роблять експериментально спостережувані ефекти більш яскравими. Тому для характеристики взаємодії з ДНК представляє інтерес розглянути іони різних типів.

Слід зазначити, що густина електростатичного заряду в молекулі ДНК розподілена за атомами нерівномірно. Окрім фосфатних груп на ДНК є атомні групи, що характеризуються підвищеними значенням густини електричного заряду. Це призводить до того, що є атоми, на яких густина заряду більша, і ці атоми стають ефективно негативно зарядженими, а є атоми, на яких густина заряду зменшується, і ефективно ці атоми стають позитивно зарядженими. Для зручності часто використовують парціальні заряди на атомах [112]. Такий підхід, зокрема застосовується в моделюванні методом класичної молекулярної динаміки, про який йтиметься далі. Нерівномірний розподіл густини заряду на ДНК призводить до того, що деякі місця є більш енергетично вигідними для протийонів, а інші – менш вигідними. Далі наведено детальний огляд характерних місць локалізації протийонів на ДНК. Такі місця локалізації також називають сайтами взаємодії.

Взаємодію протийонів металів зі специфічними сайтами зв'язування ДНК можна експериментально охарактеризувати методами рентгенівської кристалографії [98,99,113], коливальні спектроскопії [2,3,114–116], калориметричними вимірюваннями [1,3,117–120], методом малокутового рентгенівського розсіювання [17–19,121], методом ядерно-магнітного резонансу [122,123] та іншими експериментальними методиками [25,124–126]. В результаті експериментальних досліджень надійно встановлено, що протийони локалізуються в мінорному жолобі подвійної спіралі ДНК поблизу атомів N₃ пурину і O₂ піримідину, а у великому жолобі поблизу атомів N₇, N₄, O₄ пурину і O₄ піримідину. Ззовні подвійної спіралі протийони взаємодіють з атомами кисню фосфатних груп остова макромолекули ДНК (Рис. 1.6).

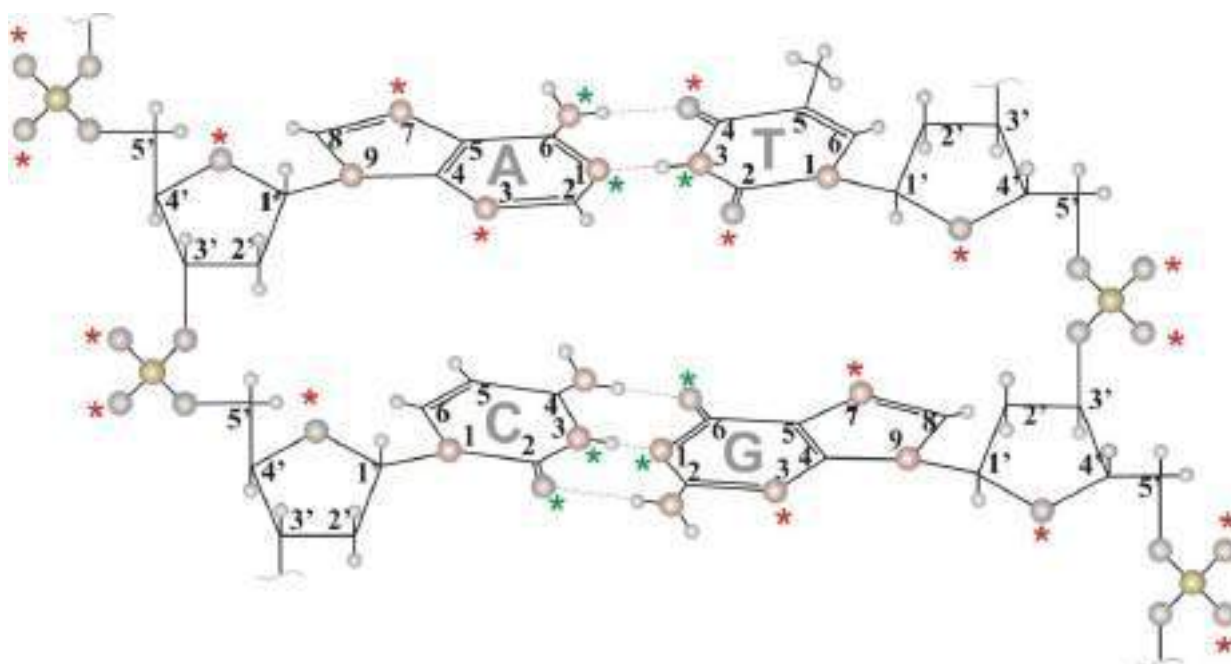


Рис. 1.6. Сайти зв'язування протийонів металів з ДНК (за даними [20]). Червоні зірочки позначають характерні ділянки зв'язування для всіх типів іонів металів, зелені зірочки відзначають ці характеристики для двовалентних іонів.

У випадку деяких послідовностей нуклеїнових основ дані рентгеноструктурного аналізу показують, що молекули води гідратного хребта в мінорному жолобі можуть бути замінені іонами Cs^+ [127,128] або Rb^+ [99], де вони утворюють стабільні хелатні комплекси з атомами нуклеїнових основ. Докази існування таких комплексів були отримані також для Na^+ та інших іонів [98,129–132]. У головному жолобі подвійної спіралі атом N_7 пуринів є найважливішим сайтом зв'язування [14]. Зовні подвійної спіралі протийони утворюють хмару завтовшки близько 7 Å [17,18].

Специфічність іонів до сайтів зв'язування, визначається типом протийону і нуклеотидною послідовністю [1]. Іони одновалентних металів (Na^+ , K^+) можуть зв'язуватися з усіма згаданими вище атомами подвійної спіралі ДНК, а іони двовалентних металів, наприклад Cu^{2+} , також можуть зв'язуватися з внутрішніми атомами в парах нуклеотидів [1,114,115]. У деяких випадках протийони можуть навіть зв'язуватися з атомами, які, зазвичай, беруть участь у водневих зв'язках в комплементарних парах нуклеотидів (атоми, відмічені зеленими

зірочками на Рис. 1.6). Незважаючи на широкий спектр експериментальних результатів, що описують взаємодію протийонів з ДНК, молекулярні механізми зв'язування протийонів все ще далекі від повного розуміння. Зокрема, особливого розгляду потребує проблема взаємодії молекулярних протийонів з ДНК.

Структура подвійної спіралі суттєво залежить від концентрації і типу протийонів. При збільшенні концентрації протийонів подвійна спіраль закручується (збільшується кут твіста), що характерно для подвійної спіралі D-ДНК [96]. Вплив солей лужних металів на кут спіральної закрутки ДНК досліджувалася за допомогою методу кругового дихроїзму [96], де було визначено, що підсилення ефекту закручування для іонів лужних металів знаходиться в такому порядку: $\text{NaCl} < \text{KCl} < \text{RbCl} < \text{CsCl} < \text{LiCl}$. Автори цієї роботи пояснюють цей ряд особливостями характеру гідратації іонів лужних металів і розміром самих іонів. Подібний результат був нещодавно одержаний за допомогою експериментів з однією молекулою ДНК (*single molecular experiments*) з використанням оптичного пінцету [133], де також було побудовано ряд для деяких протийонів лужних металів, а також іонів інших типів: $\text{Na}^+ < \text{K}^+ < \text{Ba}^{2+} < \text{Li}^+ \approx \text{Cs}^+ < \text{Sr}^{2+} < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+}$.

Протийони можуть порушувати або стабілізувати структуру водного середовища всередині гідратної оболонки ДНК. Залежно від структурної організації молекул води, іони, зазвичай, поділяються на позитивно гідратовані і негативно гідратовані [134,135]. У випадку позитивно гідратованих іонів (Li^+ , Na^+ і Mg^{2+}) молекули води в гідратних оболонках сильно впорядковані, і середній час перебування молекули в гідратній оболонці іона набагато більше, ніж в об'ємному розчині [135]. Тому ці іони також відомі як структуроутворюючі іони “*structure-making*” [134]. У випадку негативно гідратованих іонів (K^+ , Rb^+ і Cs^+) середній час перебування молекул води поблизу іона менше, ніж в об'ємі [135], а структура гідратної оболонки більш рихла, ніж у чистої води. Тому ці іони також відомі як структуро-руйнівні “*structure-braking*” [134]. Структура і динаміка іонно-гідратної оболонки ДНК залежать від характеру гідратації протийонів про що свідчать результати багатьох досліджень [12,32,136].

1.3.2. Взаємодія молекулярних протийонів з ДНК. В природних умовах молекула ДНК нейтралізується позитивно зарядженими атомними групами амінокислотних залишків, які входять до складу гістонових білків, що утворюють кор нуклеосоми. Макромолекула ДНК намотується на гістоновий кор і частково нейтралізує негативний заряд на фосфатних групах остова подвійної спіралі. Решта негативного заряду нейтралізується протийонами розчину. В результаті такої взаємодії електростатичне відштовхування між фосфатними групами ДНК суттєво зменшується і макромолекула утворює компактну структуру, яка далі скручується в хроматин, а потім у – хромосоми. Нейтралізація заряду на ДНК у цьому випадку відбувається значною мірою за рахунок гістонових білків.

Формування стабільного комплексу ДНК в нуклеосомі відбувається за участі молекулярних протийонів – поліамінів. Поліаміни зустрічаються в живих організмах, де вони виконують важливі клітинні функції [137]. Природні поліаміни, путресцин²⁺, спермидин³⁺ і спермін⁴⁺ (Рис. 1.7а), зазвичай, присутні у внутрішньоклітинному середовищі в мікромолярних концентраціях. В еукаріотичних клітин концентрація молекул поліамінів коливається від 0,88 до 1,58 мМ [138], що набагато нижче, ніж концентрація одновалентних іонів у фізіологічних умовах 150 мМ [14]. Збільшення або зменшення концентрації поліамінів може бути пов'язані з різними захворюваннями, такими як хвороба Альцгеймера, Хантінгтона, рак та інші [139–141]. Зокрема, показано, що молекули спермидину³⁺ мають важливі властивості для аутофагії і довголіття [140]. Природні поліаміни беруть участь в різних біологічних процесах клітинного метаболізму, пов'язаних з проліферацією і апоптозом клітин [142,143]. У ядрах клітин поліаміни беруть участь в механізмах компактизації ДНК в хроматині і в регуляції генів [144]. Також відомо, що вони відіграють ключову роль в молекулярних механізмах компактизації ДНК і РНК в вірусних капсидах і в регуляції вірусної інфекції [145,146]. Для того, аби з'ясувати роль поліамінів в молекулярних механізмах біологічної активності нуклеїнових кислот, необхідно охарактеризувати структуру і динаміку їх комплексів з ДНК.

Завдяки високому позитивному заряду молекули поліамінів сильно взаємодіють з ДНК за рахунок електростатичного притягання. Оцінки вільної енергії зв'язування при взаємодії молекул путресцину²⁺, спермидину³⁺ і сперміну⁴⁺ з подвійною спіраллю ДНК показують, що стабільність комплексів збільшується зі збільшенням заряду поліаміну [147]. Наразі відомі основні моди взаємодії цих полікатіонів з подвійною спіраллю ДНК [148]. Молекули поліамінів можуть розташовуватися в жолобах ДНК (у мінорному та головному жолобі) та зовні подвійної спіралі поблизу фосфатних груп остова макромолекули (Рис. 1.76). Слід зазначити, що молекули поліамінів можуть зв'язувати фосфатні групи різних ланцюжків подвійної спіралі, або навіть утворювати зшивки між різними макромолекулами. Такий характер взаємодії молекул поліамінів з ДНК визначає механізми конденсації ДНК під дією високо зарядних полікатіонів [79]. Найбільш імовірними сайтами зв'язування поліамінів є жолоби ДНК [149,150].

З ранніх досліджень відома властивість поліамінів індукувати конденсацію макромолекул ДНК [151–153]. В цілому, конденсація макромолекули ДНК спостерігається під дією протийонів із зарядом ≥ 3 , такими як, наприклад, спермидин³⁺ та спермін⁴⁺; при збільшенні концентрації протийонів ефект конденсації стає більш інтенсивним [154]. Для послідовності poly(A) конденсація може спостерігатися також з двовалентними іонами [155]. У випадку спермидину³⁺ ефект конденсації також спостерігався для макромолекулярного ланцюга хроматину [156].

Крім важливої ролі поліамінів у конденсації ДНК, також відомо, що взаємодія ДНК з поліаміном викликає зміни вторинної структури макромолекули, такі як конформаційні переходи подвійної спіралі B-A і B-Z [157], які можуть бути важливими для різних біологічних процесів, в яких бере участь ДНК в цих конформаціях [97,158]. Молекули поліамінів також виявляють радіозахисні властивості ДНК, пов'язані з полегшенням відновлення дволанцюжкових розривів ДНК, викликаних іонізуючим випромінюванням [159]. Ефекти взаємодії ДНК з поліаміном, що спостерігаються, підкреслюють важливість детального

вивчення специфічності локалізації поліаміну на макромолекулі по відношенню до послідовності нуклеотидів ДНК.

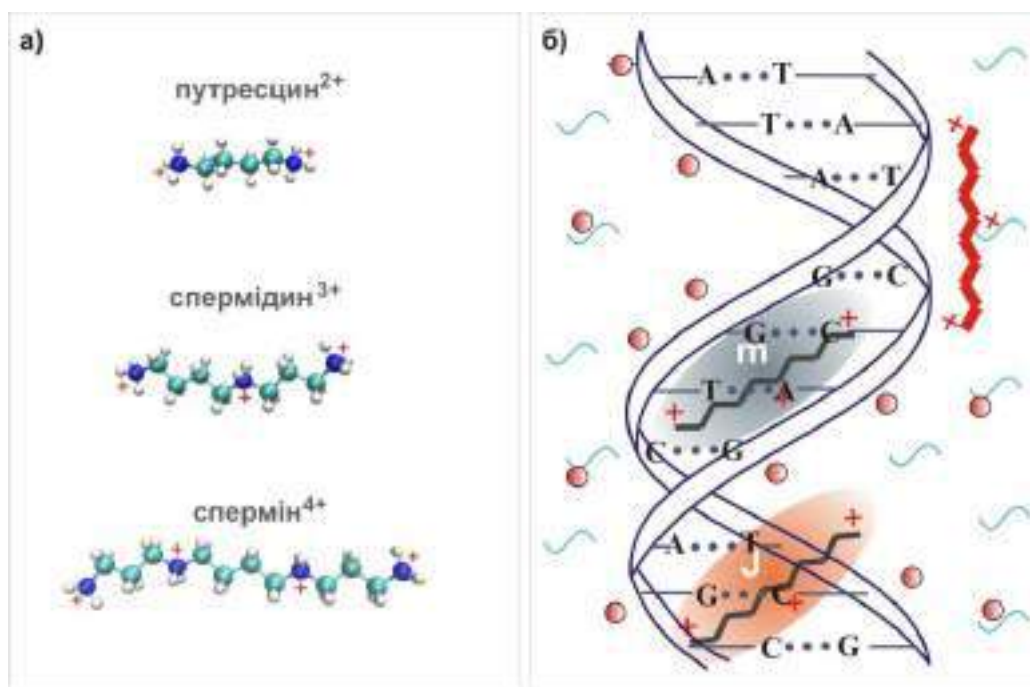


Рис. 1.7. а) Молекули природних поліамінів. б) Характерні моди взаємодії молекул поліамінів з подвійною спіраллю ДНК.

1.4. Явище конденсації протийонів ДНК, поліелектролітні моделі

У зв'язку з тим, що фосфатні групи остова подвійної спіралі несуть на собі негативний заряд макромолекула ДНК є сильним поліелектролітом [16]. У водному розчині протийони конденсуються навколо ДНК, утворюючи дифузну атмосферу, навколо макромолекули (Рис. 1.8а). Ефект конденсації протийонів був передбачений в рамках простих моделей теорії конденсації протийонів [15,160], які коротко розглянемо далі.

В рамках найпростіших поліелектролітних моделей макромолекули ДНК представляється як ланцюжок негативних точкових зарядів у позитивно зарядженому континуумі [15]. Заряди розділені між собою відстанню b (Рис. 1.8). Кожен заряд в моделі дорівнює величині елементарного заряду (q). Відстань b між зарядами така, що відтворює лінійну густину заряду макромолекули. У випадку подвійної спіралі ДНК відстань між зарядами b в моделі відповідає поло-

вині відстані між парами нуклеотидів (h), оскільки одна пара нуклеотидів містить дві фосфатні групи, що мають негативний заряд, рівний q . Протийони навколо макромолекули ДНК моделюються як заряджений континуум. Іони, що нейтралізують заряд навколо ДНК, локалізовані в деякому об'ємі V_p навколо зарядженої ланцюжка. Такі іони вважаються сконденсованими. Сконденсовані протийони екранують електростатичний заряд макромолекули. Частка конденсованих протийонів, яка припадає на одну фосфатну групу, описується параметром θ . Кожен заряд ланцюга зменшується до значення $q(1 - \theta)$.

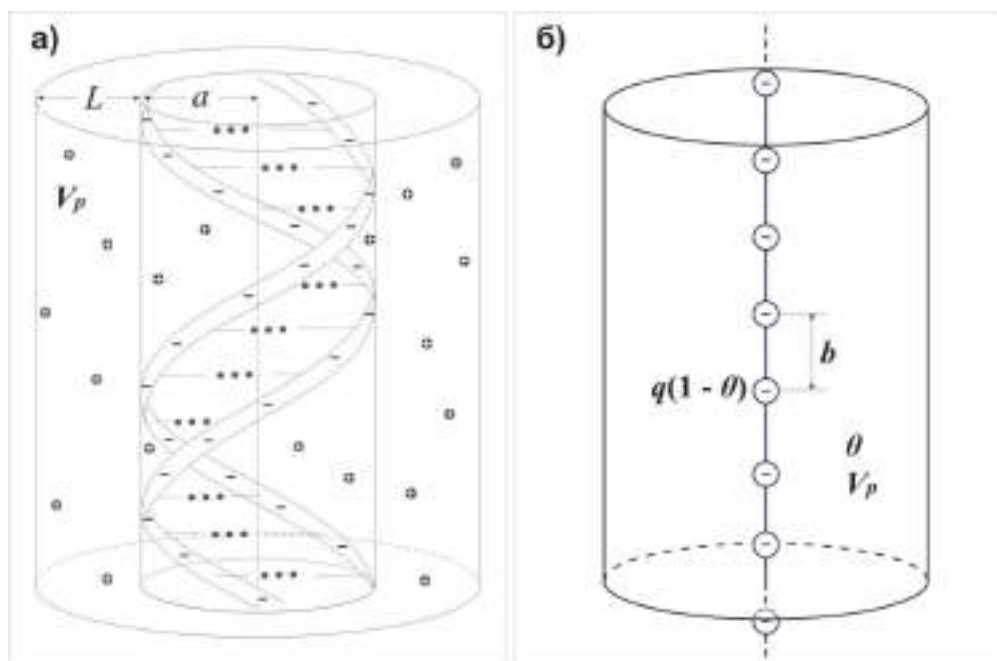


Рис. 1.8. Найпростіша модель теорії конденсації протийонів. а) Схематична структура подвійної спіралі ДНК. б) Модель Меннінга (*G.S. Manning*) [15].

Вільна енергія системи представлена як сума електростатичного g_{rep} і ентропійного g_{mix} внесків [15]:

$$g = g_{rep} + g_{mix}, \quad (1.1)$$

де вільна енергія виражена в одиницях $k_B T$ на одну фосфатну групу, k_B – стала Больцмана, T – температура в градусах Кельвіна. В теорії конденсації протийонів Меннінга середня електростатична енергія відштовхування між зарядженими кульками аналізувалася з використанням кулонівського потенціалу з екра-

нуванням Дебая. Заряд кожної фосфатної групи зменшувався на кількість сконденсованих протийонів θ (Рис. 1.8б).

В результаті електростатична енергія була отримана в наступному вигляді [15]:

$$g_{rep} = -\xi(1-\theta)^2 \ln(\kappa b). \quad (1.2)$$

У формулі (1.2) ξ – безрозмірна лінійна густина заряду поліелектроліту, яку можна виразити у наступному вигляді: $\xi = L_B / b$, де $L_B = e^2 / (4\pi\epsilon\epsilon_0 k_B T)$ – довжина Б'єрума, що характеризує відстань, на якій два елементарних точкових заряди в середовищі з діелектричною проникністю ϵ взаємодіють з енергією, що дорівнює енергії теплового руху $k_B T$. Параметр κ є оберненою довжиною Дебая: $\kappa^{-1} = \sqrt{8L_B \times 10^3 N_A^2 C}$ де N_A – число Авогадро, C – концентрація іонів в моль/літр.

Член g_{mix} в (1.1) описує ентропію змішування протийонів в атмосфері навколо макромолекули з тими протийонами, що знаходяться в розчині. Цей доданок визначається концентрацією сконденсованих протийонів і концентрацією іонів в розчині. З огляду на те, що кількість протийонів на кожну фосфатну групу дорівнює θ , член ентропії змішування можна записати в наступному вигляді [15]:

$$g_{mix} = \theta \ln \frac{\theta}{V_p C}. \quad (1.3)$$

Під логарифмом знаходиться співвідношення концентрацій: θ / V_p – концентрація конденсованих протийонів, а C – концентрація солі в розчині, як і в раніше. Оскільки концентрація іонів C зазвичай виражається в молях на літр, об'єм V_p береться в літрах на моль.

Мінімізуючи вільну енергію ($\frac{dg}{d\theta} = 0$), отримується рівняння відносно рівноважного значення θ . Для того, аби виключити сингулярність, що виникає при $C \rightarrow 0$ у випадку $\ln(C)$, в теорії Меннінга коефіцієнт перед логарифмом прирівнюється до нуля. В результаті одержується рівняння, з якого рівноважне значення параметра θ визначається в наступному вигляді [15]:

$$\theta = 1 - \xi^{-1}. \quad (1.4)$$

Використовуючи умову мінімуму енергії і рівняння (1.4) в теорії конденсації протийонів Меннінга вдається одержати вираз для об'єму який займають сконденсовані протийони навколо поліелектроліту [15]:

$$V_p = A^2 b^2 (1 - \xi^{-1}) e. \quad (1.5)$$

де e – основа натурального логарифму. Протийони вважаються конденсованими, якщо вони локалізовані в об'ємі V_p навколо фосфатної групи. Беручи до уваги характерні параметри структури подвійної спіралі молекули ДНК, оцінки показують, що товщина іонної оболонки складає близько $7\text{\AA}$.

Як впливає з (1.4) іонна атмосфера навколо молекули поліелектроліту утворюється у випадку, коли густина заряду макромолекули складає $\xi > 1$ [15]. Ця умова означає, що для спостереження конденсації відстань між елементарними зарядами в моделі молекули поліелектроліту має бути меншою деякої характерної довжини, яка є близькою до довжини Б'єрума ($b < L_B$). Беручи до уваги значення довжини Б'єрума для водного розчину (близько $7\text{\AA}$ при температурі 300 K) і значення структурних параметрів макромолекули ДНК, можна побачити, що ефект конденсації протийонів буде спостерігатися для будь-якої форми подвійної спіралі ДНК. Слід зазначити, що в базовій моделі теорії конденсації іонна атмосфера є однорідною, а внутрішня і зовнішня області подвійної спіралі, а саме області мінорного і головного жолобків, ДНК не розрізняються.

Результати показують, що конденсовані протийони знижують заряд кожної фосфатної групи В-ДНК приблизно в 0,76 рази. Цей результат підтверджено різними експериментами [17–19,121,161], а також більш складними моделями, які враховують різні особливості структури ДНК [16,162]. Зокрема, дані експериментів з аномального малокутового рентгенівського розсіювання водних розчинів ДНК з іонами Rb^+ , Sr^{2+} показують, що протийони локалізовані в оболонці навколо макромолекули ДНК товщиною приблизно до $7\text{\AA}$, в залежності від типу протона [17–19,121,161]. Зі збільшенням заряду протийонів іонна атмосфера стискається до менших розмірів [17]. Усередині хмари протийони можуть

переміщуватися навколо макромолекули і проникати у внутрішні області подвійної спіралі: малий жолоб, великий жолоб і область навколо фосфатних груп основа подвійної спіралі.

Для дослідження розподілу протийонів навколо подвійної спіралі ДНК розвинуто ряд моделей на основі рівняння Пуассона-Больцмана (див. огляд Франк-Каменецького [16]). В основі цих моделей лежать наступні положення: 1) макромолекула ДНК розглядається як нескінченний рівномірно заряджений циліндр з деяким скінченим радіусом a ; 2) іони навколо ДНК моделюються як заряджений континуум (Рис. 1.8а). Головною задачею є визначення електростатичного потенціалу φ в різних точках простору для різних значень концентрації солі. Беручи до уваги циліндричну симетрію системи, Рівняння Пуассона-Больцмана можна записати у такому вигляді:

$$u''(r) + r^{-1}u'(r) = \kappa^2 \text{sh}(u(r)), \quad (1.6)$$

з граничними умовами

$$u'(r)|_{r=a} = 2\xi / a, \quad u(r)|_{r=R} = 0, \quad (1.7)$$

де $u(r) = e\varphi(r) / k_B T$ – електростатичний потенціал в безрозмірній формі; κ – як і раніше обернений радіус Дебая; a – радіус циліндра; R – відстань, що відповідає точці на нескінченності. Описання моделей для системи ДНК з протийонами, що одержуються за допомогою моделей на основі рівняння Пуассона-Больцмана, можна знайти в численних оглядах, зокрема в [16,162].

Точний розв'язок рівняння (1.6) невідомий, і для аналізу використовуються його чисельні розв'язки. Проте є деякі частинні випадки, які є надзвичайно важливими як з точки зору розуміння системи ДНК з протийонами, так і з точки зору розвитку математичних моделей для описання розподілу протийонів навколо поліелектролітів. Одним з таких наближень є випадок, коли для будь-яких відстаней r енергія електростатичної взаємодії між іоном і зарядженим є малою величиною порівняно з енергією теплового руху. Тоді праву частину рівняння (1.6) можна розкласти в ряд. В результаті у першому наближенні одержується відоме рівняння Дебая-Хюккеля, розв'язок якого можна знайти в ана-

літичному вигляді. Проте, незважаючи на свою елегантність, рівняння Дебая-Хюккеля може бути застосоване лише для молекул слабких поліелектролітів у випадку малої концентрації солі, оскільки має виконуватися умова слабкості електростатичної взаємодії. Для ДНК така умова є заздалегідь нездійсненною.

Точний розв'язок рівняння (1.6) також вдалося одержати Качальським [163]. В цій роботі було запропоновано розглядати молекулу поліелектроліту в циліндричному кільці певного скінченного радіуса, в якому знаходяться лише іони протилежного до поліелектроліту знаку. У цьому випадку з $\text{sh}(u(r))$ в рівнянні (1.6) залишається лише одна експонента і рівняння вдається розв'язати аналітично. Така модель є значно ближчою до реальної системи макромолекули ДНК з протийонами. Дослідження фізичних властивостей системи ДНК в оточенні іонів в рамках підходів на основі рівняння Пуассона-Больцмана продовжує активно розвиватися. З'являються все нові роботи, які дозволяють глибше зрозуміти суть математичної моделі системи [164,165]. Зокрема в роботі [166], проведено аналіз, який показав, що рівняння Пуассона-Больцмана можна звести до більш загального вигляду, яке відоме як рівняння Пенлеве III.

Незважаючи на значний успіх поліелектролітних моделей в описанні системи ДНК з протийонами, наближення, які покладені в їхню основу накладають суттєві обмеження на коло задач, які можуть розглядатися. Зокрема, суттєві труднощі виникають при врахуванні особливостей структури подвійної спіралі ДНК – наявності мінорного і головного жолобів, специфічності взаємодії протийонів з певними ділянками подвійної спіралі і певними нуклеотидними послідовностями, врахування ефектів гідратації протийонів, врахування конформаційної рухливості іонів у випадку багатозарядних органічних молекул (поліаміни), тощо. Для врахування зазначених ефектів необхідно розвивати нові підходи до описання системи ДНК з протийонами, а також проводити дослідження на основі молекулярно-динамічних симуляцій, де враховуються усі деталі структури подвійної спіралі ДНК на атомістичному рівні, явно враховуються протийони разом з молекулами розчинника.

1.5. Молекулярно-динамічні дослідження системи ДНК з протийонами

1.5.1. Деякі особливості методу молекулярної динаміки ДНК. Для дослідження системи ДНК з протийонами одним з найбільш інформативних методів є метод атомістичної молекулярної динаміки. Цей метод ґрунтується на розв'язанні класичних рівнянь руху для кожного атому системи. В результаті моделювання одержується набір координат та швидкостей для кожної частинки на кожному кроці інтегрування – траєкторія моделювання. Для чисельного інтегрування диференціальних рівнянь використовуються методи на основі алгоритму Верле [112], які впроваджено в сучасні програмні пакети моделювання методом молекулярної динаміки. Серед найбільш популярних пакетів, які є NAMD [167], GROMACS [168], MDynaMix [169,170], AMBER [171], CHARMM [172,173] та інші. Кожен програмний пакет має свої переваги, проте незалежно від пакету, який використовується, метод атомістичного моделювання досяг високого розвитку, коли одержані результати симуляцій знаходяться на тому ж рівні, що й експеримент. Дослідження фізичних властивостей біологічних макромолекул шляхом проведення молекулярно-динамічних симуляцій стали необхідним етапом у вирішенні багатьох задач біофізики.

Взаємодія між атомами в методі молекулярної динаміки визначається потенціалами взаємодії. Найчастіше використовується набір потенціалів взаємодії у наступному вигляді [174]:

$$U = \sum_{bonds} K_B (b - b_0)^2 + \sum_{angles} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{dihedr} \sum_n K_\phi^n (1 + \cos(n\phi - \delta)) + \sum_{UB} K_{UB} (S - S_0)^2 + \sum_{impr} K_\psi (\psi - \psi_0)^2 + \sum_{i,j} \epsilon_{ij} \left[\left(\frac{R_{ij}^{min}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_{ij}^{min}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \sum_{Coul} K_C \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}}. \quad (1.8)$$

У формулі (1.8) перший доданок описує енергію деформації хімічних зв'язків з силовою сталою K_B і зміна довжини зв'язку $(b - b_0)$. Другий член описує енергію деформації валентного кута з силовою сталою K_θ , а зміна θ – кут зміщення. Третій член – енергія торсійних кутів, кожен з яких створюється чотирма послідовно з'єднаними атоми в молекулі; K_ϕ^n – силова константа, n –

ціле число, що позначає періодичність ротаційного бар'єру (кратність), δ – фазовий кут торсійного кута. Четвертий член описує енергію атомів, розділених двома ковалентними зв'язками (доданок Урі-Бредлі); K_{UB} – силова стала, $(S - S_0)$ – зміна відстані між атомами. П'ятий доданок описує згин деяких молекулярних структурних елементів (невласне кручення, або англійською *improper torsion*); ψ – кут, K_ψ – силова стала, а $(\psi - \psi_0)$ – зміна кута. Останні два доданки в рівнянні (1.8) описують ван дер ваальсові і кулонівські далекосяжні взаємодії. Ван дер ваальсові взаємодії описуються потенціалом Леннарда-Джонса з параметрами ε_{ij} і $R_{ij}^{\min}$, що визначають взаємодію між частинками ij системи; r_{ij} – відстань між атомами i та j . Кулонівський член визначається частковими зарядами q_i і q_j на атомах, ε – діелектрична проникність і K_C – стала Кулона, яка залежить від вибору системи одиниць вимірювання.

Для визначення взаємодії атомів кожного типу розроблений свій набір параметрів. Набір параметрів, які входять в потенціали взаємодії, називають силовим полем. Розробка силового поля є складною і рутинною задачею, що вимагає проведення великої кількості тестових симуляцій. Групи розробників силових полів регулярно проводять оновлення і зараз за допомогою сучасних варіантів наборів параметрів вдається описати реальні системи з високою точністю. Деталі методу молекулярної динаміки можна знайти в спеціальній літературі, наприклад, в класичному підручнику Тамар Шлик (*Tamar Schlick*) [112].

1.5.2. Деякі результати моделювання систем ДНК з протийонами методом молекулярної динаміки. Дослідження методом молекулярної динаміки розподілу протийонів металів навколо подвійної спіралі ДНК почалися ще з перших робіт з атомістичного моделювання нуклеїнових кислот наприкінці 70-х років минулого століття [175–180]. Опис електростатичних взаємодій в цих системах, зокрема взаємодій з протийонами, був однією з ключових проблем. Ефективне вирішення цієї проблеми було запропоновано в рамках методу підсумовування за Евальдом [180,181]. Після довгих і наполегливих зусиль ба-

гатьох груп наприкінці минулого століття було досягнуто достатньо реалістичного описання систем ДНК з протийонами в рамках методу атомістичної молекулярної динаміки (історичний огляд можна знайти в роботах [10,182]).

Атомістичні симуляції з характерною довжиною траєкторії в кілька наносекунд для систем ДНК в кілька десятків тисяч атомів було досягнуто наприкінці 90-х – початку 2000-х років. Результати показали, що основні місця зв'язування протийонів з ДНК відповідають даним рентгеноструктурного аналізу і ЯМР. Зокрема, для Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ і Mg^{2+} було показано, що головними сайтами взаємодії є атоми в мінорному і головному жолобах подвійної спіралі та області біля атомів фосфатних груп [9,183–185]. В даний час твердо встановлено, що протийони мають тенденцію локалізуватися в мінорному жолобі ДНК біля атомів N_3 пурину і O_2 піримідину, у головному жолобі біля атомів N_7 , N_4 , O_4 пурину і O_4 піримідину і поблизу атомів кисню фосфатних груп остова подвійної спіралі. Для іонів Na^+ було показано [183], що вони можуть локалізуватися в мінорному жолобі подвійної спіралі так, як це було виявлено в рентгеноструктурному аналізі ДНК у випадку іонів Cs^+ , який було зафіксовано в гідратному хребті в мінорному жолобі подвійної спіралі [127,128]. Було виявлено, що характер гідратації протийонів металів є важливим для їхньої взаємодії з подвійною спіраллю ДНК [184,185].

Симуляції з довшими траєкторіями моделювання (кілька десятків наносекунд) дали можливість встановити характерні часи осілого життя протийонів металів (в основному Na^+ та K^+) та залежність їхнього розташування від послідовності нуклеотидних основ [186–189]. Результати показали, що протийони можуть залишатися в сайті взаємодії протягом періоду часу від десятків пікосекунд до однієї наносекунди [186]. У мінорному жолобі подвійної спіралі час осілого життя є найбільшим, тоді як у головному жолобі і біля фосфатних груп характерний час осілого життя у кілька разів менший, ніж у мінорному жолобі [186,187,189]. Атомістичні симуляції з набагато довшими траєкторіями моделювання (близько 1 мкс) підтвердили ці результати та виявили нові важливі фізичні особливості системи [12,190–192]. Зокрема, мікросекундне моделювання

[11,12] показало, що системи ДНК з протийонами приходять у рівновагу дуже повільно, і системі потрібно близько 100 нс або навіть більше, щоб досягти балансу. У випадку деяких послідовностей нуклеотидів стан рівноваги для підсистеми протийонів не досягається навіть після 1 мкс моделювання [12].

Ймовірність локалізації протийонів у жолобах подвійної спіралі суттєво залежить від послідовності нуклеїнових основ [11,12,192,193]. Навпаки, за межами макромолекули розподіл протийонів виявився не настільки чутливим до локальної структури ДНК [191], хоча нещодавні молекулярно-динамічні дослідження [192] показали, що взаємодія протийонів з фосфатними групами також може модулюватися вмістом пар основ ДНК. У відповідь на позиціонування протийону у сайтах зв'язування ДНК змінює свою структуру, що пов'язано зі зміною конформаційних параметрів подвійної спіралі [191]. Зокрема, ширина мінорного жолоба з протийоном усередині менша, ніж у випадку канонічної В-ДНК [57,186].

Таким чином, на основі результатів моделювання атомістичної молекулярної динаміки протийони можна класифікувати по області їхньої локалізації відносно подвійної спіралі, а саме: в розчині (вільні іони), в атмосфері навколо макромолекули ДНК за межами подвійної спіралі (протийони атмосфери) і протийони, що знаходяться всередині малого і великого жолобків подвійної спіралі (захоплені або зв'язані протийони). Динаміка і структурування системи різних протийонів має свої характеристики, що буде досліджуватися в представленій дисертаційній роботі.

1.6. Конформаційні коливання подвійної спіралі ДНК з протийонами

1.6.1. Вплив протийонів на низькочастотний спектр ДНК. Починаючи з перших досліджень структури молекул нуклеїнових кислот [4,5,93,194,195], було відомо, що молекула ДНК це сіль певного металу. У водному розчині сіль ДНК дисоціює на протийони та аніонний поліелектроліт, подібно до того, як дисоціює сіль NaCl на катіони Na^+ та аніони Cl^- , проте,

на відміну від звичайної солі NaCl, у розчині солі ДНК протийони не відходять від макромолекули на великі відстані. Разом з водою вони утворюють навколо макромолекули іон-гідратний шар, який стабілізує структуру подвійної спіралі [1,3,14]. Всередині цього шару мобільні протийони знаходяться в стані динамічної рівноваги біля ДНК, який характеризується певними часами осілого життя. Дані молекулярної динаміки для ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Cs^+ (наприклад роботи [11,12,32,186,191,196]) показують, що протийони проводять в комплексі з фосфатними групами остова ДНК значний час ($\sim 1\text{нс}$), який набагато більший, ніж період конформаційних коливань подвійної спіралі ($\sim 10\text{пс}$ [197–203]). В цьому часовому інтервалі між фосфатними групами ДНК та протийонами виникає іонний зв'язок. В часовому інтервалі існування іонного зв'язку протийони мають здійснювати коливання відносно фосфатів, які повинні проявлятися в коливальному спектрі ДНК. Спостереження коливальних мод протийонів відносно фосфатних груп остова ДНК має свідчити про існування динамічної іонної ґратки та ступінь впорядкованості системи протийонів навколо подвійної спіралі.

Коливальні моди іон-фосфатних коливань мають знаходитися в тому ж діапазоні спектру, що й коливання ґратки іонних кристалів. Як відомо [204], для таких кристалів як NaCl коливання ґратки проявляються в діапазонів нижче 200 см^{-1} . Водночас, діапазон спектру ДНК $<200\text{ см}^{-1}$ є досить складним. Він характеризується конформаційними коливаннями макромолекули, які пов'язані зі зміщеннями цілих атомних груп (азотистих основ, цукрових кілець, фосфатних груп) [197,198,200]. Експериментальні дані [21,23,103,205–210] показують, що в діапазоні спектру ДНК $<200\text{ см}^{-1}$ спостерігається вузький пік 25 см^{-1} , широка смуга 85 см^{-1} , яка складається з мод $60, 80, 100$ та 120 см^{-1} [21,208,209,211]. та Також спостерігаються декілька мод в області вище 100 см^{-1} .

Мода 25 см^{-1} є найнижчою коливальною модою ДНК, яка спостерігається у низькочастотних спектрах. Частота коливань нижньої моди зменшується від 25 до 10 см^{-1} при збільшенні вмісту води у зразках від 40 до 98% відносної вологості [205,206,209] та при підвищенні температури від -140 до $0\text{ }^\circ\text{C}$ [212]. При

заміні протийонів Na^+ більш важкими протийонами K^+ , Rb^+ та Cs^+ в спектрі висушених плівок ДНК спостерігалось пом'якшення нижньої моди від 31 до 23 cm^{-1} [22,213]. Автори роботи [213] вважають, що ця мода може описувати відносні коливання ланцюжків двох різних макромолекул, які з'єднані між собою протийонами. З іншого боку, згідно з інтерпретацією низькочастотних спектрів [197–203], нижня мода пов'язана з поперечними коливаннями нуклеозидів, як фізичних маятників відносно остова подвійної спіралі ДНК і характеризує пружність остова макромолекули. Таким чином, причини залежності моди 25 cm^{-1} від типу протийонів остаточно не були з'ясовані.

Залежність області спектру 60 – 120 cm^{-1} від типу протийонів спостерігалась лише в спектрах комбінаційного розсіяння водних розчинів Na- та Cs-ДНК [25], де було виявлено, що інтенсивність смуги 100 cm^{-1} в спектрі Cs-ДНК майже вдвічі вища, ніж в спектрі Na-ДНК. Інші моди молекули ДНК в цьому діапазоні спектру не мають яскраво виражених залежностей від концентрації та типу протийонів. В більш високочастотному діапазоні (100 – 200 cm^{-1}) спостерігаються моди, які залежать від концентрації та типу протийонів [21,23]. В спектрі висушених плівок полінуклеотидів $\text{poly(dA)} \cdot \text{poly(dT)}$ спостерігалась мода 170 cm^{-1} , інтенсивність якої зменшувалась при зменшенні концентрації протийонів [21]. Автори в [21] вважають, що ця мода може характеризувати внутрішні коливання ДНК, або коливання в кристалах NaCl, що не розчинилися у зразку, оскільки частота коливань в кристалах NaCl має близьке значення [214]. У випадку інших протийонів в спектрі плівок висушених полінуклеотидів $\text{poly(rI)} \cdot \text{poly(rC)}$ з протийонами K^+ спостерігалась мода 150 cm^{-1} , яка пом'якшувалась до 110 та 95 cm^{-1} , при заміні протийонів K^+ на Rb^+ та Cs^+ відповідно [23]. Ця мода не була інтерпретована, проте слід зазначити, що спостережувані частоти мають близькі значення до частот іонних коливань у кристалах KCl, RbCl та CsCl відповідно [204]. Близькість частот коливань ДНК та іонних кристалів вказує на те, що моди, які спостерігаються в роботах [21,23] можуть характеризувати коливання протийонів в макромолекулі ДНК. Дослідження низькочастотного спектру Z-форми подвійної спіралі ДНК [24] показує

ли, що в цьому діапазоні спектру також спостерігається мода біля 150 см^{-1} , природа якої ще не з'ясована. Беручи до уваги, що ця мода має значення, близьке до тих, що спостерігаються в спектрах іонних кристалів [204], вона потенційно може бути пов'язана з коливаннями протийонів у Z-ДНК.

Залежність коливальних мод низькочастотного спектру молекули ДНК від концентрації та типу протийонів теоретично досліджувалася в роботах [201,202,215]. В роботі [201] розраховано моди коливань полінуклеотиду $\text{poly(dA)}\cdot\text{poly(dT)}$ в діапазоні від 40 до 100 см^{-1} з протийонами Na^+ і без них, враховуючи взаємодію між усіма атомами молекули. Результати показали, що при додаванні протийонів частоти коливань лише трохи зміщуються. Тобто середній діапазон низькочастотного спектру мало залежить від концентрації протийонів. До такого самого висновку дійшли автори роботи [202], де показано, що збільшення концентрації протийонів має призводити до пом'якшення мод з частотою $<15\text{ см}^{-1}$, які експериментально не спостерігаються в коливальних спектрах. Дослідження залежності низькочастотного спектру ДНК від типу протийонів проводилося лише для нижньої моди в роботі [215], де використовували феноменологічну модель, розвинену в роботах [21,211]. В результаті було пояснено пом'якшення тільки нижньої моди при збільшенні маси протийону, яке спостерігалось в роботі [213]. Проте в підході [21,211], переважну більшість силових констант обирали довільним чином, тому запропонована в роботі [215] інтерпретація експериментальних даних [213] не є однозначною.

Таким чином, низькочастотні коливання ДНК характеризуються зміщеннями цілих атомних груп подвійної спіралі, таких як нуклеотиди, фосфатні групи, за рахунок змін торсійних котів (конформаційними коливаннями [197–200]). Згідно з теорією конформаційних коливань двоспіральних молекул типу ДНК [197–200] низькочастотний спектр має структуру, яку умовно можна поділити на три діапазони. В найнижчому діапазоні знаходиться мода 20 см^{-1} , яка пов'язана зі зміщеннями азотистих основ разом із цукрами відносно остова макромолекули в площині, ортогональній до осі повідної спіралі ДНК. В середньому діапазоні від 60 до 120 см^{-1} знаходяться коливальні моди, що характери-

зують рухи структурних елементів ДНК, пов'язані з розтягом водневих зв'язків у парах азотистих основ та деформацією цукрів. В діапазоні вище 100 см^{-1} спостерігаються моди, які залежать від протийонів. Для інтерпретації впливу протийонів на низькочастотний спектр ДНК, який спостерігається в експериментальних спектрах, необхідно розвинути нові фізичні моделі.

1.6.2. Модель конформаційних коливань ДНК з протийонами. Для інтерпретації впливу протийонів на низькочастотні спектри ДНК в кандидатській дисертації автора [20] було побудовано модель динаміки іон-фосфатної ґратки. Модель ґрунтувалася на теорії конформаційних коливань Волкова–Косевича [197–200] і теорії іонних кристалів [204]. Результати досліджень було опубліковано в роботах [25,216,217]. Детальний виклад цієї моделі також опубліковано в підручнику [85]. Далі для забезпечення послідовності викладення матеріалу наводиться короткий опис основ цієї моделі і деяких результатів, що одержано на її основі.

В рамках запропонованої моделі макромолекула ДНК представлялася у вигляді повідної спіралі нуклеотидів (Рис. 1.9). Внутрішня мобільність структурних елементів подвійної спіралі описувалася рухами двох мас остова (m_0 : $\text{PO}_2 + 2\text{O} + \text{C}_5'$) та двох мас нуклеозидів (m : азотиста основа + цукрове кільце). Нуклеозиди розглядалися, як фізичні маятники зі зведеними довжинами (l), які можуть коливатися відносно ланцюжків остова. За рахунок м'якості цукрового кільця, нуклеозид має певну внутрішньонуклеозидну рухливість, яка в моделі враховувалася зміною довжини нуклеозиду (ρ).

Нуклеозиди різних ланцюжків з'єднувалися попарно водневими зв'язками. До атому кисню O_2 кожної фосфатної групи остова подвійної спіралі приєднані протийони з масою m_a (Рис. 1.9а). Параметри моделі розраховувалися для центрів мас нуклеозидів та мас остова. В побудованій моделі лише поперечні ступені вільності були взяті до уваги, оскільки поздовжні коливання елементів макромолекули суттєві на значно вищих частотах.

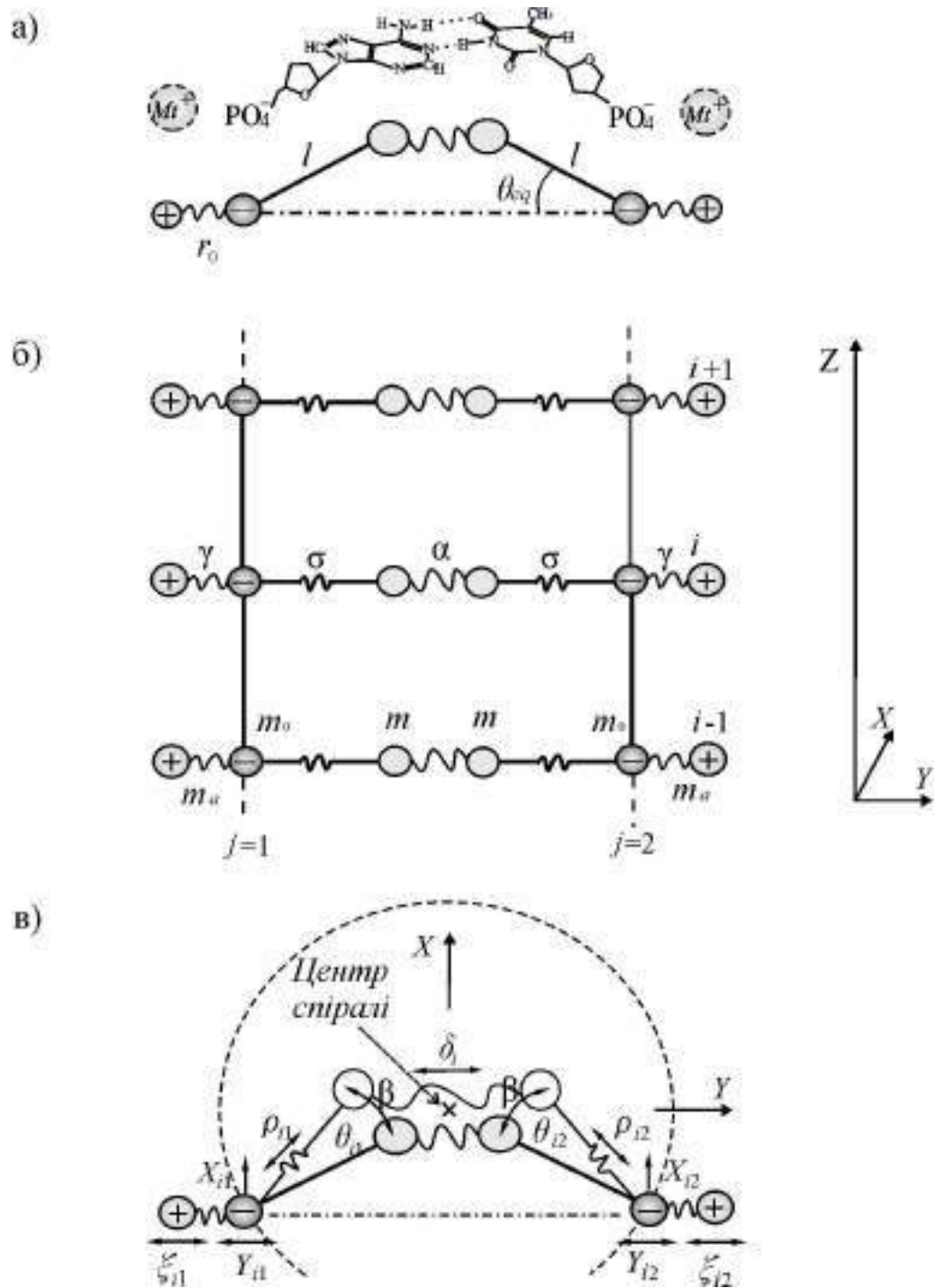


Рис. 1.9. Модель чотирьох мас з протийонами. [20] (а) Побудова моделі. (б) Ґратка протийонів та фосфатних груп молекули ДНК. (в) Зміщення структурних елементів мономерної ланки в площині ортогональній до осі подвійної спіралі.

Як відомо, в ДНК є чотири типи азотистих основ: аденін, тимін, гуанін і цитозін. В загальному випадку геометричні параметри нуклеозидів мають бути різними. Врахування гетерогенності нуклеозидів суттєва при розгляді коливань розтягу водневих зв'язків, внутрішньонуклеозидних коливань та коливань нуклеозидів, як фізичних маятників [197–203]. Для визначення мод іон-фосфатних коливань гетерогенність нуклеозидів не є суттєвою, і тому вона в даній роботі враховуватися не буде.

Розглянемо малі зміщення мас мономерної ланки макромолекули з протийонами. Запишемо енергію системи у наступному вигляді:

$$E = \sum_i (K_i + U_i + U_{i,i+1}), \quad (1.9)$$

де K_i та U_i є кінетична і потенціальна енергії мономерної ланки i (Рис. 1.9б).

$U_{i,i+1}$ – взаємодія структурних елементів вздовж подвійної спіралі.

Вираз для кінетичної енергії мономерної ланки може бути записаний у наступному вигляді:

$$K_i = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^2 \left[M (\dot{X}_{ij}^2 + \dot{Y}_{ij}^2) + m (\dot{\rho}_{ij}^2 + l^2 \dot{\theta}_{ij}^2 + 2l_s \dot{\theta}_{ij} \dot{Y}_{ij} + 2b \dot{\rho}_{ij} \dot{Y}_{ij} - \right. \\ \left. - 2a \dot{X}_{ij} \dot{\rho}_{ij} + 2lb \dot{X}_{ij} \dot{\theta}_{ij}) + m_a (\dot{\xi}_{ij}^2 + l_a^2 \dot{\theta}_{ij}^2 + 2Y_{ij} \dot{\xi}_{ij} + 2l_a \dot{\theta}_{ij} \dot{X}_{ij}) \right], \quad (1.10)$$

де $M = m_0 + m + m_a$; X_{ij} , Y_{ij} – зміщення фосфатних груп; ρ_{ij} – зміщення азотистих основ відносно фосфатних груп остова макромолекули, пов'язані з конформаційною гнучкістю кільця дезоксирибози; l – зведена довжина фізичного маятника-нуклеозиду; θ_{ij} – кут відхилення нуклеозиду i -тої мономерної ланки j -того ланцюжка подвійної спіралі з положення рівноваги θ_{eq} ; θ_{eq} – кут між маятником в рівноважному положенні та лінією, яка з'єднує фосфатні групи в парі нуклеотидів; $l_s = l \sin \theta_{eq}$; $b = \cos \theta_{eq}$; $a = \sin \theta_{eq}$; ξ_{ij} – зміщення протийонів відносно фосфатних груп остова макромолекули; $l_a = r_0 + r_c$, де r_0 – відстань між протийоном і зарядженим атомом фосфатної групи O_2' , а r_c – відстань від атома O_2' до атому цукру C_3' (Рис. 1.9в).

Потенціальну енергію мономерної ланки ланцюжка запишемо у наступному вигляді:

$$U_i = \frac{1}{2} \alpha \delta_i^2 + \frac{1}{2} \sum_{j=1}^2 (\sigma \rho_{ij}^2 + \beta \theta_{ij}^2 + \gamma \xi_{ij}^2), \quad (1.11)$$

де α , σ , β і γ – силові константи розтягу водневих зв'язків в парах азотистих основ, деформації кільця дезоксирибози, ротаційних коливань маятників-нуклеозидів відносно ланцюжка остова та іон-фосфатних коливань відповідно (Рис. 1.9). δ_i – розтяг водневих зв'язків в i -й парі азотистих основ, який визначено так само, як і в моделі чотирьох мас [197–203].

Значення силових констант α , σ і β оцінювалися в рамках підходу моделі чотирьох мас [197–203], ґрунтуючись на результатах розрахунків енергії взаємодії між азотистими основами в комплементарних парах [218] та енергії торсіонних кутів остова подвійної спіралі [219]. Геометричні параметри (l та θ_{eq}) в моделі чотирьох мас визначалися по рентгеноструктурним даним для ДНК у B -та A -формах [220]. Константа іон-фосфатних коливань для ДНК з різними протийонами оцінювалася на основі теорії іонних кристалів з використанням експериментальних даних для вологих плівок ДНК [216].

Для малих зміщень структурних елементів вираз для розтягу водневих зв'язків у парі нуклеотидів має вигляд:

$$\delta_i = \left[(\delta_0 + \delta_c + \delta_y)^2 + \delta_s^2 \right]^{1/2} - \delta_0, \quad (1.12)$$

де δ_0 – рівноважна відстань між азотистими основами; $\delta_c = 2lb - (l - \rho_{i1}) \times \cos(\theta_{eq} + \theta_{i1}) - (l - \rho_{i2}) \cos(\theta_{eq} + \theta_{i2})$; $\delta_s = Y_{i1} - Y_{i2} + (l - \rho_{i1}) \sin(\theta_{eq} + \theta_{i1}) - (l - \rho_{i2}) \times \sin(\theta_{eq} + \theta_{i2})$. Беручи до уваги, що зміщення θ_{ii} , X_{ij} і Y_{ij} є малими, отримуємо:

$$\delta_i \approx l_s (\theta_{i1} + \theta_{i2}) + Y_{i1} + Y_{i2} + b(\rho_{i1} + \rho_{i1}). \quad (1.13)$$

Енергія взаємодії вздовж ланцюжка макромолекули може бути записана так само, як і у випадку моделі чотирьох мас [197–203]:

$$E_{i,i-1} = \frac{1}{2} \sum_{ij} \left[f_Y (Y_{ij} - Y_{i-1,j})^2 + f_X (X_{ij} - X_{i-1,j})^2 + f_\theta (\theta_{ij} - \theta_{i-1,j})^2 + f_\rho (\rho_{ij} - \rho_{i-1,j})^2 \right], \quad (1.14)$$

де f_Y, f_X, f_θ і f_ρ – силові константи енергії взаємодії, які виникають з-за рухів мас структурних елементів мономерної ланки в площині ортогональній до осі подвійної спіралі. Це є рухи мас нуклеотидів, фосфатних груп та протийонів вздовж координат $Y_{ij}, X_{ij}, \theta_{ij}$, і ρ_{ij} , відповідно. Взаємодія протийонів з зарядами іон-фосфатної ґратки включена до константи γ .

Слідуючи підходу до описання конформаційної динаміки Волкова-Косевича в представленій моделі для того, аби записати рівняння руху, використовувалося довгохвильове наближення. В рамках даного наближення підсумовування в енергії (1.9)-(1.11) і (1.14) переходить на інтегрування. В результаті кінетичну і потенціальну енергію системи можна представити у вигляді:

$$K = \frac{1}{2h} \int \sum_{j=1}^2 \left[M(\dot{X}_j^2 + \dot{Y}_j^2) + m(l^2 \dot{\theta}_j^2 + \dot{\rho}_j^2 + 2l_s \dot{\theta}_j \dot{Y}_j + 2b \dot{\rho}_j \dot{Y}_j - 2a \dot{X}_j \dot{\rho}_j + 2lb \dot{X}_j \dot{\theta}_j) + m_a(\dot{\xi}_j^2 + l_a^2 \dot{\theta}_j^2 + 2\dot{Y}_j \dot{\xi}_j + 2r_0 \dot{\theta}_j \dot{X}_j) \right] dz. \quad (1.15)$$

$$U = \frac{1}{2h} \int \left\{ \alpha \delta^2 + \sum_j \left[\sigma \rho_j^2 + \beta \theta_j^2 + \gamma \xi_j^2 + h^2 (f_\theta \theta_j'^2 + f_X X_j'^2 + f_Y Y_j'^2 + f_\rho \rho_j'^2) \right] \right\} dz, \quad (1.16)$$

де h відстань між мономерними ланками, яка в нашому випадку відповідає відстані між парами основ; інтегрування ведеться вздовж осі подвійної спіралі.

Використовуючи кінетичну та потенціальну енергії системи (1.15) і (1.16), можна записати систему рівнянь руху у наступному вигляді:

$$\left\{ \begin{array}{l} M\ddot{Y}_1 + mb\ddot{\rho}_1 + ml_s\ddot{\theta}_1 + m_a\ddot{\xi}_1 = f_Y h^2 Y_1'' - \alpha[l_s(\theta_1 + \theta_2) + Y_1 + Y_2 + b(\rho_1 + \rho_2)], \\ M\ddot{X}_1 - ma\ddot{\rho}_1 + P\ddot{\theta}_1 = f_X h^2 X_1'', \\ mb\ddot{Y}_1 - ma\ddot{X}_1 + m\ddot{\rho}_1 = f_\rho h^2 \rho_1'' - \alpha b[l_s(\theta_1 + \theta_2) + Y_1 + Y_2 + b(\rho_1 + \rho_2)] - \sigma\rho_1, \\ ml_s\ddot{Y}_1 + P\ddot{X}_1 + I\ddot{\theta}_1 = f_\theta h^2 \theta_1'' - \alpha l_s[l_s(\theta_1 + \theta_2) + Y_1 + Y_2 + b(\rho_1 + \rho_2)] - \beta\theta_1, \\ m_a\ddot{Y}_1 + m_a\ddot{\xi}_1 = -\gamma\xi_1, \\ M\ddot{Y}_2 + mb\ddot{\rho}_2 + ml_s\ddot{\theta}_2 + m_a\ddot{\xi}_2 = f_Y h^2 Y_2'' - \alpha[l_s(\theta_1 + \theta_2) + Y_1 + Y_2 + b(\rho_1 + \rho_2)], \\ M\ddot{X}_2 - ma\ddot{\rho}_2 + P\ddot{\theta}_2 = f_X h^2 X_2'', \\ mb\ddot{Y}_2 - ma\ddot{X}_2 + m\ddot{\rho}_2 = f_\rho h^2 \rho_2'' - \alpha b[l_s(\theta_1 + \theta_2) + Y_1 + Y_2 + b(\rho_1 + \rho_2)] - \sigma\rho_2, \\ ml_s\ddot{Y}_2 + P\ddot{X}_2 + I\ddot{\theta}_2 = f_\theta h^2 \theta_2'' - \alpha l_s[l_s(\theta_1 + \theta_2) + Y_1 + Y_2 + b(\rho_1 + \rho_2)] - \beta\theta_2, \\ m_a\ddot{Y}_2 + m_a\ddot{\xi}_2 = \gamma\xi_2. \end{array} \right. \quad (1.17)$$

де $P = m_a l_a - mlb$; $I = ml^2 + m_a l_a^2$.

Розв'язки системи рівнянь шукатимемо у вигляді хвиль:

$$X_j = \ddot{X}_j e^{i(\omega t - kz)}; Y_j = \ddot{Y}_j e^{i(\omega t - kz)}; \theta_j = \ddot{\theta}_j e^{i(\omega t - kz)}; \xi_j = \ddot{\xi}_j e^{i(\omega t - kz)}; \rho_j = \ddot{\rho}_j e^{i(\omega t - kz)}. \quad (1.18)$$

де ω – частота коливань, k – хвильове число, z – координата вздовж осі подвійної спіралі.

В нашому розгляді досліджуються коливання, які спостерігаються в експериментальних спектрах. У даному випадку суттєвими є лише коливання при $k \rightarrow 0$. Оскільки при підстановці (1.19) в рівняння руху біля доданків, які містять похідні по z , будуть з'являтися множники k^2 ці доданки зникнуть при $k = 0$.

Одержана система складається з десяти рівнянь руху і спрощується, якщо перейти до змінних:

$$\begin{aligned} X_i^+ &= X_{i1} + X_{i2}; Y_i^+ = Y_{i1} + Y_{i2}; \theta_i^+ = \theta_{i1} + \theta_{i2}; \xi_i^+ = \xi_{i1} + \xi_{i2}; \rho_i^+ = \rho_{i1} + \rho_{i2}; \\ X_i^- &= X_{i1} - X_{i2}; Y_i^- = Y_{i1} - Y_{i2}; \theta_i^- = \theta_{i1} - \theta_{i2}; \xi_i^- = \xi_{i1} - \xi_{i2}; \rho_i^- = \rho_{i1} - \rho_{i2}. \end{aligned} \quad (1.19)$$

В змінних (1.19) рівняння руху розщеплюється на дві підсистеми зв'язаних рівнянь, таким чином, що в одну підсистему входять рівняння з координатами “+”, а в іншу – з координатами “-”:

$$\left\{ \begin{aligned} \ddot{Y}_i^+ + \frac{ml_s}{M} \ddot{\theta}_i^+ + \frac{mb}{M} \ddot{\rho}_i^+ + \frac{m_a}{M} \ddot{\xi} &= -\alpha_0 (l_s \theta_i^+ + Y_i^+ + b \rho_i^+); \\ \ddot{X}_i^+ + \frac{P}{M} \ddot{\theta}_i^+ - \frac{ma}{M} \ddot{\rho}_i^+ &= 0; \\ \ddot{\rho}_i^+ + b \ddot{Y}_i^+ - a \ddot{X}_i^+ &= -\alpha_0 b \frac{M}{m} (l_s \theta_i^+ + Y_i^+ + b \rho_i^+) - \sigma_0 \rho_i^+; \\ \ddot{\theta}_i^+ + \frac{ml_s}{I} \ddot{Y}_i^+ + \frac{P}{I} \ddot{X}_i^+ &= -\alpha_0 l_s \frac{M}{I} (l_s \theta_i^+ + Y_i^+ + b \rho_i^+) - \beta_0 \theta_i^+; \\ \ddot{\xi}_i^+ + \ddot{Y}_i^+ &= -\gamma_0 \xi_i^+. \end{aligned} \right. \quad (1.20)$$

$$\left\{ \begin{aligned} \ddot{Y}_i^- + \frac{ml_s}{M} \ddot{\theta}_i^- + \frac{mb}{M} \ddot{\rho}_i^- + \frac{m_a}{M} \ddot{\xi}_i^- &= 0; \\ \ddot{X}_i^- + \frac{P}{M} \ddot{\theta}_i^- - \frac{ma}{M} \ddot{\rho}_i^- &= 0; \\ \ddot{\rho}_i^- + b \ddot{Y}_i^- - a \ddot{X}_i^- &= -\sigma_0 \rho_i^-; \\ \ddot{\theta}_i^- + \frac{ml_s}{I} \ddot{Y}_i^- + \frac{P}{I} \ddot{X}_i^- &= -\beta_0 \theta_i^-; \\ \ddot{\xi}_i^- + \ddot{Y}_i^- &= -\gamma_0 \xi_i^-. \end{aligned} \right. \quad (1.21)$$

В рівняннях (1.20) і (1.21) введено позначення: $\alpha_0 = 2\alpha / M$; $\beta_0 = \beta / I$; $\gamma_0 = \gamma / m_a$; $\sigma_0 = \sigma / m$.

В результаті підстановки (1.19) в рівняння руху (1.20) та (1.21) одержимо рівняння для частот гранично довгохвильових коливань ДНК у вигляді:

$$\left| \begin{array}{ccccc} \alpha_0 - \omega^2 & 0 & \frac{mb}{M} \left(\frac{\alpha_0 M}{m} - \omega^2 \right) & \frac{ml_s}{M} \left(\frac{\alpha_0 M}{m} - \omega^2 \right) & -\frac{m_a \omega^2}{M} \\ 0 & 1 & -\frac{ma}{M} & \frac{P}{M} & 0 \\ b \left(\frac{\alpha_0 M}{m} - \omega^2 \right) & a \omega^2 & \frac{\alpha_0 M b^2}{m} + \sigma_0 - \omega^2 & \frac{\alpha_0 M l_s}{m} & 0 \\ \frac{ml_s}{I} \left(\frac{\alpha_0 M}{m} - \omega^2 \right) & -\frac{P \omega^2}{I} & \frac{\alpha_0 M l_s}{I} & \frac{\alpha_0 M l_s^2}{I} + \beta_0 - \omega^2 & 0 \\ -\omega^2 & 0 & 0 & 0 & \gamma_0 - \omega^2 \end{array} \right| = 0, \quad (1.22)$$

$$\begin{vmatrix} 1 & 0 & \frac{mb}{M} & \frac{ml_s}{M} & \frac{m_a}{M} \\ 0 & 1 & -\frac{ma}{M} & \frac{P}{M} & 0 \\ -b\omega^2 & a\omega^2 & \sigma_0 - \omega^2 & 0 & 0 \\ -\frac{ml_s}{I}\omega^2 & -\frac{P\omega^2}{I} & 0 & \beta_0 - \omega^2 & 0 \\ -\omega^2 & 0 & 0 & 0 & \gamma_0 - \omega^2 \end{vmatrix} = 0. \quad (1.23)$$

Детермінанти в рівняннях (1.22 і (1.23) можна отримати два рівняння четвертої та третьої степені відносно ω^2 відповідно. Розв'язки цих рівнянь визначатимуть частоти гранично-довгохвильових коливань.

Амплітуди конформаційних коливань ДНК визначалися так, як і в роботі [198], використовуючи принцип Больцмана про рівнорозподіл енергії по ступеням вільності. Формула для певної амплітуди коливань, з системи рівнянь (1.20) може бути записана у наступному вигляді:

$$\tilde{\theta}_i^+ = \frac{2(k_B T)^{1/2}}{l} \left[2\alpha \left(a + \frac{\tilde{Y}_i^+}{l\tilde{\theta}_i^+} + \frac{\dot{\rho}_i^+ b}{l\tilde{\theta}_i^+} \right)^2 + \frac{\beta}{l^2} + \sigma \left(\frac{\dot{\rho}_i^+}{l\tilde{\theta}_i^+} \right)^2 + \gamma \left(\frac{\tilde{\xi}_i^+}{l\tilde{\theta}_i^+} \right)^2 \right]^{-1/2}, \quad (1.24)$$

де k_B – стала Больцмана; T – температура. Для деякої амплітуди коливань, з системи рівнянь (1.21) отримуємо формулу аналогічну формулу:

$$\tilde{\theta}_i^- = \frac{2(k_B T)^{1/2}}{l} \left[\frac{\beta}{l^2} + \sigma \left(\frac{\dot{\rho}_i^-}{l\tilde{\theta}_i^-} \right)^2 + \gamma \left(\frac{\tilde{\xi}_i^-}{l\tilde{\theta}_i^-} \right)^2 \right]^{-1/2}. \quad (1.25)$$

Решту амплітуд розраховували, використовуючи співвідношення амплітуд, визначені із рівнянь руху (1.20) та (1.21).

1.6.3. Частоти і амплітуди коливань ДНК з протийонами. Результати розрахунків частот коливань молекули ДНК з різними іонами лужних металів (Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+) показали, що мода іон-фосфатних коливань знаходиться в діапазоні від 90 до 180 см^{-1} і зменшується зі збільшенням маси іона (Рис. 1.10). Порівняння одержаних результатів з експериментальними даними [21,22,103,206–208,210,221] показало, що в коливальних спектрах ДНК з іонами лужних металів наявна мода, яка має таку саму залежність частоти від маси

іона. Слід зазначити, що подібна залежність частот іонних коливань спостерігається і для іонних кристалів галогенідів лужних металів [204]. Це свідчить про те, що структура, яка утворюється з протийонів і фосфатних груп, має властивості іонної ґратки, що підтверджує нашу ідею про існування іон-фосфатної ґратки ДНК.

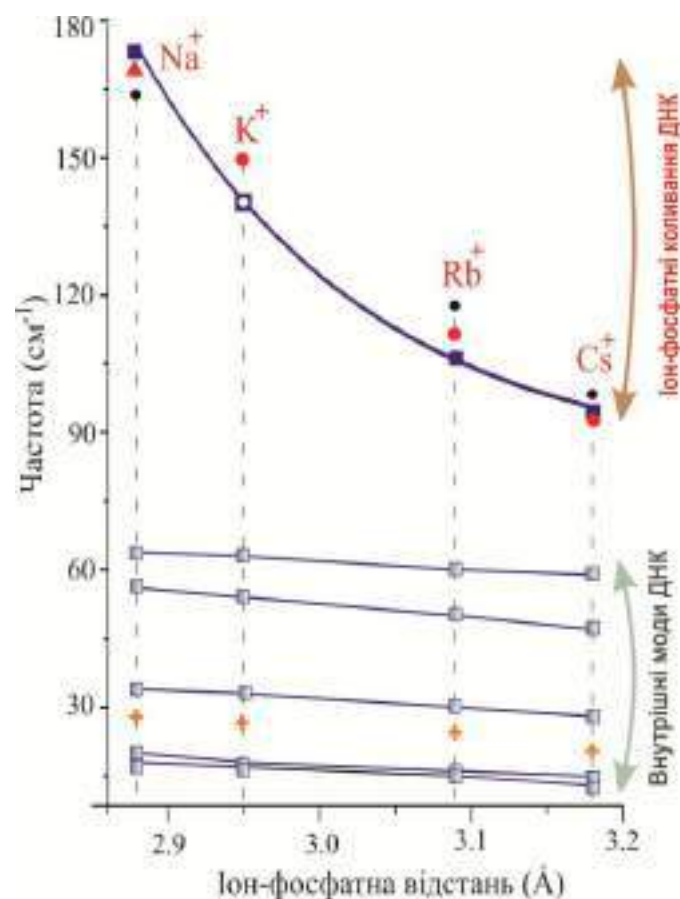


Рис. 1.10. Залежність частот іон-фосфатних коливань ДНК від типу протийона: ■ – розрахункові значення частот; ● – експериментальні дані для галогенідів лужних металів [22]; ▲ – експериментальні дані для висушених плівок полінуклеотидів ДНК [21]; + експериментальні дані для висушених плівок poly(rI)poly(rC) [213]. Рисунок побудовано за даними роботи [216].

Розрахунки амплітуд конформаційних коливань показали, що характер руху суттєво залежить від типу протийону. У випадку легких протийонів, наприклад, Na⁺ чи K⁺, коливання протийонів не збурюють динаміки внутрішніх структурних елементів подвійної спіралі. Водночас, коливання важких іонів, наприклад, Rb⁺ чи Cs⁺, повністю змінює характер коливань всередині подвійної спіралі ДНК (Рис. 1.11).

Експериментальні дослідження низькочастотних спектрів комбінаційного розсіювання водних розчинів молекули ДНК з іонами натрію та цезію, проведені ще в кандидатській дисертації автора [20], показали, що заміна протийонів призводить не лише до зміщення частот іон-фосфатних коливань, а й до зміни форми спектра в цілому. У випадку Na-ДНК низькочастотний спектр склада-

ється з коливальних мод ДНК у діапазоні від 60 до 120 см^{-1} та широкої смуги з центром біля 180 см^{-1} , що характеризує трансляційні коливання молекул води. Для Cs-ДНК на місці коливань ДНК виникає одна інтенсивна смуга (Рис. 1.12).

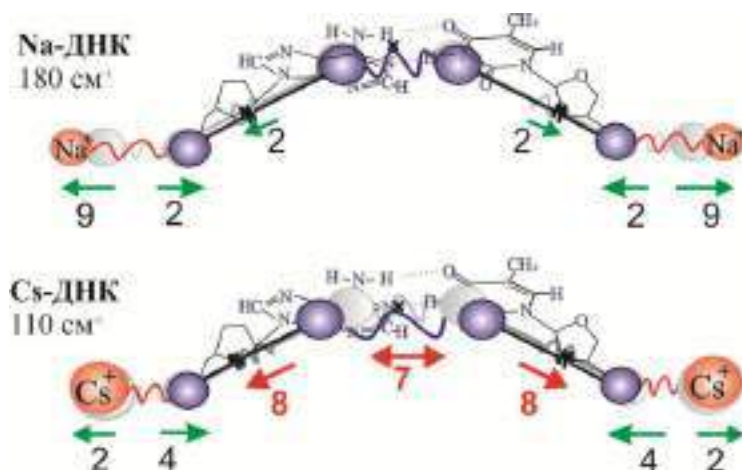


Рис. 1.11. Схема рухів структурних елементів Na- та Cs-ДНК у випадку моди іон-фосфатних коливань [20]. Величини амплітуд зміщень вказано в пікометрах.

Як випливає з розрахунків ця смуга може виникати за рахунок того, що мода іон-фосфатних коливань в Cs-ДНК зсувається в область біля 100 см^{-1} , де, змішуючись з модами внутрішніх коливань, відбувається підсилення. Спостереження інтенсивної смуги біля 100 см^{-1} в спектрі Cs-ДНК є свідченням існування моди іон-фосфатних коливань і існування впорядкованої структури протийонів навколо подвійної спіралі по типу іонної ґратки (іон-фосфатної ґратки).

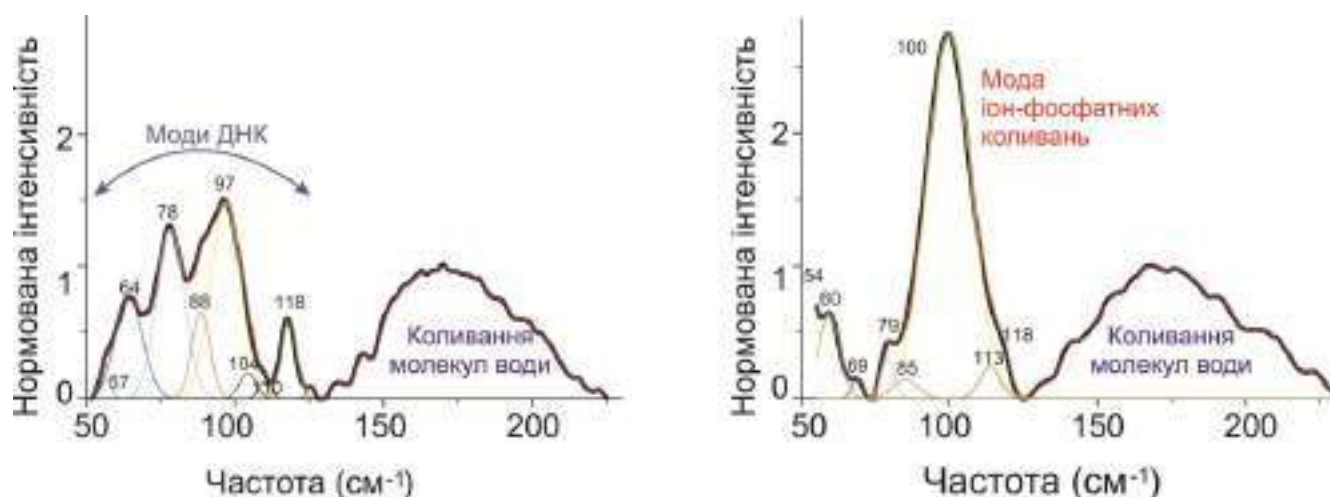


Рис. 1.12. Низькочастотні спектри комбінаційного розсіювання водних розчинів Na-ДНК (зліва) і Cs-ДНК (справа) після математичної обробки [25,85,217].

Таким чином, підхід динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК дав можливість передбачити існування моди іон-фосфатних коливань, яка спостерігається в низькочастотних спектрах комбінаційного розсіювання. Зокрема було передбачено ефекти в спектрах комбінаційного розсіювання, що пов'язаний з заміною протийонів різного типу. Подальший розвиток даного підходу вимагає пояснення змін інтенсивностей смуг низькочастотних коливань, які відбуваються при збільшенні маси протийонів. Це питання досліджується в представленій дисертації.

ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ

Починаючи з перших досліджень структури молекул нуклеїнових кислот [4,5,93,194,195], було відомо, що в експериментальних зразках ДНК завжди міститься певна кількість іонів лужних металів (частіше за все натрію або калію). Їхня роль та розташування в структурі подвійної спіралі не були відомі. Вважалося, що ДНК це кислота, тому іонам, які знаходили в процесі хімічного аналізу структури волокон ДНК, не надавали суттєвого значення. Вперше на структуроутворюючу роль іонів металів звернули увагу у своїх роботах Розалінда Франклін з співавторами [5] і Уотсон і Крік [4]. Вони припустили, що іони лужних металів нейтралізують від'ємні заряди фосфатних груп після дисоціації ДНК як кислоти і виконують роль протийонів, а сама ДНК є сіллю лужних металів. Лише в цьому випадку може реалізуватися структура у вигляді подвійної спіралі, в середині якої знаходяться пари азотистих основ, а назовні – цукро-фосфатний остов.

Сучасні дослідження показують, що протийони навколо ДНК можна умовно розділити на ті, знаходяться у внутрішніх областях подвійної спіралі (мінорний і головний жолоби, області поблизу фосфатних груп), координуючись певними атомами молекули ДНК, або в зовнішній області навколо макромолекули. Внутрішні протийони формують довго живучі комплекси з ДНК і їх можна назвати зв'язаними або захопленими. При цьому слід розуміти, що протийони, що

приєднуються до ДНК не знаходяться у зв'язаному стані постійно і можуть змінювати своє положення з часом. Ті протийони, що формують атмосферу навколо ДНК, можуть рухатися вільно навколо подвійної спіралі (вільні протийони). Протийони атмосфери не утворюють якоїсь визначеної границі з розчином і їхня концентрація поступово зменшується з відстанню від подвійної спіралі ДНК. Характерна товщина іон-гідратного шару складає біля 7 Å.

Динаміка вільних та зв'язаних протийонів представляє значний інтерес у зв'язку з тим, що вона безпосередньо пов'язана з динамікою подвійної спіралі і може впливати на структуру макромолекули і на процеси взаємодії ДНК з білками та біологічно активними молекулами. Динаміка протийонів в атмосфері навколо ДНК має характеризуватися певною рухливістю, часами осідлого життя та іншими параметрами, які можуть дати уявлення про їхній характер руху. Структура іонної атмосфери навколо ДНК досліджується за допомогою малокутового розсіювання рентгенівських променів, ЯМР, а також методів діелектричної спектроскопії, електропровідності водних розчинів. Динаміка зв'язаних протийонів має характеризуватися коливаннями відносно положень рівноваги, які визначаються атомами ДНК (фосфатними групами, атомами основ в мінорному та головному жолобах). Коливання атомних груп ДНК з протийонами має спостерігатися в експериментальних спектрах комбінаційного розсіяння світла.

Важливою проблемою в дослідженні структури та динаміки іон-гідратного шару ДНК є роль гідратації протийонів. Молекули води в гідратній оболонці ДНК утворюють структуровану систему, яка суттєво відрізняється від води в об'ємній фазі. Вода також структурується і навколо протийонів. Іони різного типу по-різному впорядковують воду навколо себе, а в гідратній оболонці ДНК структурування води може визначати як характер взаємодії іонів з макромолекулою, так і динамічні й структурні властивості подвійної спіралі. З огляду на це важливим також є дослідження впорядкування протийонів навколо ДНК в умовах зміненого розчинника. Зокрема, цікавою є проблема взаємодії протийонів металів з ДНК в присутності молекул пероксиду водню, які за своїм складом є подібними до води, але мають суттєво іншу структуру.

Взаємодія молекулярних багатозарядних іонів (полійонів) з подвійною спіраллю ДНК має більш складний характер, оскільки молекулярний йон може змінювати свою конформацію. Ефекти взаємодії ДНК з молекулярними іонами, що пов'язані з конформацією полійону, не є достатньо дослідженими. Проте, з огляду на те, що молекулярні протийони за певних умов можуть індукувати конденсацію ДНК, конформаційні переходи та локальні зміни структури подвійної спіралі, характеристика структурування молекулярних протийонів навколо макромолекули ДНК потребує детального вивчення.

Для пояснення експериментальних результатів важливим є проведення молекулярно-динамічних досліджень на атомістичному рівні для різних систем ДНК з різними протийонами. Для надання інтерпретації одержаних симуляцій та їх поєднання з експериментальними даними необхідно розвинути нові фізичні моделі, які будуть здатні описати головні структурні і динамічні особливості системи і водночас будуть достатньо простими для проведення аналітичних обрахунків. У зв'язку з цим дисертаційне дослідження має таку структуру:

- В другому розділі запропоновано концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК. Побудований підхід для вивчення конформаційних коливань ДНК з протийонами в різному положенні відносно фосфатних груп остова подвійної спіралі. Розвинуто підхід для визначення інтенсивностей конформаційних коливань подвійної спіралі ДНК з протийонами в низькочастотному спектрі комбінаційного розсіяння ДНК.
- В третьому розділі проведено розрахунки частот і амплітуд конформаційних коливань ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ і Mg^{2+} . Досліджено прояви коливань протийонів ДНК в низькочастотних спектрах комбінаційного розсіяння. Визначено моди іон-фосфатних коливань у випадку різних форм подвійної спіралі ДНК. Обґрунтовано існування динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК за даними коливальної спектроскопії.

- В четвертому розділі вивчено ефекти впорядкування протийонів і експериментальне спостереження формування текстур в вологих плівках ДНК з солями хлоридів лужних металів. Досліджено прояви впорядкування протийонів в експериментах з електропровідності водних розчинів ДНК. Проведено молекулярно-динамічне дослідження системи ДНК з протийонами у зовнішньому електричному полі.
- В п'ятому розділі проведено дослідження розподілу протийонів навколо подвійної спіралі ДНК за допомогою найпростіших поліелектролітних моделей та молекулярно-динамічного моделювання. Визначено характерний розподіл протийонів різного типу навколо подвійної спіралі, проаналізовано роль гідратації протийонів у взаємодії з макромолекулою ДНК. Охарактеризовано особливості структурування протийонів Na^+ , K^+ , Cs^+ і Mg^{2+} навколо ДНК.
- У шостому розділі проведено молекулярно-динамічне моделювання особливостей взаємодії протийонів Na^+ з подвійною спіраллю ДНК в присутності молекул пероксиду водню. Визначено можливі комплекси молекул пероксиду водню за участі протийонів Na^+ з фосфатними групами остова подвійної спіралі. Показано як впливають зміни в середовищі на структурування протийонів ДНК. Визначено характерні комплекси молекул пероксиду водню з фосфатами остова ДНК.
- В сьомому розділі проведено дослідження взаємодії молекул природних поліамінів з подвійною спіраллю ДНК методами молекулярної динаміки і молекулярного моделювання. Визначено характерні сайти зв'язування поліамінів з ДНК у випадку різних послідовностей нуклеотидів. Досліджено механізми конденсації макромолекул ДНК під дією молекул спермідину³⁺. Визначено механізми структурування молекулярних протийонів навколо подвійної спіралі ДНК.

РОЗДІЛ 2

МОДЕЛІ ДИНАМІКИ ІОН-ФОСФАТНОЇ ҐРАТКИ ДНК

2.1. Структурна і стабільність іон-фосфатної ґратки ДНК

2.1.1. Структура іон-фосфатної ґратки ДНК. Експериментальні дані [15–19] і молекулярно-динамічне моделювання [11,12,32,186,191,196] показують, що протийони можуть бути по-різному локалізовані по відношенню до фосфатних груп ДНК. Зокрема, в природних умовах вони можуть бути локалізовані зовні подвійної спіралі, оскільки хімічні зв'язки між атомами фосфору і вільними атомами кисню (O_1 і O_2) в ДНК спрямовані назовні від подвійної спіралі (Рис. 2.1а). У цьому випадку один протийон нейтралізує одну фосфатну групу. Такий тип локалізації протийонів відносно фосфатних груп подвійної спіралі ДНК будемо називати одонитковою нейтралізацією.

У певних умовах, коли малий жолоб макромолекули ДНК є вузьким (випадок сильно закрученої або частково розкрученої подвійної спіралі), протийони можуть нейтралізувати фосфатні групи різних тяжів подвійної спіралі [129–132]. У розчині внаслідок дії підвищеної концентрації протийонів можуть реалізовуватися сильно закручені (*C*- і *D*-форми), а також розкручені подвійні спіралі (типу *Z*-форми) [14,222]. Спіральне закручування ДНК також може істотно змінюватися в процесі біологічного функціонування. У разі розкрученої подвійної спіралі (Рис. 2.1б) протийон може координуватися фосфатами однієї і тієї ж пари нуклеотидів. Такий випадок розташування протийонів відносно фосфатних груп подвійної спіралі ДНК будемо називати міжланцюжковою нейтралізацією. В разі сильно закрученої подвійної спіралі (Рис. 2.1в) протийон може бути скоординований фосфатами сусідніх пар нуклеотидів, які є найближчими. Такий випадок розташування протийонів відносно фосфатних груп подвійної спіралі ДНК будемо називати поздовжньою нейтралізацією.

Якщо концентрація протийонів у розчині є достатньою, то більшість місць локалізації біля фосфатних груп ДНК є заповненими. Таке динамічне упоряд-

кування протийонів навколо фосфатних груп остова подвійної спіралі подібне до іонної ґратки і розглядається в роботі як іонно-фосфатна ґратка. Відповідно до можливих випадків локалізації протийонів по відношенню до фосфатних груп можна розглядати три типи іон-фосфатних ґраток ДНК. Перший являє собою ґратку з протийонами в одноланцюговому положенні (Рис. 2.1а), другий – ґратку з протийонами, що здійснюють міжланцюжкову нейтралізацію (Рис. 2.1б), а третій – ґратку з протийонами у випадку поздовжньої нейтралізації фосфатних груп (Рис. 2.1в).

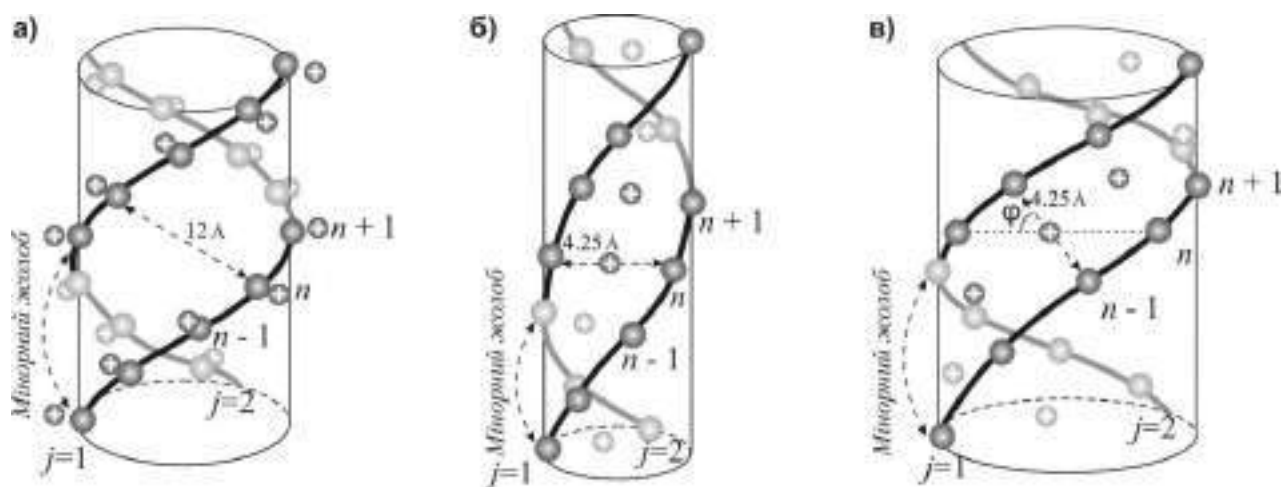


Рис. 2.1. Схеми локалізації протийонів відносно фосфатних груп в іонно-фосфатній ґратці ДНК. [42] а) Одноланцюжкова нейтралізація фосфатних груп. Показана ширина мінорного жолоба. б) Міжланцюжкова нейтралізація фосфатних груп. Показана відстань між фосфатними групами. в) Поздовжня нейтралізація фосфатних груп. Показана відстань між фосфатних груп. φ - кут, що визначає напрямок іонно-фосфатного зв'язку в малому жолобі.

2.1.2. Електростатична енергія іон-фосфатної ґратки ДНК. Для визначення енергії іон-фосфатних ґратки ДНК скористаємося підходом, розробленим для іонних кристалів [204]. В рамках цього підходу енергія протийону може бути записана таким чином:

$$U_{\alpha} = -\frac{M_{\alpha} Z e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 r} + B_{\alpha} e^{-\frac{r}{b}}, \quad (2.1)$$

M_α – константа Маделунга протийона, e – елементарний заряд, ε – діелектрична проникність іон-гідратного шару ДНК, ε_0 – діелектрична проникність вакууму, ρ – відстань між протийоном і фосфатною групою; константи B_α і b характеризують відштовхування. Константу B_α можна визначити з умови рівності нулю першої похідної потенціалу (2.1) за координатою r в положенні рівноваги r_0 : $\left. \frac{\partial U_\alpha}{\partial r} \right|_{r_0} = 0$. З цієї умови легко одержати вираз для B_α . Підставляємо його в (2.1) для випадку ідеальної іон-фосфатної ґратки і одержуємо формулу, яка описує енергію протийону:

$$U_\alpha = -\frac{M_\alpha Z e^2}{4\pi\varepsilon\varepsilon_0 r_0} \left(1 - \frac{b}{r_0} \right). \quad (2.2)$$

Як відомо, константа Маделунга визначає взаємодію даного заряду з іншими зарядами іонної ґратки: що більше константа Маделунга, то це взаємодія сильніше і навпаки. Наприклад, у випадку диполя $M_\alpha = 1$, а у випадку кристалу NaCl $M_\alpha \approx 1,748$. Для кристалічної ґратки типу NaCl константа Маделунга однакова для бонів Na^+ і Cl^- в силу кубічної симетрії кристалу і рівності зарядів цих бонів. Проте у випадку іон-фосфатної ґратки ДНК константи Маделунга протийонів і фосфатних груп будуть різними. Енергія фосфатної групи $U_\beta(\rho)$ буде визначатися за формулою, аналогічною до (2.2):

$$U_\beta = -\frac{M_\beta Z e^2}{4\pi\varepsilon\varepsilon_0 r_0} \left(1 - \frac{b}{r_0} \right), \quad (2.3)$$

де M_β – константа Маделунга для фосфатної групи.

Константи Маделунга залежить від взаємного розташування зарядів у системі, а у нашому випадку також від структури макромолекули ДНК. У загальному вигляді для ДНК у двоспиральному стані, всі фосфатні групи якої нейтралізовані протийонами (ідеальні іон-фосфатні ґратки), константи і можна уявити у вигляді:

$$\begin{aligned}
M_{\alpha} &= 1 + \frac{r_0}{R_0} - \frac{Zr_0}{d_0} + 2 \sum_{i=1}^{N_0} \sum_{j=1}^2 \left(\frac{r_0}{r_{ij}} - \frac{Zr_0}{d_{ij}} \right), \\
M_{\beta} &= 1 + \frac{r_0}{R_0} - \frac{r_0}{ZD_0} + 2 \sum_{i=1}^{N_0} \sum_{j=1}^2 \left(\frac{r_0}{r_{ij}} - \frac{r_0}{ZD_{ij}} \right),
\end{aligned} \tag{2.4}$$

де перших трьох доданків у кожному з виразів містяться відстані між зарядами мономерної ланки (r_0, R_0, d_0, D_0) , а в сумах містяться відстані між зарядами різних мономерів іон-фосфатної ґратки (r_{ij}, d_{ij}, D_{ij}) (Рис. 2.2). Ці відстані можна визначити з геометрії подвійної спіралі ДНК:

$$\begin{aligned}
R_0 &= \sqrt{2R(R+r_0)(1-\cos\theta) + r_0^2}; \\
d_0 &= 2(R+r_0)\sin\frac{\theta}{2}; \\
D_0 &= 2R\sin\frac{\theta}{2}; \\
r_{ij} &= \sqrt{2R(R+r_0)[1-\cos(\theta f_j - \phi i)] + r_0^2 + (hi)^2}; \\
d_{ij} &= \sqrt{2R(R+r_0)[1-\cos(\theta f_j - \phi i)] + r_0^2 + (hi)^2};
\end{aligned} \tag{2.5}$$

де R – відстань від центру спіралі до фосфатних груп мономерної ланки (радіус спіралі); θ – кут між відрізками, що з'єднують центр спіралі і фосфатні групи мономерної ланки; ϕ – кут повороту сусідніх пар нуклеотидів відносно один одного; h – відстань між сусідніми парами нуклеотидів (Рис. 2.2); $f_j = 0$ при $j=1$ і $f_j = 1$ при $j=2$. Користуючись формулами (2.2) – (2.5) можна розрахувати електростатичну енергію ідеальної іон-фосфатної ґратки ДНК.

Знаючи енергію протийону (U_{α}) і фосфатної групи (U_{β}) можна записати загальну енергію ідеальної іон-фосфатної ґратки:

$$U_0 = N_0 \frac{U_{\alpha} + U_{\beta}}{2} = N(U_{\alpha} + U_{\beta}), \tag{2.6}$$

де N_0 – кількість іон-фосфатних пар, N – кількість пар нуклеотидів ($N_0 = 2N$). Слід зазначити, що взаємодія протийонів та фосфатних груп враховується двічі, тому у формулі (2.6) сума енергій U_{α} і U_{β} поділена на 2.

У випадку реальної іон-фосфатної ґратки слід врахувати, що в умовах водного оточення молекула ДНК не повністю нейтралізована і не кожна фосфатна група нейтралізована протийоном. У зв'язку з цим у формулу для електростатичної енергії іон-фосфатних ґратки введемо відповідну поправку U' , яка пов'язана з появою вакансій в іон-фосфатній ґратці ДНК:

$$U = U_0 - U'. \quad (2.7)$$

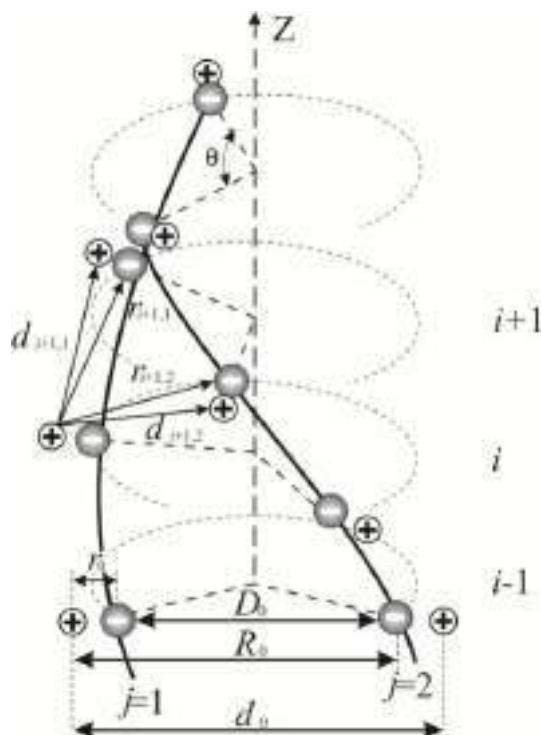


Рис. 2.2. Відстані між зарядами в іон-фосфатній ґратці ДНК.

Для визначення поправного члена у виразі енергії (2.7) розглянемо іон-фосфатну ґратку з вакансіями, рівномірно розподіленими вздовж тяжів подвійної спіралі. Нехай τ це кількість пар нуклеотидів, через які повторюються вакансії вздовж першого тяжу. Припустимо, що вздовж другого тяжу вакансії розподілені з тим самим періодом, лише зрушеним на деяку фазу $\Delta\tau$. У такому разі константи Маделунга для протийонів та фосфатних груп, що належать різним парам нуклеотидів, будуть різними в рамках періоду τ . Таким чином, необхідно визначити набір констант Маделунга для фосфатних груп, рівний τ і набір констант Маделунга для протийонів, рівний $\tau-1$.

Для визначення констант Маделунга реальної іон-фосфатної ґратки слід врахувати, що протийон, який відривається від фосфатної групи, утворюючи вакансію, залишається в іон-гідратній оболонці ДНК, і всі заряди іон-фосфатної ґратки продовжують взаємодіяти з ним. Тому для обчислення константи Маделунга реальної іон-фосфатної ґратки будемо віднімати з константи Маделунга ідеальної ґратки доданки, які відповідають вакансіям, що з'явилися, і додавати доданки, які відповідають протийонам в розчині. Таким чином, у загальному вигляді для констант Маделунга деякого протийону та фосфатної групи в k -тому вузлі отримані наступні вирази:

$$\begin{aligned} M_{\alpha}^k &= M_{\alpha} + \sum_{i=-\frac{N}{\tau}}^{\frac{N}{\tau}} \sum_{j=1}^2 \left(\frac{Zr_0}{d_{i^*j}} - \frac{\varepsilon Zr_0}{\varepsilon_s d_{i^*j}^{\rho}} \right), \\ M_{\beta}^k &= M_{\beta} - \sum_{i=-\frac{N}{\tau}}^{\frac{N}{\tau}} \sum_{j=1}^2 \left(\frac{r_0}{r_{i^*j}} - \frac{\varepsilon r_0}{\varepsilon_s r_{i^*j}^{\rho}} \right), \end{aligned} \quad (2.8)$$

де індекс $i^* = \tau i + f_j \Delta \tau - k$ відбирає ті вузли іон-фосфатної ґратки, на яких відсутні протийони, ε_s – діелектрична проникність розчину. В формулах (2.8) перші доданки (M_{α} і M_{β}) – константи Маделунга ідеальної ґрати. Під знаком суми перший доданок віднімає з констант Маделунга ідеальної ґратки доданки, які описують вакансії, а другий доданок додає доданки, які описують взаємодію з протийонами, що відійшли від фосфатної групи на відстань ρ . Тут враховано, що взаємодія з протийонами, які знаходяться на відстані ρ екрановано діелектричною проникністю ε_s . Відстані d_{i^*j} і r_{i^*j} можна визначити за формулами (2.5), замінивши індекс i на i^* . Відстань $r_{i^*j}^{\rho}$ визначається за відповідною формулою в (2.5), замінивши індекс i на i^* і r_0 на ρ . Відстань $d_{i^*j}(\rho)$ визначається за формулою:

$$d_{i^*j}^{\rho} = \sqrt{(R + r_0)^2 + (R + \rho)^2 + 2(R + r_0)(R + \rho)\cos(\theta f_j - \phi i^*) + (h i^*)^2}. \quad (2.9)$$

Підсумовуючи енергію всіх протийонів та фосфатних груп, які входять у ділянку іон-фосфатної ґратки τ та помножуючи на кількість таких ділянок вздовж ДНК N / τ , енергію іон-фосфатної ґратки можна записати у вигляді:

$$U = -\frac{N}{T} \cdot \frac{Ze^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 r_0^2} \left(1 - \frac{b}{r_0^2}\right) \left(\sum_{k=1}^{T-1} M_{\alpha}^k + \sum_{k=0}^{T-1} M_{\beta}^k\right). \quad (2.10)$$

В формулі (2.10) індекс k в першій сумі пробігає значення від 1, а в другій від 0 до $\tau - 1$. Це пов'язано з тим, що для вузла, в якому знаходиться вакансія, енергія протийону слід виключити з суми. Підставляючи (2.8) в (2.10) одержуємо вираз для U' :

$$U' = \frac{NZe^2}{4\pi T \epsilon \epsilon_0 r_0} \left(1 - \frac{b}{r_0^2}\right) \cdot \left\{ M_{\alpha} - \sum_{i=-\frac{N}{T}}^{\frac{N}{T}} \sum_{j=1}^2 \left[\sum_{k=1}^{T-1} \left(\frac{Zr_0}{d_{i*j}} - \frac{\epsilon Zr_0}{\epsilon_s d_{i*j}^{\rho}} \right) + \sum_{k=0}^{T-1} \left(\frac{r_0}{r_{i*j}} - \frac{\epsilon r_0}{\epsilon_s r_{i*j}^{\rho}} \right) \right] \right\}. \quad (2.11)$$

Як видно з формули (2.11), при збільшенні періоду розподілу вакансій вздовж подвійної спіралі τ доданок U' зменшується, і енергія системи прямує до значення енергії ідеальної іон-фосфатної ґратки U_0 . Використовуючи отримані формули (2.2) – (2.11), можна визначити енергію реальної іон-фосфатної ґратки.

Для розрахунку енергії за формулами (2.2) – (2.11) необхідно визначити параметри іон-фосфатної ґратки. Ці параметри залежать від форми подвійної спіралі та типу протийонів, які нейтралізують фосфатні групи. У таблиці 2.1 наведено структурні параметри для *B*-, *C*- та *D*-форм подвійних спіралей ДНК.

Таблиця 2.1. Структурні параметри подвійної спіралі ДНК в різних конформаціях [14].

ДНК	R (Å)	h (Å)	φ (°)	θ (°)
<i>B</i> -форма	10	3.37	36	120
<i>C</i> -форма	10	3.31	38,5	110
<i>D</i> -форма	10,5	3,03	45	90

Використовуючи наведені параметри, було розраховано електростатичну енергію іон-фосфатної ґратки ДНК з протийонами лужних металів. Значення енергії для випадку ДНК із протийонами Na^+ наведено в таблиці 2.2. Для інших протийонів лужних металів (K^+ , Rb^+ , Cs^+) результати якісно не змінюються.

Крім структурних параметрів подвійної спіралі велике значення має середовище, яке у нашому підході враховується з допомогою діелектричної проникності. Як відомо. Діелектрична проникність води має високе значення, але як показують дослідження [112] поблизу ДНК діелектрична проникність істотно нижча, ніж в об'ємній фазі. В рамках концепції іон-фосфатної ґратки у попередніх роботах [216,223] були проведені оцінки діелектричної проникності іон-гідратної оболонки ДНК з різними протийонами лужних металів. У запропонованому нами підході враховувалися електронний та іонний механізми поляризованості системи. В результаті було отримано значення діелектричної проникності в діапазоні від 2 до 3, що узгоджується зі значеннями, які використовуються при розрахунках електростатичних взаємодій у молекулярній динаміці біологічних макромолекул [112]. Ці значення будуть використані і для визначення електростатичної енергії іон-фосфатної ґратки. Параметр відштовхування b було взято таким, як у іонних кристалів хлоридів лужних металів.

Таблиця 2.2. Константи Маделунга та електростатична енергія іон-фосфатної ґратки ДНК із протийонами Na^+ . Значення енергії нормовані на пару нуклеотидів та наведені в одиницях kT ($T=300$ K).

ДНК	U_0 / N	U' / N	U / N	τ (%вакансій)
B-форма	-131	104	-26	4 (25)
		165	35	3 (≈ 33)
C-форма	-129	107	-23	4 (25)
		168	39	3 (≈ 33)
D-форма	-121	113	-8	4 (25)
		165	56	3 (≈ 33)

Як видно з результатів розрахунку енергія ідеальної іон-фосфатної ґратки ДНК (U_0) збільшується зі збільшенням кута закрутки подвійної спіралі так, що найбільш стабільною є *B*-форма, а найменш стабільною – *D*-форма. Тому для *B*-сімейства ДНК можна побудувати наступний ряд електростатичної стабільності:

$$B > C > D. \quad (2.12)$$

Результати розрахунку для частково заповненої іон-фосфатної ґратки ДНК показали, що зі збільшенням кількості вакансій енергія зростає у випадку всіх конформацій подвійної спіралі, що розглядаються. У таблиці 2.2 наведено значення енергії (U'), пов'язаної з появою вакансій, а також загальна енергія іон-фосфатної ґратки (U) для такої кількості вакансій, при якій електростатична енергія змінює знак із «-» на «+». Фізичний зміст зміни знаку електростатичної енергії полягає у зміні характеру взаємодії зарядів системи. У випадку негативної електростатичної енергії переважають сили тяжіння, а вразі позитивної – сили відштовхування. Як видно з таблиці 2.2, зміна знаку енергії відбувається, коли в системі з'являється близько 25-33% вакансій. Це означає, що для забезпечення електростатичної стабільності подвійної спіралі ДНК необхідно, аби близько 75% всіх фосфатних груп були нейтралізовані. Ці результати узгоджуються з результатами теорії конденсації протийонів, у рамках якої було показано, що для забезпечення стабільності *B*-форми подвійної спіралі має бути нейтралізовано близько 76% поверхневого заряду ДНК [15]. Кількісні зміни енергії іон-фосфатних для інших протийонів лужних металів (K^+ , Rb^+ , Cs^+) показують, що зі збільшенням розміру протийону стабільність іон-фосфатної ґратки зменшується.

Таким чином, результати розрахунку електростатичної енергії іон-фосфатних ґраток ДНК показали, що необхідною умовою стабільності подвійної спіралі ДНК є нейтралізація приблизно 75% фосфатних груп протийонами. Це значення узгоджується з результатами теорії конденсації Меннінга. При підвищенні кута закрутки подвійної спіралі та при збільшенні радіусу протийонів стабільність макромолекули зменшується. Наповненість вузлів іон-фосфатної

гратки на рівні 75% є значною, що забезпечує можливість спостереження специфічних коливань протийонів відносно фосфатних груп остова ДНК в низько-частотних коливальних спектрах. Водночас, спостереження мод іон-фосфатних коливань має стати важливим свідченням існування системи протийонів навколо подвійної спіралі у вигляді впорядкованої структури, подібної до ґратки іонного кристалу.

Пошук іон-фосфатних коливань в спектрі молекули ДНК є важливим для розуміння процесів її функціонування в природних умовах. Наявність або відсутність частоти іон-фосфатних коливань в спектрі ДНК може характеризувати стан цієї динамічної структури та її здатність до біологічних трансформацій. Окрім цього, іон-фосфатні коливання мають бути пов'язані з внутрішніми коливаннями подвійної спіралі, і тому вони можуть впливати на конформаційну динаміку ДНК.

Для визначення мод іон-фосфатних коливань ДНК у випадку, коли протийони розташовуються зовні подвійної спіралі в кандидатській дисертації автора [224] було розроблено спеціальну модель, що ґрунтується на теорії конформаційних коливань Волкова-Косевича [197–200]. Проте для описання коливань ДНК з протийонами у випадку усіх можливих варіантів розташування протийонів навколо фосфатних груп остова подвійної спіралі необхідно розвинути інші варіанти моделі.

2.2. Модель динаміки іон-фосфатної ґратки ДНК з протийонами у випадку міжланцюжкової нейтралізації фосфатних груп

Модель конформаційної динаміки подвійної спіралі ДНК з протийонами в міжланцюжковому положенні опубліковано в статтях [39,42] разом з д-р. фіз.-мат. наук С.Н. Волковим і належить до основних результатів представленої дисертації. Окремі результати, що випливають з розвинутої моделі, також доповідалися на семінарах та наукових зібраннях різного рівня, зокрема на наукових конференціях [46,56]. Модель ґрунтується на теорії конформаційних коливань Волкова-Косевича

[197–200]. В рамках розробленої моделі фосфатні групи ДНК розглядаються як маси, розташовані на нитках подвійної спіралі (Рис. 2.3). Нуклеїнові основи з кільцями дезоксирибози (нуклеозидами) розглядаються як фізичні маятники з масою m і зведеною довжиною l , які пов'язані пружними силами (Н-зв'язками) в центрі подвійної спіралі. Протийони представлені у вигляді мас m_a , які локалізовані між поперечними фосфатними групами мономерної ланки (Рис. 2.3а).

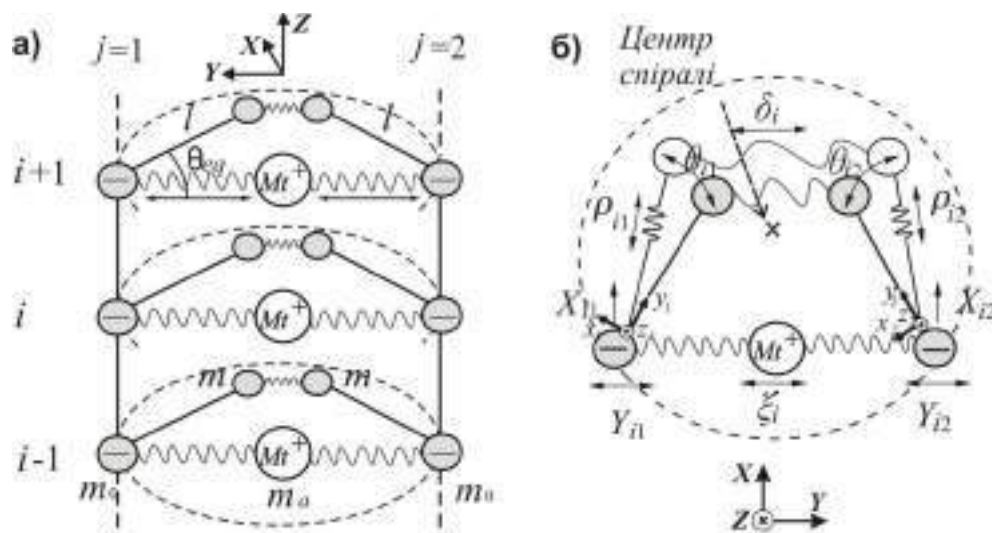


Рис. 2.3. Модель низькочастотних коливань ДНК з протийонами в між ланцюжковому положенні. [39] а) Подвійний ланцюг нуклеотидів з протийонами. l зведена довжина маятника-нуклеозиду; θ_{eq} - кут рівноваги; i та j перераховують мономерну ланку та ланцюг подвійної спіралі відповідно; m , m_0 і m_a – це маси нуклеозидів, фосфатних груп та протийонів відповідно. б) Мономерна ланка моделі, зображеної в площині, ортогональній спіральній осі. X_{ij} , Y_{ij} , θ_{ij} , ρ_{ij} , ξ_i – координати (див. текст); δ_i - розтяг Н-зв'язків.

Зміщення нуклеозидів і фосфатних груп в мономерній ланці ДНК описується за допомогою координат X_{i1} , X_{i2} , Y_{i1} , Y_{i2} , (Рис. 2.3б). Обертальні коливання маятників-нуклеозидів щодо фосфатних груп описуються відхиленнями θ_{i1} і θ_{i2} від кута θ_{eq} , що описує їх рівноважний стан в площині комплементарної пари ДНК. Дезоксирибоза і основа коливаються відносно один одного всередині нуклеозиду (внутрішньонуклеозидні коливання), що описується змінами до-

вжин маятника ρ_{i1} і ρ_{i2} . Коливання протийонів описуються координатою ξ_i . Рух структурних елементів мономерної ланки розглядається в площині, ортогональній осі спіралі.

Запишемо енергію низькочастотних коливань ДНК з протийонами в наступному вигляді:

$$E = \sum_i (E_h^i + E_C^i + E_{i,i+1}) , \quad (2.13)$$

де E_h^i – енергія мономерної ланки; E_C^i – енергія протийонів, пов'язаних з фосфатними групами; $E_{i,i+1}$ – енергія взаємодії елементів структури вздовж подвійної спіралі; індекс i пробігає значення $i = 0, \pm 1, \dots, \pm N$ (Рис. 2.3а).

Енергія коливань структурних елементів в мономерній ланці i подвійної спіралі ДНК визначена в рамках моделі чотирьох мас [197–203] наступним чином:

$$E_h^i = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^2 \left[M \left(\dot{X}_{ij}^2 + \dot{Y}_{ij}^2 \right) + m \left(\dot{\rho}_{ij}^2 + l^2 \dot{\theta}_{ij}^2 + 2l_s \dot{\theta}_{ij} \dot{Y}_{ij} + 2b \dot{\rho}_{ij} \dot{Y}_{ij} - 2a \dot{X}_{ij} \dot{\rho}_{ij} + 2lb \dot{X}_{ij} \dot{\theta}_{ij} \right) \right] + \frac{1}{2} \alpha \delta_i^2 + \frac{1}{2} \sum_{j=1}^2 (\sigma \rho_{ij}^2 + \beta \theta_{ij}^2) \quad (2.14)$$

де, як і у випадку енергії мономерної ланки одноланцюжкової нейтралізації (1.10) і (1.11) індекс j нумерує ланцюжок подвійної спіралі; $M = m_0 + m$ – маса нуклеотиду; $l_s = l \sin \theta_{eq}$; $b = \cos \theta_{eq}$; $a = \sin \theta_{eq}$; α , σ , β – це силові константи розтягування Н-зв'язків в парах основ, внутрішньонуклеозидної рухливості і обертання нуклеозидів відносно цукро-фосфатного остова в площині пари основ, відповідно; δ_i описує розтягнення Н-зв'язків в парах основ, який визначається так само, як і у випадку одноланцюжкової нейтралізації фосфатних груп (1.12), (1.13).

Енергія коливань протийонів у випадку між ланцюжкової нейтралізації може бути записана у наступному вигляді:

$$E_C^i = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^2 \left[m_a \dot{\xi}_i^2 + \gamma \left(Y_{ij} + (-1)^j \xi_i \right)^2 \right], \quad (2.15)$$

де, як і раніше, γ – константа іон-фосфатних коливань.

Член $E_{i,i+1}$ в енергії (2.13) описує взаємодії між сусідніми мономерами в ланцюзі. Так само, як і у випадку моделі з одноланцюжковою нейтралізацією фосфатних груп будемо розглядати гранично довгохвильові коливальні моди іонно-фосфатної ґратки. Таке наближення є достатнім для інтерпретації експериментальних коливальних спектрів, оскільки, як відомо, тільки довгохвильові коливання ґратки взаємодіють з електромагнітними полями і проявляються в коливальних спектрах. В довгохвильовому наближенні частоти мод оптичного типу слабо залежать від значення хвильового вектору, і з точки зору теорії коливань ґратки таке наближення збігається з нехтуванням взаємодією уздовж ланцюжка. Тому далі будемо нехтувати членом взаємодії: $E_{i,i+1} = 0$.

Виходячи з виразу енергії (2.13) – (2.14), можна записати рівняння руху системи. У змінних (1.28) система рівнянь руху розпадається на дві підсистеми зв'язаних рівнянь:

$$\left\{ \begin{array}{l} \ddot{Y}_i \left(\alpha_0 + \gamma_0 \frac{m_a}{M} - \omega^2 \right) + \left(\tilde{\rho}_i b + \tilde{\theta}_i l a \right) \left(\alpha_0 \frac{M}{m} - \omega^2 \right) \frac{m}{M} = 0; \\ \ddot{X}_i - \left(\tilde{\rho}_i a - \tilde{\theta}_i l b \right) \frac{m}{M} = 0; \\ \ddot{Y}_i a \left(\alpha_0 \frac{M}{m} - \omega^2 \right) - \left(\ddot{X}_i \omega^2 - \tilde{\rho}_i \alpha_0 \frac{M}{m} a \right) b + \tilde{\theta}_i l \left(\alpha_0 \frac{M}{m} a^2 + \beta_0 - \omega^2 \right) = 0 \\ \ddot{Y}_i b \left(\alpha_0 \frac{M}{m} - \omega^2 \right) + \left(\ddot{X}_i \omega^2 + \tilde{\theta}_i \alpha_0 \frac{M}{m} l b \right) a + \tilde{\rho}_i \left(\alpha_0 \frac{M}{m} b^2 + \sigma_0 - \omega^2 \right) = 0. \end{array} \right. \quad (2.16)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \ddot{y}_i \left(\gamma_0 \frac{m_a}{M} - \omega^2 \right) - \left(\bar{u}_i b + \tilde{\eta}_i l a \right) \omega^2 \frac{m}{M} - 2\tilde{\xi} \gamma_0 \frac{m_a}{M} = 0; \\ \ddot{x}_i - \left(\bar{u}_i a - \tilde{\eta}_i l b \right) \frac{m}{M} = 0; \\ \ddot{y}_i a \omega^2 + \ddot{x}_i \omega^2 b - \tilde{\eta}_i l \left(\beta_0 - \omega^2 \right) = 0 \\ \ddot{y}_i b \omega^2 - \ddot{x}_i \omega^2 a - \bar{u}_i \left(\sigma_0 - \omega^2 \right) = 0; \\ \ddot{y}_i \gamma_0 - \tilde{\xi} \left(2\gamma_0 - \omega^2 \right) = 0. \end{array} \right. \quad (2.17)$$

Перша підсистема складається з чотирьох рівнянь відносно координат X_i , Y_i , θ_i і ρ_i , що описують симетричні довгохвильові коливання мономерній ланці ДНК. Друга підсистема складається з 5 рівнянь щодо координат x_i , y_i , η_i , u_i і ξ_i , що характеризують антисиметричні довгохвильові коливання мономерної ланки ДНК.

Використовуючи умову існування розв'язків рівнянь (2.16) і (2.17), визначаються частоти довгохвильових коливань. З системи рівнянь (2.16) одержується 4 моди коливань. Три з них є оптичного типу, і одна – акустичного типу, яка має нульову частоту, оскільки ми розглядаємо довгохвильову границю. Моди оптичного типу описують симетричні коливання остова в мономерній ланці подвійної спіралі (ω_B^+) і розтяг Н-зв'язків в парах нуклеїнових основ (ω_H^+ і ω_{HS}^+). З системи рівнянь (2.17) одержується 5 мод коливань. Три з них оптичного типу і дві акустичного типу з нульовою частотою, оскільки розглядається гранично довгохвильове наближення. Моди оптичного типу описують антисиметричні коливання остова подвійної спіралі (ω_B^-), внутрішньонуклеозидні коливання (ω_S^-), й іон-фосфатні коливання (ω_{Ion}^-). Як ми бачимо, у випадку міжланцюжкової нейтралізації існує тільки одна мода антисиметричних іон-фосфатних коливань ω_{Ion}^- , тоді як у випадку одноланцюжкової нейтралізації існує ще і симетрична іон-фосфатна мода ω_{Ion}^+ [216,223].

Для аналізу характеру низькочастотних коливань ДНК було розглянуто запропоновану модель в підході жорсткого нуклеозиду. В рамках цього наближення розглядаються тільки коливання фосфатних груп уздовж осі Y (координати Y і y) і коливання маятників-нуклеозидів (координати θ і η). В результаті кількість рівнянь в (2.16) і (2.17) зменшується і з умов існування розв'язку можна знайти наступні аналітичні форми для мод ω_H^+ , ω_B^+ , ω_{Ion}^- і ω_B^- :

$$\begin{aligned}
\omega_H^+ &= \frac{\alpha_0(1-q) + \gamma_0 \frac{m_a}{M} + \beta_0 + \sqrt{\left[\alpha_0(1-q) + \gamma_0 \frac{m_a}{M} + \beta_0\right]^2 - 4(1-p)\left(\alpha_0\beta_0 + \beta_0\gamma_0 \frac{m_a}{M} + \alpha_0\gamma_0 \frac{m_a a^2}{m}\right)}}{2(1-p)}, \\
\omega_B^+ &= \frac{\alpha_0(1-q) + \gamma_0 \frac{m_a}{M} + \beta_0 - \sqrt{\left[\alpha_0(1-q) + \gamma_0 \frac{m_a}{M} + \beta_0\right]^2 - 4(1-p)\left(\alpha_0\beta_0 + \beta_0\gamma_0 \frac{m_a}{M} + \alpha_0\gamma_0 \frac{m_a a^2}{m}\right)}}{2(1-p)}, \\
\omega_{Ion}^- &= \frac{\beta_0 - 2\gamma_0(1-p+q)}{2(1-p)} + \frac{\sqrt{\left[\beta_0 - 2\gamma_0(1-p+q)\right]^2 - 8(1-p)(1+q)\beta_0\gamma_0}}{2(1-p)}, \quad (2.18) \\
\omega_B^- &= \frac{\beta_0 - 2\gamma_0(1-p+q)}{2(1-p)} - \frac{\sqrt{\left[\beta_0 - 2\gamma_0(1-p+q)\right]^2 - 8(1-p)(1+q)\beta_0\gamma_0}}{2(1-p)},
\end{aligned}$$

де $q = m_a / (2M)$, $p = ma^2 / M$

Наведені формули (2.18) показують, що частоти коливань залежать від усіх силових постійних моделі. Проте аналіз показує, що з урахуванням наближених значень параметрів $p \sim 0$ і $q \sim 0$, видно, що ω_H^+ визначається головним чином константою α_0 , тому ця мода є модою розтягу водневих зв'язків; ω_B^+ і ω_B^- визначається головним чином константою β_0 , тому ці моди характеризують коливання остова подвійної спіралі; ω_{Ion}^- головним чином константою γ_0 , тому це є мода іон-фосфатних коливань ДНК.

Для визначення характеру низькочастотних коливань ДНК з гідратованими протийонами Mg^{2+} в міжланцюжковому положенні розраховуються амплітуди коливань так само, як в [216,223]. Для ДНК з гідратованими протийонами Mg^{2+} в міжланцюжковому положенні такі вирази виходять аналогічно [216,223]:

$$\tilde{\theta}_i^+ = \frac{2(k_B T)^{1/2}}{l} \left[2\alpha \left(a + \frac{\tilde{Y}_i^+}{l\dot{\theta}_i^+} + \frac{\dot{\rho}_i^+ b}{l\dot{\theta}_i^+} \right)^2 + \frac{\beta}{l^2} + \sigma \left(\frac{\dot{\rho}_i^+}{l\dot{\theta}_i^+} \right)^2 + \gamma \left(\frac{\tilde{\xi}_i^+}{l\dot{\theta}_i^+} \right)^2 \right]^{-1/2}, \quad (2.19)$$

Для деякої амплітуди коливань, з системи рівнянь (2.5) отримуємо формулу аналогічну формулі (2.19):

$$\dot{\theta}_i^- = \frac{2(k_B T)^{1/2}}{l} \left[\frac{\beta}{l^2} + \sigma \left(\frac{\dot{\rho}_i^-}{l \dot{\theta}_i^-} \right)^2 + \gamma \left(\frac{\dot{y}_i^-}{l \dot{\theta}_i^-} + \frac{\dot{\xi}_i^-}{l \dot{\theta}_i^-} \right)^2 \right]^{-1/2}. \quad (2.20)$$

Решту амплітуд розраховували, використовуючи співвідношення амплітуд, визначені із рівнянь руху (2.16) та (2.17). Формула (1.33) повністю збігається з формулою (2.19) для випадку амплітуд коливань ДНК з протийонами в однола-нцюжковій нейтралізації, а формула (2.20) має додатково ще співвідношення амплітуд $\frac{\dot{y}_i^-}{l \dot{\theta}_i^-}$ в останній дужці.

2.3. Модель динаміки іон-фосфатної ґратки лівозакрученої спіралі ДНК з протийонами

Модель конформаційних коливань ДНК з протийонами у випадку лівозакрученої подвійної спіралі типу Z-форми макромолекули ДНК була розвинута автором разом з д-р. фіз.-мат. наук С.Н. Волковим в роботах [41,43], що відно-ситься до основних результатів представленої дисертації. Окремі результати, що впливають з розвинутої моделі, також доповідалися на семінарах та науко-вих зібраннях різного рівня, зокрема на наукових конференціях [47–49,51].

Z-форма подвійної спіралі є унікальною лівозакрученою конформацією ДНК (Рис. 2.4), яка зазвичай утворюється для послідовностей основ GC і при високій концентрації іонів Na^+ та Mg^{2+} [14]. На відміну від правозакручених подвійних спіралей (B-, A-сімейства), де мономерними одиницями є пари нук-леотидів, мономерними одиницями в Z-ДНК є дві пари нуклеотидів (димери). Нуклеїнові основи в димерах повертаються одне відносно одного на кут близь-ко 15 градусів, а димери обертаються один щодо одного приблизно на 45 граду-сів. В результаті середня спіраль становить приблизно 60 градусів на димер. Відстань між парами нуклеотидів в середньому становить близько 3,7 Å, що трохи вище, ніж у B-формі. Таким чином, через різну намотування подвійних спіралей Z-форма ДНК довша і вужча, ніж B-форма.

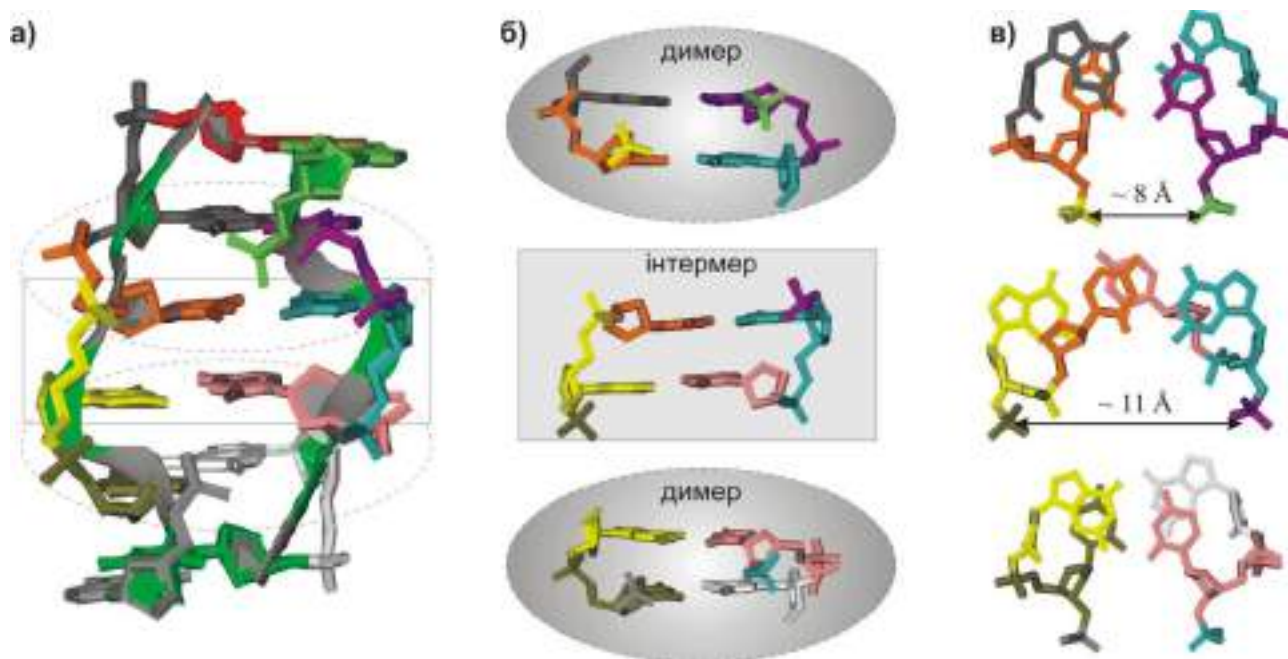


Рис. 2.4. Структура подвійної спіралі Z-ДНК (pdb ID 1WOE [225]). а) Подвійна спіраль Z-ДНК. Димери окреслені пунктирними лініями. Міждимерні пари нуклеотидів позначені прямокутниками. б) Динуклеотиди Z-ДНК (нуклеотиди в димерах та в інтердимерах). в) Нуклеотиди в димерах та у між димерами, показані у площині, ортогональній осі спіралі.

Нуклеозиди в парах основ Z-форми характеризуються різною конформацією цукрових кілець. У випадку пуринових нуклеозидів - C3'-ендо, характерний для A-ДНК, а у випадку піримідинових нуклеозидів-C2'-ендо, характерний для B-ДНК. Усередині димера стекінг-взаємодія відбувається між основами одного тяжу подвійної спіралі, як у правозакрученої ДНК, а випадку міждимерних нуклеотидів стекінг відбувається між основами різних тяжів подвійної спіралі (Рис. 2.4б). Основи зв'язані водневими зв'язками Хугстинівського типу.

Структура остова подвійної спіралі Z-ДНК неоднорідна, оскільки фосфатні групи в димерах і між димерами локалізовані на різних відстанях до осі спіралі. В результаті остов подвійної спіралі має зламану Z-подібну форму (Рис. 2.4а). Беручи до уваги відстані між фосфатними групами, протийони можуть взаємодіяти з лівою подвійною спіраллю з боку малого жолобу та зовні остова макромолекули, нейтралізуючи дві фосфатні групи. Такий тип нейтралізації фосфат-

них груп є просторово енергетично вигідним для розташування двовалентних іонів Mg^{2+} .

Структура подвійної спіралі Z-ДНК не має головного жолоба, а мінорний жолоб характеризується малою шириною і великою глибиною. Відстань між фосфатними групами мінорного жолоба в димері має величину біля 8 Å. Така відстань є сприятливою для локалізації іону магнію, який разом з молекулами води першої гідратної оболонки має радіус біля 4Å.

У випадку Z-ДНК характер конформаційних коливань може істотно відрізнятися, оскільки структура лівої подвійної спіралі має унікальні особливості. Фосфатні групи лівозакрученої подвійної спіралі утворюють остов зигзагоподібної форми, а площини найближчих пар нуклеїнових основ мають різні перекриття. Тому пари нуклеотидів утворюють димери, які є елементарними одиницями Z-ДНК [14]. Перекриття пар основ всередині димера сильніше, ніж між димерами. У той же час, димерна структура Z-ДНК також стабілізується протийонами (зазвичай Mg^{2+}), які можуть бути локалізовані між фосфатними групами різних ланцюгів подвійної спіралі. Утворення димерів парами нуклеотидів та локалізація протийонів у мінорному жолобі ДНК може бути важливою для низькочастотних мод Z-ДНК. Експериментальні дані показують, що в низькочастотних спектрах Z-ДНК спостерігаються нові моди поблизу 150 і 42 cm^{-1} [226]. Походження цих мод поки не встановлено. Для опису низькочастотних спектрів Z-ДНК підхід конформаційних коливань ДНК з протийонами в одно ланцюжковому і між ланцюжковому положенні [39,42,216,223,224] слід розширити, враховуючи особливості будови зигзагоподібної форми подвійної спіралі та можливі випадки локалізації протийонів щодо фосфатні групи.

Для опису конформаційної динаміки іон-фосфатної ґратки ДНК слід розглянути типові випадки локалізації протийонів відносно фосфатних груп. В представленій моделі розглядаються одновалентні протийони зовні подвійної спіралі, де один одновалентний протийон нейтралізує одну фосфатну групу (одноланцюжкове положення протийону). Водночас, через зигзагоподібну форму остова Z-ДНК (Рис. 2.5a), відстань між фосфатними групами різних тяжів

ДНК суттєво менша, порівняно з іншими формами подвійної спіралі. Така структурна особливість подвійної спіралі Z-ДНК робить можливим локалізацію протийонів в мінорному жолобку подвійної спіралі між фосфатами різних тяжів (міжланцюжкове положення протийону). Міжланцюжкове положення є більш сприятливим для двовалентних протийонів (Рис.2.5а).

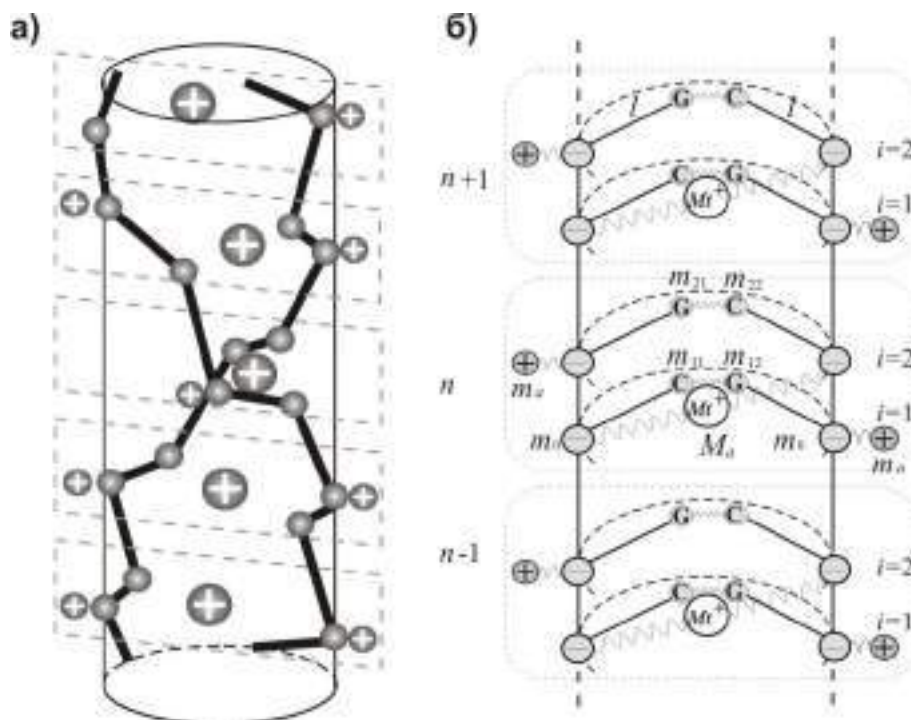


Рис. 2.5. Іон-фосфатні ґратка Z-ДНК. а) Зигзагоподібна форма остова Z-ДНК. б) Модель конформаційних коливань лівої подвійної спіралі з протийонами. Мономерні ланки моделі, що складаються з двох пар нуклеотидів (димерів), окреслені пунктирними лініями. Рисунки з робіт дисертанта [41,43].

Модель будувалася на основі підходу конформаційних коливань Волкова-Косевича [197–203] і розширеного її варіанту для описання коливань протийонів в одно ланцюжковому та міжланцюжковому положеннях, що описано вище. Як і в попередніх випадках фосфатні групи ($PO_4 + C_5'$) та нуклеозиди моделюються як маси m_0 та m відповідно. Нуклеозиди обертаються як фізичні маятники відносно фосфатних груп у площині пари нуклеотидів. Фізичні маятники характеризуються зведеною довжиною l . Нуклеозиди різних ланцюгів спарені водневими зв'язками (Рис. 2.5б). Рухи структурних елементів мономерної лан-

ки розглядаються в площині, ортогональній спіральній осі. Такі коливання є поперечними по відношенню до подвійної спіралі. Поздовжні коливання атомних груп макромолекул мають значно вищі частоти і виходять за рамки даного підходу.

Відповідно до димерної структури зигзагоподібної подвійної спіралі, мономерна ланка моделі Z-ДНК складається з двох пар нуклеотидів. Нуклеозиди в димері гуанін (G) та цитозин (C), зазвичай, мають чергуватися [14]. Зміщення нуклеозидів і фосфатних груп у мономерній ланці ДНК описується координатою Y . Координата θ описує відхилення маятників-нуклеозидів від їх положення рівноваги (кут θ_0) у площині комплементарної пари ДНК. Відносні коливання дезоксирибози та основи всередині нуклеозиду (внутрішньонуклеозидна рухливість) описуються змінами довжин фізичних маятників ρ . Коливання протийону в одноланцюжковому положенні описуються координатами ξ . Для опису коливань протийону в міжланцюжковому положенні вводиться координата Y_a . Коливальні координати моделі та напрямки зміщень показані на Рис.2.6.

В рамках запропонованої моделі динаміки іон-фосфатної ґратки ДНК енергію коливань структурних елементів подвійної спіралі можна записати в наступному вигляді:

$$E = \sum_n (K_n + U_n + U_{n,n-1}), \quad (2.21)$$

де K_n і U_n – кінетична й потенціальна енергії мономерної ланки n іон-фосфатної ґратки ДНК, $U_{n,n-1}$ – потенціальна енергія взаємодії вздовж ланцюга. Кінетичну енергію мономерної ланки можна записати наступним чином:

$$K_n = K_{0n} + K_{an}, \quad (2.22)$$

де K_{0n} і K_{an} – енергії коливань структурних елементів у парах нуклеотидів n -го димера та протийонів відповідно. Потенціальну енергію зміщень мас у мономерній ланці можна записати у наступному вигляді:

$$U_n = U_{0n} + U_{an}, \quad (2.23)$$

де U_{0n} та U_{an} – енергії коливань мас у парах нуклеотидів димера та енергія коливань протийонів відповідно.

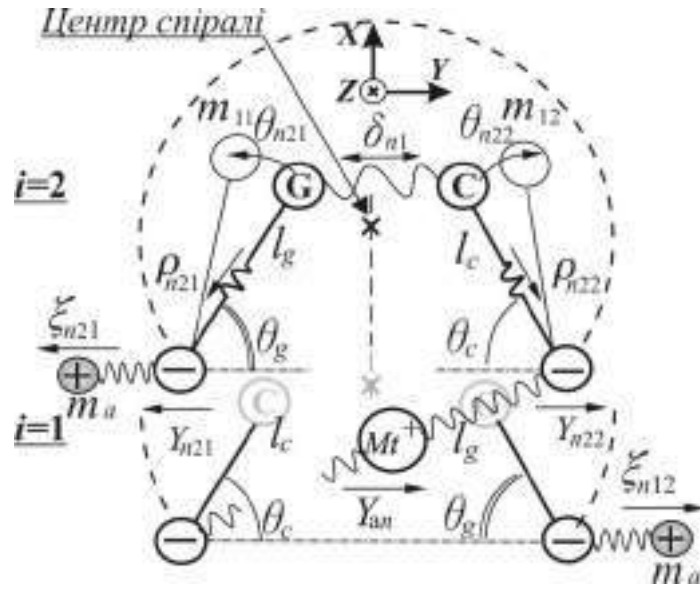


Рис. 2.6. Мономерна ланка лівої подвійної спіралі (димер нуклеотидних пар). l – зведена довжина маятникового нуклеозиду; θ_0 – рівноважний кут; m , m_0 і m_a – маси нуклеозидів, фосфатних груп та протийонів відповідно; X , Y , θ , ρ і ξ – це коливальні координати моделі (див. текст). Стрілки вказують на позитивні напрямки переміщень. Рисунок з роботи дисертанта [43].

Вирази для K_{0n} та U_{0n} для Z-ДНК можуть бути записані у формі:

$$K_{0n} = \frac{1}{2} \sum_i^2 \sum_j^2 \left[M_{ij} \dot{Y}_{nij}^2 + m_{ij} \left(\dot{\rho}_{nij}^2 + l_{ij}^2 \dot{\theta}_{nij}^2 + 2l_{ij}^s \dot{\theta}_{nij} \dot{Y}_{nij} + 2b_{ij} \dot{\rho}_{nij} \dot{Y}_{nij} \right) \right], \quad (2.24)$$

$$U_{0n} = \frac{1}{2} \sum_i^2 \left[\alpha \delta_{ni}^2 + \sum_j^2 \left(\sigma_{ij} \rho_{nij}^2 + \beta_{ij} \theta_{nij}^2 \right) \right] + \frac{1}{2} \sum_j^2 \left[g_\theta (\theta_{n1j} - \theta_{n2j})^2 + g_\rho (\rho_{n1j} - \rho_{n2j})^2 + g_Y (Y_{n1j} - Y_{n2j})^2 \right], \quad (2.25)$$

де $l_{ij}^s = l_{ij} a_{ij}$; $a_{ij} = \sin \theta_{ij}$; $b_{ij} = \cos \theta_{ij}$; n нумерує димери макромолекули; $i = 1; 2$ – нуклеотидні пари в цих димерах; $j = 1; 2$ – ланцюжки подвійної спіралі; α , σ_{ij} та β_{ij} – силові константи, що описують розтяг водневих зв'язків в парах основ, внутрішньонуклеозидну рухливість та обертання нуклеозидів відносно тяжів основа у площині пар основ відповідно; g_θ , g_ρ і g_Y – силові константи, що опи-

сують взаємодію нуклеїнових основ та взаємодію між фосфатними групами різних пар нуклеотидів у димерах. Змінна δ_{ni} описує розтяг водневих зв'язків у парах основ (Рис. 2.6). В представленій моделі розтяг водневих зв'язків визначається наступним чином: $\delta_{ni} \approx l_{i1}^s \theta_{ni1} + l_{i2}^s \theta_{ni2} + Y_{ni1} + Y_{ni2} + b_{i1} \rho_{ni1} + b_{i2} \rho_{ni2}$.

Кінетичну та потенційну енергії коливань протийонів у іон-фосфатній ґратці Z-ДНК можна записати наступним чином:

$$K_{an} = \frac{m_a}{2} \left[\left(\dot{Y}_{n21} + \dot{\xi}_{n21} \right)^2 + \left(\dot{Y}_{n12} + \dot{\xi}_{n12} \right)^2 \right] + \frac{M_a}{2} \dot{Y}_{an}^2, \quad (2.26)$$

$$U_{0n} = \frac{\gamma}{2} \left(\xi_{n21}^2 + \xi_{n12}^2 \right) + \frac{\gamma_a}{2} \left[\left(Y_{an} - Y_{n22} \right)^2 + \left(Y_{an} + Y_{n11} \right)^2 \right], \quad (2.27)$$

де γ і γ_a – силові константи протийонів у одноланцюговому та міжланцюговому положеннях відповідно; m_a і M_a – це маси протийонів в одноланцюжковому і міжланцюжковому положеннях. У співвідношеннях (2.26) та (2.27) перші доданки описують кінетичну та потенційну енергії коливань протийонів у одноланцюгових положеннях, тоді як останні члени описують кінетичну та потенційну енергії коливань протийонів у між ланцюжкових положеннях.

Для опису низькочастотних спектрів комбінаційного розсіяння світла Z-ДНК в рамках запропонованої моделі шукаємо фонони оптичного типу, які спостерігаються в експериментальних спектрах від 10 до 200 см^{-1} . Тому розглядаються моди, що характеризують коливання атомних груп ДНК всередині мономерів Z-ДНК (димери нуклеотидних пар), які спостерігаються в даному спектральному інтервалі. Відносні коливання димерів пар нуклеотидів відбуваються, за нашими оцінками, з істотно меншими частотами ($< 5 \text{ см}^{-1}$). Оскільки в низькочастотних спектрах комбінаційного розсіяння світла спостерігаються лише оптичні коливання, ми розглянемо гранично довгохвильові коливальні моди іонно-фосфатної ґратки в Z-ДНК. З точки зору теорії коливань ґратки, таке наближення є таким же, як нехтування взаємодії вздовж ланцюга [37]. Тому в подальшому розгляді доданок взаємодії вздовж ланцюга $U_{n;n-1}$ не враховується.

Таким чином, в нашому підході досліджуються поперечні коливання структурних елементів димеру, що є мономерною ланкою ланцюжка (Рис. 2.7). Дослідження динаміки, що пов'язана з рухливістю самих димерів один відносно одного, виходить за межі запропонованого підходу і в даному випадку не розглядається.

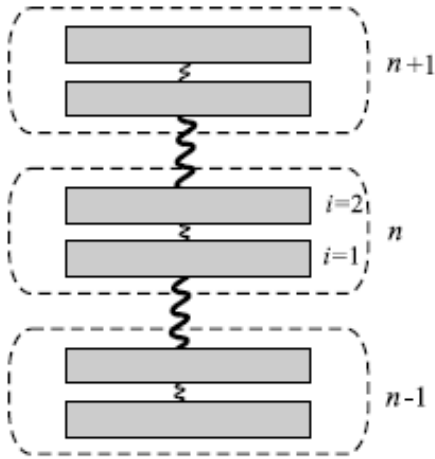


Рис. 2.7. Ланцюжок мономерних ланок моделі. Прямокутниками позначено пари нуклеотидів. Пунктирними лініями позначено димери, які в даній моделі є мономерними ланки. Рисунок з роботи дисертанта [43].

Рівняння руху в даному наближенні набувають вигляду:

$$\frac{d}{dt} \frac{\partial K_{0n}}{\partial \dot{q}_n} + \frac{d}{dt} \frac{\partial K_{an}}{\partial \dot{q}_n} - \frac{\partial U_{0n}}{\partial q_n} - \frac{\partial U_{an}}{\partial q_n} = 0, \quad (2.28)$$

Для того аби одержати найбільш зручну для подальшого аналізу форму запису рівнянь руху були використані наступні змінні:

$$\begin{aligned} Y_c^n &= Y_{11}^n + Y_{22}^n, & Y_g^n &= Y_{21}^n + Y_{12}^n, \\ y_c^n &= Y_{11}^n - Y_{22}^n, & y_g^n &= Y_{21}^n - Y_{12}^n, \\ \theta_c^n &= \theta_{11}^n + \theta_{22}^n, & \theta_g^n &= \theta_{21}^n + \theta_{12}^n, \\ \eta_c^n &= \theta_{11}^n - \theta_{22}^n, & \eta_g^n &= \theta_{21}^n - \theta_{12}^n, \\ \rho_c^n &= \rho_{11}^n + \rho_{22}^n, & \rho_g^n &= \rho_{21}^n + \rho_{12}^n, \\ r_c^n &= \rho_{11}^n - \rho_{22}^n, & r_g^n &= \rho_{21}^n - \rho_{12}^n, \\ \xi_1^n &= \xi_{21}^n + \xi_{12}^n, & \xi_2^n &= \xi_{21}^n - \xi_{12}^n. \end{aligned} \quad (2.29)$$

Вводячи позначення:

$$\alpha_g = \frac{\alpha}{M_g}; \alpha_c = \frac{\alpha}{M_c}; \beta_g = \frac{\beta}{m_g l_g^2}; \beta_c = \frac{\beta}{m_c l_c^2}; \sigma_g = \frac{\sigma}{m_g}; \sigma_c = \frac{\sigma}{m_c}; \gamma_0 = \frac{\gamma}{m_a}; \gamma_{a0} = \frac{\gamma_a}{M_a};$$

$$g_{\theta g} = \frac{g_{\theta}}{m_g l_g^2}; g_{\theta c} = \frac{g_{\theta}}{m_c l_c^2}; g_{\rho g} = \frac{g_{\rho}}{m_g}; g_{\rho c} = \frac{g_{\rho}}{m_c}; g_{yg} = \frac{g_y}{m_g}; g_{yc} = \frac{g_y}{m_c};$$

$$a_c = \sin \theta_{0c}; a_g = \sin \theta_{0g}; b_c = \cos \theta_{0c}; b_g = \cos \theta_{0g}; l_c^s = l_c \sin \theta_{0c}; l_g^s = l_g \sin \theta_{0g},$$

В результаті одержуються наступні рівняння руху для коливань оптичного типу системи ДНК з протийонами [формули (2.30) і (2,31)].

$$\begin{aligned}
& \ddot{Y}_c^n + \frac{m_c b_c}{M_c} \ddot{\rho}_c^n + \frac{m_c l_c^s}{M_c} \ddot{\theta}_c^n + \frac{M_a}{M_c} \gamma_{a0} Y_c^n - g_{yc} (Y_c^n - Y_g^n) + \\
& \quad + \alpha_c (Y_g^n + Y_c^n + l_g^s \theta_g^n + l_c^s \theta_c^n + b_g \rho_g^n + b_c \rho_c^n) = 0; \\
& \ddot{Y}_g^n + \frac{m_g b_g}{M_g} \ddot{\rho}_g^n + \frac{m_g l_g^s}{M_g} \ddot{\theta}_g^n + \frac{m_a}{M_g} (\ddot{Y}_g^n + \ddot{\xi}_1^n) - g_{yg} (Y_c^n - Y_g^n) + \\
& \quad + \alpha_g (Y_g^n + Y_c^n + l_g^s \theta_g^n + l_c^s \theta_c^n + b_g \rho_g^n + b_c \rho_c^n) = 0; \\
& \ddot{\theta}_g^n + \frac{a_g}{l_g} \ddot{Y}_g^n + \beta_g \theta_g^n - g_{\theta g} (\theta_c^n - \theta_g^n) + \\
& \quad + \alpha_g \frac{M_g a_g}{m_g l_g} (Y_g^n + Y_c^n + l_g^s \theta_g^n + l_c^s \theta_c^n + b_g \rho_g^n + b_c \rho_c^n) = 0; \\
& \ddot{\theta}_c^n + \frac{a_c}{l_c} \ddot{Y}_c^n + \beta_c \theta_c^n - g_{\theta c} (\theta_c^n - \theta_g^n) + \\
& \quad + \alpha_c \frac{M_c a_c}{m_c l_c} (Y_g^n + Y_c^n + l_g^s \theta_g^n + l_c^s \theta_c^n + b_g \rho_g^n + b_c \rho_c^n) = 0; \\
& \ddot{\rho}_g^n + b_g \ddot{Y}_g^n + \sigma_g \rho_g^n - g_{\rho g} (\rho_c^n - \rho_g^n) + \\
& \quad + \alpha_g \frac{M_g b_g}{m_g} (Y_g^n + Y_c^n + l_g^s \theta_g^n + l_c^s \theta_c^n + b_g \rho_g^n + b_c \rho_c^n) = 0; \\
& \ddot{\rho}_c^n + b_c \ddot{Y}_c^n + \sigma_c \rho_c^n - g_{\rho c} (\rho_c^n - \rho_g^n) + \\
& \quad + \alpha_c \frac{M_c b_c}{m_c} (Y_g^n + Y_c^n + l_g^s \theta_g^n + l_c^s \theta_c^n + b_g \rho_g^n + b_c \rho_c^n) = 0; \\
& \ddot{Y}_g^n + \ddot{\xi}_1^n + \gamma_0 \xi_1^n = 0;
\end{aligned} \tag{2.30}$$

$$\begin{aligned}
& \ddot{y}_c^n + \frac{m_c b_c}{M_c} \ddot{r}_c^n + \frac{m_c l_c^s}{M_c} \ddot{\eta}_c^n - \frac{M_a}{M_c} \gamma_{a0} (2y_a^n - y_c^n) + g_{yc} (y_c^n + y_g^n) + \\
& \quad + \alpha_c (y_g^n + y_c^n + l_g^s \eta_g^n + l_c^s \eta_c^n + b_g r_g^n + b_c r_c^n) = 0; \\
& \ddot{y}_g^n + \frac{m_g b_g}{M_g} \ddot{r}_g^n + \frac{m_g l_g^s}{M_g} \ddot{\eta}_g^n + \frac{m_a}{M_g} (y_g^n + \ddot{\xi}_2^n) + g_{yg} (y_c^n + y_g^n) + \\
& \quad + \alpha_g (y_g^n + y_c^n + l_g^s \eta_g^n + l_c^s \eta_c^n + b_g r_g^n + b_c r_c^n) = 0; \\
& \ddot{\eta}_g^n + \frac{a_g}{l_g} \ddot{y}_g^n + \beta_g \eta_g^n + g_{\theta g} (\eta_c^n + \eta_g^n) + \\
& \quad + \alpha_g \frac{M_g a_g}{m_g l_g} (y_g^n + y_c^n + l_g^s \eta_g^n + l_c^s \eta_c^n + b_g r_g^n + b_c r_c^n) = 0; \\
& \ddot{\eta}_c^n + \frac{a_c}{l_c} \ddot{y}_c^n + \beta_c \eta_c^n + g_{\theta c} (\eta_c^n + \eta_g^n) + \\
& \quad + \alpha_c \frac{M_c a_c}{m_c l_c} (y_g^n + y_c^n + l_g^s \eta_g^n + l_c^s \eta_c^n + b_g r_g^n + b_c r_c^n) = 0; \\
& \ddot{r}_g^n + b_g \ddot{y}_g^n + \sigma_g r_g^n + g_{\rho g} (r_c^n + r_g^n) + \\
& \quad + \alpha_g \frac{M_g b_g}{m_g} (y_g^n + y_c^n + l_g^s \eta_g^n + l_c^s \eta_c^n + b_g r_g^n + b_c r_c^n) = 0; \\
& \ddot{r}_c^n + b_c \ddot{y}_c^n + \sigma_c r_c^n + g_{\rho c} (r_c^n + r_g^n) + \\
& \quad + \alpha_c \frac{M_c b_c}{m_c} (y_g^n + y_c^n + l_g^s \eta_g^n + l_c^s \eta_c^n + b_g r_g^n + b_c r_c^n) = 0; \\
& \ddot{y}_g^n + \ddot{\xi}_2^n + \gamma_0 \xi_2^n = 0; \\
& 2\ddot{y}_a^n + 2\gamma_0 (2Y_a^n - y_c^n) = 0.
\end{aligned} \tag{2.31}$$

$$\begin{vmatrix}
\alpha_g + g_g - (1 + \frac{m_a}{M_g})\omega^2 & \alpha_g - g_g & b_g(\alpha_g - \frac{m_g}{M_g}\omega^2) & \alpha_g b_c & \alpha_g l_{sg} - \frac{m_g l_{sg}}{M_g}\omega^2 & \alpha_g l_{sg} & -\frac{m_a}{M_g}\omega^2 \\
\alpha_c - g_c & \alpha_c + g_c + \frac{m_a}{M_g}\gamma_{a0} - \omega^2 & \alpha_c b_g & b_c(\alpha_c - \frac{m_c}{M_c}\omega^2) & \alpha_c l_{sc} - \frac{m_c l_{sc}}{M_c}\omega^2 & \alpha_c l_{sc} & 0 \\
\frac{a_g}{l_g}(\alpha_g \frac{M_g}{m_g} - \omega^2) & \alpha_g \frac{M_g a_g}{m_g l_g} & \alpha_g \frac{M_g b_g a_g}{m_g l_g} & \alpha_c \frac{M_g a_g b_c}{m_g l_g} & \alpha_g \frac{M_g a_g^2}{m_g} + \beta_{0g} + g_{1g} - \omega^2 & \alpha_g \frac{M_g a_g l_{sc}}{m_g l_g} - g_{1c} & 0 \\
\alpha_c \frac{M_c a_c}{m_c l_c} & \frac{a_c}{l_c}(\alpha_c \frac{M_c}{m_c} - \omega^2) & \alpha_c \frac{M_c a_c b_g}{m_c l_c} & \alpha_c \frac{M_c a_c b_c}{m_c l_c} & \alpha_c \frac{M_c a_c l_{sg}}{m_c l_c} - g_{1c} & \alpha_c \frac{M_c a_c^2}{m_c} + \beta_{0c} + g_{1c} - \omega^2 & 0 \\
b_g(\alpha_g \frac{M_g}{m_g} - \omega^2) & \alpha_g \frac{M_g b_g}{m_g} & \alpha_g \frac{M_g b_g^2}{m_g} + \sigma_{0g} + g_{2g} - \omega^2 & \alpha_g \frac{M_g b_g b_c}{m_g} - g_{2g} & \alpha_g \frac{M_g l_{sg} b_g}{m_g} & \alpha_g \frac{M_g l_{sc} b_g}{m_g} & 0 \\
\alpha_c \frac{M_c b_c}{m_c} & b_c(\alpha_c \frac{M_c}{m_c} - \omega^2) & \alpha_c \frac{M_c b_g b_c}{m_c} - g_{2g} & \alpha_c \frac{M_c b_c^2}{m_c} + \sigma_{0c} + g_{2g} - \omega^2 & \alpha_c \frac{M_c l_{sg} b_c}{m_c} & \alpha_c \frac{M_c l_{sc} b_c}{m_c} & 0 \\
-\omega^2 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \gamma_0 - \omega^2
\end{vmatrix} = 0.$$

(2.32)

$$\begin{vmatrix}
\alpha_g + g_g - (1 + \frac{m_a}{M_g})\omega^2 & \alpha_g + g_g & b_g(\alpha_g - \frac{m_g}{M_g}\omega^2) & \alpha_g b_c & \alpha_g l_{sg} - \frac{m_g l_{sg}}{M_g}\omega^2 & \alpha_g l_{sc} - \frac{m_g l_{sg}}{M_g}\omega^2 & -\frac{m_a}{M_g}\omega^2 & 0 \\
\alpha_c - g_c & \alpha_c + g_c + \frac{m_a}{M_g}\gamma_{a0} - \omega^2 & \alpha_c b_g & b_c(\alpha_c - \frac{m_c}{M_c}\omega^2) & \alpha_c l_{sc} - \frac{m_c l_{sc}}{M_c}\omega^2 & \alpha_c l_{sc} & 0 & -2\gamma_0 \frac{M_a}{M_c} \\
b_g(\alpha_g \frac{M_g}{m_g} - \omega^2) & \alpha_g \frac{M_g b_g}{m_g} & \alpha_g \frac{M_g b_g^2}{m_g} + \sigma_{0g} + g_{2g} - \omega^2 & \alpha_g \frac{M_g b_c b_g}{m_g} + g_{2g} & \alpha_g \frac{M_g b_g l_{sg}}{m_g} & \alpha_g \frac{M_g b_g l_{sc}}{m_g} & 0 & 0 \\
\alpha_c \frac{M_c b_c}{m_c} & b_c(\alpha_c \frac{M_c}{m_c} - \omega^2) & \alpha_c \frac{M_c b_c b_g}{m_c} + g_{2c} & \alpha_c \frac{M_c b_c^2}{m_c} + \sigma_{0c} + g_{2c} - \omega^2 & \alpha_c \frac{M_c b_g l_{sc}}{m_c} & \alpha_c \frac{M_c b_c l_{sc}}{m_c} & 0 & 0 \\
\frac{a_g}{l_g}(\alpha_g \frac{M_g}{m_g} - \omega^2) & \alpha_g \frac{M_g a_g}{m_g l_g} & \alpha_g \frac{M_g a_g b_g}{m_g l_g} & \alpha_c \frac{M_g a_g b_c}{m_g l_g} & \alpha_g \frac{M_g a_g^2}{m_g} + \beta_{0g} + g_{1g} - \omega^2 & \alpha_g \frac{M_g a_g l_{sc}}{m_g l_g} + g_{1g} & 0 & 0 \\
\alpha_c \frac{M_c a_c}{m_c l_c} & \frac{a_c}{l_c}(\alpha_c \frac{M_c}{m_c} - \omega^2) & \alpha_c \frac{M_c a_c b_g}{m_c l_c} & \alpha_c \frac{M_c a_c b_c}{m_c l_c} & \alpha_c \frac{M_c a_c l_{sg}}{m_c l_c} + g_{1c} & \alpha_c \frac{M_c a_c^2}{m_c} + \beta_{0c} + g_{1c} - \omega^2 & 0 & 0 \\
-\omega^2 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \gamma_0 - \omega^2 & 0 \\
0 & -\gamma_{a0} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 2\gamma_{a0} - \omega^2
\end{vmatrix} = 0$$

(2.33)

Перша підсистема рівнянь руху описує симетричні коливання нуклеотидів у димерах, тоді як друга підсистема описує антисиметричні коливання нуклеотидів.

Отримані рівняння рухів розв'язуються за допомогою стандартної підстановки: $q_n = \tilde{q}_n \exp(i\omega t)$, де $\tilde{q}_n$ - амплітуда та частота відповідної координати коливань. В результаті отримано рівняння для частот довгохвильових коливань Z-ДНК. З підсистеми рівнянь руху (2.30) і (2.31) випливають рівняння для частот (2.32) і (2.33).

Рівняння (2.32) дає 7 частот коливань, які характеризують розтяг водневих зв'язків в парах нуклеотидів (ω_{H1}, ω_{H3}), внутрішньонуклеозидну рухливість (ω_{S2}, ω_{S3}), коливання остова (ω_{B1}) і коливання протийонів (ω_{Ion1}). Рівняння (2.33) дає ще 7 частот коливань, які характеризують розтяг водневих зв'язків в парах нуклеотидів (ω_{H2}, ω_{H2}), внутрішньонуклеозидну рухливість (ω_{S1}), коливання остова (ω_{B1}, ω_{B3}) і коливання протийонів ($\omega_{Ion2}, \omega_{Ion3}$).

Амплітуди конформаційних коливань Z-ДНК знаходилися аналогічно до того, як це робилося у випадку моделей конформаційних коливань з протийонами в одно ланцюжковому і міжланцюжковому положенні.

2.4. Параметри моделей ДНК з протийонами

В представлений роботі розвинуто моделі для описання конформаційних коливань подвійної спіралі ДНК з протийонами. Моделі побудовані для різних випадків розташування протийонів навколо ДНК, які можуть реалізуватися у випадку різних форм подвійної спіралі і різних типів іонів. Зокрема, було розглянуто випадку одноланцюжкової нейтралізації фосфатних груп остова ДНК, який може реалізуватися у випадку B- та A-форм подвійної спіралі, міжланцюжкова нейтралізація фосфатних груп, що може реалізуватися у випадку сильно закручених правих C- і D-форм подвійної спіралі, а також випадок лівозакрученої подвійної спіралі Z-ДНК.

Структурними параметрами моделі є зведена довжина маятника-нуклеозиду (l) і рівноважний кут, який утворює маятник в площині мономерної ланки (θ_0). Для кожного випадку структурні параметри моделі мають свої значення (Таблиця 2.3). Структурні параметри для *B*-і *A*- форм ДНК використовувалися такими, як в моделі чотирьох мас Волкова і Косевича [197]. Для випадку *C*- та *D*-форм подвійної спіралі зведена довжина маятників нуклеозидів бралася такою, як у *B*- форми ДНК, а рівноважний кут $\theta_0=55^\circ$, що відповідає відстані між фосфатними групами 8,5 Å [129]. Параметри для лівозакрученої *Z*-форми подвійної спіралі визначалися в даній роботі на основі даних рентгеноструктурного аналізу [227].

Таблиця 2.3. Структурні параметрами для різних випадків розташування протийонів навколо ДНК: l – зведена довжина маятника-нуклеозиду, θ_0 – рівноважний кут, який утворює маятник в площині мономерної ланки.

Форма	Параметр	Аденін	Гуанін	Тимін	Цитозин	Середнє
<i>B</i> -ДНК [197]	l (Å)	5,3	4,8	5,5	4,9	4,9
	θ_0 (рад)	28	32	23	30	28
<i>A</i> -ДНК [197]	l (Å)	3,5	3,5	4,4	4,6	4,0
	θ_0 (рад)	25	31	16	29	25
<i>Z</i> -ДНК	l (Å)	-	5,8	-	5,7	-
	θ_0 (рад)	-	58	-	49	-

Для розрахунку частот і амплітуд конформаційних коливань молекули ДНК з протийонами за моделями, що були розвинуті в роботі, необхідно визначити силові константи, що характеризують коливання атомних груп ДНК в мономерній ланці: константу розтягу водневих зв'язків (α), константу внутрішньонуклеозидних коливань (σ), константу коливань остова (β) і константи взаємодії вздовж подвійної спіралі (g_θ , g_ρ і g_y). Ці константи мають різне значення у випадку різних форм подвійної спіралі. В роботах Волкова і Косевича [197–200], де була запропонована модель чотирьох мас для описання конформацій-

ної динаміки ДНК, ці константи визначено для *B*- та *A*-форм подвійної спіралі. В даній роботі будемо використовувати значення силових констант моделі чотирьох мас (Таблиця 2.4). Параметри для сильно закручених *C*- та *D*-форм подвійної спіралі бралися такими, як у випадку *B*-форми ДНК, оскільки ці форми належать до *B*-сімейства конформацій ДНК [14].

У випадку лівозакрученої *Z*-форми ДНК силові константи визначалися на основі вже відомих констант для *B*- та *A*-форм подвійної спіралі. Нуклеозиди в парах основ *Z*-форми характеризуються різною конформацією цукрових кілець. У випадку нуклеозидів гуаніну - *C3'*-ендо, така як в *A*-ДНК, а у випадку нуклеозидів цитозину - *C2'*-ендо, така як в *B*-ДНК. Беручи це до уваги і користуючись даними таблиці 2.3, складено набір значень силових констант *Z*-форми ДНК (Таблиця 2.4). Константа розтягу водневих зв'язків була взята такою як у випадку *B*-форм подвійної спіралі. Константи взаємодії вздовж подвійної спіралі ДНК взято такими, як в роботі [197], де їх наближені значення було оцінено на основі експериментальних даних. Значення констант поздовжніх коливань не мають суттєвого впливу для поперечних мод оптичного типу, тому подальше їх уточнення для різних форм ДНК не проводилося.

Таблиця 2.4. Силові константи моделей конформаційних коливань правих і лівих лівої подвійних спіралей ДНК.

Параметр	<i>B</i> -ДНК	<i>A</i> -ДНК	<i>Z</i> -ДНК	
	[197–200]	[197–200]	Гуанін	Цитозин
α (ккал/моль)	85	18	85	85
β (ккал/моль)	40	46	40	46
σ (ккал/моль·Å ²)	43	22	43	22
g_{θ} (ккал/моль)	20	20	20	20
g_{ρ} (ккал/моль·Å ²)	0,6	0,6	0,6	0,6
g_{γ} (ккал/моль·Å ²)	7,6	7,6	7,6	7,6

Слідуючи концепції іон-фосфатної ґратки, для визначення константи іон-фосфатних коливань використовувався потенціал Борна-Майєра (2.1), розроблений для описання енергії іонних кристалів. Відраховуватимемо величину енергії відносно значення в положенні рівноваги: $\Delta U = U(r) - U(r_0)$. Розкладемо потенціал (2.1) у ряд Тейлора відносно положення рівноваги r_0 до другого порядку включно. В результаті потенціальну енергію одержимо у вигляді:

$$\Delta U \approx \frac{1}{2} \gamma \cdot \xi^2, \quad (2.34)$$

де $\xi = r - r_0$, γ – константа іон-фосфатних коливань, яка набуває наступного вигляду:

$$\gamma = \frac{M_\alpha Z e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 r_0^3} \left(\frac{r_0}{b} - 2 \right). \quad (2.35)$$

Як видно з (2.35), для того, щоб оцінити константу γ необхідно визначити чотири параметри: рівноважну відстань r_0 , параметр b , що характеризує відштовхування, константу Маделунга M_α і діелектричну проникність середовища поблизу фосфатної групи ДНК ϵ . Для проведення розрахунків необхідно визначити параметри: r_0 , b , M_α та ϵ .

Для визначення рівноважної відстані між протийоном і фосфатною групою бралось до уваги, що іони, які утворюють безпосередній контакт з фосфатною групою остова ДНК, взаємодіють безпосередньо з одним з атомів кисню фосфатної групи, а саме O_1 або O_2 [228]. Тому відстань r_0 має бути близькою до суми радіуса Полінга атомів кисню та відповідного іону. Положення протийонів відносно подвійної спіралі може бути різним. Відповідно до побудованих моделей конформаційних коливань ДНК з протийонами розглядаються положення протийонів зовні подвійної спіралі, де один проти іон нейтралізує одну фосфатну групу (одно ланцюжкова нейтралізація), або всередині подвійної спіралі, де один протийон нейтралізує дві фосфатні групи (міжланцюжкова нейтралізація). Схематичне зображення іон-фосфатної ґратки ДНК для цих випадків наведено в розділі 2 на рисунку 2.1. Для забезпечення електронеутральності системи схема одноланцюжкової нейтралізації застосовується у випадку одно-

валентних протийонів, а міжланцюжкової нейтралізації – у випадку двовалентних протийонів.

Для випадку одновалентних іонів лужних металів Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+ значення рівноважної відстані між протийоном та фосфатною групою визначалися з експериментальних даних рентгеноструктурного аналізу [98]. Згідно з цими експериментальними даними відстань між протийоном і атомом кисню фосфатної групи остова ДНК змінюється від 2,8 до 3,2 Å, залежно від типу протийону. В даній роботі відстань r_0 для Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+ було взято рівною 2,88 Å, 2,95 Å, 3,09 Å та 3,18 Å, відповідно. В якості двовалентних іонів було взято іони магнію Mg^{2+} , які у водному розчині є сильно гідратованими і утворюють з ДНК контакти через молекули води своєї гідратної оболонки [32]. Як відомо іон магнію має 6 молекул води в своїй гідратній оболонці $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ [229]. Тому положення іонів магнію між різними тяжами ДНК визначається тим, як відбувається координація гідратованого іону $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ атомами кисню фосфатних груп, що належать різним тяжам подвійної спіралі ДНК. Аналіз структурних даних для ДНК в *C*-, *D*- та *Z*-формах подвійної спіралі показав, дані для яких було взяти з класичної монографії Зенгера [14], показав, що з урахуванням розмірів гідратованого іону магнію $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ аби він міг займати стабільне положення на верхньому краї мінорного жолоба ДНК рівноважна відстань r_0 має бути трохи більше 4 Å. Для оцінок константи іон-фосфатних коливань для протийонів в між ланцюжковому положенні використовувалося значення 4,25 Å. Значення рівноважної відстані наведено в Таблиці 2.3.

Для оцінки константи іон-фосфатних коливань було взято за основу параметри відштовхування, які застосовуються для іонних кристалів. У випадку іонів лужних металів було взято значення параметру b кристалів хлоридів лужних металів MtCl . Для Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+ параметр b було взято рівним 0,328 Å, 0,324 Å, 0,338 Å та 0,319 Å, відповідно. Для випадку міжланцюжкової нейтралізації, який розглядається для гідратованого іону магнію, в літературі немає відповідних даних. Проте, з огляду на те, що величина енергії, обумовлена відштовхуванням, складає лише 10% від загальної енергії [204], внесок параметру

b не повинен бути настільки суттєвим, аби вимагати його точного визначення. Тому для оцінки константи іон-фосфатних коливань для протийонів в міжланцюжковому положенні було взято величину b таку як у NaCl.

Для іон-фосфатної ґратки константу Маделунга визначимо з геометрії подвійної спіралі, враховуючи різні варіанти розташування протийонів, аналогічно до того, як це було зроблено при аналізі енергії іон-фосфатної ґратки. Запишемо вираз для константи Маделунга іон-фосфатної ґратки у вигляді:

$$M_{\alpha} = \sum_n M_{\alpha}(n) \quad (2.36)$$

Індекс n нумерує пари нуклеотидів в ДНК (Рис. 2.8). Вигляд $M_{\alpha}(n)$ залежить від того в якому положенні знаходяться протийони.

У випадку одноланцюжкової нейтралізації фосфатних груп в іон-фосфатній ґратці ДНК вираз для $M_{\alpha}(n)$ можна записати у вигляді:

$$M_{\alpha}^a(n) = \sum_{j=1}^2 \left(\frac{r_0}{r_{nj}} - \frac{Zr_0}{d_{nj}} \right), \quad (2.37)$$

де r_{nj} та d_{nj} – відстані від позитивних і негативних зарядів іон-фосфатної ґратки до початкового протийону; $r_{01} \equiv r_0$ (Рис. 2.8).

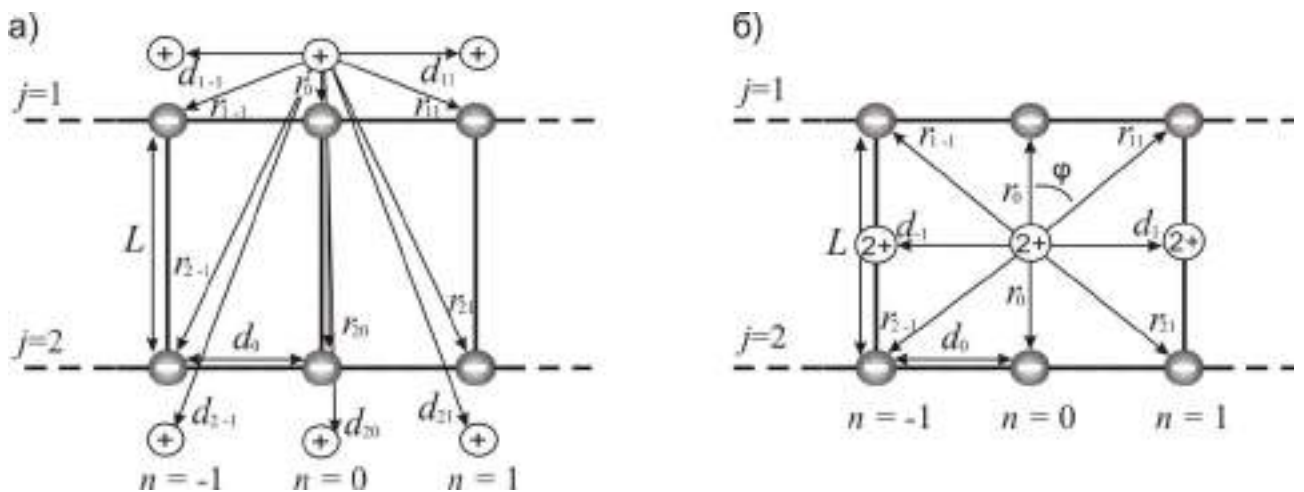


Рис. 2.8. Відстані між зарядами в іон-фосфатній ґратці ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [42] а) Випадок іон-фосфатної ґратки з одноланцюжковою нейтралізацією. б) Випадок іон-фосфатної ґратки з міжланцюжковою нейтралізацією фосфатних груп.

Для проведення аналізу визначимо відстані між зарядами у формулі (2.36) визначалися з геометрії подвійної спіралі, аналогічно до формул (2.37):

$$\begin{aligned} d_{n+1,1} &= \sqrt{\left[2(r_0 + R)\sin\frac{\phi n}{2}\right]^2 + (hn)^2}, \\ r_{n+1,1} &= \sqrt{\left[(r_0 + R)^2 + R^2 - 2(r_0 + R)R\cos\phi n\right]^2 + (hn)^2}, \end{aligned} \quad (2.38)$$

де R – радіус спіралі, ϕ – кут повороту сусідніх пар азотистих основ одна відносно одної, h – відстань між сусідніми нуклеотидами вздовж осі спіралі, i – номер пари нуклеотидів. Ці параметри визначали на основі відомих даних для B та A -форм подвійної спіралі ДНК, наприклад, даних, що наведені в монографії [14]. Для визначення відстаней можуть також використовуватися безпосередньо координати атомів з PDB файлів експериментальних структур відповідних баз даних.

У випадку міжланцюжкової нейтралізації фосфатних груп в іон-фосфатній ґратці ДНК вираз для $M_\alpha(n)$ можна записати у вигляді:

$$M_\alpha^b(n) = \sum_{j=1}^n \frac{r_0}{r_{nj}} - \frac{Zr_0}{d_n}, \quad (2.39)$$

де d_n – відстані між протийонами всередині подвійної спіралі до початкового протийону (Рис. 2.8).

Дослідимо умови збіжності суми (2.39). Це можна зробити з достатньою точністю інтегруванням по n , якщо $r_0 / r_{nj} \ll 1$ та $r_0 / d_{nj} \ll 1$. Беручи до увагу структуру іон-фосфатної ґратки ДНК можна побачити, що така умова виконується для членів, що починаються з $n = 2$. Отже, наближена формула для оцінки сталої Маделунга може бути визначена як:

$$M_\alpha \approx M_\alpha(0) + M_\alpha(1) + \int_2^\infty M_\alpha^{a,b}(n)dn, \quad (2.40)$$

Для функцій $M_\alpha(n)$, визначених у рівнянні (2.40), інтеграл можна обчислити аналітично. Беручи це до уваги та використовуючи безрозмірні змінні $c_1 = r_0 / d_0$ і $c_2 = c_1 + L / d_0$, константи Маделунга можна записати у вигляді:

$$M_{\alpha}^a = 1 + \frac{c_1}{c_2} - \frac{c_1}{c_1 + c_2} + \frac{2c_1}{\sqrt{c_1^2 + 1}} + \frac{2c_1}{\sqrt{c_2^2 + 1}} - \frac{2c_1}{\sqrt{(c_1 + c_2)^2 + 1}} - 2c_1 + 2c_1 \ln \left[\frac{4(2 + \sqrt{(c_1 + c_2)^2 + 4})}{(2 + \sqrt{c_1^2 + 4})(2 + \sqrt{c_2^2 + 4})} \right], \quad (2.41)$$

$$M_{\alpha}^b = 2 \left[1 + \frac{2c_1}{\sqrt{c_1^2 + 1^2}} - 2c_1 + 2c_1 \ln \left[\frac{4}{2 + \sqrt{c_1^2 + 4}} \right] \right]. \quad (2.42)$$

У рівнянні (2.41) перші три доданки і в рівнянні (2.42) перший доданок описують взаємодію протийона із зарядами в мономері $n=0$. Інші доданки, які не підлягають логарифму, описують взаємодію протийона із зарядами в мономері $n=1$. Логарифми описують взаємодію протийона із зарядами в мономерних ланках з n , більшим або рівним 2.

Розрахунки показують, що у випадку іон-фосфатної ґратки з протийонами в одноланцюжковому положенні цей інтеграл збігається лише для $Z=1$, тоді як у випадку протийонів у міжланцюжковому та поздовжньому положеннях він збігається лише для $Z=2$. Таким чином, аналіз збіжності сум (2.41) і (2.42) показує, що константи Маделунга (2.40) розглянутих випадків іон-фосфатних ґраток мають фізичний сенс лише у випадку електрично нейтральних систем. Цей висновок є інтуїтивно зрозумілим, адже в реальній системі поліаніонна макромолекула ДНК завжди нейтралізується іонами протилежного знаку, що знаходяться в середовищі.

Відстані між зарядами іон-фосфатної ґратки молекули ДНК визначали з рентгеноструктурних даних [98,220]. Значення констант Маделунга для ДНК в різних формах подвійної спіралі, наведено в Таблиці 2.5.

Отримані величини константи Маделунга іон-фосфатної ґратки ДНК залежать від форми подвійної спіралі. У випадку *B*-ДНК для всіх протийонів значення M_{α} приблизно однакові і дорівнюють 1,3. У випадку *A*-ДНК M_{α} поступово збільшується при збільшенні розміру протийону від 1,39 до 1,46. У випадку одноланцюжкової нейтралізації зарядів на сильно закручених *C*-, *D*-формах подвійних спіралей ДНК одержані значення константи Маделунга близькі до 1. У випадку міжланцюжкової нейтралізації зарядів ДНК двовалентними іонами

магнію константа Маделунга має суттєво більше значення. Слід зазначити, що величними констант Маделунга для іон-фосфатної ґратки набагато менші ніж у кристалів хлоридів лужних металів і близькі до значень констант Маделунга одномірного кристалу (1,386) та диполя (1,0) [204].

Таблиця 2.5. Значення констант Маделунга M_{α} для ДНК в *B*- та *A*-, *C*-, *D*- та *Z*- формах подвійної спіралі ДНК.

	Одноланцюжкова нейтралізація				Міжланцюжкова нейтралізація
	Na ⁺	K ⁺	Rb ⁺	Cs ⁺	[Mg (H ₂ O)] ²⁺
<i>B</i> -ДНК	1,29	1,29	1,29	1,30	-
<i>A</i> -ДНК	1,39	1,41	1,44	1,46	-
<i>C</i> -, <i>D</i> -ДНК	1,07	1,07	1,07	1,07	1,50
<i>Z</i> -ДНК	1,07	1,07	1,07	1,07	1,50

Найбільша складність у визначенні константи іон-фосфатних коливань пов'язана з розрахунком діелектричної проникності іон-гідратного шару молекули ДНК. Діелектрична проникність широко застосовувалася в методі молекулярної динаміки у 80-х і 90-х роках, коли часто використовувалася модель неявного розчинника. Було встановлено, що для правильного описання електростатичних взаємодій необхідно враховувати, що всередині і поблизу біологічних макромолекул (ДНК, білків, тощо), діелектрична проникність суттєво знижується. Як відомо, діелектрична проникність іон-гідратного шару ДНК знаходиться в межах від 2 до 4, що набагато менше, ніж діелектрична проникність об'ємної води [112,230–232]. В методі молекулярної динаміки макромолекул типу ДНК в неявному розчиннику для визначення діелектричної проникності, як правило, користуються емпіричними діелектричними функціями [230–232]. Ці функції будуються таким чином, що при збільшенні відстані між зарядами діелектрична проникність збільшується від 1,2 (для відстані $\sim 2\text{\AA}$) до 80 (для

відстані $>50\text{\AA}$). Проте є невизначеність: різні функції для однієї і тієї ж відстані дають різні значення діелектричної проникності. Тому, адекватність описання електростатичних взаємодій в системі за допомогою тієї чи іншої діелектричної функції в методі молекулярної динаміки визначається по тому, наскільки співпадає розрахована структура макромолекули з експериментально отриманою структурою. В цьому сенсі діелектрична проникність, яка розраховується за діелектричними функціям, стає певною мірою підгоночним параметром. Використання діелектричних функцій для визначення константи іон-фосфатних коливань ДНК було детально проаналізовано автором в кандидатській дисертації [20] і описано в розділі підручника з медичної фізики [85].

В роботі [216] та кандидатській дисертації автора, ґрунтуючись на теорії іонних кристалів, було запропоновано підхід до визначення діелектричної проникності іон-гідратного шару молекули ДНК. В рамках цього підходу було одержано аналітичний вираз для діелектричної проникності ДНК в гідратному оточенні:

$$\varepsilon = n^2 \left(1 - \frac{8\pi r_0^3}{VM_\alpha (r_0 / g - 2)} \right)^{-1}, \quad (2.43)$$

де n – коефіцієнт заломлення світла для полінуклеотиду з іон-гідратним оточенням, який визначає внесок електронної поляризованості системи; V – об'єм, який займає пара нуклеотидів. Інші параметри, які входять в (3.22) такі самі, як описувалися вище для визначення константи іон-фосфатних коливань. Коефіцієнт заломлення світла (n) і об'єм пари нуклеотидів (V) визначалися з експериментальних даних для вологих плівок ДНК з різними протийонами [103,104].

Одержані за допомогою формули (2.43) значення діелектричної проникності знаходяться в межах від 2,3 до 2,7, що узгоджується зі значеннями, які використовуються в розрахунках електростатичних взаємодій в методі молекулярної динаміки макромолекул типу ДНК в моделі неявного розчинника [112]. Діелектрична проникність іон-гідратного шару B - та A -ДНК залежить від типу протийону і має нижче значення, ніж в у висушеної ДНК. Проте різниця в значеннях діелектричної проникності у випадку різних форм ДНК, так само як і у

випадку різних протийонів не є суттєвою. Це пов'язано з тим, що головним чином діелектрична проникність визначається механізмами електронної поляризованості системи. У зв'язку з цим для подальших розрахунків значення діелектричної проникності для *C*-, *D*- і *Z*-ДНК бралися такими як у випадку *B*-ДНК.

Беручи до уваги визначені параметри r_0 , g , M_α та ε , розраховано значення константи γ за формулою (2.43) для ДНК у *B*- та *A*-формах подвійної спіралі та у висушеному стані з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+ (Таблиці 2.6). Одержані значення константи γ залежить від типу протийону і форми подвійної спіралі. Найбільше значення константи γ відповідає Li-ДНК, а найнижче значення виявилось у випадку Rb- та Cs-ДНК. Залежність константи іон-фосфатних коливань від типу протийонів має однаковий характер для усіх форм ДНК. А саме, при збільшенні маси протийону від Li^+ до Rb^+ константа γ зменшується, а у випадку Cs^+ – зростає. Найбільші значення констант іон-фосфатних коливань одержані у випадку *A*-форми, а найнижчі у випадку *B*-форми. Значення для *Z*-форми подвійної спіралі ДНК у випадку одновалентних протийонів були взяті такими як у випадку *B*-форми, а у випадку двовалентних іонів $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ розраховувалися окремо. Таким чином, одержано усі необхідні параметри для оцінки частот, амплітуд та інтенсивностей коливань ДНК в низькочастотному спектрі ДНК.

Таблиця 2.6. Значення константи іон-фосфатних коливань (γ), розраховані за формулою (2.43) (ккал/мольÅ²).

	Na^+	K^+	Rb^+	Cs^+	$[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$
<i>B</i> -ДНК	52,3	50,8	41,0	42,2	-
<i>A</i> -ДНК	54,0	52,0	47,1	48,9	-
<i>Z</i> -ДНК	52,3	50,8	41,0	42,2	62

2.5. Підхід до описання інтенсивностей низькочастотних спектрів комбінаційного розсіяння ДНК

Для описання низькочастотних спектрів ДНК з протийонами автором разом з д-р. фіз.-мат. наук С.Н. Волковим розвинуто спеціальний підхід в роботах [38,44], що ґрунтується на напівкласичній теорії інтенсивностей і розроблених моделях конформаційних коливань. Розвинутий підхід неодноразово доповідався на семінарах та наукових зібраннях різного рівня, зокрема на наукових конференціях [43,46,47,50,53,54,56].

2.5.1. Напівкласична теорія інтенсивностей коливальних мод в спектрах комбінаційного розсіяння молекул. Інтенсивності мод молекулярних коливань можна досліджувати за допомогою квантово-механічних та напівкласичних методів. Проте, як показують результати моделювання [233–239], найбільш продуктивним для розрахунку інтенсивностей мод конформаційних коливань макромолекулярних систем є напівкласична теорія [240]. Це пов'язано з тим, що використання квантово-механічної теорії для розрахунку спектральних параметрів таких об'єктів як ДНК є складною задачею у зв'язку з великою кількістю атомів в мономерній ланці подвійної спіралі, та необхідності урахування молекул води, та протийонів, які формують іон-гідратну оболонку. Тому в основу нашого підходу для визначення інтенсивностей конформаційних коливань в спектрі КР ДНК покладено саме напівкласичну теорію.

В рамках напівкласичної теорії усі коливання в молекулі поділяються на валентні та деформаційні. Валентні коливання відбуваються за рахунок зміни довжин хімічних зв'язків, а деформаційні – за рахунок кутів. Оскільки конформаційні коливання ДНК супроводжуються зміною валентних та торсійних кутів [197,198,200], їх можна віднести до деформаційних. У зв'язку з цим, для конформаційних коливань повинні виконуватися усі закономірності, що й для деформаційних. Зокрема, інтенсивність мод конформаційних коливань має визначатися поляризованістю зв'язків, зміщення яких супроводжуються поворотами на деякий кут відносно положення рівноваги.

Вочевидь, аналіз інтенсивностей суттєво спроститься, якщо врахувати характер коливань структурних елементів мономерної ланки в модах конформаційних коливань ДНК. Особливості рухів атомних груп подвійної спіралі та протийонів враховує модель чотирьох мас з протийонами для різних випадків розташування протийонів навколо ДНК [39,43,216]. Модель чотирьох мас з протийонами для усіх випадків описана у попередньому розділі. Ця модель достатньо добре відображає особливості низькочастотного спектру ДНК і дає можливість дослідити конформаційну динаміку подвійної спіралі, тому надалі вона буде використовуватися для аналізу інтенсивностей мод конформаційних коливань ДНК.

Згідно з напівкласичною теорією [240], інтенсивність коливальної моди в спектрі КР визначається наступним чином:

$$J_m = J_0 \frac{2^8 \pi^5 (\nu_0 - \nu_m)^4}{9c^4} (5A_m^2 + 13B_m^2) Q_{0m}^2 \left(1 - e^{-\frac{h\nu_m}{kT}} \right)^{-1}, \quad (2.44)$$

де J_0 та ν_0 – інтенсивність та частота падаючого світла, ν_m та Q_{0m} – частота та амплітуда нормального коливання молекули, T – температура, h – стала Планка, k – стала Больцмана. Індекс m позначає моду нормальних коливань. Сталі A_m та B_m – слід та анізотропія тензору похідних поляризованості по нормальній координаті:

$$A_m = \sum_{\lambda} \frac{\partial \alpha_{\lambda\lambda}}{\partial Q_m}, \quad B_m = \sqrt{\frac{3}{2} \sum_{\lambda, \mu} \left(\frac{\partial \alpha_{\lambda\mu}}{\partial Q_m} \right)^2 - \frac{1}{2} \sum_{\lambda} \left(\frac{\partial \alpha_{\lambda\lambda}}{\partial Q_m} \right)^2}. \quad (2.45)$$

Індекси λ та μ позначають осі молекулярної системи координат X, Y, Z .

Таким чином, для того, аби розрахувати інтенсивність деякої моди конформаційних коливань ДНК за формулою (2.44), необхідно знати частоту та амплітуду коливань для цієї моди, а також похідні тензора поляризованості по нормальній координаті.

2.5.2. Підхід до розрахунку інтенсивностей смуг в низькочастотному спектрі комбінаційного розсіювання ДНК. Для конкретності описання логіки побудови підходу для визначення інтенсивностей коливальних

мод низькочастотного спектру ДНК будемо спиратися на модель конформаційних коливань ДНК з протийонами у випадку одноланцюжкової нейтралізації, що представлена на Рисунку 1.9. Для інших моделей міркування можуть бути проведені аналогічно. Координати моделі обрані таким чином, що вісь Y паралельна до прямої, яка з'єднує атоми C_3' нуклеотидів різних ланцюжків, вісь Z направлена вздовж осі подвійної спіралі, а вісь X направлена в бік головного жолобка подвійної спіралі. Ця система координат зв'язана зі структурою подвійної спіралі, і в даній роботі ми будемо її називати молекулярною системою координат.

Рухи структурних елементів моделі розглядаються в площині ортогональній до осі спіралі, оскільки поздовжні коливання елементів макромолекули відбуваються на значно вищих частотах [197,198,200]. Залежність параметрів моделі від типу нуклеотиду (аденін, тимін, гуанін, чи цитозин), що створює гетерогенність в системі, не враховувалася при побудові підходу для описанні інтенсивностей коливань, оскільки головною задачею було визначення відносних величин інтенсивностей, для яких врахування гетерогенності нуклеотидів не суттєвою.

У випадку одноланцюжкової нейтралізації подвійної спіралі протийонами модель конформаційних коливань дає 7 мод конформаційних коливань ДНК (див. розділ 1). Дві моди ω_B^+ та ω_B^- описують симетричні та антисиметричні коливання маятників-нуклеозидів та фосфатних груп. Дві моди ω_H^+ та ω_{HS}^+ характеризують симетричні коливання, що відбуваються з розтягом водневих зв'язків та деформацією кільця дезоксирибози. Одна мода антисиметричних коливань ω_S^- , що характеризує внутрішньонуклеозидні коливання за рахунок деформації кільця дезоксирибози та повороту азотистих основ навколо глікозидних зв'язків. А також дві моди симетричних і антисиметричних іон-фосфатних коливань ω_{Ion}^+ та ω_{Ion}^- . У випадку міжланцюжкової нейтралізації фосфатних груп ДНК та у випадку лівозакрученої подвійної спіралі також одержуються моди симетричних і антисиметричних коливань, які детально описуються у підрозділах 2.3 і 2.4 відповідно.

Згідно з результатами розгляду конформаційних коливань подвійної спіралі з протийонами у випадку симетричних мод значення амплітуд конформаційних коливань однакові для нуклеотидів першого та другого ланцюжка подвійної спіралі. У випадку антисиметричних мод значення амплітуд коливань відрізняються лише знаком. Тобто амплітуди конформаційних коливань в першому та другому нуклеотиді пов'язані між собою наступним чином:

$$\begin{aligned}\dot{\tilde{q}}_1 &= \dot{\tilde{q}}_2, \text{ для } \omega_{ion}^+, \omega_H^+, \omega_{HS}^+, \omega_B^+ \\ \dot{\tilde{q}}_1 &= -\dot{\tilde{q}}_2, \text{ для } \omega_{ion}^-, \omega_S^-, \omega_B^-\end{aligned}\quad (2.46)$$

де $\tilde{q}_1 = \{\bar{X}_1, \bar{Y}_1, \bar{\theta}_1, \tilde{\rho}_1, \bar{\xi}_1\}$, $\tilde{q}_2 = \{\bar{X}_2, \bar{Y}_2, \bar{\theta}_2, \tilde{\rho}_2, \bar{\xi}_2\}$ – амплітуди коливань першого та другого нуклеотидів відповідно.

Виходячи з відомого зв'язку для узагальнених та нормальних координат [241], похідні тензора поляризованості по нормальним координатам можна записати у вигляді:

$$\frac{\partial \alpha_{\lambda\mu}}{\partial Q_m} Q_{0m} = \sum_n \frac{\partial \alpha_{\lambda\mu}}{\partial q_n} \cdot \frac{\partial q_n}{\partial Q_m} Q_{0m} = \sum_n \frac{\partial \alpha_{\lambda\mu}}{\partial q_n} \tilde{q}_n^m, \quad (2.47)$$

де n позначає певну координату моделі чотирьох мас. З формули (2.47) випливає, що добуток $\partial q_n / \partial Q_m \cdot Q_{0m}$ дорівнює амплітуді коливань деякої узагальненої координати $\tilde{q}_n^m$ з урахуванням фази коливань.

Представляючи тензор поляризованості пари нуклеотидів у вигляді суми тензорів кожного з них $\hat{\alpha} = \hat{\alpha}_1 + \hat{\alpha}_2$ та записуючи координати моделі чотирьох мас у явному вигляді, вираз (2.37) набуває вигляду:

$$\begin{aligned}\frac{\partial \alpha_{\lambda\mu}}{\partial Q_m} Q_{0m} &= \sum_{j=1}^2 \left[\left(\frac{\partial \alpha_{j\lambda\mu}}{\partial X_j} + \frac{\partial \alpha_{j+1\lambda\mu}}{\partial X_j} \right) \dot{X}_j + \left(\frac{\partial \alpha_{j\lambda\mu}}{\partial Y_j} + \frac{\partial \alpha_{j+1\lambda\mu}}{\partial Y_j} \right) \dot{Y}_j + \left(\frac{\partial \alpha_{j\lambda\mu}}{\partial \theta_j} + \frac{\partial \alpha_{j+1\lambda\mu}}{\partial \theta_j} \right) \dot{\theta}_j + \right. \\ &\quad \left. + \left(\frac{\partial \alpha_{j\lambda\mu}}{\partial \rho_j} + \frac{\partial \alpha_{j+1\lambda\mu}}{\partial \rho_j} \right) \dot{\rho}_j + \left(\frac{\partial \alpha_{j\lambda\mu}}{\partial \xi_j} + \frac{\partial \alpha_{j+1\lambda\mu}}{\partial \xi_j} \right) \dot{\xi}_j \right], \quad (2.48)\end{aligned}$$

де $j=1,2$ нумерує ланцюжок подвійної спіралі ДНК.

В даній роботі для визначення інтенсивностей конформаційних коливань ДНК в спектрі КР будемо користуватися нульовим наближенням валентно-оптичної схеми. В рамках цього наближення вплив сусідніх зв'язків не врахо-

вується. Тому похідними типу $\partial\alpha_{j+1,\lambda\mu} / \partial q_j$ в (2.48) будемо нехтувати. Коливання по координатам X_j та Y_j відбуваються таким чином, що нуклеотиди зміщуються вздовж відповідних осей як єдине ціле. При цьому не відбувається, ані змін довжин хімічних зв'язків, ані їх напрямку. Тому, виходячи з нульового наближення валентно-оптичної схеми, в мономерній ланці подвійної спіралі не відбувається змін поляризованості і похідні $\partial\alpha_{j\lambda\mu} / \partial X_j$ та $\partial\alpha_{j\lambda\mu} / \partial Y_j$ в (2.48) також можна покласти рівними нулеві. Внесок коливань протийонів в зміну поляризованості нуклеотиду оцінено, використовуючи теорію Зільберштейна [242]. Наші оцінки показують, що внесок протийонів не є суттєвим, порівняно з іншими. Тому в нульовому наближенні похідні $\partial\alpha_{j\lambda\mu} / \partial \xi_j$ в (2.48) покладено рівними нулеві. Фосфатна група не приймає участі в коливаннях по координатах θ_j та ρ_j , тому внесок фосфатної групи не враховано. В результаті тензор поляризованості пари нуклеотидів в ДНК буде залежати головним чином від рухливості нуклеозидів, а вираз (2.48) можна записати у наступному вигляді:

$$\frac{\partial\alpha_{\lambda\mu}}{\partial Q_m} Q_{0m} \approx \sum_{j=1}^2 \left(\frac{\partial\beta_{j\lambda\mu}}{\partial\theta_j} \dot{\theta}_j + \frac{\partial\beta_{j\lambda\mu}}{\partial\rho_j} \dot{\rho}_j \right), \quad (2.49)$$

де $\beta_{j\lambda\mu}$ – компоненти тензору поляризованості нуклеозиду в молекулярній системі координат.

Похідні тензорів поляризованості нуклеозидів по координатам моделі чотирьох мас можна визначити двома способами. Перший спосіб полягає у чисельному розрахунку тензорів поляризованості нуклеозидів при зміні їх конформації. Цей спосіб може бути реалізований за умови, якщо відомі траєкторії руху для кожного хімічного зв'язку в нуклеозиді. Другий спосіб полягає у моделюванні аналітичної залежності тензору поляризованості від координат, що дозволяє безпосередньо розрахувати похідні. В даній роботі ми використаємо другий спосіб, оскільки він в результаті дає можливість одержати аналітичний вираз для інтенсивностей мод конформаційних коливань.

Для розв'язання поставленої задачі спочатку визначимо тензори поляризованості окремо для кожного нуклеозиду, а потім приведемо їх до молекулярної

системи координат, яка є спільною для обох нуклеозидів, і визначимо загальний тензор поляризованості мономерної ланки подвійної спіралі.

Розглянемо тензор поляризованості нуклеозиду. Для цього оберемо систему координат, що пов'язана з нуклеозидом, так, щоб осі x_j та y_j знаходилися у площині пари нуклеозидів, а вісь z_j була напрямлена вздовж осі спіралі (Рис. 2.8). Вісь y_j спрямовано від атому C_3' до центру мас нуклеозиду. Згідно з валентно-оптичним підходом тензор поляризованості нуклеозиду можна представити у вигляді суми тензорів поляризованості усіх хімічних зв'язків, які входять до складу нуклеозиду. Аби знайти таку суму, необхідно щоб усі тензори хімічних зв'язків були визначені в одній системі координат. Для цього переведемо власні системи координат кожного хімічного зв'язку в систему координат нуклеозиду за допомогою відповідних кутів повороту.

Поворот для деякого зв'язку i в нуклеозиді будемо задавати матрицею кутів повороту $\mathbf{P}_i(\theta_j, \rho_j)$, яка залежать від координат моделі чотирьох мас. Тоді тензор поляризованості нуклеозиду у власній системі координат можна записати у вигляді:

$$\beta_j^{nuc}(\theta_j, \rho_j) = \sum_i \mathbf{P}_i(\theta_j, \rho_j) \beta_{ij} \mathbf{P}_i^{-1}(\theta_j, \rho_j), \quad (2.50)$$

де i нумерує зв'язки в нуклеозиді; β_{ij} – тензор поляризованості i -того зв'язку j -того нуклеозиду у системі координат, що пов'язана зі зв'язком. Систему координат тензору поляризованості зв'язку β_{ij} , що знаходиться у своєму рівноважному положенні, будемо переводити в систему координат нуклеозиду за допомогою матриці кутів повороту $\mathbf{G}_{ij}$. Відхилення зв'язків з положення рівноваги на певні кути внаслідок конформаційних коливань врахуємо за допомогою двох матриць повороту. Одна матриця $\Theta_{ij}(\theta_j)$ буде описувати відхилення з положення рівноваги по координаті θ_j , а друга $\Phi_{ij}(\rho_j)$ враховуватиме зміщення по координаті ρ_j . В результаті матриця повороту для певного хімічного зв'язку буде мати вигляд добутку трьох матриць:

$$\mathbf{P}_i(\theta_j, \rho_j) = \mathbf{\Phi}_{ij}(\rho_j) \mathbf{\Theta}_{ij}(\theta_j) \mathbf{G}_{ij}. \quad (2.51)$$

Взявши матрицю кутів поворотів у вигляді (2.51), одержуємо тензор поляризованості нуклеозиду (2.50) в наступній формі:

$$\beta_j^{nuc}(\theta_j, \rho_j) = \sum_i \mathbf{\Phi}_{ij}(\rho_j) \mathbf{\Theta}_{ij}(\theta_j) \mathbf{G}_{ij} \beta_{ij} \mathbf{G}_{ij}^{-1} \mathbf{\Theta}_{ij}^{-1}(\theta_j) \mathbf{\Phi}_{ij}^{-1}(\rho_j). \quad (2.52)$$

Коли амплітуди конформаційних коливань дорівнюють нулеві (система знаходиться в рівновазі), то матриці $\mathbf{\Phi}_{ij}(\rho_j)$ та $\mathbf{\Theta}_{ij}(\theta_j)$ будуть одиничними, і тензор поляризованості нуклеозиду (2.42) буде визначатися матрицями кутів повороту $\mathbf{G}_{ij}$. Ці матриці кутів індивідуальні для кожного зв'язку в нуклеозиді і можуть бути визначені з відомих даних координат атомів.

Оскільки конформаційні коливання ДНК характеризуються рухами цілих груп атомів, то зв'язки, які в них входять, будуть відхилятися з положення рівноваги на однакові кути. Це означає, що у випадку коливань нуклеозидів як фізичних маятників усі зв'язки нуклеозиду відхиляються від свого початкового положення на кут, який дорівнює куту відхилення маятника-нуклеозиду θ_j з рівноважного положення θ_0 . У випадку внутрішньонуклеозидних коливань зміщення зв'язків відбуваються складніше, ніж у випадку коливань нуклеозиду як фізичного маятника. А саме, азотиста основа зміщується як єдине ціле на певний кут, а кільце дезоксирибози деформується. З огляду на те, що внесок поляризованості цукрового кільця в загальну поляризованість нуклеозиду набагато менший, ніж внесок азотистої основи, будемо вважати, що у випадку внутрішньонуклеозидних коливань зміщення усіх зв'язків нуклеозиду також відбуваються поворотом на однаковий кут φ_j . В результаті вираз (2.52) можна записати наступним чином:

$$\beta_j^{nuc}(\theta_j, \rho_j) \approx \mathbf{\Phi}_j(\rho_j) \mathbf{\Theta}_j(\theta_j) \beta_{0j}^{nuc} \mathbf{\Theta}_j^{-1}(\theta_j) \mathbf{\Phi}_j^{-1}(\rho_j), \quad (2.53)$$

де матриці $\mathbf{\Phi}_1(\rho_1)$ та $\mathbf{\Theta}_1(\theta_1)$ повертають систему координат за годинниковою стрілкою на кути φ_1 та θ_1 відповідно, а матриці $\mathbf{\Phi}_2(\rho_2)$ та $\mathbf{\Theta}_2(\theta_2)$ – проти годинникової стрілки на кути φ_2 та θ_2 відповідно (Рис. 2.8); β_{0j}^{nuc} – рівноважний

тензор поляризованості нуклеозиду у власній системі координат $(x_j y_j z_j)$. У явному вигляді рівноважний тензор поляризованості нуклеозиду може бути записаний наступним чином:

$$\mathbf{\beta}_{0j}^{nuc} = \sum_i \mathbf{G}_{ij} \mathbf{\beta}_{ij} \mathbf{G}_{ij}^{-1} = \begin{bmatrix} \beta_{jxx} & \beta_{jxy} \\ \beta_{jyx} & \beta_{jyy} \end{bmatrix}. \quad (2.54)$$

Слід зазначити, що конформаційні коливання ДНК в діапазоні нижче 200 см^{-1} обумовлені поперечною рухливістю структурних елементів подвійної спіралі [197–200,221]. Враховуючи це, надалі будемо розглядати компоненти тензорів поляризованості нуклеозидів, які лежать в поперечній площині до осі подвійної спіралі, тобто XY-компоненти.

Для того, аби перевести тензор поляризованості першого нуклеозиду в молекулярну систему координат (XYZ), необхідно повернути за годинниковою стрілкою систему координат нуклеозиду $(x_1 y_1 z_1)$ на кут θ_0 , а у випадку другого нуклеозиду $(x_2 y_2 z_2)$ на кут $\pi - \theta_0$ (Рис. 2.9). Враховуючи ці повороти за допомогою відповідних матриць $\mathbf{\Theta}_{0j}$ вираз (2.54) запишемо у вигляді:

$$\mathbf{\beta}_j^{mol}(\theta_j, \rho_j) \approx \mathbf{\Theta}_{0j} \mathbf{\Phi}_j(\rho_j) \mathbf{\Theta}_j(\theta_j) \mathbf{\beta}_{0j}^{nuc} \mathbf{\Theta}_j^{-1}(\theta_j) \mathbf{\Phi}_j^{-1}(\rho_j) \mathbf{\Theta}_{0j}^{-1}. \quad (2.55)$$

У випадку першого нуклеозиду матриці $\mathbf{\Theta}_{0j}$, $\mathbf{\Phi}_j(\rho_j)$ та $\mathbf{\Theta}_j(\theta_j)$ повертають систему координат нуклеозиду на кут $\theta_0 + \theta_1 + \varphi_1$ за годинниковою стрілкою, а у випадку другого нуклеозиду – на кут $\pi - \theta_0 - \theta_2 - \varphi_2$ теж за годинниковою стрілкою. Враховуючи (2.55), одержуємо вираз для поляризованості нуклеозиду в молекулярній системі координат:

$$\mathbf{\beta}_j = \begin{bmatrix} \cos \Omega_j & (-1)^j \sin \Omega_j \\ (-1)^{j+1} \sin \Omega_j & \cos \Omega_j \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta_{jxx} & \beta_{jxy} \\ \beta_{jyx} & \beta_{jyy} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \cos \Omega_j & (-1)^{j+1} \sin \Omega_j \\ (-1)^j \sin \Omega_j & \cos \Omega_j \end{bmatrix}, \quad (2.56)$$

де $\Omega_j = \theta_0 + \theta_j + \varphi_j$.

Згідно з розвиненим підходом, внутрішньонуклеозидна рухливість розглядається як поворот нуклеозиду на кут φ_j , що супроводжується зміщенням центру мас на відстань ρ_j (Рис. 2.9). Враховуючи, що ці зміщення з положень рівноваги малі, можна записати:

$$\varphi_j \approx \rho_j / l. \quad (2.57)$$

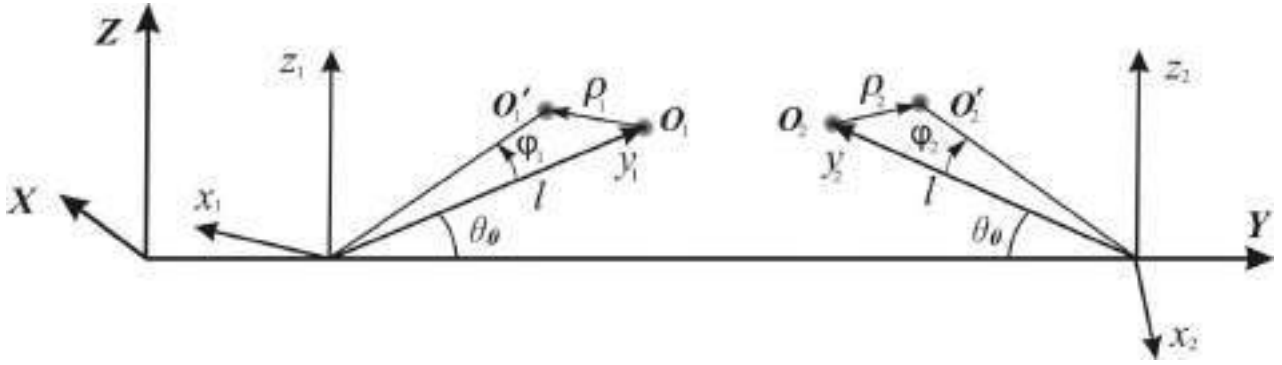


Рис. 2.9. Взаємозв'язок молекулярної системи координат (XYZ) та систем координат нуклеозидів ($x_1y_1z_1$ та $x_2y_2z_2$), як описано в тексті. Кути φ_1 та φ_2 характеризують середні кути зміщення першого та другого нуклеозидів внаслідок деформації нуклеозиду на величину ρ_1 та ρ_2 відповідно. l – зведена довжина маятника-нуклеозиду. Точки O_1, O_1' та O_2, O_2' положення центрів мас першого та другого нуклеозидів до та після зміщення. Рисунок з роботи дисертанта [44].

Перемножуючи матриці в (2.56), та враховуючи (2.57), одержуємо компоненти тензорів поляризованості нуклеозидів як функції координат моделі чотирьох мас θ_j та ρ_j :

$$\begin{aligned} \beta_{jXX} &= \beta_{jxx} \cos^2 \left(\theta_0 + \theta_j + \frac{\rho_j}{l} \right) + (-1)^j \beta_{jxy} \sin 2 \left(\theta_0 + \theta_j + \frac{\rho_j}{l} \right) + \beta_{jyy} \sin^2 \left(\theta_0 + \theta_j + \frac{\rho_j}{l} \right); \\ \beta_{jXY} &= (\beta_{jyy} - \beta_{jxx}) \frac{(-1)^j}{2} \sin 2 \left(\theta_0 + \theta_j + \frac{\rho_j}{l} \right) + \beta_{jxy} \cos 2 \left(\theta_0 + \theta_j + \frac{\rho_j}{l} \right); \\ \beta_{jYY} &= \beta_{jxx} \sin^2 \left(\theta_0 + \theta_j + \frac{\rho_j}{l} \right) - (-1)^j \beta_{jxy} \sin 2 \left(\theta_0 + \theta_j + \frac{\rho_j}{l} \right) + \beta_{jyy} \cos^2 \left(\theta_0 + \theta_j + \frac{\rho_j}{l} \right). \end{aligned} \quad (2.58)$$

Відповідно похідні компонентів тензору поляризованості будуть мати вигляд:

$$\begin{aligned} \left. \frac{\partial \beta_{jXX}}{\partial \theta_j} \right|_0 &= (\beta_{jyy} - \beta_{jxx}) \sin 2\theta_0 + 2(-1)^j \beta_{jxy} \cos 2\theta_0; & \left. \frac{\partial \beta_{jYY}}{\partial \theta_j} \right|_0 &= - \left. \frac{\partial \beta_{jXX}}{\partial \theta_j} \right|_0; \\ \left. \frac{\partial \beta_{jXY}}{\partial \theta_j} \right|_0 &= (\beta_{jyy} - \beta_{jxx}) (-1)^j \cos 2\theta_0 - 2\beta_{jxy} \sin 2\theta_0; & \left. \frac{\partial \beta_{j\lambda\mu}}{\partial \rho_j} \right|_0 &= \frac{1}{l} \left. \frac{\partial \beta_{j\lambda\mu}}{\partial \theta_j} \right|_0. \end{aligned} \quad (2.59)$$

З вигляду діагональних елементів тензору похідних поляризованості, що наведено у виразах (2.59), впливає рівність нулеві коефіцієнту A_m у формулі

(2.44). Це зрозуміло, оскільки слід тензору похідних поляризованості по нормальним координатам у випадку деформаційних коливань дорівнює нулеві [240].

Добуток анізотропії тензору похідних поляризованості B_m на амплітуду нормальної координати Q_{0m} може бути записаний у наступному вигляді:

$$B_m^2 Q_{0m}^2 = 3 \left[a_1 \left(\ddot{\theta}_1 + \frac{\ddot{\rho}_1}{l} \right)_m + s_2 \left(\ddot{\theta}_2 + \frac{\ddot{\rho}_2}{l} \right)_m \right]^2 + 3 \left[s_1 \left(\ddot{\theta}_1 + \frac{\ddot{\rho}_1}{l} \right)_m - a_2 \left(\ddot{\theta}_2 + \frac{\ddot{\rho}_2}{l} \right)_m \right]^2, \quad (2.60)$$

де коефіцієнти a_1, s_2, s_1 та a_2 є комбінаціями компонент тензорів поляризованості в системі координат нуклеозидів:

$$\begin{aligned} a_1 &= (\beta_{1yy} - \beta_{1xx}) \sin 2\theta_0 - 2\beta_{1xy} \cos 2\theta_0; & a_2 &= (\beta_{2yy} - \beta_{2xx}) \cos 2\theta_0 - 2\beta_{2xy} \sin 2\theta_0; \\ s_2 &= (\beta_{2yy} - \beta_{2xx}) \sin 2\theta_0 + 2\beta_{2xy} \cos 2\theta_0; & s_1 &= (\beta_{1yy} - \beta_{1xx}) \cos 2\theta_0 + 2\beta_{1xy} \sin 2\theta_0. \end{aligned} \quad (2.61)$$

З урахуванням співвідношення (2.46) між амплітудами коливань першого та другого нуклеозидів та формули (2.60), формула (2.44) для інтенсивностей мод конформаційних коливань ДНК в низькочастотному спектрі КР може бути записана у наступному вигляді:

$$J_m = J_0 13 \frac{2^8 \pi^5 (v_0 - v_m)^4}{3c^4} \left[(a_1 \pm s_2)^2 + (s_1 \mp a_2)^2 \right] \cdot \left(\ddot{\theta} + \frac{\ddot{\rho}}{l} \right)_m^2 \left(1 - e^{-\frac{h\nu_m}{kT}} \right)^{-1}, \quad (2.62)$$

де індекс m , як і раніше, позначає моду нормальних коливань. Верхній знак в квадратних дужках формули (2.62) ставиться у випадку симетричних мод (ω_{Ion}^+ , ω_H^+ , ω_{HS}^+ та ω_B^+), а нижній – у випадку антисиметричних (ω_{Ion}^- , ω_S^- та ω_B^-).

2.5.3. Валентно-оптичні параметри структурних елементів ДНК. Для розрахунку інтенсивностей мод конформаційних коливань значення компонент тензорів поляризованості нуклеозидів (β_{jxx}, β_{jxy} та β_{jyy}), в даній роботі визначалися як сума тензорів поляризованості хімічних зв'язків нуклеозиду. Координати атомів ДНК взяті з рентгеноструктурних даних [243]. Геометричні параметри моделі чотирьох мас взяті такими, як і в роботах [197,198]: $l = 4,9$ Å та $\theta_0 = 28^\circ$. Рівноважний кут θ_0 визначався, як кут між відрізком, що сполучає атом $C_{3'}$ дезоксирибози з центром мас нуклеозиду, та віссю Y. Значення поляризованості хімічних зв'язків взяті згідно з адитивною схемою Ле Февра

[244]. Для врахування різниці поляризованостей нуклеозидів в комплементарній парі вважалося, що нуклеозид першого ланцюжка ($j=1$) містить пуринову основу, а другого ($j=2$) – піримідинову. Задля спрощення подальшого аналізу бралися відповідні середні значення для пуринових (аденозин і гуанозин) і піримідинових (тимідин і цитидин) нуклеозидів (Табл. 2.7).

Використовуючи одержані значення компонент тензорів поляризованості нуклеозидів можна розрахувати за формулою (2.62) інтенсивності в спектрах комбінаційного розсіювання для мод конформаційних коливань макромолекули ДНК з протийонами в різному положенні відносно подвійної спіралі. Відповідні спектри буде проаналізовано в наступному розділі.

Таблиця 2.7. Компоненти тензорів поляризованості нуклеозидів ($\text{\AA}^3$)

Нуклеозид	Пурини, $j = 1$			Піримідини, $j = 2$		
	Аденозин	Гуанозин	Середнє	Тимідин	Цитидин	Середнє
β_{xx}	22,74	24,73	23,73	19,39	16,55	17,97
β_{xy}	-1,98	-1,31	-1,65	-1,41	-1,52	-1,47
β_{yy}	22,17	21,75	21,96	19,21	16,79	18,00

ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ

Сформульовано концепцію іон-фосфатної ґратки, згідно з якою протийони навколо подвійної спіралі ДНК формують регулярну структуру, подібну до ґратки іонного типу. Проводячи аналогію між класичними іонними кристалами типу NaCl та іон-фосфатною ґраткою ДНК, обґрунтовано необхідність пошуку специфічних коливань протийонів відносно фосфатних груп. Такі коливання мають спостерігатися в експериментальних спектрах, що дає можливість верифікації запропонованого підходу іон-фосфатної ґратки до розгляду системи ДНК з протийонами.

На основі підходу конформаційної динаміки подвійної спіралі ДНК Волкова-Косевича [197–200] розвинуто моделі для дослідження низькочастотних

коливань ДНК з протийонами. Досліджено різні випадки розташування протийонів навколо ДНК та різні форми подвійної спіралі. Розвинуто нову модель для випадку міжланцюжкової нейтралізації протийонів. Побудовано спеціальну модель конформаційної динаміки лівозакрученої подвійної спіралі Z-ДНК з протийонами. Враховано особливості структури лівозакрученої форми Z-ДНК, а також характерне розташування протийонів в структурі лівої спіралі. Одержано вирази для частот і амплітуд коливань. Проведено аналіз одержаних рівнянь руху та мод коливань.

На основі напівкласичної теорії розвинуто підхід для описання інтенсивностей мод конформаційних коливань ДНК в низькочастотних спектрах комбінаційного розсіювання. Підхід ґрунтується на валентнооптичній схемі для описання інтенсивностей мод в коливальних спектрах [240] і моделі конформаційних коливань, що була розроблена С.Н. Волковим і А.М. Косевичем [197–200] і розширена автором разом з С.Н. Волковим на випадок приєднання протийонів. В результаті одержано аналітичні вирази для інтенсивностей смуг в низькочастотному спектрі ДНК, що характеризують конформаційні коливання подвійної спіралі. Визначено усі структурні та валентнооптичні параметри нуклеотидів ДНК, необхідні для розрахунку інтенсивностей. Загальна схема розрахунку низькочастотних спектрів КР наведена на Рисунку 2.10.



Рис. 2.10. Алгоритм методу розрахунку низькочастотних спектрів КР ДНК.

РОЗДІЛ 3

ПРОЯВИ ВПОРЯДКУВАННЯ ПРОТИЙОНІВ У НИЗЬКОЧАСТОТНИХ СПЕКТРАХ ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК

Використовуючи розроблені моделі конформаційної динаміки ДНК, розраховано частоти і амплітуди конформаційних коливань подвійної спіралі з різними одновалентними та двовалентними протийонами, що знаходяться в одноланцюжковому та міжланцюжковому положенні. Розраховані частоти і амплітуди коливань Z-ДНК. Оцінено значення інтенсивностей коливальних мод ДНК з різними протийонами. За одержаними даними частот і амплітуд конформаційних коливань, а також, використовуючи розраховані інтенсивності мод, побудовано модельні низькочастотні спектри КР ДНК для різних випадків. Одержані результати опубліковано в статтях [34,39,40,42–44]. Результати роботи неодноразово доповідалися на семінарах та наукових зібраннях різного рівня, зокрема на наукових конференціях [45,47,49–54,56].

3.1. Частоти і амплітуди конформаційних коливань різних форм ДНК з протийонами

3.1.1. Частоти та амплітуди конформаційних коливань ДНК з протийонами в одноланцюжковому і міжланцюжковому положеннях. Значення частот та амплітуд конформаційних коливань ДНК з протийонами в одноланцюжковому положенні наведено у таблиці 3.1 для двох граничних випадків протийонів (легкий Na^+ та важкий Cs^+). Значення частот коливань для випадку ДНК з іншими протийонами (Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) в одноланцюжковому положенні наведено в Додатку Б (Таблиця Б1). Як відомо серед іонів лужних металів Cs^+ є найбільш важким, а Na^+ є значно легшим і природним протийоном. Результати розрахунків показують, що у випадку одноланцюжкового положення протийонів усі частоти низькочастотного спектру молекули ДНК залежать від типу протийонів і зменшуються при збільшенні їх маси. Частоти ко-

ливань подвійної спіралі, що пов'язані з рухами нуклеозидів та фосфатних груп (ω_H^+ , ω_{H+S}^+ , ω_S^- , ω_B^+ і ω_B^-) зменшуються не більше, ніж на 20 см^{-1} . У випадку легких протийонів (Na^+ та K^+) значення частот коливань цих мод близькі до частот, які було одержано раніше в рамках моделі чотирьох мас Волкова-Косевича без урахування протийонів [197–199].

Залежність частот коливань від типу протийонів суттєво проявляється у випадку мод іон-фосфатних коливань (ω_{ion}^+ і ω_{ion}^-). Величини ω_{ion}^+ і ω_{ion}^- зменшуються від 181 до 96 см^{-1} . Характерним для мод іон-фосфатних коливань ДНК є те, що у випадку легких протийонів (Na^+ та K^+) частоти коливань ω_{ion}^+ і ω_{ion}^- мають однакові значення (вироджені), а у випадку важких протийонів (Rb^+ , Cs^+ та гідратований Mg^{2+}) частота коливань ω_{ion}^+ стає вищою, ніж ω_{ion}^- приблизно на 5 см^{-1} . Це пов'язано з тим, що у випадку важких протийонів частота іон-фосфатних коливань, окрім константи γ , також залежить від константи α . Таким чином, зі збільшенням маси протийону відбувається розщеплення моди іон-фосфатних коливань ДНК.

Значення амплітуд конформаційних коливань ДНК суттєво відрізняється у випадку легких (Na^+ та K^+) і важких (Rb^+ , Cs^+ та гідратований Mg^{2+}) протийонів. В таблиці 3.1 наведено значення амплітуд лише для Na- і Cs-ДНК. Розраховані значення амплітуд конформаційних коливань Na-ДНК показують, що найбільші зміщення протийонів відносно фосфатних груп відбуваються в моді іон-фосфатних коливань. У випадку внутрішніх мод протийони натрію рухаються як маси, що жорстко зв'язані з фосфатними групами. Значення амплітуд коливань внутрішніх мод близькі до тих, що були одержані раніше в рамках моделі чотирьох мас Волкова-Косевича без протийонів [197–199].

У випадку Cs-ДНК характер конформаційних коливань суттєво змінюється. А саме, зміщення протийонів відносно фосфатних груп стають досить значними у випадку всіх мод, окрім мод остова. В самій моді іон-фосфатних коливань, на відміну від Na-ДНК, присутні зміщення нуклеозидів та фосфатних груп. Мода іон-фосфатних коливань також характеризується значним розтягом водневих зв'язків в парах азотистих основ, тому в певному розумінні вона по-

дібна до моди ω_H^+ . Таким чином, протийони Cs^+ виконують роль не лише нейтралізуючих зарядів, але й також збуджують внутрішні конформаційні коливання подвійної спіралі ДНК.

Отже, розраховані значення амплітуд коливань ДНК з легкими та важкими протийонами показують, що характер конформаційних коливань подвійної спіралі суттєво відрізняється у випадку мод іон-фосфатних коливань, розтягу водневих зв'язків та внутрішньонуклеозидної рухомості. Різниця в характері рухів структурних елементів полягає в тому, що важкі протийони примушують рухатися усі структурні елементи подвійної спіралі, змінюючи таким чином внутрішню динаміку ДНК. В протипагу, легкі протийони практично не впливають на величини амплітуд коливань макромолекули, і, за виключенням мод іон-фосфатних коливань, рухаються як маси закріплені на основі подвійної спіралі.

Таблиця 3.1. Частоти та амплітуди конформаційних коливань ДНК з протийонами Na^+ (Cs^+) в одноланцюговому положенні.

	ω_{Ion}^+	ω_{Ion}^-	ω_H^+	ω_S^-	ω_{HS}^+	ω_B^+	ω_B^-
cm^{-1}	181 (110)	181 (103)	110 (94)	79 (60)	58 (44)	14 (11)	16 (13)
$\tilde{Y}_{il}(nm)$	-2,3 (-3,6)	-0,23 (-6,6)	-1,5 (-6,1)	5,9 (0,1)	9,5 (5,8)	-29,0 (-29,2)	-16,9 (-12,4)
$\tilde{X}_{il}(nm)$	0,2 (0,5)	0,2 (0,8)	0,9 (0,3)	-3,4 (-2,8)	-5,4 (-5,6)	-31,5 (-23,3)	-31,8 (-23,8)
$\tilde{\theta}_{il}(^\circ)$	0,1 (0,3)	0,1 (0,3)	0,2 (0,1)	0,0 (0,3)	0,6 (1,1)	7,0 (6,9)	7,0 (7,0)
$\tilde{\rho}_{il}(nm)$	2,4 (7,4)	2,3 (8,2)	6,5 (2,5)	-11,6 (-8,5)	-9,6 (-8,7)	0,6 (1,0)	0,0 (0,0)
$\tilde{\xi}_{il}(nm)$	11,6 (3,7)	11,7 (9,4)	-1,8 (10,1)	2,3 (9,1)	1,6 (6,7)	-0,3 (-1,4)	-0,2 (-0,8)
$\tilde{\delta}_i(nm)$	0,6 (8,4)	0,0 (0,0)	10,1 (-7,3)	0,0 (0,0)	6,9 (3,9)	-0,9 (-1,1)	0,0 (0,0)

Розташування протийонів в мінорному жолобі між фосфатними групами різних ланцюжків ДНК найбільш імовірний для іонів великого розміру з достатньо великим зарядом, який міг би компенсувати заряди на фосфатних групах. Таким критерієм найкраще відповідає гідратований іон магнію. Тому значення частот та амплітуд конформаційних коливань ДНК з протийонами в міжланцюжковому положенні наведено у таблиці 3.2 для випадку гідратованого іону Mg^{+} . Саме цей випадок було розглянуто в якості ілюстрації коливань ДНК з протийоном в мінорному жолобі.

Положення протийону в мінорному жолобі подвійної спіралі ДНК описується в запропонованих моделях для двох випадків закріплення: міжланцюжкове і поздовжнє. Частоти і амплітуди коливань для двох варіантів розташування протийонів наведено в Таблиці 3.2. Результати розрахунку показують, що в порівнянні з випадком протийонів в одноланцюжковому положенні частота коливань моди розтягу водневих зв'язків ω_H^{+} зменшується, коли протийон знаходить в міжланцюжкове положення. Водночас, частоти коливань ω_{HS}^{+} та ω_B^{+} навпаки – зростають. Частоти антисиметричних коливань ω_S^{-} та ω_B^{-} структурних елементів мономерної ланки практично не залежать від положення протийонів відносно фосфатних груп. Аналіз залежності цих частот від положення протийону та структури мономерної ланки показав, що зміни частот розтягу водневих зв'язків (ω_H^{+} та ω_{HS}^{+}) викликані, перш за все, зміною зменшенням ширини мінорного жолоба подвійної спіралі при розташуванні протийону між фосфатними групами мономерної ланки. Тоді, як збільшення частоти коливань остова ω_B^{+} обумовлене безпосереднім впливом протийону в мінорному жолобку ДНК.

Розрахунок амплітуд коливань (Таблиця 3.2) показав, що коливання протийонів відбуваються лише у випадку мод антисиметричних коливань (ω_{Ion}^{-} , ω_S^{-} та ω_B^{-}). У випадку мод симетричних коливань (ω_H^{+} , ω_B^{+} та ω_{HS}^{+}) протийони не рухаються. Найбільші зміщення протийонів відносно фосфатних груп відбуваються на моді іон-фосфатних коливань (ω_{Ion}^{-}). У випадку моди антисиметричних коливань остова (ω_B^{-}) протийони рухаються разом з фосфатними групами

як єдине ціле. Мода симетричних коливань остова (ω_B^+) характеризується суттєвими амплітудами внутрішньонуклеозидних коливань, що обумовлено підвищенням частоти коливань цієї моди. Характер конформаційних коливань на інших модах подібний до випадку ДНК з протийонами в одноланцюжковому положенні.

Таблиця 3.2. Частоти та амплітуди конформаційних коливань ДНК з протийонами Mg^{2+} в міжланцюжковому (поздовжньому) положенні.

	ω_{Ion}^-	ω_H^+	ω_S^-	ω_{HS}^+	ω_B^+	ω_B^-
	136 (95)	110 (114)	79 (58)	90 (71)	57 (26)	15 (16)
$\tilde{Y}_{il}(nm)$	-3,4 (-6,7)	-3,7 (-2,8)	2,0 (-0,6)	-6,7 (9,3)	0,0 (-12,3)	-26,0 (-14,8)
$\tilde{X}_{il}(nm)$	0,6 (2,3)	2,3 (1,2)	-6,9 (-4,6)	1,7 (-3,1)	-9,2 (-22,3)	-22,0 (-34,0)
$\tilde{\theta}_{il}(^\circ)$	0,3 (0,1)	0,5 (0,2)	0,3 (0,5)	0,1 (0,3)	1,0 (0,1)	7,0 (7,0)
$\tilde{\rho}_{il}(nm)$	3,2 (9,7)	7,4 (7,4)	-11,4 (-6,7)	3,6 (-7,2)	-11,7 (-4,5)	0,3 (0,3)
$\tilde{\xi}_{il}(nm)$	5,6 (3,7)	0,0 (0,0)	4,6 (3,3)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	-26,6 (-16,1)
$\tilde{\delta}_i(nm)$	0,0 (0,0)	8,3 (9,3)	0,0 (0,0)	-8,2 (7,4)	0,0 (1,9)	0,0 (0,0)

Для аналізу можливих спектральних змін цікавим є порівняння значень частот для ДНК з протийонами в міжланцюжковому положенні з частотами для ДНК з протийонами в одноланцюговому положенні. Таке порівняння є важливим також з огляду на можливість розташування одновалентних протийонів в мінорному жолобі ДНК [99,245–247]. Результати показали, що частота коли-

вань остова ω_B^+ у випадку протийонів у міжланцюжковому положенні в кілька разів вища, ніж у випадку протийонів у одноланцюговому положенні. Мода ω_H^+ Na-ДНК з протийонами в одноланцюговому положенні має вищу частоту, ніж у випадку протийонів у міжланцюжковому положенні. Натомість частота цієї моди в Cs^+ і Mg^{2+} ДНК вища у випадку протийонів у міжланцюжковому положенні. Частота ω_{HS}^+ вища для ДНК з протийонами в міжланцюжковому положенні, ніж в одноланцюговому. Частоти іон-фосфатних коливань (ω_{Ion}^+ і ω_{Ion}^-) вищі у випадку Na- і Mg-ДНК з протийоном у міжланцюжковому, ніж в одноланцюговому положенні, тоді як у Cs-ДНК ця мода має вищу частоту у випадку протийонів в одноланцюговому положенні. Частоти внутрішньонуклеозидних ω_S^- коливань і коливань остова ω_B^- суттєво не відрізняються у випадку одноланцюжкової та міжланцюжкової нейтралізації і близькі до частот, отриманих в рамках моделі конформаційних коливань ДНК Волкова-Косевича без протийонів [197–199] без врахування протийонів.

Можливі дві причини таких змін частот під час входження протийонів у мінорний жолоб ДНК. Перша причина – це стиснення малого жолоба подвійної спіралі, що в рамках нашої моделі означає зменшення відстані між фосфатними групами мономерної ланки та збільшення рівноважного кута для маятників-нуклеозидів θ_{eq} . Друга причина — вплив протийонів. Для знаходження визначального механізму змодельовано можливий хід залежності низькочастотних мод ДНК від рівноважного кута, яка проілюстрована на прикладі ДНК з протийонами Na^+ .

Результати аналізу показали, що частоти іон-фосфатних коливань ω_{Ion}^+ і ω_{Ion}^- дещо зменшуються зі збільшенням рівноважного кута, а коли протийони переходить в міжланцюжкове положення, то мода симетричних іон-фосфатних коливань (ω_{Ion}^+) зникає, а частота антисиметричних іон-фосфатних коливань (ω_{Ion}^-) зростає. Моди розтягу Н-зв'язків ω_H^+ і ω_{HS}^+ незначно залежать від рівноважного кута: частота ω_H^+ зменшується, а частота ω_{HS}^+ зростає зі збільшенням рівноважного кута. Моди антисиметричних коливань ω_S^- і ω_B^- поступово зменшуються зі збільшенням рівноважного кута. Мода симетричних коливань осто-

ва ω_B^+ різко зростає, коли протийони локалізуються між фосфатними групами подвійної спіралі. Отже, зміни частот розтягу Н-зв'язків в парах основ (ω_H^+ і ω_{HS}^+), внутрішньонуклеозидних коливань (ω_S^-) і антисиметричних коливань остова (ω_B^-) відбуваються за рахунок конформаційних перетворень макромолекули ДНК, а зміни частоти симетричних коливань остова (ω_B^+) та іон-фосфатних коливань (ω_{Ion}^-) викликані змінами, що пов'язані з локалізацією протийонів між фосфатними групами в мінорному жолобі подвійної спіралі.

Отже, результати наших розрахунків показують, що частоти та амплітуди конформаційних коливань ДНК залежать від маси протийонів, валентності та локалізації відносно фосфатних груп. Такий вплив має спостерігатися в низько-частотних спектрах комбінаційного розсіювання світла ДНК з протийонами.

3.1.2. Частоти і амплітуди коливань Z-ДНК з протийонами. В рамках моделі, розвиненої в підрозділі 2.3 для лівої подвійної спіралі Z-ДНК з параметрами моделі, що описуються в підрозділі 2.4, проведено розрахунки частот і амплітуд конформаційних коливань Z-ДНК (Таблиці 3.3). За характером рухів структурних елементів у парах нуклеотидів ДНК отримані моди можна класифікувати так само як і у попередніх випадках, а саме: моди іон-фосфатних коливань (**Ion**), моди розтягу Н-зв'язку (**H**), моди внутрішньонуклеозидних коливань (**S**) та моди коливань остова (**B**). Низькочастотні спектри B- і Z-ДНК мають різну кількість мод з різними значеннями частоти. Така відмінність виникає тому, що в Z-ДНК стекінг-взаємодія між нуклеїновими основами відрізняється від B-ДНК, а додаткова взаємодія між фосфатними групами через протийон Mg^{2+} робить структуру нуклеотидного димеру більш жорсткою.

Отримані результати показують, що низькочастотний спектр Z-ДНК можна умовно розділити на три діапазони: найнижчий діапазон (від 10 до 30 cm^{-1}), середній діапазон (від 30 до 110 cm^{-1}) і високочастотний діапазон (від 110 до 180 cm^{-1}). У найнижчому діапазоні частот спостерігаються моди коливань остова. Як показали попередні розрахунки, у випадку B-ДНК в цьому діапазоні є дві моди остова ω_{B1} і ω_{B2} – симетрична і антисиметрична, відповідно. У випадку Z-ДНК кількість мод остова вдвічі більша, і частоти попарно різні: ω_{B1} і ω_{B2} відрі-

зняються від частот ω_{B3} і ω_{B4} . Додаткові моди в спектрах Z-ДНК з'являються в спектрі у зв'язку з димерною структурою лівої подвійної спіралі. Зі збільшенням маси протийонів значення частоти ω_{B1} і ω_{B2} зменшуються, а ω_{B3} і ω_{B4} залишаються практично незмінними.

Таблиця 3.3. Частоти коливань Z-ДНК з гідратованими протийонами $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ в мінорному жолобі подвійної спіралі і одновалентними протийонами лужних металів зовні макромолекули.

Тип моди	Протийон	Na^+	K^+	Rb^+	Cs^+
Ion	ω_{Ion1}	180	146	105	100
	ω_{Ion2}	180	146	103	96
	ω_{Ion3}	152	152	152	152
H	ω_{H1}	110	110	110	110
	ω_{H2}	106	106	107	107
	ω_{H3}	96	96	95	92
	ω_{H4}	59	59	59	59
S	ω_{S1}	45	44	40	37
	ω_{S2}	44	43	42	42
	ω_{S3}	40	39	36	35
B	ω_{B1}	25	25	25	24
	ω_{B2}	20	20	18	17
	ω_{B3}	11	11	11	11
	ω_{B4}	11	11	11	10

Середній частотний діапазон характеризується модами розтягу водневих зв'язків (ω_{H1} , ω_{H2} , ω_{H3} , ω_{H4}) і внутрішньонуклеозидних коливань (ω_{S1} , ω_{S2} , ω_{S3}). Як показали попередні дослідження, у випадку B-ДНК таких є дві моди – одна розтягу водневих зв'язків, а друга внутрішньонуклеозидних коливань, тоді як у випадку Z-ДНК є чотири моди **H** типу і три моди **S** типу. **S**-моди Z-ДНК мають близькі значення частот, які в цілому значно нижчі, ніж у випадку B-ДНК. Мо-

ди розтягу водневих зв'язків мають два характерних значення частот біля 110 см^{-1} і 60 см^{-1} . В цілому моди середнього діапазону частот поступово зменшуються зі збільшенням маси протийонів.

У високочастотному діапазоні спостерігаються моди іон-фосфатних коливань. Частоти іон-фосфатних коливань залежать від положення протийонів. У випадку протийонів в одноланцюжковому положенні існують дві вироджені моди (ω_{Ion1} і ω_{Ion2}) з близькими частотами. Ці моди характерні як для правої, так і для лівої форми подвійної спіралі. Коливання гідратованих іонів Mg^{2+} у міжланцюжковому положенні характеризуються однією модою (ω_{Ion3}). Коливання протийону Mg^{2+} у мінорному жолобі ДНК не чутливі до коливань одновалентних протийонів, що знаходяться зовні подвійної спіралі. Зі збільшенням маси протийонів частоти іон-фосфатних коливань ω_{Ion1} і ω_{Ion2} зменшуються від 180 до 110 см^{-1} . Така ж частотна залежність від типу протийону спостерігається в інфрачервоних спектрах висушених плівок ДНК з протийонами лужних металів [23,207].

Для визначення характеру конформаційних коливань для кожної моди розраховано амплітуди зміщень структурних елементів моделі. При цьому розглянуто два випадки. В першому частоти та амплітуди розраховувалися для димеру без іону магнію в середині, роль нейтралізуючих зарядів виконували протийони натрію назовні подвійної спіралі. В другому випадку також враховано іони між фосфатними групами димеру. Важливість розгляду саме цих випадків обумовлена тим, що в розчині не кожен димер макромолекули може містити протийон магнію. Результати розрахунків для першого та другого випадків наведено в таблицях 3.4 та 3.5 відповідно.

З одержаних розрахунків видно, що в спектрі Z-ДНК без іонів магнію в середині димеру є дві вироджені моди іон-фосфатних коливань, дві вироджені моди коливань розтягу водневих зв'язків (ω_{H1} та ω_{H3}), дві вироджені моди коливань остова (ω_{B2} та ω_{B4}). Слід також зазначити, що інші моди ω_{H2} та ω_{H4} , ω_{S1} та ω_{S2} , ω_{B1} та ω_{B3} мають попарно близькі значення. Така близькість мод коливань

за частотами пов'язана з особливостями структури лівозакрученої форми Z-ДНК.

Табл. 3.4. Частоти та амплітуди конформаційних коливань Z-ДНК з протийонами Na^+ зовні подвійної спіралі для випадку димерів без іонів магнію в мінорному жолобі. Значення частот наведено в см^{-1} ; значення амплітуд в пм (у випадку кутів в градусах).

Координата	Симетричні коливання							Асиметричні коливання						
	Ion	H		S		B		Ion	H		S	B		
	ω_{Ion1}	ω_{H1}	ω_{H3}	ω_{S2}	ω_{S3}	ω_{B2}	ω_{B4}	ω_{Ion2}	ω_{H2}	ω_{H4}	ω_{S1}	ω_{B1}	ω_{B3}	
	180	107	68	41	28	11	10	180	107	66	46	26	11	
X_{21}	2	0	3	-13	9	-9	-39	-2	0	-1	-12	-8	19	
X_{12}	2	0	3	-13	9	-9	-39	2	0	1	12	8	-19	
X_{11}	0	-1	-9	2	-13	2	-40	0	1	9	3	10	18	
X_{22}	0	-1	-9	2	-13	2	-40	0	-1	-9	-3	-10	-18	
ρ_{21}	-1	2	-4	13	9	0	-1	1	2	-1	13	-9	1	
ρ_{12}	-1	2	-4	13	9	0	-1	-1	-2	1	-13	9	-1	
ρ_{11}	0	4	9	-5	-3	0	0	0	-5	-10	2	3	1	
ρ_{22}	0	4	9	-5	-3	0	0	0	5	10	-2	-3	-1	
θ_{21}	-0.2	0.3	-0.5	-0.7	-0.9	3	5.3	0.2	0.3	-0.2	0.9	1.5	-3.6	
θ_{12}	-0.2	0.3	-0.5	-0.7	-0.9	3	5.3	-0.2	-0.3	0.2	-0.9	-1.5	3.6	
θ_{11}	0	0.4	0.4	0.4	1.2	4.3	4.5	0	-0.4	-0.3	-0.1	-1.8	-3.9	
θ_{22}	0	0.4	0.4	0.4	1.2	4.3	4.5	0	0.4	0.3	0.1	1.8	3.9	
ξ_1	-11	0	0	1	1	0	0	11	0	0	-1	0	0	
ξ_2	-11	0	0	1	1	0	0	-11	0	0	1	0	0	
δ_1	0	8	-3	2	2	0	-1	0	-8	3	1	-1	0	
δ_2	0	8	-3	2	2	0	-1	0	8	-3	-1	1	0	

У випадку, коли в димері присутній іон магнію виродження знімається для мод симетричних і антисиметричних коливань розтягу водневих зв'язків. З'являється мода іон-фосфатних коливань ω_{Ion3} , яка пов'язана з коливаннями протийонів магнію в мінорному жолобі подвійної спіралі між фосфатами ДНК.

Збільшується частота моди ω_{S3} , що відрізняє її від мод коливань остова. Для ілюстрації характеру коливань структурних елементів Z-ДНК на Рис. 3.1 наведено гістограми амплітуд коливань структурних елементів для кожної моди.

Табл. 3.5. Частоти та амплітуди конформаційних коливань Z-ДНК з протийонами Na^+ зовні подвійної спіралі для випадку димерів з іонами магнію в мінорному жолобі. Значення частот наведено в см^{-1} ; значення амплітуд в пм (у випадку кутів в градусах).

Координата	Симетричні коливання							Асиметричні коливання						
	Ion	H		S		B		Ion		H		S	B	
	ω_{Ion1}	ω_{H1}	ω_{H3}	ω_{S2}	ω_{S3}	ω_{B2}	ω_{B4}	ω_{Ion2}	ω_{Ion3}	ω_{H2}	ω_{H4}	ω_{S1}	ω_{B1}	ω_{B3}
	180	110	96	44	40	20	11	180	152	106	59	45	25	11
X_{21}	2	0	1	-10	9	-22	-11	-2	0	0	-1	-12	-10	22
X_{12}	2	0	1	-10	9	-22	-11	2	0	0	1	12	10	-22
X_{11}	0	-4	-7	-4	-3	-3	0	0	3	0	6	3	10	22
X_{22}	0	-4	-7	-4	-3	-3	0	0	-3	0	-6	-3	-10	-22
ρ_{21}	-1	1	-2	13	-5	-7	0	1	0	2	-2	13	-9	1
ρ_{12}	-1	1	-2	13	-5	-7	0	-1	0	-2	2	-13	9	-1
ρ_{11}	0	6	3	-4	-9	-1	0	0	-3	-4	-11	1	3	1
ρ_{22}	0	6	3	-4	-9	-1	0	0	3	4	11	-1	-3	-1
θ_{21}	-0.2	0.2	-0.3	0.8	-0.2	3	-2.7	0.2	0	0.3	-0.2	0.9	1.7	-4.6
θ_{12}	-0.2	0.2	-0.3	0.8	-0.2	3	-2.7	-0.2	0	-0.3	0.2	-0.9	-1.7	4.6
θ_{11}	0	0.5	0.3	0.2	0.9	0.6	4.5	0	-0.3	-0.3	-0.1	0	-1.7	-5.1
θ_{22}	0	0.5	0.3	0.2	0.9	0.6	4.5	0	-0.3	0.3	0.1	0	1.7	5.1
ξ_1	-11	0	0	-1	1	0	0	11	0	0	-1	-1	0	0
ξ_2	-11	0	0	-1	1	0	0	-11	0	0	1	1	0	0
X_a	0	0	0	0	0	0	0	0	6	-2	-8	-3	-11	-22
δ_1	0	6	-5	0	2	1	0	0	0	-8	3	1	-1	0
δ_2	0	6	-5	0	2	1	0	0	0	8	-3	-1	1	0

Як видно з наведених гістограм моди іон-фосфатних коливань (ω_{Ion1} , ω_{Ion2} , ω_{Ion3}) характеризуються значними амплітудами зміщень протийонів всередині і зовні подвійної спіралі ДНК (Рис. 3.1а). Моди внутрішньонуклеозидних коливань (ω_{S1} , ω_{S2} , ω_{S3}) характеризуються суттєвими значеннями амплітуд коливань, що характеризують зміною довжини нуклеозиду в парах нуклеотидів ДНК (Рис. 3.1б). Моди коливань розтягу водневих зв'язків (ω_{H1} , ω_{H2} , ω_{H3} , ω_{H4}) характеризуються значними величинами амплітуд коливань нуклеозидів і фосфатних груп, які призводять до розтягу водневих зв'язків в парах нуклеотидів ДНК (Рис. 3.1в). Моди коливань остова (ω_{B1} , ω_{B2} , ω_{B3} , ω_{B4}) характеризуються суттєвими зміщеннями з положення рівноваги нуклеотидів як цілих і коливаннями нуклеозидів як фізичних маятників, що обумовлює жорсткість остова подвійної спіралі (Рис. 3.1г). Значення частот і амплітуд для випадку Z-ДНК з іншими протийонами лужних металів наведено в Додатку Б. Зокрема, для Z-ДНК з протийонами K^+ , Rb^+ і Cs^+ – таблиці Б2, Б3 і Б4, відповідно.

Для порівняння теорії з експериментом в таблиці 3.6 наведено розрахункові значення частот для випадку димерів Z-ДНК з та без іонів магнію в середині, а також відомі експериментальні дані. Як видно з таблиці, розраховані значення частот узгоджуються з експериментальними даними для Z-ДНК [24,208]. Розрахунки показують, що моди коливань остова ω_{B1} , ω_{B2} , ω_{B3} та ω_{B4} мають приблизно однакові частоти і формують інтенсивну смугу, яка спостерігається на експерименті в області біля 25 см^{-1} . Моди внутрішньонуклеозидних коливань ω_{S1} , ω_{S2} та ω_{S3} формують дуже слабку смугу в околі 45 см^{-1} . Моди коливань розтягу водневих зв'язків ω_{H4} і ω_{H2} , ω_{H1} і ω_{H3} формують дві інтенсивні смуги в біля 70 см^{-1} і 110 см^{-1} , відповідно. Іон-фосфатні моди, що пов'язані з коливаннями протийонів Mg^{2+} в мінорному жолобі подвійної спіралі ω_{Ion3} , утворюють дуже слабку смугу біля 150 см^{-1} , яка спостерігається лише у випадку Z-ДНК [24]. Моди, що пов'язані з коливаннями протийонів Na^+ ω_{Ion1} і ω_{Ion2} знаходяться в діапазоні біля 180 см^{-1} і у випадку лівої спіралі Z-ДНК ще не були задетектовані. Таким чином, можна стверджувати, що за допомогою розвинутої моделі було визначено моду іон-фосфатних коливань протийонів Mg^{2+} в мінорному жолобі-

ку лівої подвійної спіралі і надано інтерпретацію низькочастотному спектру Z-ДНК [24].

Табл. 3.6. Частоти конформаційних коливань Z-ДНК з протийонами Na^+ зовні подвійної спіралі для випадку димерів з іонами магнію та без іонів магнію в мінорному жолобі. Значення частот наведено в cm^{-1} . В блоці таблиці зі значеннями експерименту також зазначено інтенсивності в смуг в низькочастотному спектрі: *Strong*, *Very weak*.

	B				S			H				Ion	
ω	B2	B4	B1	B3	S3	S1	S2	H4	H2	H3	H1	Ion3	Ion1,2
I	11	11	20	25	40	44	45	59	96	106	111	153	181
II	10	11	11	26	28	41	46	66	68	107	107	--	180
Експеримент (*) [24,208]	25-31				42-48			65-72		100-112		149-153	--
	<i>Strong band</i>				<i>Very weak band</i>			<i>Strong band</i>		<i>Strong band</i>		<i>Very weak band</i>	--

(*) T. Weidlich; S.M. Lindsay, W.L. Peticolas, G.A. Thomas. *J. Biomolec. Struct. Dyn.* 7, 849 (1990)
Om P. Lamba, A.H.-J. Wang, G.J., Jr. Thomas *Biopolymers*. 28, 667-678 (1989);

3.2. Низькочастотні спектри комбінаційного розсіювання різних форм подвійної спіралі ДНК з різними протийонами

Використовуючи розвинені моделі для описання конформаційних коливань різних форм подвійної спіралі ДНК з протийонами різного типу, що можуть знаходитися в різних положеннях відносно атомних груп подвійної спіралі, а також розроблений підхід до описання інтенсивностей конформаційних коливань ДНК в спектрах КР, було побудовано модельні спектри. Для розрахунку використовувалися одержані значення частот і амплітуд з коливальної задачі, які потім закладалися в розрахунок інтенсивностей коливань за допомогою розвинутого в даній роботі підходу.

При побудові спектрів комбінаційного розсіяння за розрахованими значеннями частот та інтенсивностей коливань кожна мода моделювалася гаусовим розподілом:

$$J = J_n \exp \frac{-(\omega - \omega_n)^2}{2\chi^2}, \quad (3.1)$$

де J_n і ω_n інтенсивність і частота відповідно деякої моди коливань n , χ - ширина смуги коливань на піввисоті. Значення частот розраховано на основі розвинutoї моделі конформаційних коливань ДНК з протийонами (див. таблиці підрозділу 3.1 та в Додатку Б).

Кожна мода в низькочастотному діапазоні уширюється і формує смугу. Окрім природного уширення, яке виникає в будь-якому спектрі комбінаційного розсіяння [248], також наявне уширення, що викликано гетерогенністю макромолекули ДНК. Як відомо азотисті основи ДНК можуть бути чотирьох типів: аденін, тимін, гуанін і цитозин [14]. Кожна пара нуклеотидів має свій набір характерних мод, які трохи відрізняються між собою і в результаті у середньому усереднюються, формуючи смуги. У випадку підходу Волкова-Косевича [197–200], який було взято за основу для побудови моделей коливань ДНК з протийонами, кожна азотиста основа характеризується своєю зведеною довжиною та значенням рівноважного кута, масою та силовими константами. В моделі ці параметри бралися рівними середнім значенням. Тому у випадку змодельованих спектрів має бути певне уширення ліній.

Для оцінки уширення ліній було проведено розрахунки частот і амплітуд коливань для гетерогенної системи. Розрахунки показали, що значення ширин коливальних смуг в низькочастотному спектрі ДНК може складати від 5 см^{-1} до 15 см^{-1} , для мод остова і мод, що характеризують коливання розтягу водневих зв'язків. Такі значення відповідають спостережуваним ширинам смуг в експериментальних спектрах комбінаційного розсіяння [22,208,221].

Таким чином, було побудовано спектри для різних форм подвійної спіралі ДНК з різними протийонами. Далі аналізуються найбільш характерні випадки одержаних низькочастотних спектрів.

Інтенсивності коливальних мод ДНК з різними протийонами в низькочастотних спектрах комбінаційного розсіювання розраховувалися за формулами (2.61) та (2.62) для різних форм подвійної спіралі. Температура бралася рівною $T = 300\text{K}$ за виключенням тих випадків, коли це окремо оговорюється. Компоненти тензора поляризованості нуклеозидів визначені в попередньому розділі (п. 2.5.3). Для випадку *B*-форми подвійної спіралі ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+ , що нейтралізують фосфатні групи зовні макромолекули (одноланцюжкова нейтралізація) значення частот та інтенсивностей мод коливань в низькочастотному спектрі комбінаційного розсіювання світла наведено в таблиці 3.7. Розраховані амплітуди коливань, які було використано для побудови спектру, наведено в таблицях Додатку Б.

Використовуючи розраховані значення частот та інтенсивностей було побудовано спектри комбінаційного розсіювання. Для ДНК з Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+ у випадку одноланцюжкової нейтралізації фосфатних груп спектри наведено на Рис. 3.2.

Результати показують, що спектри Na -ДНК і K -ДНК відрізняються від спектрів Rb -ДНК і Cs -ДНК. Причина в тому, що конформаційні коливання ДНК з легкими протийонами (Na^+ і K^+) відрізняються від конформаційних коливань ДНК з важкими протийонами (Rb^+ і Cs^+). Спектри ДНК з легкими протийонами в діапазоні частот від 40 до 120 см^{-1} мають 3 інтенсивні моди ω_{HS}^+ , ω_{S}^- , і ω_{H}^+ . Найбільш інтенсивною є мода Н. Експериментально таке співвідношення інтенсивності спостерігається в спектрах комбінаційного розсіювання водних розчинів Na -ДНК для смуг біля 60, 80 і 100 см^{-1} [25].

Моди коливань основа поблизу 15 см^{-1} ω_{B}^+ і ω_{B}^- є найбільш інтенсивними для всіх типів протийонів, відповідних експериментальних спектрів комбінаційного розсіювання [22]. Враховуючи неоднорідність нуклеозидів ДНК, збільшення півширини до 15 см^{-1} для ω_{HS}^+ і ω_{H}^+ мод призводить до розширення форми спектрів (пунктирна лінія на Рис. 3.2). Тому в експериментальних спектрах моди розтягу водневих зв'язків (ω_{HS}^+ і ω_{H}^+) і моди внутрішньонуклеозидних коливань (ω_{S}^-) спостерігаються як одна смуга від 50 до 120 см^{-1} [22,23,208].

Іон-фосфатні моди Na- та K-ДНК локалізовані біля 150 та 180 см^{-1} відповідно. В експериментальних спектрах водних розчинів ДНК [25] у цьому спектральному діапазоні спостерігається широка смуга коливань, що пов'язана з трансляційними коливаннями молекул води [249–251]. Розрахункові значення інтенсивностей мод ω_{Ion}^+ і ω_{Ion}^- у спектрах ДНК з легкими протийонами малі (Таблиця 3.7), оскільки коливання легких протийонів не порушують коливання нуклеозидів. Тому іон-фосфатні моди Na-ДНК в роботі [25] експериментально не спостерігалися.

Таблиця 3.7. Інтенсивності коливальних мод ДНК з Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+ в низькочастотних спектрах комбінаційного розсіювання розраховувалися за формулами (2.61) та (2.62) для різних форм подвійної. Температура - $T = 300\text{K}$. Компоненти тензора поляризованості нуклеозидів визначені в попередньому розділі (п. 2.5). Усі значення частот наведено в см^{-1} , значення інтенсивностей нормовані на інтенсивність моди ω_{Ion}^+ Na-ДНК.

Протийон		ω_{Ion}^+	ω_{Ion}^-	ω_H^+	ω_S^-	ω_{HS}^+	ω_B^-	ω_B^+
Na^+	частота	182	182	111	79	57	16	15
	інтенс.	1	0,1	11,1	4,0	5,6	3685,5	475,5
K^+	частота	151	151	110	75	54	15	14
	інтенс.	3,1	0,4	9,1	3,8	4,7	384,1	491,1
Rb^+	частота	120	113	99	64	47	14	13
	інтенс.	14,5	1,7	0,1	2,5	1,2	4226,5	527,5
Cs^+	частота	118	108	94	58	42	13	12
	інтенс.	15,9	2,3	0,4	2,0	0,0	4543,1	554,4

Розраховані спектри комбінаційного розсіювання для ДНК із важкими протийонами більш виражені, ніж для ДНК із легкими протийонами. Моди іон-фосфатних коливань локалізовані близько 115 см^{-1} , інтенсивності яких набагато перевищують інтенсивності мод близько 100 см^{-1} в спектрах ДНК з легкими протийонами (Рис. 3.2). Це пов'язано з коливаннями протийонів Rb^+ та Cs^+ , які

порушують внутрішню динаміку подвійної спіралі ДНК [42,85,216]. Інтенсивності інших мод ω_H^+ , ω_S^- та ω_{HS}^+ у спектрах Rb- та Cs-ДНК набагато нижчі, ніж у спектрах Na- та K-ДНК. Збільшення напівширини для мод ω_{HS}^+ та ω_H^+ не змінює форму спектрів Rb- та Cs-ДНК, на відміну від спектрів Na- та K-ДНК.

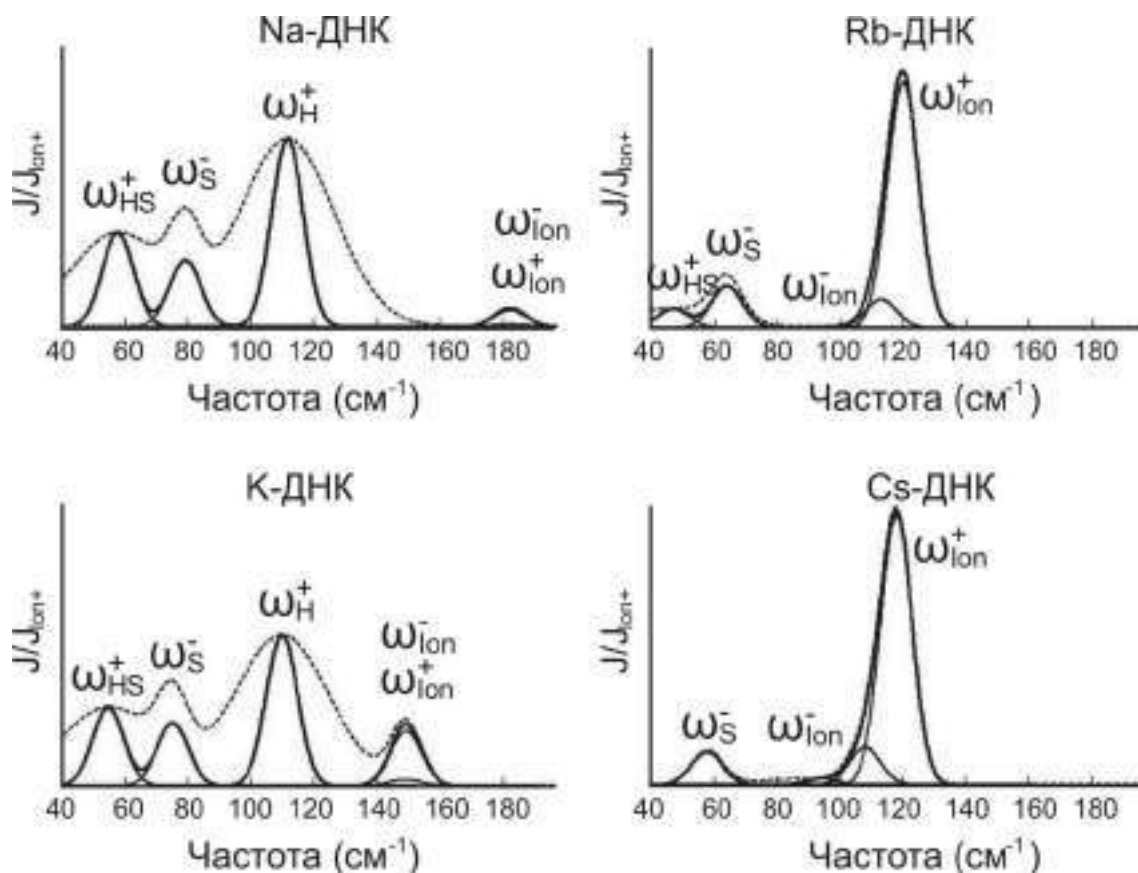


Рис. 3.2. Спектри комбінаційного розсіяння світла Na-, K-, Rb- та Cs-ДНК, побудовані за даними таблиці 3.7, вважаючи, що півширина всіх спектральних ліній однакова і дорівнює 5 cm^{-1} . Пунктирними лініями позначено спектри, які утворюються при збільшенні півширини смуг, що пов'язані з модами розтягу водневих зв'язків ω_{HS}^+ та ω_H^+ до 15 cm^{-1} (врахування гетерогенності нуклеотидів). Рисунок з роботи дисертанта [44].

Порівняння отриманих результатів з експериментальними даними [25] показує, що як у розрахункових, так і в експериментальних спектрах комбінацій-

ного розсіювання смуга близько 100 см^{-1} у випадку Cs-ДНК має приблизно вдвічі більшу інтенсивність, ніж у Na-ДНК. Таким чином, наші розрахунки узгоджуються з експериментальними даними [25], що свідчать про існування іон-фосфатної моди у спектрах Cs-ДНК. Зразки ДНК, які використовувалися в експерименті [25], готувалися за високої концентрації надлишкової солі в розчині. Висока концентрація солі використовувалася для того, аби збільшити кількість протийонів Cs^+ на подвійній спіралі ДНК.

Для визначення впливу положення протийонів відносно подвійної спіралі було проведено порівняльний аналіз низькочастотних спектрів КР для випадку одноланцюжкової та міжланцюжкової нейтралізації фосфатних груп ДНК протийонами однозарядними протийонами Na^+ та Cs^+ , а також двозарядними протийонами Mg^{2+} . Саме ці випадки протийонів є важливими з точки зору реалізації розвинутої моделі, а також порівняння ефекту іону. Спектри показано на рисунку 3.3.

У спектрах ДНК із протийонами в міжланцюжковому положенні найбільш інтенсивною є мода антисиметричних коливань остова макромолекули (ω_B^-). Мода симетричних коливань остова (ω_B^+) спостерігається на більш високих частотах (близько 50 см^{-1}) для всіх типів протийонів (Рис. 3.3). Моди внутрішньонуклеозидних коливань (ω_S^-) та мода розтягу водневих зв'язків (ω_{HS}^+) утворюють єдину смугу в спектрі Na-ДНК, а мода ω_H^+ спостерігається у вигляді плеча.

Мода іон-фосфатних коливань (ω_{Ion}^-) у спектрі Na-ДНК має низьку інтенсивність. Навпаки, мода іон-фосфатних коливань у спектрі Cs-ДНК має велику інтенсивність і разом з модами розтягу водневих зв'язків та внутрішньонуклеозидних коливань (ω_{HS}^+ , ω_S^- та ω_H^+) утворюють смугу 80 см^{-1} . У спектрі ДНК з гідратованими протийонами Mg^{2+} моди внутрішньонуклеозидних коливань (ω_S^-) та розтягу водневих зв'язків в парах основ (ω_{HS}^+) утворюють смугу близько 80 см^{-1} , а моди розтягу Н-зв'язків в основах пари (ω_H^+) та іон-фосфатні коливання (ω_{Ion}^-) утворюють смугу близько 110 см^{-1} .

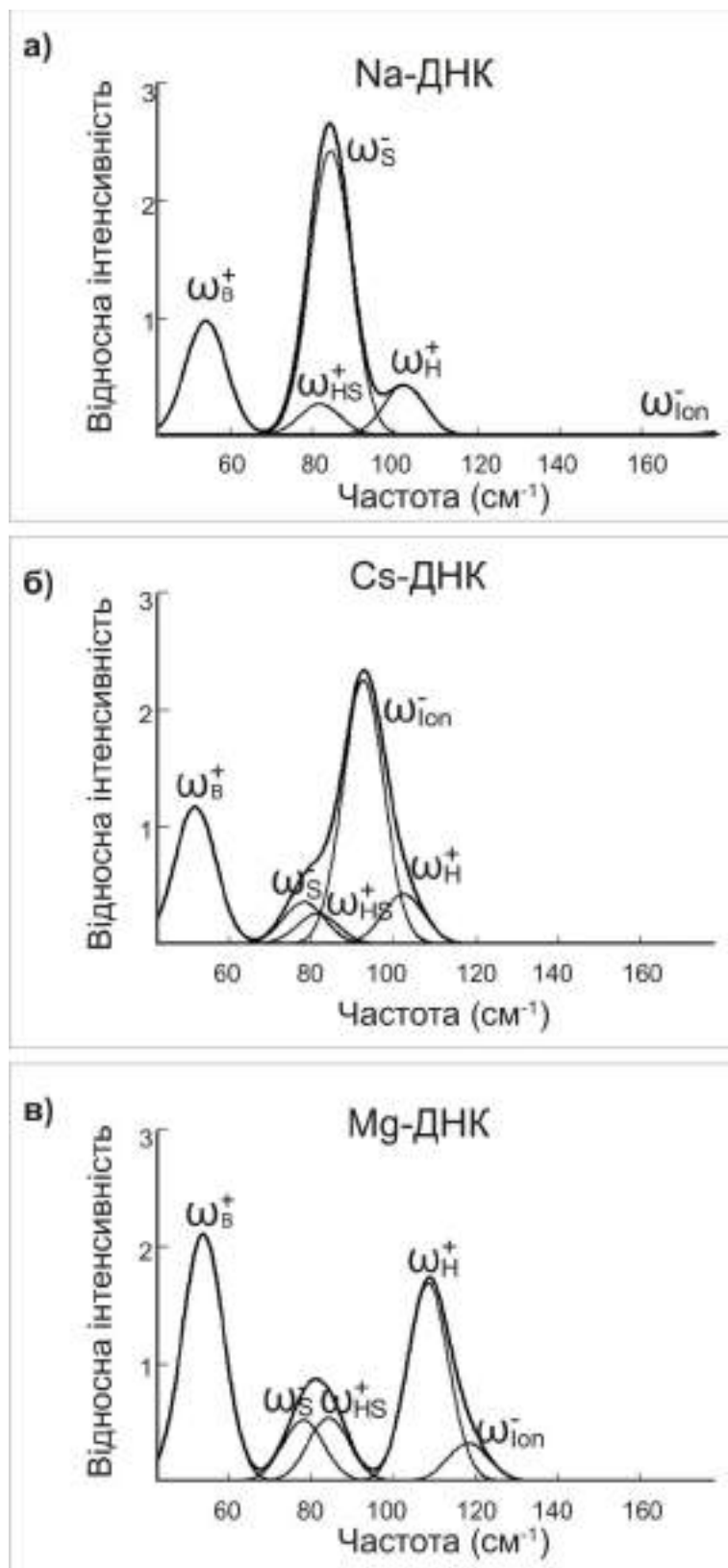


Рис 3.3. Низькочастотні спектри комбінаційного розсіяння ДНК з різними протийонами в міжланцюжковому положенні. а) Випадок протийонів Na^+ в мінорному жолобі ДНК. б) Випадок протийонів Cs^+ в мінорному жолобі ДНК. в) Випадок протийонів Mg^{2+} в мінорному жолобі ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [42].

Таким чином, розраховані низькочастотні спектри комбінаційного розсіювання ДНК з різними протийонами в одноланцюжкових та міжланцюжкових положеннях показують, що тип і локалізація протийону впливають на коливальні спектри. Цей факт дає змогу потенційно використовувати низькочастотні спектри комбінаційного розсіювання для визначення положення протийону по відношенню до фосфатних груп.

Для характеристики прояву коливань протийонів в низькочастотному спектрі комбінаційного розсіювання світла Z-ДНК було виконано розрахунок інтенсивностей коливань для мод Z-ДНК за підходом, що розвинено в даній роботі. Розрахунки інтенсивностей здійснювалися за формулами (2.61) і (2.62) з використанням значень компонент тензору поляризованості як і в попередніх випадках. В розрахунках було використано значення частот і амплітуд, що було одержано в даній роботі для Z-ДНК: для випадку протийонів Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+ зовні подвійної спіралі і Mg^{2+} всередині макромолекули (Таблиця 3.5 і Таблиці Б2, Б3 і Б4 в Додатку Б). В результаті побудовано низькочастотні спектри комбінаційного розсіювання. На рисунку 3.4 показано спектр в діапазоні частот від 90 до 200 см^{-1} , що характеризується модами коливань, що залежать від протийонів. Інтенсивність спектрів нормована на інтенсивність моди ω_{H1} . Напівширина спектральних ліній становить 5 см^{-1} .

У спектрах Z-ДНК моди іон-фосфатних коливань ω_{Ion1} та ω_{Ion2} мають приблизно таке саме співвідношення інтенсивностей, як і у випадку B-ДНК (Рис. 3.2). Мода ω_{Ion3} є досить інтенсивною і в експерименті спостерігається поблизу 150 см^{-1} [226]. У випадку протийонів K^+ моди ω_{Ion1} та ω_{Ion2} мають приблизно ті самі частоти, що й мода ω_{Ion3} (Таблиця 3.6), і вони утворюють загальну смугу з підвищеною інтенсивністю. У випадку протийонів Rb^+ та Cs^+ інтенсивності мод іон-фосфатних коливань істотно вищі, ніж у B-ДНК.

Для порівняння наших розрахунків з експериментальними спектрами розраховано інтенсивності комбінаційного розсіювання ДНК у Z-формі для різного ступеня заповнення (P) іон-фосфатної ґратки протийонами Mg^{2+} (Рис. 3.5). Параметр $P = 1$, якщо всі димери Z-ДНК містять протийони Mg^{2+} і P дорівнює 0,

якщо в димерах немає протийонів. Інтенсивності моди нормовані на інтенсивність моди ω_{H1} . Напівширина спектральних ліній вважається рівною 5 см^{-1} .

Отриманий спектр для зручності аналізу розділено на чотири інтервали з однаковою за порядком величини інтенсивністю мод конформаційних коливань ДНК (Рис. 3.5 а - г). Інтервал $(0-40) \text{ см}^{-1}$ (Рис. 3.5а) характеризується модами коливань остова (**B**). Ці моди є найбільш інтенсивними в низькочастотному спектрі ДНК, оскільки їх енергія менша за $k_B T$ при кімнатній температурі. Через високу інтенсивність моди коливань остова подвійної спіралі спостерігаються в експериментальному спектрі у вигляді піку близько 25 см^{-1} [226]. У міру заповнення іон-фосфатної ґратки протийонами Mg^{2+} у димерах інтенсивність цієї смуги зменшується.

В інтервалі частот $(40-60) \text{ см}^{-1}$ (Рис. 3.5б) спостерігається смуга, що характеризує внутрішньонуклеозидні коливання (**S**). Інтенсивність цієї смуги істотно нижча, ніж у смуги, утвореної модами коливань остова. Тому в експериментальному спектрі [226] S-смуга спостерігається як слабка мода близько 45 см^{-1} . Залежність інтенсивності цієї лінії від параметра заповнення P слабка.

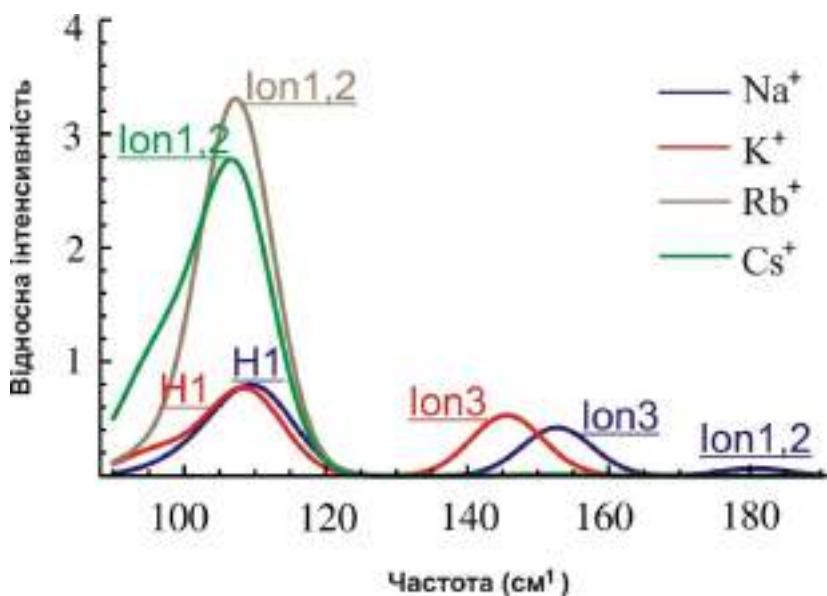


Рис. 3.4. Низькочастотний спектр Z-ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ та Cs^+ зовні подвійної спіралі (одноланцюжкова нейтралізація) і протийонами Mg^{2+} всередині мінорного жолоба (міжланцюжкова нейтралізація). Півширина усіх спектральних ліній була взята 5 см^{-1} . Рисунок з роботи дисертанта [41].

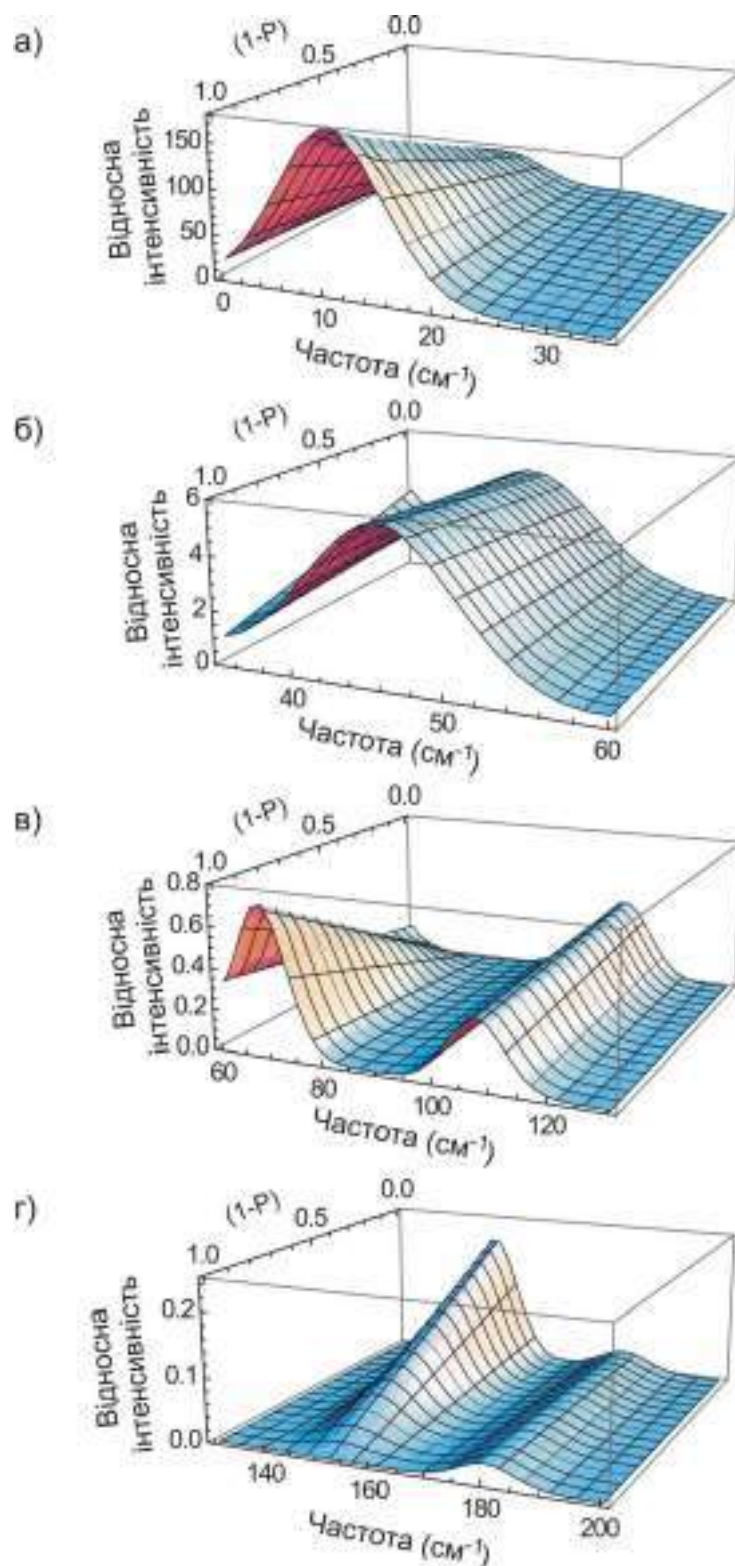


Рис. 3.5. Низькочастотний спектр Z-ДНК у випадку різного заповнення іон-фосфатної ґратки протийонами Mg^{2+} всередині мінорного жолоба для різних діапазонів частот: а) коливання остова подвійної спіралі від 0 до 40 cm^{-1} (**B**); б) внутрішньонуклеозидні коливання від 40 до 60 cm^{-1} (**S**); в) коливання розтягу водневих зв'язків від 30 до 130 cm^{-1} (**H**); г) іон-фосфаті коливання від 130 до 200 cm^{-1} (**Ion**). Рисунок з роботи дисертанта [43].

Частотний інтервал $(60-130) \text{ см}^{-1}$ (Рис. 3.5в) характеризується двома смугами 70 і 110 см^{-1} , які зумовлені модами розтягу водневих зв'язків у парах основ (**H**). Інтенсивність смуги 70 см^{-1} зменшується в міру збільшення заповнення іон-фосфатної ґратки протийонами Mg^{2+} , а інтенсивність смуги 110 см^{-1} залишається без змін. Порівняння розрахункових спектрів (Рис. 3.5в) з експериментальними спектрами комбінаційного розсіювання [208,226] показує, що на цих частотах існують дві інтенсивні моди. Частота та інтенсивність спостережуваних мод узгоджуються з результатами розрахунків.

У спектральному інтервалі $(130-200) \text{ см}^{-1}$ (Рис. 3.5г) присутні дві смуги 150 і 180 см^{-1} , що характеризують іон-фосфатні коливання протийонів Mg^{2+} і Na^{+} відповідно (**Ion**). Залежність інтенсивності від параметра заповнення P істотна лише у випадку мод іон-фосфатних коливань протийонів Mg^{2+} . Порівняння з експериментальним спектром показує, що в спектрі комбінаційного розсіювання Z-ДНК спостерігається дуже слабка мода близько 153 см^{-1} [226], що відповідає розрахунковій смузі 150 см^{-1} . Коливання протийонів Na^{+} не спостерігаються у низькочастотному спектрі Z-ДНК.

ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ

За допомогою побудованих в даній роботі моделей конформаційних коливань ДНК з протийонами розраховано частоти і амплітуди коливань структурних елементів макромолекули з Na^{+} , K^{+} , Rb^{+} , Cs^{+} та Mg^{2+} для випадку різних форм подвійної спіралі. Зокрема, вивчено коливання протийонів, що нейтралізують негативно заряджені фосфатні групи правої (B-форма) та лівої (Z-форма) подвійних спіралей ДНК. У випадку правої подвійної спіралі протийони локалізовані зовні макромолекули поблизу фосфатних груп, тоді як у випадку лівої подвійної спіралі також є двовалентні протийони Mg^{2+} , локалізовані в мінорному жолобі між фосфатними групами різних ланцюжків ДНК. Результати показують, що моди внутрішніх коливань лівої подвійної спіралі, що пов'язані з розтягом водневих зв'язків в парах нуклеотидів, внутрішньонуклеозидними коливаннями та коливання остова, змінюють значення частот у порівнянні з

правою подвійною спіраллю ДНК. Ці зміни викликані димерною структурою розташування пар нуклеотидів в подвійній спіралі Z-ДНК. Частоти цих мод поступово зменшуються із збільшенням маси протийону так само, як і у випадку B-форми подвійної спіралі. Моді іон-фосфатних коливань знаходяться у діапазоні частот від 100 до 180 см^{-1} . Аналіз амплітуд коливань показав, що у випадку правої подвійної спіралі B-ДНК важкі протийони (Rb^+ та Cs^+), що нейтралізують фосфатні групи зовні подвійної спіралі впливають на характер руху в парі нуклеотидів, тоді як легкі протийони (Na^+ та K^+) виконують роль нейтралізуючих зарядів і не збурюють внутрішньої динаміки ДНК. У випадку лівої Z-форми подвійної спіралі внутрішні коливання менш чутливі до коливань зовнішніх протийонів. Частота коливань протийонів Mg^{2+} в Z-ДНК не залежить від коливань одновалентних протийонів, що знаходяться зовні подвійної спіралі.

За допомогою розвинутого в дисертації підходу для розрахунку інтенсивностей мод конформаційних коливань ДНК в спектрах комбінаційного розсіювання світла (КР) розраховано низькочастотні спектри КР ДНК з різними протийонами для випадку різних форм подвійної спіралі. Розрахунки показали, що найбільш інтенсивними модами в спектрах КР B-ДНК з Na^+ та Cs^+ є моди коливань нуклеозидів як фізичних маятників відносно остова макромолекули (біля 15 см^{-1}), що узгоджується з експериментальними даними. В більш високочастотній області, в діапазоні від 40 см^{-1} в спектрі Na-ДНК найбільш інтенсивними є моди розтягу водневих зв'язків в парах азотистих основ поблизу 60 та 110 см^{-1} . Інтенсивності інших мод цього діапазону спектру значно менші.

Розрахунки для B-ДНК з протийонами Cs^+ показали, що у низькочастотному діапазоні найбільш інтенсивною є смуга поблизу 115 см^{-1} , що пов'язана з модами іон-фосфатних коливань. Інтенсивність цієї смуги в спектрі Cs-ДНК майже вдвічі більша, ніж у смуг 60 – 110 см^{-1} в спектрі Na-ДНК, що узгоджується з експериментальними спектрами КР водних розчинів ДНК з протийонами Na^+ та Cs^+ [25]. Моді іон-фосфатних коливань для Na-ДНК, згідно з нашими розрахунками, знаходяться поблизу 180 см^{-1} і мають значно меншу інтенсивність. Таким чином, мода іон-фосфатних коливань Cs-ДНК має значну інтен-

сивність в спектрі КР, в той час, як у випадку Na-ДНК її інтенсивність на порядок менша. Цей результат повністю узгоджується з експериментом [25] та дозволяє дати однозначну інтерпретацію одержаних нами даних.

Для лівої подвійної спіралі Z-ДНК визначено нову моду іон-фосфатних коливань біля 150 см^{-1} , яка характеризує коливання протийонів Mg^{2+} відносно фосфатних груп різних ланцюжків. Розрахунки показали, що інтенсивність цієї моди в спектрах КР досить висока, тому це дає підстави вважати, що мода, яка спостерігається в експериментальних спектрах КР Z-ДНК в цій області [226], є модою іон-фосфатних коливань протийонів Mg^{2+} . Згідно з нашим розрахунком, моди іон-фосфатних коливань протийонів Mg^{2+} в мінорному жолобі ДНК та моди коливань K^+ зовні подвійної спіралі мають близькі частоти, тому в низькочастотних спектрах Z-ДНК ці моди утворюють загальну смугу з високою інтенсивністю. В експериментальних спектрах Z-ДНК з протийонами K^+ та Mg^{2+} має спостерігатися збільшення інтенсивності смуги 150 см^{-1} за рахунок мод іон-фосфатних коливань. Тому для подальшого дослідження іон-фосфатних коливань Z-ДНК доцільно використовувати зразки з протийонами K^+ та Mg^{2+} .

Таким чином проведені розрахунки на основі розвинутого в даній роботі підходу для описання конформаційних коливань ДНК з протийонами та визначення інтенсивностей коливальних мод в спектрах КР дало можливість визначити характеристики впорядкування протийонів навколо подвійної спіралі, що проявляються в експериментальні. Найважливішою характеристикою є моди іон-фосфатних коливань, які безпосередньо пов'язані з динамікою протийонів зв'язаних з ДНК. Порівняння одержаних результатів з експериментальними даними в ряді випадків підтверджує існування мод іон-фосфатних коливань в низькочастотних спектрах ДНК. Іон-фосфатні коливання є спектроскопічним проявом впорядкованості системи протийонів навколо подвійної спіралі і є підтвердженням сформульованої в представленій роботі концепції динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК.

РОЗДІЛ 4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПОРЯДКУВАННЯ ПРОТИЙОНІВ У ВОДНИХ РОЗЧИНАХ ДНК З СОЛЯМИ ЛУЖНИХ МЕТАЛІВ

4.1. Прояви впорядкування протийонів при формуванні текстур в плівках ДНК з різними солями лужних металів

Дослідження текстур в плівках ДНК виконано автором спільно з канд. фіз.-мат. наук Г.М. Глибицьким і д-р. фіз.-мат. наук С.Н. Волковим. Експериментальне дослідження виконувалися в Інституті радіофізики і електроніки ім. О.Я. Усикова НАН України у відділі біологічної фізики. Безпосереднє виконання експериментів здійснювалося кандидатом фіз.-мат. наук, ст.н.с. Глибицьким Геннадієм Марковичем. Результати експериментів спільно оброблялися, аналізувалися та обговорювалися разом. За результатами спільних досліджень було написано статтю [67], яку опубліковано в журналі *Biopolymers* (Q1). Автор висловлює щирі вдячності своїм колегам. Результати роботи неодноразово доповідалися на семінарах та наукових зібраннях різного рівня, зокрема на наукових конференціях [68–70].

4.1.1. Формування текстур у висушених плівках ДНК. Як відомо, в певних умовах протийони можуть індукувати агрегацію макромолекул ДНК, що супроводжується утворенням стабільних ДНК-ДНК комплексів. В результаті макромолекула ДНК може стиснутися до дуже компактного об'єму, близького до об'єму ДНК в ядрі клітини або вірусному капсиді. Відомо, що наявність полівалентних протийонів є необхідною умовою агрегації ДНК у водних розчинах [154,162,252]. Водночас, одновалентні протийони викликають утворення дендритних текстур після випаровування водного розчину, що містить довгі макромолекули ДНК та високу концентрацію хлоридів лужних металів [26,126,253]. Утворення анізотропних текстур ДНК і форма цих текстур істотно залежать від типу надлишкової солі. Зокрема, у випадку хлоридів лужних металів солі NaCl, KCl та RbCl індукують утворення анізотропних текстур в плівках ДНК при висушуванні водних розчинів, тоді як LiCl та CsCl таких текстур не утворюють те-

кстур [26,27]. Молекулярний механізм впливу іонів металів та роль типу солі у формуванні текстур ДНК у плівках досі не був встановлений. Дослідження утворення текстур у плівках ДНК є важливим для розуміння фундаментальних механізмів агрегації ДНК у біологічних системах та для розробки тест-систем для визначення стану макромолекул ДНК із солями різних металів.

Дослідження текстур плівок Na-ДНК, отриманих із розчину з надлишком солі NaCl, методами скануючої електронної та тунельної мікроскопії показує, що речовина текстури складається з іонів надлишкової солі (Na^+ та Cl^-) та макромолекул ДНК [254]. Інфрачервоні спектри показують, що макромолекула ДНК, локалізована у текстурі плівки, має однотяжову, а не двоспіральну конформацію [255]. Водночас, експерименти з однією молекулою (*single-molecule experiments*) показують, що у розчині молекули ДНК зберігають форму подвійної спіралі до їх агрегації [256]. Отже, експериментальні дані показують, що текстури плівок виникають в результаті агрегації одноланцюжкових або двоспіральних макромолекул ДНК з іонами надлишкової солі.

Як відомо, в природних умовах макромолекули ДНК не утворюють жодних міжмолекулярних ДНК-ДНК комплексів через електростатичне відштовхування між фосфатними групами, оскільки нейтралізується лише біля 76% заряду подвійної спіралі [19-22]. Утворення міжмолекулярних комплексів ДНК можливе зі збільшенням нейтралізації заряду подвійної спіралі до рівня >90% [15,154]. Розрахунки електростатичної взаємодії між подвійними спіралями ДНК в рамках феноменологічних моделей [8,162] та комп'ютерного моделювання [257–260] показують, що макромолекули в таких системах можуть притягуватися одна до одної за рахунок кореляцій між протийонами та їх просторовим розташуванням відносно фосфатних груп подвійної спіралі.

Впорядкування протийонів на навколо подвійної спіралі ДНК та ступінь нейтралізації зарядів на подвійній спіралі залежать від концентрації надлишкової солі у розчині. При збільшенні концентрації надлишкової солі може утворюватися регулярна структура протийонів і фосфатних груп подвійної спіралі. Таку регулярну структуру можна інтерпретувати як іонну ґратку. Концепція

іон-фосфатної ґратки ДНК успішно використовувалася для визначення коливань протийонів в ДНК [216,223]. Зближення різних макромолекул ДНК має призвести до утворення загальної структури з ДНК і протийонів, що є по суті новим типом іон-фосфатної ґратки, нормування якої стабілізує ДНК-ДНК комплекси і забезпечує ріст текстур в плівках.

4.1.2. Експериментальне дослідження текстуроутворення у плівках ДНК з хлоридами лужних металів. Текстури у плівках ДНК отримані в рамках методики, розвиненої в роботах [26,27]. Зразки плівок ДНК готувалися з вихідного високополімерного розчину Na-ДНК тимусу теляти (препарат фірми *Serva Co.*). Для вивчення впливу різних надлишкових солей формування анізотропних текстур вихідні розчини ДНК з різними типами надлишкових солей готувалися шляхом додавання 2 мг ДНК до 10 мл водного розчину хлориду лужного металу (LiCl, NaCl, KCl, RbCl, і CsCl). Концентрації надлишкових солей становили 5 ммоль/л, 10 ммоль/л та 30 ммоль/л. Розчини витримували 10 годин за температури 8 – 10 °С. Після цього, перемішавши лабораторним міксером протягом 8 годин, розчини були готові до подальшого дослідження. Так само були приготовлені плівки з такими ж концентраціями солей без макромолекул ДНК.

Приготовлені розчини заливали у кювету площею $S = 400 \text{ мм}^2$ та висотою бічних стінок 1 мм. Були використані два типи підкладок із силікатно-натрієвого скла та кварцового скла. Розчини висушувалися у камері з відкачуванням повітря. Відносна вологість (в.в.) повітря в камері залежала від часу та знаходилася в діапазоні від 20% в.в. до 35% в.в. Температура в камері підтримувалася на рівні 30-40°C. Плівки ДНК одержували випаровуванням відповідного розчину протягом 4-6 годин. Плівки надлишкових солей LiCl, NaCl, KCl, RbCl та CsCl з макромолекулами ДНК і без них фотографуються у білому поляризованому світлі (Рис. 4.1). Результати показали, що у випадку плівок ДНК із солями NaCl, KCl та RbCl з'являються чіткі дендритні текстури (площа текстур становить понад 60% площі плівки). Водночас, плівки ДНК з надлишком солей CsCl і LiCl практично немає анізотропних текстур (Рис. 4.1а). Площа анізотропної фази становить менше 5% площі плівки (Табл. 4.1).

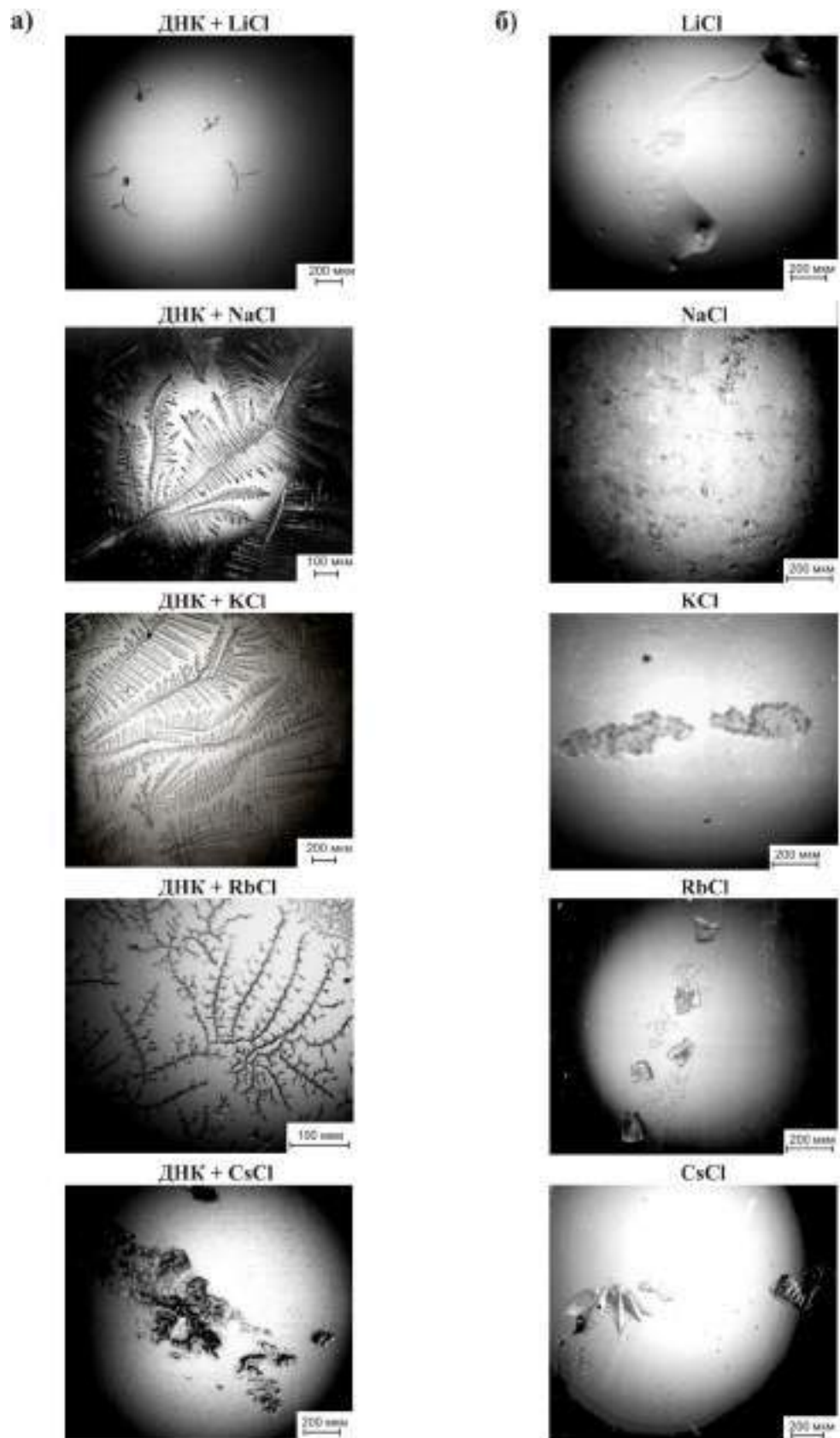


Рис. 4.1. Плівки отримані випаровуванням 10 ммоль/л розчину хлоридів лужних металів. а) Плівки, що містять ДНК тимусу теляти (концентрація ДНК у вихідному розчині 0,2 мг/мл). б) Плівки, отримані випаровуванням сольового розчину без ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [67].

Таблиця 4.1. Характеристика плівок ДНК та умови експерименту.

Надлишкова сіль	Площа текстур (%)	Температура (°C)	в.в. (%)
LiCl	<3	30	40
NaCl	>60	30	30
KCl	>60	40	38
RbCl	>60	40	20
CsCl	<3	40	38

У випадку плівок без ДНК дендритні текстур не утворюються, а невеликі кристали солі спостерігаються лише в деяких зразках (Рис. 4.1б). Для визначення залежності утворення текстур від концентрації надлишкової солі було досліджено плівки ДНК, що змінюють концентрацію надлишкової солі. Отримані плівки для CsCl (30 ммоль/л), KCl (5 ммоль/л) та RbCl (5 ммоль/л) показані на рисунку 4.2. Можна бачити, що збільшення концентрації надлишкової солі CsCl призводить до утворення текстур у плівці. Водночас, зі зменшенням концентрації солі KCl зменшується площа текстур. У випадку RbCl текстур практично зникають при зменшенні концентрації солі. Концентраційна залежність формування текстури в плівках ДНК з NaCl досліджувалась в роботі [26], і результати аналогічні отриманим у даній роботі плівкам ДНК з надлишком солі KCl. У разі надлишку солі LiCl збільшення концентрації солі не викликає утворення текстури у плівці ДНК.

Таким чином, експериментальні дані показують, що формування анізотропних текстур у плівках ДНК залежить як від типу, так і від концентрації надлишкової солі. У випадку NaCl, KCl та RbCl плівки ДНК мають чітку дендритну структуру, якщо концентрація надлишкових солей у вихідному розчині становить 10 ммоль/л. При збільшенні концентрації CsCl до 30 ммоль/л з'являються текстур, а при зменшенні концентрації RbCl і KCl до 5 ммоль/л площа текстури зменшується. Плівки ДНК із LiCl не мають текстур незалежно від надмірної концентрації солі. Плівки, отримані випаровуванням розчинів без

ДНК, не характеризуються дендритною текстурою за однакових рівнів вологості (20–35% в.в.).



Рис. 4.2. Текстури плівок ДНК із надлишком солей CsCl (30 ммоль/л), KCl (5 ммоль/л) та RbCl (5 ммоль/л). Концентрація ДНК у вихідному розчині становить 0,2 мг/мл. Рисунок з роботи дисертанта [67].

4.1.3. Формування патернів в плівках ДНК. Для того, аби визначити механізм формування текстур проаналізуємо стан макромолекули ДНК під час випаровування розчину. У вихідному розчині макромолекули ДНК мають клубкоподібну форму через велику котурну довжину. У випадку низької концентрації клубка ДНК не перекриваються (розведений розчин), тоді як за високої концентрації клубки ДНК частково перекриваються (насичений розчин). Стан ДНК у вихідному розчині можна визначити шляхом оцінки загального об'єму макромолекул ДНК з використанням моделі персистентної довжини [261]. В рамках цієї моделі середньоквадратична відстань між кінцями макромолекули визначається наступним чином:

$$D^2 = 2P^2(L_0 / L_p - 1 + e^{-L/P}), \quad (4.1)$$

де L_0 та L_p контурна та персистентна довжини макромолекули, відповідно.

У цьому експерименті використовується ДНК що виділена з тимусу теляти. середня довжина такої ДНК близько 5 мкм [262]. Як відомо, характерна персистентна довжина ДНК становить біля 500 Å [1,14]. Для таких параметрів середній розмір клубка ДНК становить $\bar{D} \approx 0.67$ мкм, а об'єм спіралі – $\bar{D}^3 \approx 0.3$ мкм³. З урахуванням середньої кількості макромолекул ДНК у вихідному роз-

чині ($n_0 = 7 \cdot 10^{12}$) загальний об'єм клубків ДНК становить $n_0 \bar{D}^3 \approx 2$ мл. Порівнюючи отриманий об'єм спіралей ДНК з об'ємом розчину в експериментальній комірці (близько 0,5 мл), можна зробити висновок, що клубки макромолекул ДНК перекриваються, і вихідний розчин біополімеру знаходиться в насиченому стані (Рис. 4.3а).

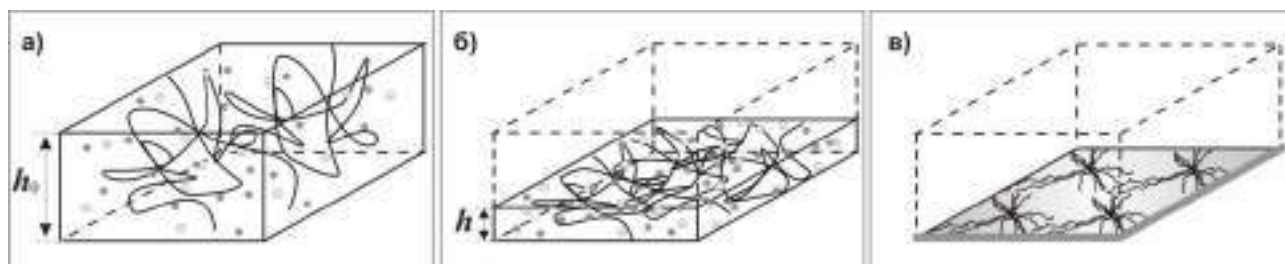


Рис. 4.3. Формування текстури плівки ДНК. а) Початковий насичений розчин ДНК. б) Насичений розчин ДНК з максимальною концентрацією надлишку солі. в) Висушена плівка ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [67].

В результаті випаровування об'єм розчину зменшується, а разом з ним і відстань між макромолекулами ДНК. При цьому концентрація надлишкової солі збільшується і з певного моменту досягає максимального значення (Рис. 4.3б). Фосфатні групи подвійної спіралі ДНК у розчині з максимальною концентрацією надлишкової солі мають бути максимально нейтралізовані, оскільки в таких умовах відбувається асоціація позитивно заряджених та негативно заряджених іонів [135]. В даному випадку об'єм розчину зменшується за рахунок зменшення висоти розчину в експериментальній комірці, і критична висота розчину ДНК, що відповідає максимальній концентрації надлишкової солі, може бути оцінена як $h = h_0 c_0 / c_{\max} + V / S$, де h_0 - початкова висота розчину в експериментальному осередку, c_0 і $c_{\max}$ - початкова концентрація та межа розчинності надлишку солі відповідно, V - об'єм, який займає макромолекула ДНК, S - площа плівки. Величина об'єму оцінюється за геометричними розмірами подвійної спіралі ДНК. Межі розчинності хлоридів лужних металів відомі [263]. В результаті розрахунків оцінено критичні висоти розчинів ДНК для хлоридів лужних металів (Таблиця 4.2). Для характеристики стану розчину розрахункові

значення відстаней між іонами та поверхнею ДНК за максимальної концентрації надлишкових солей також наведені в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2. Параметри розчину: a_0 та d – відстані між іонами та поверхнею ДНК при максимальній концентрації надлишкових солей ($c_{\max}$) відповідно; h – критична висота плівок ДНК із концентрацією $c_{\max}$. Концентрація надлишку солі у вихідному розчині становить 10 ммоль/л.

Сіль	LiCl	NaCl	KCl	RbCl	CsCl
$c_{\max}$, М	15,0	6,0	4,6	8,2	11,1
a_0 (Å)	3,8	5,2	5,7	4,7	4,7
d (Å)	16	38	45	29	22
h (µm)	0,5	1,9	2,5	1,6	1,2

З таблиці видно, що концентрація різних надлишкових солей досягає рівня межі розчинності при різній висоті розчину в комірці. Значення критичної висоти розчину змінюються у такому порядку: $\text{KCl} > \text{NaCl} > \text{RbCl} > \text{CsCl} > \text{LiCl}$. Середня відстань між іонами в розчині (a_0) та середня відстань між поверхнями ДНК (d) для різних солей знаходиться у такому самому порядку. Слід зазначити, що цей порядок корелює з тим, які на експерименті проявляється здатність солей викликати утворення текстур у плівках ДНК (див. Рис. 4.1а). Величина об'єму, при якому поверхневий заряд макромолекул ДНК максимально екранований, повинна мати таку залежність від типу надлишку солі. Подальше випаровування розчину призводить до кристалізації іонів солі та утворення ДНК-сольових комплексів. Ці комплекси осідають на поверхні та утворюють текстури, що спостерігаються в експерименті (Рис. 4.3в).

4.1.4. Моделювання сольових комплексів ДНК. Для опису процесу утворення ДНК-сольового комплексу оцінимо енергію іона поблизу ДНК у розчині солі. При цьому вважатимемо, що концентрація солі достатньо висока і протийони разом з фосфатними групами впорядковуються вздовж остова по-

двійної спіралі, утворюючи регулярну структуру (іон-фосфатну ґратку ДНК). Закріплені заряди іон-фосфатної ґратки притягують до себе іони розчину. В результаті такої взаємодії відбувається впорядкування іонів і утворення регулярної динамічної структури з періодично розташованих катіонів та аніонів, які нейтралізують одне одного. Таким чином, в розчині ДНК з високою концентрацією солі заряди впорядковуються, утворюючи просторову структуру, подібну до кристалічної ґратки.

Для визначення енергії іону в такій системі розглянемо ґратку, в вузлах якої з певною імовірністю знаходиться заряд. Оскільки взаємодія між фосфатними групами остова подвійної спіралі та мобільними іонами розчину обумовлена переважно електростатичними силами, то будемо враховувати лише електростатичну частину енергії взаємодії. Подібно до того, як це робиться в теорії іонних кристалів [204] енергія деякого іону в кристалічній ґратці може бути записана у наступному вигляді:

$$U_0 = \frac{M_\alpha e^2}{4\pi\epsilon(a)\epsilon_0 a}, \quad (4.2)$$

де M_α – константа Маделунга системи, $\epsilon(a)$ – діелектрична проникність розчину, a – відстань між іонами.

Для визначення константи Маделунга розглянемо кубічну кристалічну ґратку з характерними відстанями між зарядами a та b (Рис. 4.4). При цьому параметр b характеризує відстань між зарядами на ДНК, тому ця відстань є фіксованою і визначається структурою іон-фосфатної ґратки. Натомість параметр a може змінюватися, залежно від концентрації солі, і може бути однозначно зв'язаний з концентрацією солі у розчині.

В такому випадку константу Маделунга можна записати у вигляді:

$$M_\alpha = P^2 M_0, \quad (4.3)$$

де P імовірність знаходження заряду в даному вузлі, M_0 – константа Маделунга ґратки, в якій усі заряди знаходяться у вузлах зі стовідсотковою імовірністю (ідеальна ґратка). Для спрощення подальших викладок вважатимемо ґратку

двовимірною. В такому випадку константу Маделунга ідеальної ґратки можна записати у вигляді:

$$M_0 = 2 \sum_{n=1}^{N_n} \frac{(-1)^{n+1}}{n} + 2 \sum_{i=1}^{N_i} \frac{x(-1)^{i+1}}{i} + 4 \sum_{n=1}^{N_n} \sum_{i=1}^{N_i} \frac{x(-1)^{n+i+1}}{\sqrt{(nx)^2 + i^2}}, \quad (4.4)$$

де $x = a/b$. У випадку необмеженого кристалу (N_n і N_i прямують до нескінченності) суми типу $\sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{n+1}}{n} = \ln 2$, в результаті формула (4.4) може бути переписана у наступному вигляді:

$$M_0 = 2(1+x)\ln 2 - 4 \sum_{n=1}^{\infty} \sum_{i=1}^{\infty} \frac{x(-1)^{n+i}}{\sqrt{(nx)^2 + i^2}}. \quad (4.5)$$

Слід зазначити, що в сольовому розчині без ДНК відстані між зарядами a та b будуть однаковими, тому константу Маделунга у цьому випадку можна одержати, поклавши $x = 1$.

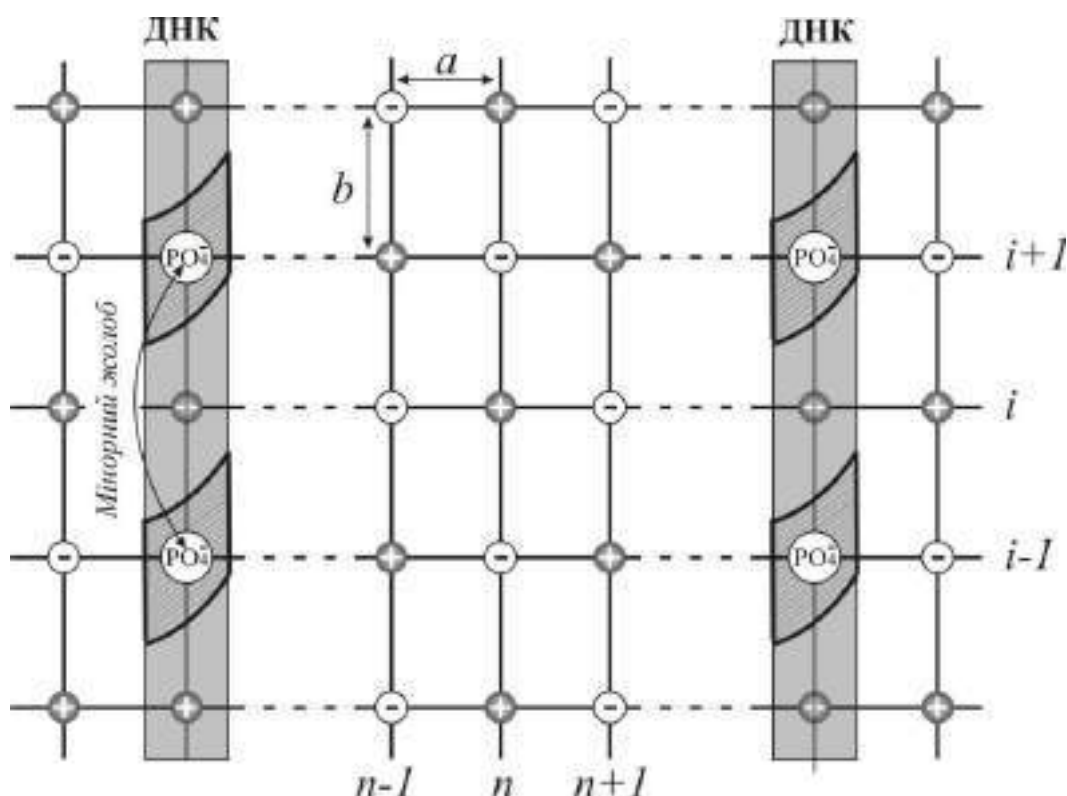


Рис. 4.4. Модель динамічного впорядкування іонів солі навколо макромолекул ДНК під час висушування водного розчину. Рисунок з роботи дисертанта [67].

Імовірність знаходження іону в даній точці будемо шукати у вигляді:

$$P = 1 - \exp\left(-\frac{\Delta U}{k_B T}\right), \quad (4.6)$$

де доданок з експонентою описує імовірність стрибка іону через потенціальний бар'єр висотою ΔU внаслідок температурних флуктуацій, які характеризуються температурою системи T ; k_B – стала Больцмана.

Висоту потенціального бар'єру ΔU будемо визначати, виходячи з різниці електростатичних енергій іону в ідеальній ґратці, та іону що знаходиться в ґратці, що занурена в електролітний розчин. В такому наближенні для потенціального бар'єру можна записати:

$$\Delta U = \frac{(M_0 - M_s)e^2}{4\pi\epsilon(a)\epsilon_0 a}, \quad (4.7)$$

де M_s – константа Маделунга ґратки в електролітному розчині.

Враховуючи, що взаємодію між зарядами в електролітному розчині можна описувати за допомогою кулонівського потенціалу з дебаєвським екрануванням, для M_s одержуємо наступний вираз:

$$M_s = 2 \left(e^{-\frac{a}{\xi(a)}} + x e^{-\frac{b}{\xi(a)}} \right) \ln 2 - 4 \sum_{n=1}^{\infty} \sum_{i=1}^{\infty} \frac{x(-1)^{n+i} e^{-\frac{b\sqrt{(nx)^2 + i^2}}{\xi(a)}}}{\sqrt{(nx)^2 + i^2}}, \quad (4.8)$$

де $\xi(a) = \sqrt{2a^2 b \epsilon(a) \epsilon_0 k_B T / e^2}$ – радіус Дебая. Константи M_0 і M_s відрізняються

тим, що в M_s кожен доданок множиться на експоненту типу $e^{-\frac{a}{\xi(a)}}$, яка характеризує екранування заряду в електролітному розчині.

Для проведення безпосередніх розрахунків також необхідно визначити і діелектричну проникність середовища. Значення діелектричної проникності залежить як від концентрації солі у розчині, так і від концентрації ДНК. Тому в процесі випаровування діелектрична проникність буде змінюватися. Зміну діелектричної проникності від відстані між зарядами в ґратці будемо описувати за допомогою функції, яка на малих відстанях ($a \approx r_0$) буде давати значення діеле-

ктричної проникності такі, як в іонних кристалах (ε_{latt}), а на великих відстанях ($a \approx R_0$) такі як у розчині (ε_{sol}):

$$\varepsilon(a) = \begin{cases} \varepsilon(r_0) = \varepsilon_{latt}; \\ \varepsilon(R_0) = \varepsilon_{sol}; \end{cases} \quad (4.9)$$

де r_0 – відстань, яка відповідає сумі радіусів Полінга катіона і аніона, R_0 – відстань, на якій можна вважати, що заряди знаходяться в об'ємній фазі розчину. В даній роботі цю відстань візьмемо рівною радіусу Дебая при початковій концентрації солі у розчині $R_0 \approx \xi(\nu_0)$. Для проведення чисельних оцінок в даній роботі можна використовувати будь-яку функцію, яка буде плавно змінюватися і задовольнятиме умови (4.9). В даній роботі було обрану наступну функцію:

$$\varepsilon(a) = \varepsilon_{lat} + \varepsilon_{sol} - \varepsilon_{sol} \left(\frac{\varepsilon_{lat}}{\varepsilon_{sol}} \right)^{\frac{a-r_0}{R_0-r_0}}. \quad (4.10)$$

Використовуючи формули (4.2) – (4.10) можна оцінити енергію іона в насиченому сольовому розчині ДНК.

В даній роботі розрахунки проводилися для двох випадків: перший – сольовий розчин з макромолекулами ДНК в двоспиральному стані (В-форма подвійної спіралі), і другий – сольовий розчин з макромолекули ДНК в одноланцюжковому стані. Стан макромолекули ДНК визначає положення зарядів в іон-фосфатній ґратці. Водночас, в нашій моделі відстань між зарядами іон-фосфатної ґратки визначає параметр ґратки b у розчині солі.

У випадку подвійної спіралі ДНК при високій концентрації солі протийони займають положення в жолобах між фосфатними групами остова макромолекули. Тому в наших розрахунках вважатимемо, що середня відстань між фосфатними групами в одно ланцюжковій ДНК дорівнює половині ширини мінорного жолоба $b = 7 \text{ \AA}$. У випадку односпиральної ДНК протийони розташовуються між фосфатними групами одного тяжа, відстань між якими приблизно $7 \text{ \AA}$, тому параметр в цьому випадку $b = 3,5 \text{ \AA}$ (Рис. 4.4). Діелектрична проникності ґратки для різних типів солей була взята відповідно до значень діелектричної проникності іон-фосфатної ґратки з різними протийонами, яка змінюється в межах

$\varepsilon_{lat} = 2,3 \div 2,6$ [216], а діелектрична проникність розчину була взята такою, як у води в об'ємній фазі. Радіус Дебая для розчину з концентрацією солі 0,01 моль/л (концентрація у вихідному розчині) дорівнює $R_0 \approx \xi(\nu_0) = 43 \text{ \AA}$. Використовуючи такі параметри була розрахована енергія іону в сольовому розчині з макромолекулами ДНК та без ДНК за формулами (4.2) – (4.10) (Рис. 4.5а).

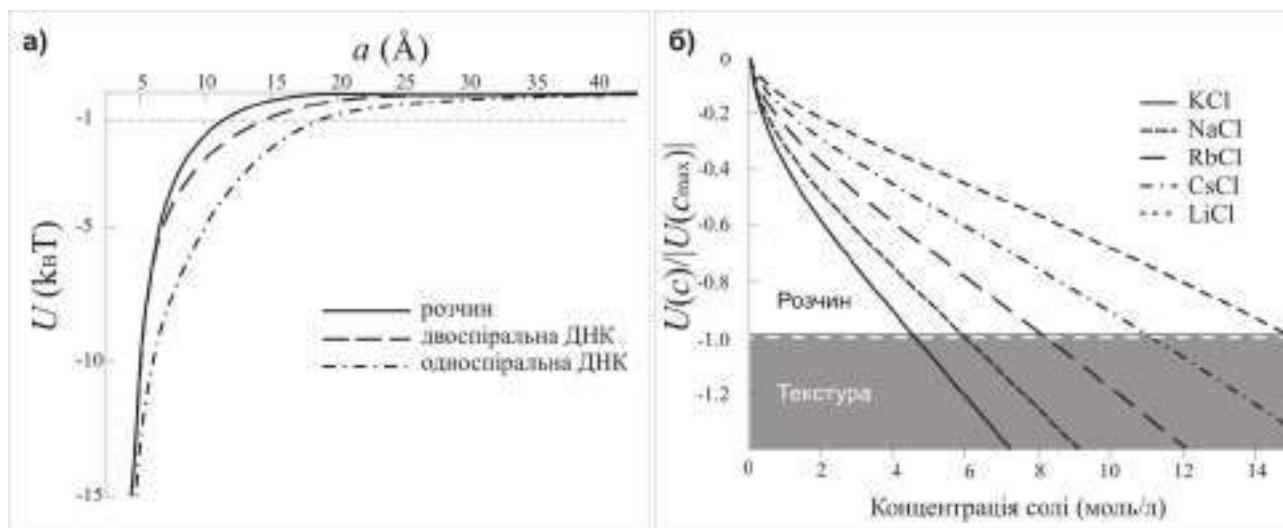


Рис. 4.5. а) Залежність енергії іону від відстані між зарядами для випадку розчину без ДНК, розчину з двоспіральною ДНК та одноланцюжковою ДНК. б) Залежність енергії іонів від концентрації надлишку солі в розчині з одноланцюжковою ДНК. Значення енергії нормуються на значення енергії кристалізації. Горизонтальна пунктирна лінія показує рівень енергії кристалізації. Рисунок з роботи дисертанта [67]

Результати показують, що величина електростатичної енергії іона зменшується із зменшенням відстані між іонами. На відстані між іонами $a \approx 10 \div 20 \text{ \AA}$ енергія становить близько $-1k_B T$. Подальше зменшення відстані знижує значення енергії, що призводить до кристалізації іонів. Енергія іонів у розчині з ДНК зменшується швидше, ніж у чистому розчині, а у випадку одноланцюжкової ДНК енергія іонів значно нижча, ніж у випадку дволанцюгової ДНК. Таким чином, макромолекули ДНК є центрами кристалізації іонів у розчині, тому утворення кристалів солі починається в тих областях розчину, де локальна кон-

центрація ДНК вища. Це пояснює визначальну роль ДНК у процесі формування текстури плівок.

При досягненні максимальної концентрації надлишкової солі відстань між іонами залишається фіксованою ($a = a_0$). Подальше випаровування розчину призводить до кристалізації солі. Енергія кристалізації має бути близькою до енергії іона у насиченому сольовому розчині. Отже, для аналізу електростатичної енергії системи у випадку іонів різного типу слід враховувати співвідношення між енергією іонів у розчині з концентрацією c та енергією іонів у насиченому розчині солі з концентрацією $c_{\max}$. Залежність $U(c) / |U(c_{\max})|$ від концентрації у розчині показано Рис. 4.5б.

Результати для одноланцюгової ДНК показують, що енергія іона поступово зменшується до значення енергії кристалізації (біла пунктирна лінія на Рис. 4.5б) зі збільшенням концентрації солі. У випадку дволанцюгової ДНК залежність енергії іонів має практично такий самий характер, але значення максимальних концентрацій надлишкових солей можуть зсуватися. Однак це несуттєво для опису впливу типу надлишку солі на формування текстури. Зменшення енергії іонів, що відповідає куту нахилу енергетичної кривої, суттєво залежить від надлишку солі. Для солей лужних металів його можна розташувати в наступному порядку:

$$\text{KCl} > \text{NaCl} > \text{RbCl} > \text{CsCl} > \text{LiCl}. \quad (4.11)$$

Цей порядок визначається межами розчинності надлишкових солей. Отримана енергетична залежність іонів визначає властивість солі утворювати кристалічні структури у розчинах ДНК та текстури у плівках ДНК. Таким чином, отримані результати пояснюють експериментально спостерігається вплив типу надлишку солі на формування текстури в плівках ДНК.

Таким чином, текстури за своєю природою є комплексами ДНК та іонів солі, що утворюють загальну кристалічну ґратку. Такі комплекси утворюються через зменшення об'єму в результаті випаровування розчину, в якому центрами кристалізації в розчині є макромолекули ДНК. Властивість солі утворювати кристалічні структури контролюється межею розчинності, що визначає залежність утво-

рення текстури від типу солі. Запропонований механізм дозволяє пояснити експериментальні текстури, що спостерігаються для плівок ДНК з різними солями.

Вивчення випаровування водних розчинів ДНК є важливим для розуміння механізмів упаковки цих макромолекул у невеликі об'єми з невеликою кількістю молекул води, таких як вірусні капсиди або хроматин. Розуміння механізму формування текстур у плівках ДНК може надати важливу інформацію для розробки тест-систем з вибірковою відповіддю на концентрацію та тип протийонів у розчині ДНК, стан подвійної спіралі, присутність макромолекул ДНК та молекулярну масу. ДНК. Беручи до уваги той факт, що багато біологічних рідин містять молекули ДНК або їх фрагменти, зазначені вище параметри розчинів полімерів можуть бути використані для розробки нових методів діагностики для різних хімічних, біологічних та медичних застосувань.

4.2. Ефекти впорядкування протийонів в експериментах з електропровідності водних розчинів ДНК з солями лужних металів

Експериментальні дослідження водних розчинів ДНК з солями металів виконувалися на кафедрі молекулярної фізики фізичного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка під головуванням завідувача кафедри академіка НАН України Л.А. Булавіна в колективі студентів кафедри О.Г. Варені, Т.А. Кравцової, П. Кутової, О.О. Любиш, Д.О. Шамайка, а також разом з науковими працівниками кафедри канд. фіз.-мат. наук ст.н.с. О.О. Алексєєвим, канд. фіз.-мат. наук О.А. Загородньою, канд. фіз.-мат. наук доц. Г.М. Вербінською та канд. фіз.-мат. наук С. Ткачовим. Участь дисертанта у виконанні досліджень була на етапі постановки задачі, приготуванні зразків, інтерпретації результатів, побудови моделі та написанні текстів статей [59,63–66]. Автор представленої роботи висловлює щирю вдячність своїм колегам. Результати роботи неодноразово доповідалися на семінарах та наукових зібраннях різного рівня, зокрема на наукових конференціях [60–62].

Молекулярно-динамічне дослідження ДНК з протийонами K^+ у зовнішньому електростатичному полі виконано спільно з канд. фіз.-мат. наук О.О. Здоревським. Автор роботи висловлює йому щирі вдячності. Результати одержаних досліджень опубліковано в статті [71], яка була відібрана редакцією журналу для обкладинки випуску №12 European Physical Journal E (2020). Результати роботи неодноразово доповідалися на семінарах та наукових зібраннях різного рівня, зокрема на конференції [72].

4.2.1. Електропровідність водних розчинів ДНК. Оскільки заряджені частинки розчину взаємодіють з електричним полем, ефекти іонного впорядкування протийонів навколо подвійної спіралі можуть спостерігатися в експериментах з електропровідності водних розчинів ДНК. Як відомо, електричний струм у водних розчинах ДНК зумовлений рухом протийонів та макромолекул ДНК [63,264–269]. У випадку розчинів ДНК без додавання солі (безсольові розчини) електропровідність зростає зі збільшенням концентрації ДНК за рахунок динаміки протийонів іон-гідратної оболонки макромолекули [264,265]. Як показують дані квазіупругого розсіяння нейтронів на зразках ДНК [270], з підвищенням температури молекули води стають більш рухливими, і гідратна оболонка поступово руйнується з подальшим плавленням подвійної спіралі. Водночас, протийони виходять з іон-гідратної оболонки і електропровідність системи поступово збільшується. За температури плавлення ДНК (від 50 до 80 °C) відбувається раптова зміна електропровідності, зумовлена інтенсивним викидом протийонів з іон-гідратної оболонки ДНК [265]. При додаванні солі до розчину ДНК електропровідність залежить від типу протийонів та концентрації солі [264,265]. Залежність від типу протийонів, в основному, зумовлена різною рухливістю іонів [264], тоді як залежність від концентрації солі має відображати впорядкування іонів в розчині

Для з'ясування мікроскопічної картини процесу електропровідності в розчинах ДНК було розроблено феноменологічні підходи і проведено розрахунки на основі атом-атомних потенціальних функцій [271–273]. Результати показали, що динаміка протийонів поблизу поверхні ДНК модулюються зарядженими

атомними групами остова подвійної спіралі. Дослідження динаміки протийонів навколо подвійної спіралі показали, що частину часу вони проводять у комплексі з ДНК (приблизно $1\sim\text{нс}$), а іншу частину часу – у вільному стані [10–12,186,196,274]. Вільні протийони значною мірою визначають електропровідність розчину ДНК, що було враховано у феноменологічних моделях [271,273]. У той же час, протийони, що осіли на фосфатні групи, формують впорядковану динамічну структуру вздовж остова ДНК, яку можна розглядати як ґратку іонного типу (іон-фосфатну ґратку) [216,223]. Існування іон-фосфатної ґратки підтверджується спостереженням коливальних мод у низькочастотних спектрах комбінаційного розсіяння світла ДНК ($<200\text{ см}^{-1}$) [21,23,275,24,25,39,41,42,44,209,216]. Впорядкування протийонів навколо подвійної спіралі і формування іон-фосфатної ґратки має впливати на електропровідність водних розчинів ДНК.

Таким чином, результати попередніх досліджень вказують на те, що впорядкування протийонів навколо подвійної спіралі ДНК повинні мати свої прояви в експериментах з електропровідності. У зв'язку з цим в представленій роботі було проведено окреме дослідження електропровідності водних розчинів ДНК з солями лужних металів, зокрема, було проведено детальне дослідження для водної системи ДНК з сіллю KCl.

4.2.2. Експериментальне дослідження електропровідності водних розчинів ДНК. Для експериментального дослідження електропровідності водних розчинів ДНК зразки готувалися з використанням натрієвої солі ДНК з сім'яників лосося (виробництво компанії *Sigma-Aldrich Company*, номер продукту D1626). Середня довжина макромолекул ДНК становить приблизно 2000 пар основ [276]. Для приготування зразків порошок ДНК розчиняли в деіонізованій воді до концентрації 10 мг/мл. В результаті утворився густий гель. Для зменшення в'язкості рідинної системи ДНК, зразок обробляли за допомогою лабораторного автоматичного змішувача, а потім охолоджували до $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, не допускаючи замерзання води. Потім початковий розчин розбавляли водою до концентрації ДНК 2 мг/мл і додавали сіль KCl. Було одержано зразки водного

розчину ДНК з такими концентраціями солі: 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2,0 моль/л. Методика роботи з розчинами ДНК високої концентрації, яка була використана в процесі приготування зразків в даному експерименті, була детально апробована і описана в статтях [63–65,266]. Також були приготовлені водні розчини без ДНК з такими самими концентраціями солі KCl. Таким чином, досліджувалися дві серії зразків: розчини електроліту KCl та водні розчини ДНК з сіллю KCl.

Для визначення опору зразка, розчин (об'ємом приблизно 0,3 мл) заливався в циліндричний капіляр, вироблений з кварцового скла з двома платиновими електродами (електрод 1 та 2) та одним вольфрамовим електродом (електрод 3), які вбудовані в стінки капіляру (Рис. 4.6). Експериментальна комірка поміщала-ся в термостат. Опір визначався за змінного струму частотою 80 МГц. Виміря-ний опір має поляризаційні внески зразків та електродів. Для виключення внес-ків електродів вимірювання проводилися між різними парами електродів: 1 та 3, 2 та 3 (Рис. 4.6). У цьому випадку опір можна представити у вигляді:

$$\begin{aligned} R_{13} &= \frac{l_{13}}{\pi r^2 \sigma} + R_{Pt} + R_W; \\ R_{23} &= \frac{l_{23}}{\pi r^2 \sigma} + R_{Pt} + R_W; \end{aligned} \quad (4.12)$$

де R_{13} і R_{23} виміряні опори між електродами 1 та 3, 2 та 3, відповідно; l_{13} і l_{23} від-стані між електродами 1-3 та 2-3, відповідно; r радіус капіляра; σ питома про-відність, R_{Pt} і R_W опори платинових та вольфрамового електродів, відповідно. Перші члени рівнянь (4.12) описують опір зразка, а другі та треті описують по-ляризаційний опір електродів. З рівнянь (4.12) одержуємо наступну формулу для провідності зразків:

$$\sigma = \frac{l_{12}}{\pi r^2 (R_{13} - R_{23})}, \quad (4.13)$$

де l_{12} відстань між електродами 1-2. Використовуючи формулу (4.13), визнача-лася електропровідність зразків. Температурні залежності електропровідності сольового розчину (σ_{KCl}) та розчину ДНК з доданою сіллю ($\sigma_{DNA+salt}$) показано на Рис. 4.7.

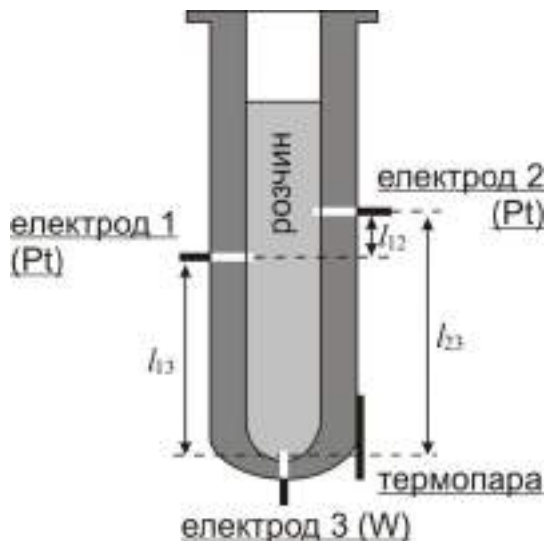


Рис.4.6. Схема експериментальної комірки для вимірювання електропровідності водних розчинів електролітів. Рисунок з роботи дисертанта [59].

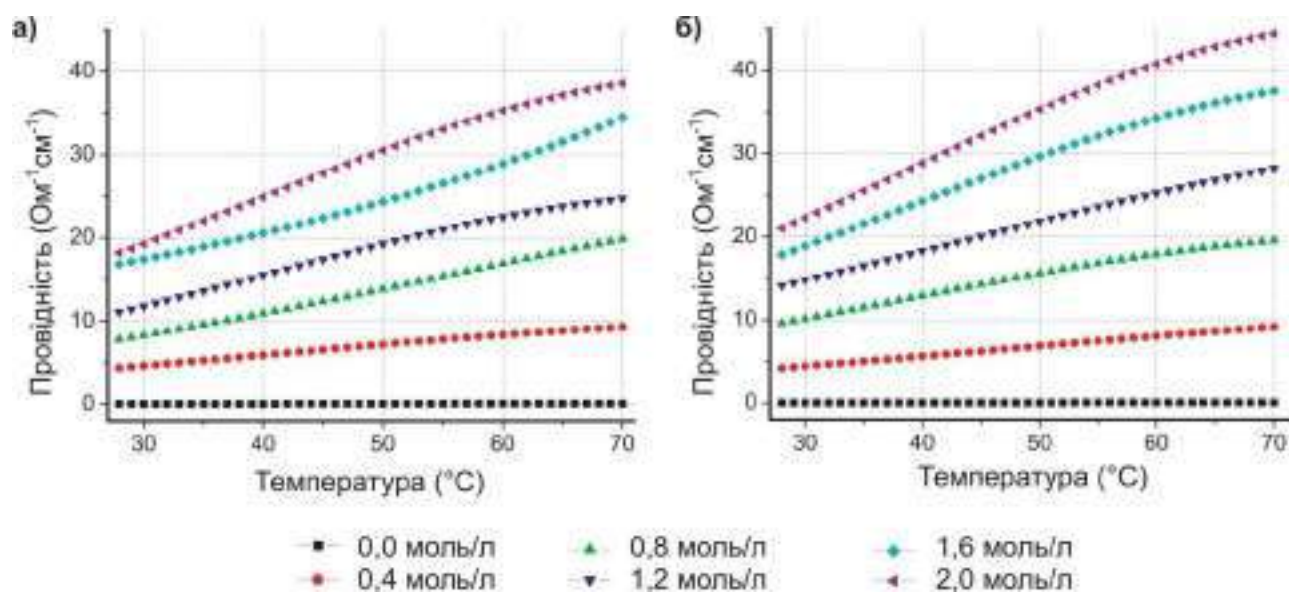


Рис. 4.7. Температурна залежність електропровідності зразків. а) Розчин ДНК з додаванням солі KCl. б) Розчин KCl. Рисунок з роботи дисертанта [59].

Результати показують, що електропровідність всіх досліджуваних зразків зростає з підвищенням температури. Згідно з активаційним механізмом руху іонів в розчині температурна залежність електропровідності системи може описуватися за допомогою рівняння, аналогічного до рівняння Арреніуса для швидкостей хімічних реакцій [277]:

$$\sigma = \sigma_0 \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T}\right), \quad (4.14)$$

де σ_0 коефіцієнт; ΔE потенціальний бар'єр; k_B константа Больцмана; T температура. Експонента описує ймовірність стрибка іонів через потенціальний бар'єр за рахунок теплових флуктуацій. Для аналізу температурної залежності електропровідності використаємо координати Арреніуса: залежність логарифма електропровідності від оберненої температури. З формули (4.14) видно, що температурна залежність електропровідності в координатах Арреніуса має бути лінійною.

З графіка температурної залежності електропровідності в координатах Арреніуса для безсольового розчину (Рис. 4.8а) видно, що є дві точки поділу на лінійні області. Лінійні області в координатах Арреніуса характеризують процес плавлення подвійної спіралі ДНК [265]. Області I (28-37 °C) та III (54-70 °C) відповідають нативній двоспіральній структурі ДНК та одно тяжовій денатурованій ДНК, відповідно. Область II (37-54 °C) характеризує перехідну область з нативного в денатурований стан макромолекули ДНК. У випадку додавання до розчину ДНК солі різниця між даними областями в координатах Арреніуса незначна і точки поділу непомітні (Рис. 4.8б). Вплив доданої солі можна пояснити додатковою нейтралізацією від'ємнозаряджених атомних груп подвійної спіралі іонами солі, що додатково стабілізує структуру подвійної спіралі.

Різні області в координатах Арреніуса характеризують різні енергії активації руху іонів в розчині. Значення енергії активації ΔE визначаються за кутом нахилу прямих на Рис. 4.8 (Таблиця 4.3). Результати показують, що в безсольовому розчині ДНК при температурах нижче температури плавлення (область I) енергія активації набагато вища у порівнянні з розчином електроліту (приблиз-

но 25 кДж/моль). В проміжній області (область II) енергія активації (приблизно 43 кДж/моль) зростає майже в два рази у порівнянні з областю I, що зумовлено викидом протийонів з іон-гідратної оболонки ДНК в розчині. При температурах плавлення (область III) значення потенціального бар'єру ΔE зростають.

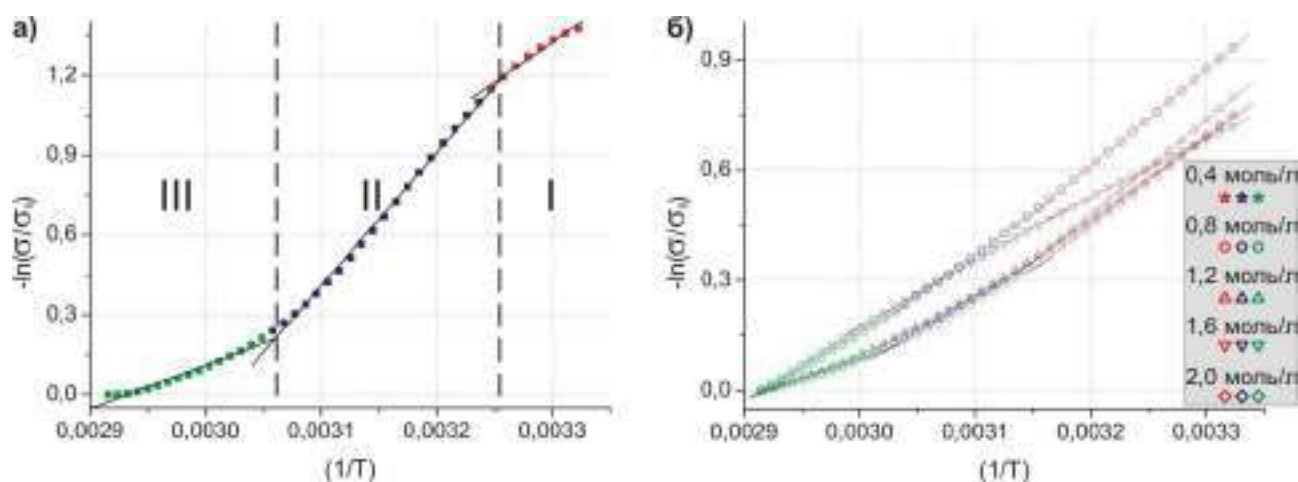


Рис. 4.8. Температурна залежність електропровідності в координатах Арреніуса для водних розчинів ДНК. а) Безсолевий розчин. I двотяжова ДНК (червоні точки); II проміжна область плавлення подвійної спіралі (сині точки); III область одנותяжової ДНК (зелені крапки). б) Розчин ДНК з додаванням солі. Суцільні чорні прямі є лінійною апроксимацією експериментальних даних. Рисунок з роботи дисертанта [59].

Таблиця 4.3. Значення потенціального бар'єру ΔE для руху іонів солі KCl у водних розчинах ДНК (кДж/моль).

Область	0 моль/л	0,4 моль/л	0,8 моль/л	1,2 моль/л	1,6 моль/л	2,0 моль/л	Середнє
I	25,01	18,55	21,71	21,33	13,15	20,10	19±4
II	41,52	14,07	18,99	15,78	14,90	14,74	16±2
III	13,62	9,98	15,65	9,36	16,83	8,16	12±4
Середнє							16±4

В розчинах ДНК з додаванням солі потенціальні бар'єри різних областей майже однакові. Порівнюючи ці значення з випадком безсолевого розчину, бачимо, що значення ΔE лише трохи зменшуються в області I та III. Водночас, у випадку області II воно зменшилося вдвічі. Той факт, що в області II порівняно низький активаційний бар'єр, показує, що додавання солі приводить до підвищення температури плавлення подвійної спіралі ДНК, що також спостерігається в калориметричних експериментах [1].

Підвищення концентрації доданої солі приводить до збільшення електропровідності і для розчину ДНК, і для електроліту. Для порівняння електропровідності розчину ДНК з доданою сіллю та електропровідності розчину електроліту KCl аналізувалася різниця $\Delta\sigma = \sigma_{DNA+KCl} - \sigma_{KCl}$ (Рис. 4.9). Результати показують, що при концентрації нижче за деяку критичну (приблизно $c_{cr} \approx 0,4$ моль/л), електропровідність розчину ДНК вища за електропровідність сольового розчину ($\sigma_{DNA+KCl} > \sigma_{KCl}$).

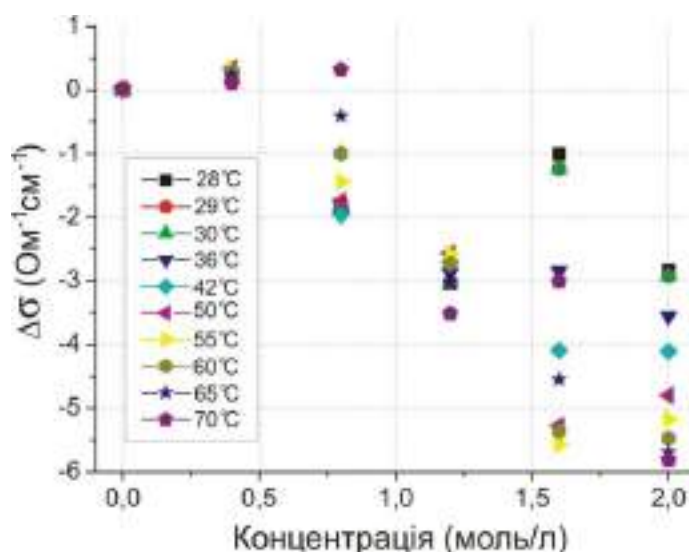


Рис. 4.9. Концентраційна залежність різниці електропровідностей розчину ДНК та розчину електроліту. Рисунок з роботи дисертанта [59].

За критичної концентрації ($c \approx c_{cr}$) електропровідності розчину ДНК та розчину KCl однакові ($\Delta\sigma = 0$). Починаючи з критичної концентрації ($c > c_{cr}$) електропровідність розчину ДНК нижча, ніж електропровідність відповідного

електроліту ($\sigma_{DNA+KCl} < \sigma_{KCl}$). Залежність електропровідності розчинів ДНК від концентрації солі в діапазоні від 0 до c_{cr} приблизно однакова для різних температур, в той час як в концентраційному діапазоні від c_{cr} до 2 моль/л різна для різних температур. Зміна значень $\Delta\sigma$ повинна відображати структурні зміни розчину ДНК.

4.2.3. Модель електропровідності водних розчинів ДНК. Для того, щоб зрозуміти механізм електропровідності водних розчинів ДНК, що спостерігається в нашому експерименті, проаналізуємо стан ланцюжка довгої високополімерної молекули ДНК в розчині. В зв'язку з великою контурною довжиною макромолекула ДНК має форму клубка. Розмір клубка може бути оцінений з використанням персистентної моделі [261] за формулою (4.1). Для проведення розрахунків використано наступні параметри: контурна довжина ДНК з сім'яників лосося $L_0 \approx 0,68$ мкм [276], персистентна довжина ДНК $L_p \approx 500$ Å [14,261]. Використовуючи ці параметри, оцінюємо середній об'єм клубка ДНК – 0.02 мкм³. Враховуючи, що середнє число макромолекул ДНК в 1 мл досліджуваного розчину становить 10^{15} , загальний об'єм, що займають клубки молекул ДНК має дорівнювати приблизно 20 мл. Можна зробити висновок, що клубки макромолекул в даному розчині перекриваються. Тому процес електропровідності може бути пов'язаний лише рухом мобільних іонів, оскільки рух макромолекул ускладнений.

Кількість рухомих іонів, що беруть участь в процесі електропровідності визначається концентрацією протийонів ДНК та іонів доданої солі. Беручи це до уваги, електропровідність розчину можна представити наступним чином:

$$\sigma_{DNA+salt}(c) = \sigma_1(c) + \sigma_2(c), \quad (4.15)$$

де $\sigma_1(c)$ електропровідність рухливих іонів солі (вільні іони); $\sigma_2(c)$ електропровідність мобільних протийонів іон-гідратної оболонки ДНК; c концентрація доданої солі. Беручи до уваги, що іони солі можуть конденсуватися на макромолекулі ДНК, електропровідність вільних іонів враховуватимемо наступним чином:

$$\sigma_1(c) = \sigma_{salt}(c) - A_1(c)(\lambda^+ + \lambda^-), \quad (4.16)$$

де $\sigma_{salt}(c)$ внесок іонів солі в провідність системи; $A_1(c)$ концентрація іонів солі, що сконденсувалися на макромолекулі ДНК; λ^+ та λ^- рухливості позитивно і негативно заряджених іонів, відповідно. Другий член в (4.16) описує зменшення електропровідності, що зумовлена асоціацією позитивно і негативно заряджених іонів з ДНК. Потрібно врахувати, що негативно заряджені іони можуть осідати на позитивно заряджені іони, що вже сконденсувалися на фосфатні групи остова ДНК.

Внесок протийонів в електропровідність системи враховується таким чином:

$$\sigma_2(c) = c_p \lambda^+ - A_2(c) \lambda^+, \quad (4.17)$$

де c_p концентрація протийонів, що приблизно дорівнює кількості фосфатних груп ДНК; $A_2(c)$ це концентрація протийонів, зв'язаних з від'ємнозарядженими атомними групами макромолекули ДНК. Перший член в (4.17) описує внесок протийонів ДНК в електропровідність системи. Другий член в (4.17) описує зменшення електропровідності за рахунок асоціації протийонів з фосфатними групами макромолекули ДНК.

Беручи до уваги формули (4.15), (4.16) і (4.17), внесок системи ДНК в провідність розчину поліелектроліту $\Delta\sigma = \sigma_{DNA+KCl} - \sigma_{KCl}$ може бути визначений наступним чином:

$$\Delta\sigma = c_p \lambda^+ - A_2(c) \lambda^+ - A_1(c)(\lambda^+ + \lambda^-), \quad (4.18)$$

Концентрацію сконденсованих іонів можна вважати пропорційною до концентрації солі та концентрації фосфатних груп ДНК, відповідно: $A_1(c) = \beta(c)c$ і $A_2(c) = \alpha(c)c_p$. Коефіцієнти $\alpha(c)$ і $\beta(c)$ залежать від концентрації доданої солі і описують частину іонів, сконденсованих на поверхню макромолекули. Розглянемо функції $\alpha(c)$ і $\beta(c)$ в лінійному наближенні:

$$\alpha(c) = \alpha_0 + \alpha_1 c \text{ і } \beta(c) = \beta_0 + \beta_1 c \quad (4.19)$$

де α_0 , α_1 , β_0 і β_1 параметри, що можуть бути визначені з наступних умов.

У випадку безсольового розчину ($c=0$) електропровідність визначається вільними протийонами ДНК і $\alpha(0)=0$, тому $\alpha_0=0$. Підвищення концентрації солі призводить до зростання ступеню нейтралізації ДНК, і при деякій концентрації ($c=c_{cr}$) всі фосфатні групи подвійної спіралі будуть нейтралізовані. Для протийонів, що осіли на макромолекулу ДНК, і які не беруть участь у процесі електропровідності, має виконуватись умова $\alpha|_{c \geq c_{cr}}=1$, тому $\alpha_1=1/c_{cr}$. Іони доданої солі конденсуються на протийони, що вже осіли на фосфатні групи остова ДНК, тому $\beta|_{c \leq c_{cr}}=0$, та $\beta_0=-\beta_1 c_{cr}$. Подальше збільшення концентрації солі призводить до кристалізації іонів солі, і при деякій концентрації ($c=c_{max}$) кристалізація буде максимальною, що відповідає умові $\beta|_{c=c_{max}}=1$, і $\beta_1=1/(c_{max}-c_{cr})$. Беручи до уваги ці умови, формула (4.19) може бути записана у наступній формі:

$$\alpha(c)=\frac{c}{c_{cr}} \text{ і } \beta(c)=\frac{c-c_{cr}}{c_{max}-c_{cr}}. \quad (4.20)$$

Температурна залежність рухливості іонів може бути взята до уваги аналогічно до рівняння (4.13): $\lambda=\lambda_0 \exp(-\Delta E/k_B T)$, де λ_0 характеристична рухливість. Значення λ_0 може бути визначена з використанням відомих значень рухливості іонів для певних температур T_0 : $\lambda_0=\lambda(T_0)\exp(-\Delta E/k_B T_0)$. Беручи це до уваги, і підставивши формулу (4.20) в рівняння (4.18), формула $\Delta\sigma$ може бути записана в такій формі:

$$\Delta\sigma = \begin{cases} \frac{(c_{cr}-c)c_p\lambda_0^+}{c_{cr}} \exp\left[-\frac{\Delta E(1-T/T_0)}{k_B T}\right], & c \leq c_{cr}; \\ \frac{(c_{cr}-c)c_p(\lambda_0^+ + \lambda_0^-)}{c_{max}-c_{cr}} \exp\left[-\frac{\Delta E(1-T/T_0)}{k_B T}\right], & c > c_{cr}. \end{cases} \quad (4.21)$$

В рівнянні (4.21) λ_0^+ і λ_0^- рухливості позитивно і негативно заряджених іонів при температурі T_0 .

Видно, що величина $\Delta\sigma$ додатна в діапазоні концентрацій солі $c \leq c_{cr}$. У випадку вищої концентрації доданої солі ($c > c_{cr}$), значення $\Delta\sigma$ від'ємне. Вне-

сок ДНК в електропровідність поліелектроліту несуттєвий ($\Delta\sigma=0$) коли всі фосфатні групи остова ДНК нейтралізовані ($c = c_{cr}$). Потрібно враховувати, що розроблена модель не враховує процес денатурації макромолекули ДНК за температури плавлення.

Для того, щоб охарактеризувати вплив макромолекул ДНК на електропровідність системи оцінимо $\Delta\sigma$ за формулою (4.21). Параметри, необхідні для розрахунків, визначалися наступним чином. Концентрація фосфатних груп в розчині визначалась відповідно до концентрації ДНК в експериментальних зразках (2 мг/мл) $c=6,35$ моль/л. Максимальна концентрація солі, що береться як межа розчинності для KCl, $c_{max} = 4,6$ моль/л [263]. Значення критичної концентрації доданої солі $c_{cr} = 0,4$ моль/л отримане з умови $\Delta\sigma=0$. Характеристична рухливість λ_0^+ і λ_0^- для K^+ і Cl^- іонів взята така сама, як і для розчинів електролітів $\lambda_0^+ = 55,1 \text{ см}^2\Omega^{-1}\text{моль}^{-1}$ і $\lambda_0^- = 55,8 \text{ см}^2\Omega^{-1}\text{моль}^{-1}$ при температурі 25°C [277]. Потенціальний бар'єр $\Delta E \approx 16$ кДж/моль взятий як середнє значення енергій активації (Таблиця 4.3). Як результат концентраційна залежність $\Delta\sigma$ представлена Рисунку 4.10

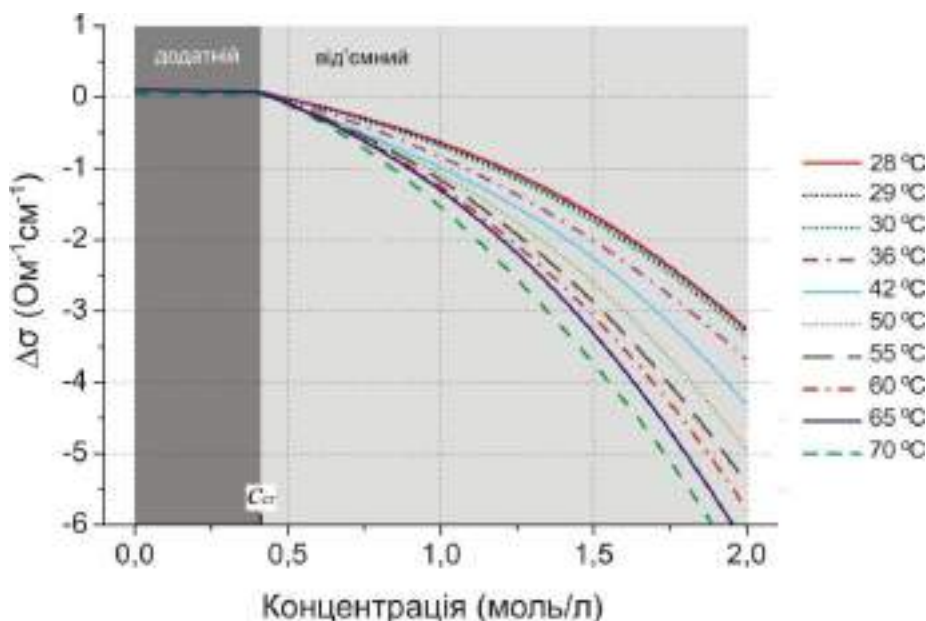


Рис. 4.10. Концентраційна залежність різниці електропровідностей розчинів ДНК та електроліту, розрахована за формулою (4.21). Рисунок з роботи дисертанта [59].

Легко бачити, що електропровідність розчину ДНК в діапазоні концентрацій $c < c_{cr}$ трохи вища за електропровідність відповідного розчину електроліту ($\Delta\sigma > 0$). За високих концентрацій ($c > c_{cr}$) різниця, що спостерігається між електропровідностями розчину ДНК та розчину електроліту є від'ємною ($\Delta\sigma < 0$). З підвищенням температури значення $\Delta\sigma$ зростає в цьому діапазоні концентрацій. Результати розрахунків (Рис. 4.10) якісно узгоджуються з експериментальними значеннями (Рис. 4.9). Проте, в діапазоні концентрацій $c < c_{cr}$ експериментально отримані значення $\Delta\sigma$ більші, що може бути зумовлено складністю механізму конденсації протийонів на ДНК.

За результатами оцінки може бути введений наступний механізм іонного впорядкування навколо макромолекули ДНК (Рис. 4.11). При низьких концентраціях доданої солі ступінь нейтралізації фосфатних груп приблизно така сама, як і для безсольового розчину. Протийони відриваються від іон-гідратної оболонки макромолекули і беруть участь процесі електропровідності системи. З підвищенням концентрації солі кількість нейтралізованих фосфатних груп збільшується і за критичної концентрації фосфатні групи мають бути повністю нейтралізованими.



Рис. 4.11. Схематичне зображення залежності різниці електропровідностей водного розчину KCl з ДНК і без ДНК та ілюстрація процесу іонного впорядкування навколо подвійної спіралі при збільшенні концентрації солі.

Протийони разом з фосфатними групами формують електрично нейтральну систему, подібну до ґратки іонного кристалу (іон-фосфатної ґратки) [39,41,43,216,223]. Формування іон-фосфатної ґратки приводить до зменшення електропровідності системи. Після формування іон-фосфатної ґратки, іони солі конденсуються на протийони, що осіли на фосфатні групи макромолекули, таким чином формуються ДНК-сольові комплекси. Такі комплекси можуть спостерігатись як структури на поверхні після випаровування розчину, що описувалися в попередньому розділі. Формування ДНК-сольових комплексів знижує електропровідність системи за рахунок зменшення кількості позитивно і негативно заряджених іонів, що беруть участь у створенні електричного струму.

4.2.4. Молекулярно-динамічне моделювання ДНК з протийонами K^+ у зовнішньому електричному полі. Для з'ясування мікроскопічної структури та динаміки ДНК з протийонами під дією зовнішнього електричного поля широко застосовується метод молекулярної динаміки [182,278–280]. Зокрема, у зв'язку з потенційним застосуванням вимірювання електричного струму в технологіях для визначення послідовності азотистих основ ДНК (секвенування) в центрі уваги була динаміка протийонів під час руху макромолекули ДНК через нанопору. Щоб поліпшити експерименти з нанопорами і зробити їх більш керованими і передбачуваними, були використані структури типу ДНК-орігамі, що самозбираються [281]. Показано, що значення провідності дуже чутливі до типу ґратки ДНК-орігамі, а також до концентрації протийонів у розчині [282]. Вивчення динаміки протийонів K^+ та Li^+ показало, що у безпосередній близькості від поверхні ДНК рухливість іонів приблизно вдвічі нижча, ніж у розчині, а всередині макромолекули ще менше [278,283]. Цей факт свідчить про сильний вплив макромолекули ДНК на динамічні властивості іонів. Дослідження моделювання, яке порівнює динамічний відгук іонів на присутність зовнішнього електричного поля в розчині з ДНК і без ДНК, може дати важливу інформацію про поведінку оболонки протийонів навколо макромолекули ДНК у реальних умовах. У зв'язку з цим, була поставлена задача провести дослідження за допомогою методу молекулярної динаміки системи ДНК з протийонами у зовніш-

ньому електричному полі. Метою цього дослідження було порівняти динамічний відгук іонів K^+ навколо подвійної спіралі ДНК та у водному розчині без макромолекули ДНК у відповідь на дію зовнішнього електричного поля.

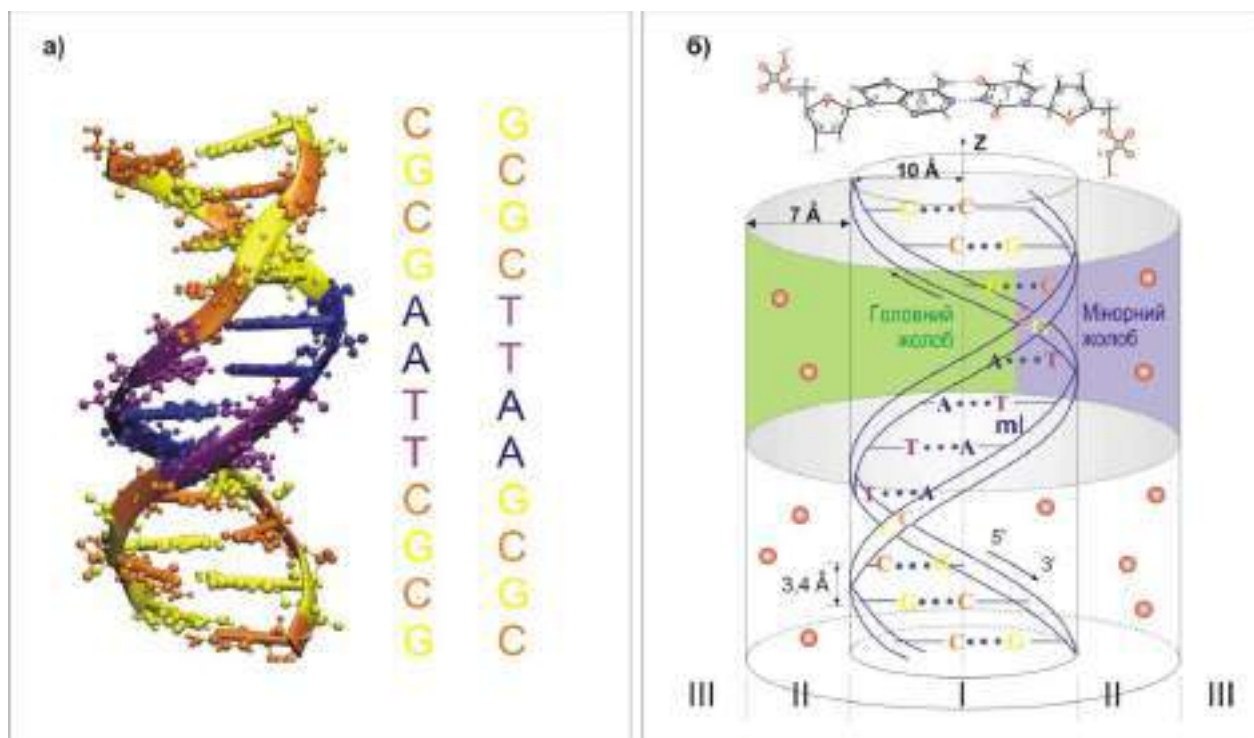


Рис. 4.12. Досліджуваний фрагмент подвійної спіралі ДНК. а) Структура фрагменту ДНК та послідовність азотистих основ. б) Області гідратної оболонки навколо подвійної спіралі ДНК: I – мінорний і головний жолоби подвійної спіралі (внутрішня область ДНК), II – друга гідратна оболонка (область зовні ДНК), III – область об’ємного розчину. Рисунок з роботи дисертанта [71].

Молекулярно-динамічне моделювання проведено для двох молекулярних систем в електричному полі. Першою системою був фрагмент подвійної спіралі ДНК з нуклеотидною послідовністю d(CGCGAATTCGCG), який був поміщений в комірку з водою розміром $64 \times 64 \times 64 \text{ \AA}^3$ (система К-ДНК). Цей полінуклеотид, відомий як додекамер Дрю-Дікersonа [106], що зазвичай використовується в молекулярно-динамічному моделюванні систем ДНК в якості тестової системи [9,183,189,196]. У випадку розглянутого додекамеру малий жолоб подвійної спіралі звужений в області нуклеотидів ААТТ порівняно із середнім значенням, тоді як великий жолоб помітно ширший (Рис. 4.12). Систему нейтралізували 22 іонами K^+ . Кількість позитивно заряджених протийонів дорівнює

вала кількості негативно заряджених фосфатних груп ДНК. Другою системою був водний розчин солі KCl з концентрацією 139 ммоль/л (система KCl). Така концентрація відповідає 22 парам іонів K^+ і Cl^- в елементарній комірці. Кількість молекул води становила 7917 і 7977 в системах K-ДНК і KCl, відповідно.

Комп'ютерне моделювання проводилося з використанням програмного пакету NAMD [167] та силового поля CHARMM27 [284,285]. Програмний пакет VMD [101] використовувався для побудови, візуалізації та аналізу систем. Структурні параметри подвійної спіралі ДНК розраховані з використанням інструментів аналізу 3DNA [286] в рамках плагіну do_x3dna [287], впровадженого в VMD [101]. Довжини всіх зв'язків з атомами водню брали жорсткими з використанням алгоритму SHAKE [288]. Використовувалися модель води TIP3P [289] та параметри іонів Беглова (*Beglov*) та Ру (*Roux*) [290]. Динаміка Ланжевена використовувалася для всіх важких атомів з температурою 300 К. Для обробки далекодіючих електростатичних взаємодій використовувався PME – метод Евальда з сіткою частинок (*particle meshed Ewald*) [291]. Радіуси вмикання (*switching distance*) та обрізання (*cutoff distance*) для далекодіючих взаємодій становили 8 Å і 10 Å, відповідно. На систему накладалися періодичні граничні умови.

Протокол моделювання був складений на основі досвіду попередніх молекулярно-динамічних досліджень динаміки ДНК з протийонами [183,185–187,189,292] [21, 23, 26–29]. Система K-ДНК спочатку моделювалася при постійному тиску 101325 Па та температурі 300 К (ансамбль NPT). Процедури мінімізації, нагріву та врівноваження були виконані для системи з закріпленими атомами ДНК. Обмеження на атомах поступово послаблювалися, і приблизно через 2 нс врівноваження всі атоми ДНК могли вільно рухатися, за винятком атомів пар нуклеотидів CG на кінцях подвійної спіралі, які утримувалися на пружинках з коефіцієнтом жорсткості $k=5$ ккал/мольÅ². Потім систему врівноважували в ансамблі NVT протягом 200 нс із закріпленими кінцями ДНК на пружинках (закріплення описано вище). У випадку системи KCl етапи моделю-

вання в ансамблі NPT виконувались без накладання будь-яких обмежень на атоми, а врівноваження в ансамблі NVT тривало 50 нс.

Для уникнення дрейфу макромолекули та її обертання використовувалися гармонічні обмеження, накладені на кінці фрагмента ДНК. Траєкторія руху центру мас і зміни орієнтації подвійної спіралі без накладання обмежень на кінці макромолекули і без зовнішнього електричного поля показано в Додатку В (Рис. В1). Результати показали, що навіть без зовнішнього електричного поля рух макромолекули ДНК як цілого та її обертання є значними. Обертання макромолекули відносно напрямку зовнішнього електричного поля буде суттєво змінюватися, що є небажаним у цьому дослідженні. Тому для вивчення дії зовнішнього електричного поля, що прикладається паралельно і перпендикулярно до подвійної спіралі, було проведено моделювання з закріпленими кінцевими парами нуклеотидів фрагменту ДНК.

Дослідження впливу обмежень на структуру макромолекули показало зміни у вторинній структурі ДНК. Зокрема, була проаналізована ширина мінорного і головного жолобів подвійної спіралі (Рис. В2 в Додатку В). Результати показали, що залежність ширини великого жолоба від послідовності нуклеотидних основ має такий самий характер, як у випадку ДНК з закріпленими кінцевими нуклеотидами, так і без закріплення. Ширина мінорного жолоба у випадку обмежених кінців макромолекули значно відрізняється тільки у випадку граничних пар біля закріплених кінців. Однак структурні зміни подвійної спіралі ДНК, спричинені обмеженнями, недостатньо великі, аби мати суттєвий вплив на фізичні висновки цього дослідження.

Після етапу врівноваження системи моделювалися у зовнішньому електричному полі, яке створювалося додаванням електричного потенціалу до меж кожної системи (Рис. 4.13). Для системи К-ДНК були розглянуті випадки паралельної (осі z) і перпендикулярної (осі x) орієнтації електричного поля до осі спіралі (Рис. 4.13а). У випадку системи КСІ необхідно було враховувати лише одну орієнтацію електричного поля (Рис. 4.13б). Системи поміщувалися в електростатичне поле зі значеннями напруги 145, 290, 580, 870, 1450 та 2030 мВ.

Така напруга має той самий порядок величини, що й електричний потенціал, який виникає на відстані $10 \text{ \AA}$ від точкового елементарного заряду у водному середовищі з діелектричною проникністю $\epsilon=80$. Це значення також відповідає електричному полю, яке використовувалося для моделювання іонного струму в системах з ДНК-орігамі [282]. Кожна система моделювалася протягом 50 нс після стадії врівноваження для прикладеного електростатичного поля з певним напрямком та значенням напруги.

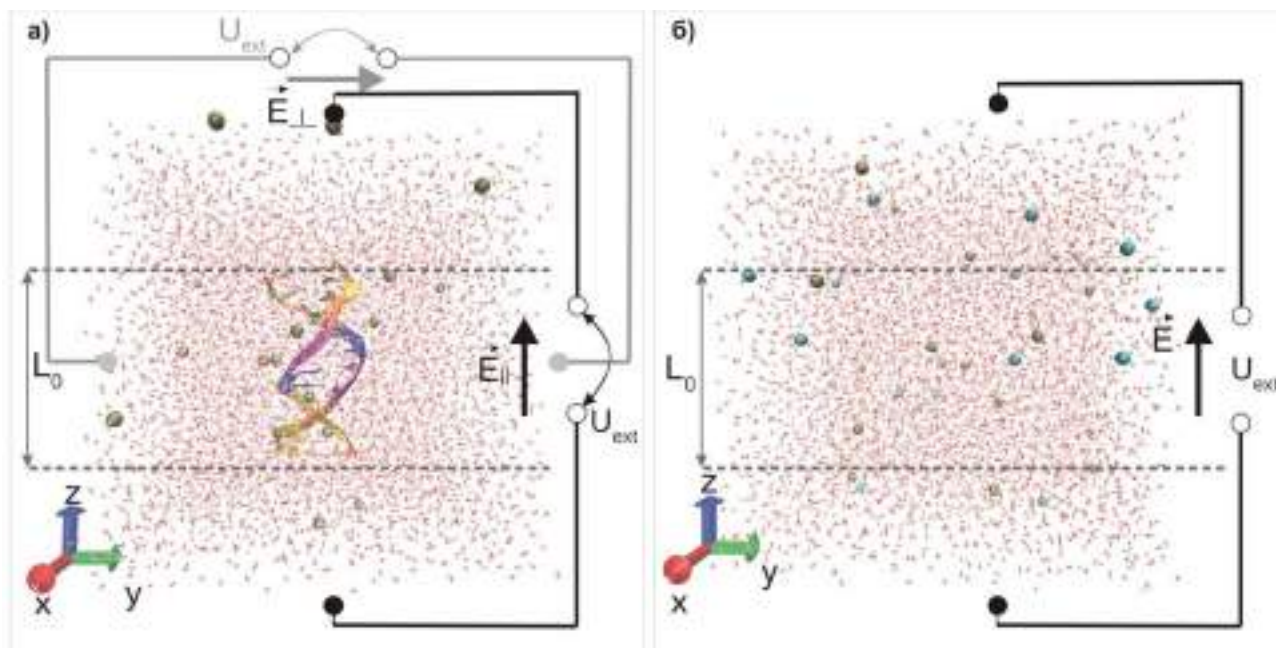


Рис. 4.13. а) Схема системи К-ДНК. Зовнішнє електричне поле прикладається до системи у напрямку осі z ($E_{\parallel}$) та осі x ($E_{\perp}$). б) Схема системи КСІ: іони K^{+} (коричневий) та Cl^{-} (синій) у водному розчині. Для обох систем враховується іони, що вибираються з області між двома пунктирними лініями. $L_0 = 37,4 \text{ \AA}$ відповідає довжині фрагмента ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [71].

Усі симуляції проводилися на грід-кластері Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова Національної академії наук України та на обчислювальних потужностях СНТЦ UWMadison <http://chtc.cs.wisc.edu/> через сервер доступу htcondor.bitp.kyiv.ua. Автор висловлює подяку Українському національному гріду і безпосередньо канд. тех. наук Сергію Яковичу Свістуну за технічний супровід в роботі на обчислювальному кластері інституту та доступ в грід через

віртуальну організацію ВІТР, а також канд. фіз.-мат. наук Леоніду Федоровичу Білоусу за його допомогу в налагодженні паралельних обчислень на HTCCondor.

Отримані траєкторії симуляції для систем K-DNA та KCl були проаналізовані для визначення характерного динамічного відгуку іонів на наявність електричного поля. Зокрема, було розраховано електричну провідність, обумовлену іонами систем (іонна провідність). Визначено внески в іонну провідність протийонів, локалізованих у різних областях подвійної спіралі ДНК.

Густина струму $\vec{j}$, індукованого електричним полем E визначається законом Ома і дорівнює:

$$\vec{j} = \sigma \vec{E}, \quad (4.22)$$

де σ – електропровідність системи. Для сили струму в системі I та зовнішньої напруги U формулу (4.22) для певного напрямку можна записати у вигляді:

$$I = \frac{\sigma S}{d} U, \quad (4.23)$$

де d - відстань між границями системи, до яких прикладено напругу, а S – площа поверхні, перпендикулярної зовнішньому електричному полю.

У представленому дослідженні застосовувався метод розрахунку для іонного струму за даними молекулярної динаміки, що розроблений в групі Аксіментьєва [282]. Коротко розглянемо основні кроки, які робляться в даному методі. Розглянемо прямокутну комірку з об'ємом $V = L_x L_y L_z$, поміщену в електричне поле E , спрямоване вздовж осі z . Для такої системи іонний струм можна визначити в наступній формі:

$$I = \sum_i \frac{\Delta Q_i}{\Delta t}, \quad (4.24)$$

де ΔQ_i – заряд, переданий i -м іоном через площу поверхні S за час Δt . Враховуючи, що i -й іон зміщується з часом Δt на відстань Δz_i , заряд можна визначити як $\Delta Q_i = q_i \Delta z_i L_y L_z / V = q_i \Delta z_i / L_z$, де q_i – заряд i -го іону. В результаті електричний струм, що протікає через комірку моделювання в момент часу t , можна розрахувати за такою формулою [282]:

$$I\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) = \frac{1}{\Delta t L_z} \sum_i q_i \Delta z_i. \quad (4.25)$$

Тут значення струму пов'язане з часом на півкроці $t + t/2$. Щоб мати справу з періодичними граничними умовами при розрахунках зміщень Δz_i , були взяті до уваги такі правила (див. Допоміжну інформацію в роботі [282]):

$$\Delta z_i = \begin{cases} \Delta z_i(t) & \text{if } |\Delta z_i(t)| < L_z / 2; \\ \Delta z_i(t) - L_z & \text{if } |\Delta z_i(t)| > L_z / 2; \\ \Delta z_i(t) + L_z & \text{if } |\Delta z_i(t)| > -L_z / 2; \end{cases}, \quad (4.26)$$

де $\Delta z_i(t) = z_i(t + \Delta t) - z_i(t)$. За формулами (4.25) та (4.26) був розрахований іонний струм. Отримані значення струму усереднювалися за всією траєкторією моделювання.

Розраховані залежності іонного струму від часу показали, що у випадку всіх розглянутих значень зовнішньої напруги іонний струм виходить на плато протягом першої наносекунди моделювання (Рис. В3, Додаток В). Після цього іонний струм коливається близько деякого середнього значення. Таким чином, можна зробити висновок, що тривалість кожного з наших розрахунків (50 нс) є достатньою для аналізу стаціонарного процесу протікання струму.

Для аналізу різних внесків в електричний струм простір навколо подвійної спіралі ДНК було поділено на області: перша (I), друга (II) та третя (III) гідратні оболонки макромолекули (Рис. 4.12б). Іони вважалися локалізованими у першій гідратній оболонці, якщо вони знаходилися в межах $10\text{\AA}$ від атомів N_1 аденіну або гуаніну. Іони, що належать другій гідратній оболонці, знаходилися поза першою гідратною оболонкою, але в межах $7\text{\AA}$ від будь-якого атома структури ДНК. Передбачається, що третя гідратна оболонка являє собою увесь простір, що залишився, за межами I і II гідратних оболонок. Для зменшення граничних ефектів враховувалися ті іони, які знаходяться в діапазоні координат по осі z , що й атоми подвійної спіралі (простір між двома пунктирними лініями на Рис. 4.13). Аналізуючи внески у провідність, які роблять іони з різних областей подвійної спіралі, слід враховувати той факт, що кількість іонів у певній області коливається з часом. У зв'язку з цим динаміка іонів повинна характеризуватись

деяким фізичним параметром, пов'язаним з кожним окремим іоном. В якості зручного параметру розглядалася рухливість іонів (λ). В наших симуляція цей параметр розраховується наступним чином:

$$\lambda = \frac{1}{n_f} \sum_{f=1}^{n_f} \frac{\sigma_f}{N_f}, \quad (4.27)$$

де n_f – кількість кроків, що записувалися протягом траєкторії моделювання (кількість фреймів); f – провідність, що відноситься до деякого відсіку системи у фреймі f ; N_f – кількість протийонів у певній області на фреймі f .

Розподіл протийонів навколо подвійної спіралі ДНК розраховувалося для першої та другої гідратних оболонок подвійної спіралі. Для характеристики іонного розподілу було розраховано кількість іонів у сегментах, що належать до кожної пари нуклеотидів. Центр кожного сегмента брали за центр мас пари нуклеотидів. Оскільки відстань між сусідніми парами основ дорівнює $3,4 \text{ \AA}$ [14], межі кожного сегмента розташовані на відстані $\pm 1,7 \text{ \AA}$ вздовж осі z від його центру мас. При моделюванні під дією зовнішнього електричного поля структура подвійної спіралі може деформуватися, тобто центр кожного сегмента не буде точно відповідати положенню центру мас певної пари основ.

Проведений аналіз показав, що у випадку паралельного електричного поля кривизна подвійної спіральної осі становить $0,12 \text{ \AA}^{-1}$ (Рис. В4, синя лінія, Додаток В). У випадку перпендикулярного електричного поля значення кривизни вищі, але починаючи зі значень зміщення більше 1000 мВ , кривизна фрагменту ДНК істотно збільшується (Рис. В4, червона лінія, Додаток В). Таким чином, зовнішнє електричне поле впливає на кривизну подвійної спіралі, але цей вплив не такий істотний, щоб змінити висновки нашої роботи. За отриманими траєкторіями моделювання розраховували іонний струм для різних значень напруги. В результаті було побудовано вольт-амперні характеристики для систем K-DNA та KCl (Рис. 4.14). Електричний струм збільшується із збільшенням напруги. Одержані залежності є лінійними, що підтверджує справедливність закону Ома для досліджуваних систем.

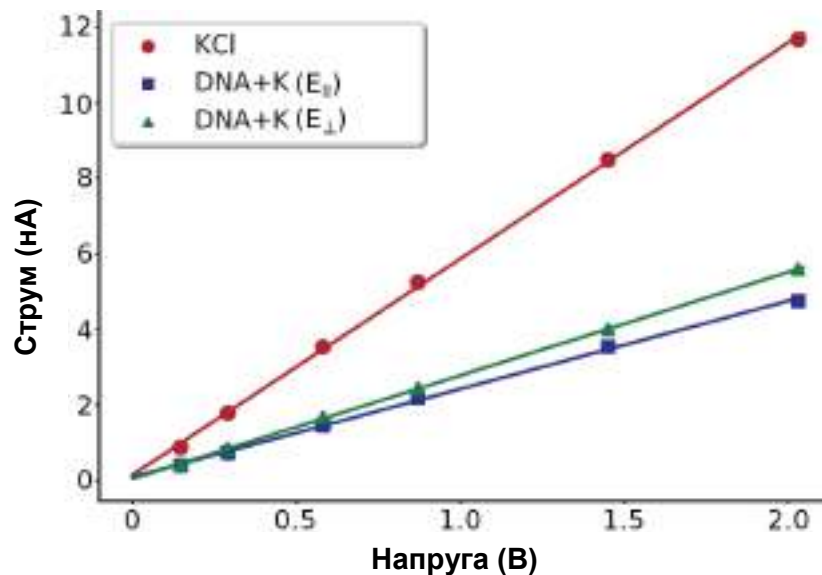


Рис. 4.14. Залежність іонного струму від напруги в системах, що моделюються: система KCl (червоні кружки), система K-DNA з електричним полем $E_{\parallel}$, паралельним осі спіралі (сині квадрати), і з електричним полем $E_{\perp}$, перпендикулярним спіральній осі. вісь (зелені трикутники). Лінії показують лінійну апроксимацію розрахункових даних. Рисунок з роботи дисертанта [71].

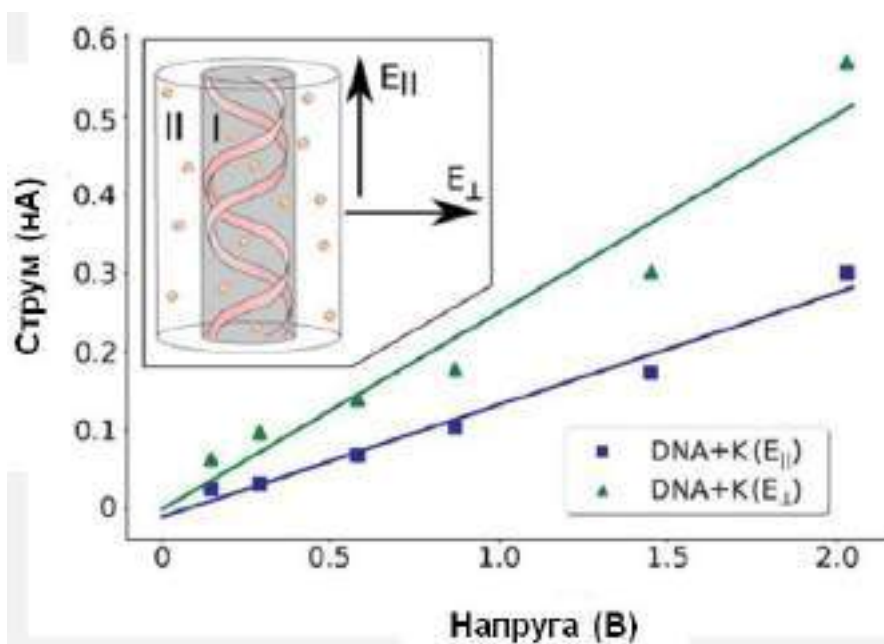


Рис. 4.15. Розраховані у представленій роботі вольт-амперні залежності для першої гідратної оболонки подвійної спіралі ДНК (система К-ДНК). Точки, сині квадратики і зелені трикутники показують результати для випадку паралельної ($E_{\parallel}$) і перпендикулярної ($E_{\perp}$) орієнтації електричного поля до осі спіралі відповідно. Суцільні лінії показують лінійну апроксимацію розрахункових даних. На вставці схематично показано першу гідратну оболонку ДНК. [251]

Іонний струм у розчині KCl збільшується набагато швидше, ніж у випадку системи K-ДНК, що пов'язано з удвічі більшою кількістю носіїв заряду в системі KCl (іони K^+ та Cl^-), ніж у системі K-DNA (іони K^+). Виявлено відмінність вольт-амперних характеристик для випадку паралельної та перпендикулярної орієнтації електричного поля вздовж осі подвійної спіралі ДНК. Аналіз струмів у різних областях системи K-ДНК показав, що в першій гідратній оболонці подвійної спіралі струм приблизно на порядок нижчий, ніж струм усієї системи (Рис. 4.15). У випадку паралельної орієнтації електричного поля вольт-амперна характеристика є майже лінійною, а при перпендикулярній орієнтації електричного поля – зростання швидше. Цей ефект виникає через взаємодію протийонів із подвійною спіраллю ДНК.

Нахил ліній вольт-амперних залежностей визначає іонну провідність систем σ . Розрахункові значення провідності систем представлені у Таблиці 4.4. Результати показали, що найвища провідність спостерігається для системи KCl. Наявність у розчині макромолекули ДНК знижує провідність системи, а випадку паралельної орієнтації електричного поля вплив ДНК посилюється. Сума внесків іонів K^+ та Cl^- у загальну провідність розчину KCl дає загальну провідність системи KCl. Те саме і у випадку системи K-ДНК: загальна провідність системи є сумою внесків від іонів в різних областях системи (першої, другої та третьої гідратних оболонок ДНК). Таким чином, провідність змодельованих систем KCl та K-ДНК є адитивною величиною складових цих систем.

Розрахунки показали, що рухливості іонів K^+ та Cl^- у системі KCl практично однакові (близько 0,35 мСм/см). У системі K-ДНК найбільша рухливість спостерігається у іонів, що належать до третьої гідратної оболонки макромолекули. У випадку паралельної орієнтації електричного поля вздовж осі спіралі це значення (близько 0,4 мСм/см) навіть вище, ніж рухливість в об'ємному розчині KCl. Така різниця може виникнути через тертя потоків K^+ та Cl^- іони, присутні у системі KCl, але не в системі K-ДНК. Рухливість протийонів у другій гідратній оболонці макромолекули характеризується меншими значеннями, ніж у третій гідратній оболонці, а у випадку першої гідратної оболонки навіть нижче.

При цьому можна представити наступний порядок іонних рухомостей (Таблиця 4.4): $\lambda_I < \lambda_{II} < \lambda_{III}$, де індекси позначають гідратну оболонку ДНК. Цей результат якісно відтворює отриману в роботі [283] залежність рухливості протийонів K^+ , віддалених від подвійної спіралі ДНК, що локалізована в нанопорі.

Таблиця 4.4. Електропровідність та рухливість іонів у системі К-ДНК та системі KCl.

Система	Поле	Компонента	σ (мСм/см)	λ (мСм/см)
К-ДНК	$E_{\parallel}$	I	0,22	0,05
		II	1,16	0,29
		III	2,26	0,40
		Загальний	3,64	0,26
	$E_{\perp}$	I	0,39	0,11
		II	0,81	0,25
		III	3,09	0,34
		Загальний	4,28	0,27
KCl	E	K^+	4,56	0,36
		Cl^-	4,39	0,34
		$K^+ + Cl^-$	8,95	0,35

Отримані значення рухливості протийонів K^+ у третій та другій гідратних оболонках практично збігаються у випадку паралельної та перпендикулярної орієнтації зовнішнього електричного поля по відношенню до подвійної спіралі. Значення рухливості іонів у першій гідратній оболонці ДНК при паралельній орієнтації електричного поля до макромолекули більш ніж удвічі нижче, ніж відповідне значення для перпендикулярної орієнтації електричного поля (Таблиця 4.4). Цей ефект можна пояснити тим, що протийони, захоплені електричним полем, що напрямлено паралельно макромолекулі, проходять набагато більшу відстань поблизу поверхні ДНК. Зазначимо, що значення рухливості іонів, усереднені по всіх гідратних оболонках макромолекули, практично однако-

ві (близько 0,26 мСм/см) у випадку $E_{\parallel}$ та $E_{\perp}$, що пов'язано з відносно невеликим об'ємом, який займає фрагмент ДНК, порівняно із загальним обсягом комірки.

Аналіз розподілу протийонів по подвійній спіралі ДНК показав, що кількість іонів у першій та другій гідратних оболонках макромолекули залежить від послідовності нуклеотидних основ. Розрахована залежність кількості іонів від нуклеотидної послідовності має максимум поблизу центру фрагмента ДНК та спускається вниз на кінцях додекамера (Рис. 4.16). Причин такої нерівномірної поведінки може бути дві. Перша причина – зменшення напруженості електростатичного поля на кінцях макромолекули (кінцеві ефекти). Друга причина пов'язана зі структурними ефектами, зокрема, з наявністю в центральній частині додекамера Дрю-Дікерсона послідовності нуклеотидів АТ, яка характеризується малим значенням ширини мінорного жолоба.

Результати нашого молекулярно-динамічного моделювання показали, що ширини мінорного та головного жолобів залежать від зовнішнього електричного поля. У природних умовах різниця в ширині мінорного жолоба від кінців до центру фрагмента може досягати 2Å, тоді як головний жолоб характеризується вузькою частиною в центрі та ширшими частинами на кінцях змодельованого фрагменту макромолекули ДНК (Рис. 4.17). У присутності зовнішнього електричного поля, спрямованого паралельно осі спіралі $E_{\parallel}$, збільшення напруженості поля робить мінорний жолоб ширшим на одному кінці фрагмента ДНК і вужчим на іншому (Рис.4.17а). Головний жолоб подвійної спіралі ДНК також зазнає змін: у центральній частині ширина головного жолоба стає вужчою, а в кінці вона – ширшою під дією електричного поля $E_{\parallel}$ (Рис.4.17б).

Структурний відгук подвійної спіралі на присутність зовнішнього електричного поля, паралельного подвійній спіралі ДНК, призводить до зміщення максимумів іонного розподілу для двох пар нуклеотидів у напрямку зовнішнього електричного поля (Рис. 4.16а, верхній графік). Спостерігається кореляція між шириною малого жолоба та положенням максимуму кількості протийонів.

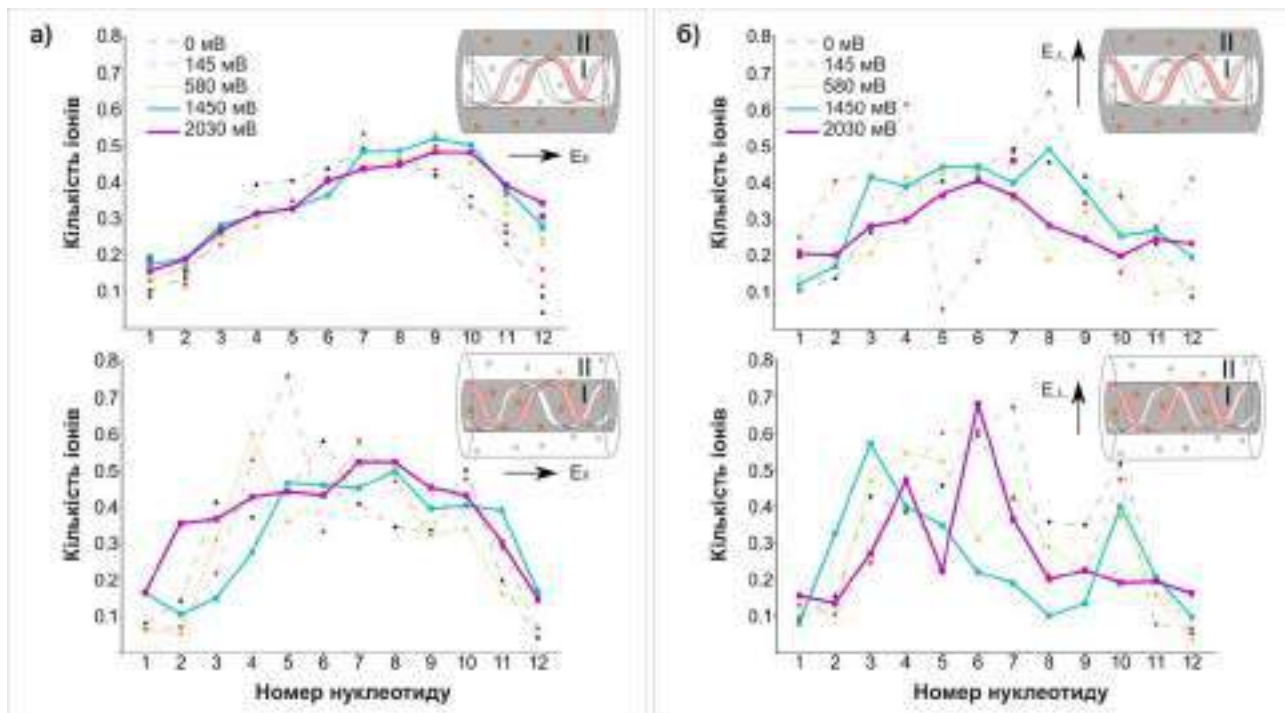


Рис. 4.16. Розподіл іонів уздовж подвійної спіралі в системі К-ДНК для різних значень паралельної (а) та перпендикулярної (б) орієнтації зовнішнього електричного поля. На верхніх графіках враховуються іони з другої гідратної оболонки (зabarвлена в сірий колір на вставці). На нижніх графіках – іони з першої гідратної оболонки. Ці результати усереднюються протягом останніх 10 нс моделювання кожні 50 нс. Рисунок з роботи дисертанта [71].

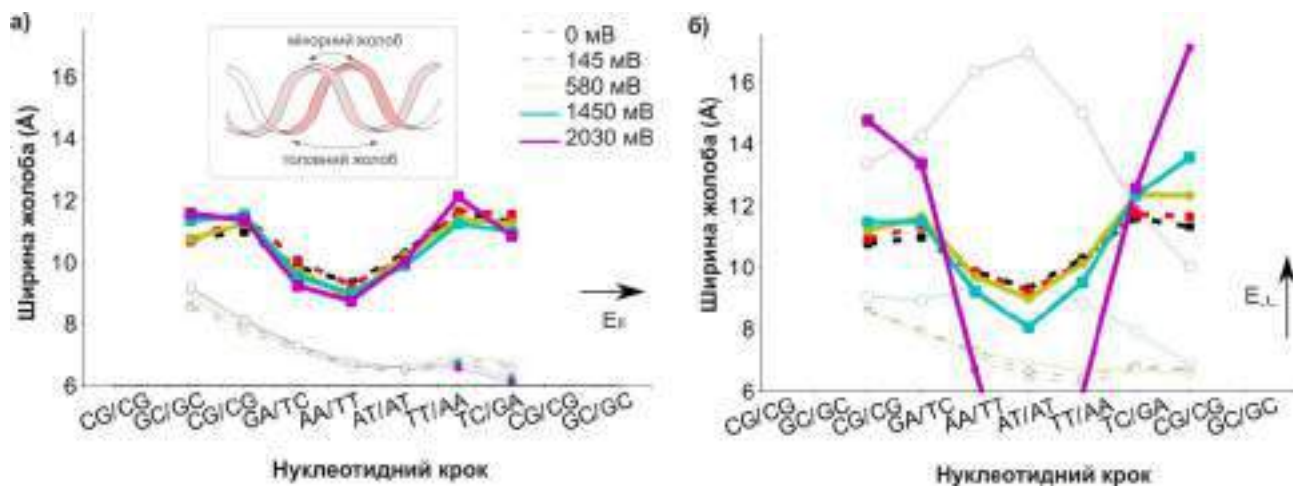


Рис. 4.17. Ширина мінорного (тонкі лінії з кружками) та головного (товсті лінії з квадратами) жолобів подвійної спіралі ДНК на динуклеотидних кроках у випадку паралельної (а) та перпендикулярної (б) орієнтації до макромолекули зовнішнього електричного поля. Стандартні відхилення показано на графіку в Додатку В (Рис. В5). Рисунок з роботи дисертанта [71].

Зовнішнє електричне поле значно згладжує розподіл іонів, тому що в цьому випадку кулонівські сили, що діють на протийон з боку зовнішнього електричного поля, сильніше за сили тяжіння з боку атомних груп подвійної спіралі ДНК. Кількість іонів, локалізованих в областях пар нуклеотидів на кінцях фрагменту ДНК (область з 8 нуклеотиду по 12 нуклеотид), збільшується зі збільшенням напруги. Цей ефект можна пояснити тим, що під дією більш високих зовнішніх сил і, як наслідок, подовження малого жолоба іони набагато частіше починають покидати свої місця локалізації.

У випадку перпендикулярної орієнтації електричного поля $E_{\perp}$ структурні зміни несуттєві при значеннях напруги нижче 1450 мВ, а залежність ширини мінорного та головного жолобів якісно така сама, як і у випадку відсутності зовнішнього електричного поля (Рис. 4.17б). Починаючи зі значення напруги 1450 мВ ширина мінорного жолоба у центрі фрагмента ДНК стає максимальною, а ширина головного жолоба різко зменшується (Рис. 4.17б, сині та пурпурні лінії). Через значне збільшення ширини мінорного жолоба спостерігається розкриття пар нуклеотидів у центральній частині макромолекулярного фрагмента і відбувається руйнування подвійної спіралі ДНК. Структурні зміни подвійної спіралі також впливають на розподіл іонів: середня кількість іонів у першій гідратній оболонці подвійної спіралі спочатку зменшується зі збільшенням прикладеного зміщення, але потім починає збільшуватися (Рис. 4.16б, нижній графік). Цей ефект спостерігається і у вольт-амперній характеристиці, яка стає нелінійною (Рис. 4.15, зелені трикутники). Слід відзначити, що ширина головного та мінорного жолобів зазнає значних коливань, які становлять 1 Å у випадку $E_{\parallel}$ і до ≈ 2.5 Å у випадку $E_{\perp}$ у центральній частині фрагмента ДНК (Рис. В5, Додаток В).

Отримані результати молекулярно-динамічного моделювання показали, що динаміка протийонів у зовнішньому електричному полі неоднорідна у різних ділянках подвійної спіралі ДНК. Візуальне дослідження траєкторій системи К-ДНК в електричному полі, паралельному до осі подвійної спіралі ($E_{\parallel}$), показало, що для значень напруги, починаючи з 870 мВ, протийони захоплюються

електричним полем і рухаються вздовж макромолекули. Цей ефект більш помітний за більш високих значень напруги (Рис. 4.18а). Рухливість іонів у першій гідратній оболонці визначається структурою подвійної спіралі. Протийони довше залишаються в місцях з більш вузьким мінорним жолобом, де вони можуть перебувати довше. Оскільки ширина жолобів модулюється послідовністю нуклеотидних основ, рух іонів залежить від нуклеотидної послідовності. Через теплові коливання подвійної спіралі ширина жолобів змінюється, що сприяє руху протийонів по макромолекулі ДНК всередині жолоба. У другій гідратній оболонці протийони можуть рухатися вільно, і їхня рухливість приблизно в 6 разів вища.

Проведений візуальний аналіз системи К-ДНК в електричному полі, перпендикулярному до осі спіралі ($E \perp$), показав, що макромолекула ДНК меншою мірою впливає на рух протийонів. Це пов'язано з великим відношенням об'єму системи до об'єму фрагмента ДНК. Слід зазначити, що у гідратних шарах навколо ДНК, де відношення об'єму системи до об'єму ДНК нижче, значення провідності можуть бути значно вищими для напрямку поля, паралельного осі спіралі, а не перпендикулярно до ДНК [282]. При високих напругах фрагмент ДНК починає згинатися (Рис. 4.18б). При зовнішній напрузі від 1450 мВ до 2030 мВ вигин суттєво збільшується (від $\sim 50^\circ$ до $\sim 90^\circ$), без розриву водневих зв'язків у комплементарних парах нуклеотидів подвійної спіралі ДНК. Цей ефект також проявляється у швидкій зміні ширини жолобів (Рис. 4.17б). Таким чином, електричне поле викликає конформаційний перехід, що нагадує плавлення подвійної спіралі ДНК під дією зовнішньої сили. Порогове значення зовнішнього електричного поля, що дозволяє здійснити такий перехід, становить ~ 2000 мВ. Ефект плавлення ДНК під дією сильних електричних полів спостерігається експериментально [15,293,294].

Значення іонної провідності для системи К-ДНК, отримані в наших розрахунках методом молекулярної динаміки (значення 3,64 мСм/см та 4,28 мСм/см у Таблиці 4.4), досить близькі до експериментального значення 3,1 мСм/см для розчину Na-ДНК [264].

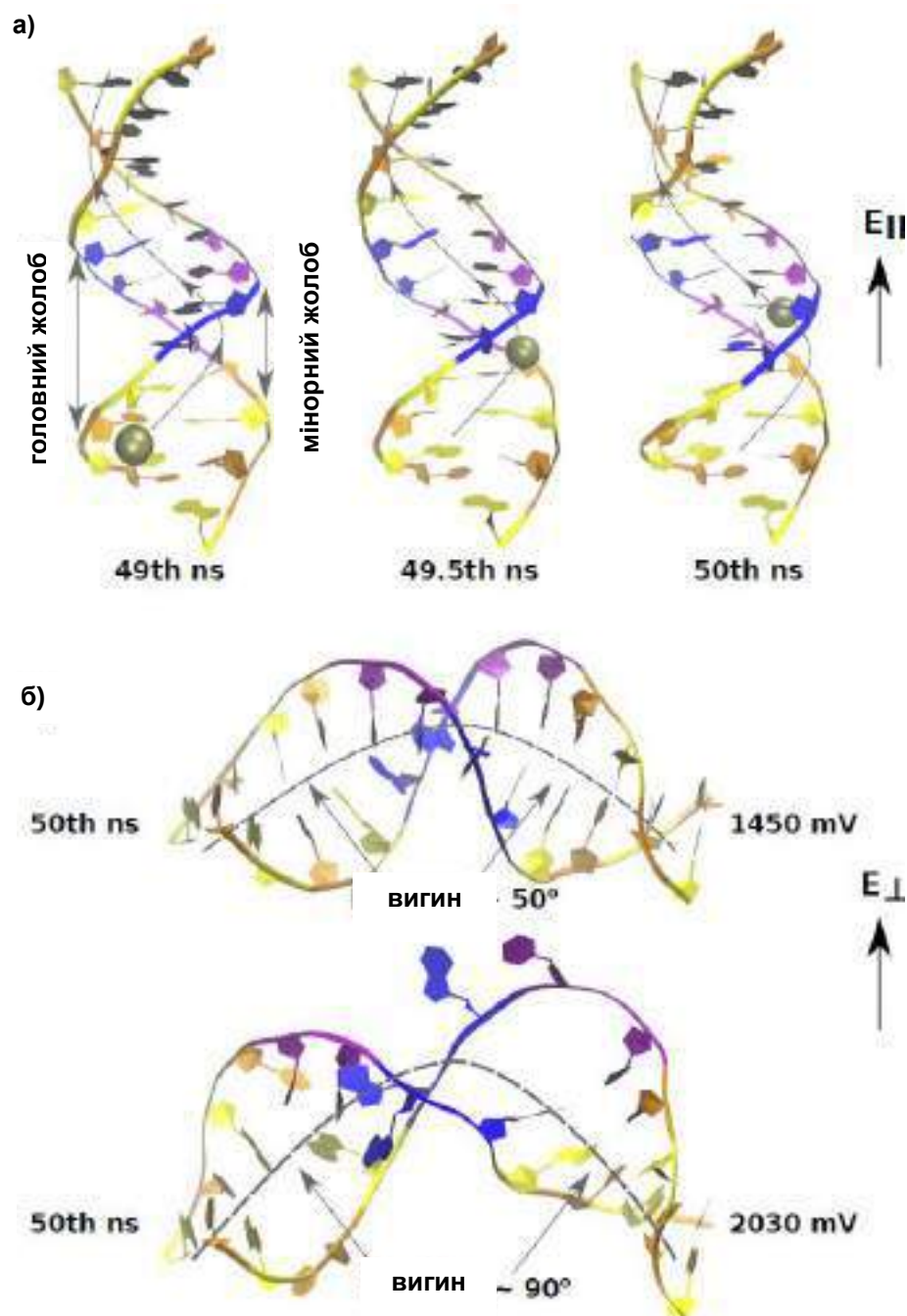


Рис. 4.18. (а) Зображення з останньої наносекунди моделювання системи К-ДНК з $E_{||}$ та зовнішньою напругою 2030 мВ. Часовий крок між кожним із сусідніх знімків становить 0,5 нс. Для спрощення візуалізації показаний лише один іон, який рухається вздовж мінорного жолоба ДНК. (б) Зображення конформаційного переходу ДНК під дією перпендикулярного електричного поля $E_{\perp}$. Знімки взяті з останнього кроку моделювання із різницею потенціалів зовнішнього електричного поля 1450 мВ (вгорі) та 2030 мВ (внизу). Рисунок з роботи дисертанта [71].

Незважаючи на відмінність іонів калію та натрію, таке порівняння має сенс, тому що при моделюванні атомістичної молекулярної динаміки у силовому полі CHARMM іони K^+ виявляють структуруючий характер гідратації, як і іони Na^+ у реальних водних розчинах [136]. Розрахункові значення провідності приблизно в 4 рази нижчі за експериментальне значення для водного розчину ДНК без додавання солі, отриманого в нашому експерименті [59]. Проте слід зазначити, що концентрація ДНК у наших симуляціях приблизно на два порядки вища, ніж у експериментах [59,264], а іонна провідність, як відомо, зменшується зі збільшенням концентрації ДНК [264]. Порівняння результатів для розчинів KCl показало, що значення іонної провідності, отримане в наших розрахунках (значення 8,95 мСм/см у Таблиці 4.4), близьке до експериментального значення для розчину KCl з концентрацією 0,1 М при температурі 25 °C 12, 82 мСм/см [295]. Отже, попри наближений характер порівняння наших результатів з експериментами [59,264], розрахункові значення провідності задовільно узгоджуються з експериментальними спостереженнями.

Вплив подвійної спіралі на динаміку протийонів K^+ , що спостерігається в наших молекулярно-динамічних дослідженнях, є важливими як для розуміння фундаментальних властивостей системи ДНК з протийонами, так і для створення можливих біотехнологічних застосувань. Зокрема, захоплення протийонів подвійною спіраллю ДНК та вплив на їхній рух послідовності пар основ (Рис. 4.18а) підтримує ідею застосування інформації про іонний струм для розробки методу визначення послідовності нуклеотидів ДНК за даними іонної електропровідності [278,282,283]. Важливим є спостережений плавлення подвійної спіралі ДНК під дією зовнішнього електричного поля, що прикладено перпендикулярно до макромолекули (Рис. 4.18б). Цей ефект спостерігається експериментально для сильних полів [15,293,294], які можуть бути створені в спеціальних лабораторних умовах. Слід зазначити, що при дії на систему змінним електромагнітним полем на частотах власних коливань подвійної спіралі ДНК цей може бути суттєво підсилений, що може мати широке застосування в різних сферах діяльності людини.

ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ

Проведено систематичне дослідження текстуроутворення плівок ДНК з хлоридами лужних металів. Експериментальні дані показали, що утворення текстур у плівках ДНК залежить від концентрації та типу солі, що додається у вихідний розчин. У випадку NaCl, KCl та RbCl текстури у плівках ДНК спостерігалися при концентрації надлишку солі 10 ммоль/л. Зменшення концентрації солей NaCl, KCl та RbCl у вихідному розчині призводить до зменшення площі текстури плівок. У випадку солі CsCl текстури в плівках ДНК формуються при значно вищій концентрації (30 ммоль/л). У випадку LiCl після випаровування розчину текстури не утворюються за жодної концентрації солі у вихідному розчині. Також було досліджено плівки, що утворилися після випаровування розчину з тією самою концентрацією солі, але без ДНК. У плівках без ДНК текстур не спостерігалось. Утворення текстур відбувається лише у присутності ДНК та достатньої кількості солі певного сорту. Для різних солей текстури формуються за різних концентрацій у вихідному розчині. Аналіз параметрів плівок ДНК з різними солями показав, що випаровування розчину призводить до кристалізації іонів солі на макромолекулі ДНК та утворення комплексів ДНК із сіллю. Оцінки електростатичної енергії для системи упорядкованих іонів та зарядів ланцюгів ДНК показали, що присутність макромолекули ДНК посилює кристалізацію порівняно з розчином без ДНК. Було виявлено, що властивість солі утворювати кристалічні структури знижується наступним чином: $KCl > NaCl > RbCl > CsCl > LiCl$. Результати оцінки добре узгоджуються з експериментальною залежністю утворення текстур в плівках ДНК від типу солі.

Досліджено впорядкування іонів у водних розчинах ДНК за допомогою методу електропровідності. В результаті отримано температурні залежності (від 28 до 70 °C) електропровідності розчинів ДНК з сіллю KCl (концентраціями від 0 до 2 моль/л). У випадку розчину без солі для температурних залежностей виявлено три характерні області, що описують стадії процесу плавлення подвійної спіралі ДНК. У випадку додавання до розчину ДНК солі характерні стадії плавлення макромолекули ДНК ледь помітні, що пов'язано зі стабілізацією подвій-

ної спіралі іонами доданої солі. Порівняння електропровідності розчину ДНК з додаванням солі та розчину електроліту показує, що при концентрації нижче, ніж 0,4 моль/л (критична концентрація) електропровідність розчинів ДНК є вищою за електропровідність відповідного розчину електроліту. Починаючи з критичної концентрації електропровідність електроліту вища за електропровідність розчину ДНК. Інтерпретацію одержаних експериментальних даних надано, використовуючи концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки. При низьких концентраціях доданої солі протийони ДНК є більш мобільними і тому роблять значний внесок в електропровідність системи. При підвищенні концентрації солі до критичної протийони конденсуються на макромолекулу ДНК і формують іон-фосфатну ґратку. Подальше збільшення концентрації солі приводить до того, що формуються ДНК-сольові комплекси. Зростання ДНК-сольових комплексів зменшує електропровідність системи. Представлений механізм якісно описує спостережуване під час експерименту зміни електропровідності розчинів ДНК.

Для з'ясування характеру руху протийонів в зовнішньому полі проведено молекулярно-динамічне моделювання для подвійної спіралі ДНК із протийонами K^+ та для розчину KCl у зовнішньому електричному полі. Розраховано значення іонної провідності та рухливості іонів для випадку різної орієнтації зовнішнього електричного поля відносно подвійної спіралі. Результати показали, що іони в розчині KCl характеризуються значеннями рухливості близько 0,35 мСм/см. У випадку розчину K-ДНК протийони навколо подвійної спіралі уповільнюються, що спостерігається у зменшенні рухливості. Протийони, що знаходяться всередині подвійної спіралі ДНК, мають у шість разів нижчу рухливість, ніж у розчині. У випадку паралельної орієнтації електричного поля макромолекул ДНК можна розглядати як провідник, що складається з лінійного кору, який конденсує протийони навколо. Протийони рухаються вздовж макромолекули, зовні та в жолобах подвійної спіралі, довше затримуючись в областях з вузьким мінорним жолобом. Їхній рух уздовж ДНК модулюється послідовністю нуклеотидів. У випадку перпендикулярного електричного поля мак-

ромолекула ДНК менше впливає на динаміку протийонів, оскільки час локалізації протийонів поблизу подвійної спіралі коротший. При високих напругах (~ 2000 мВ), прикладених перпендикулярно до подвійної спіралі, спостерігається плавлення подвійної спіралі (*field-induced melting*).

Таким чином, впорядкування протийонів ДНК проявляється в експериментальних дослідженнях текстур висушених плівок ДНК і в кондуктометричних дослідженнях водних розчинів ДНК з протийонами. В обох випадках експериментальні ефекти спостерігаються при збільшенні концентрації солі, що призводить до формування ДНК-сольових комплексів. Молекулярно-динамічне дослідження для системи ДНК з протийонами у зовнішньому електричному полі показують, що в області біля подвійної спіралі іони суттєво уповільнюються. Подвійна спіраль ДНК є центром впорядкування для іонів системи. Одержані результати підтверджують концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК.

РОЗДІЛ 5

РОЗПОДІЛ ТА ВПОРЯДКУВАННЯ ПРОТИЙОНІВ НАВКОЛО ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК: МОЛЕКУЛЯРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ТА КОМП'ЮТЕРНІ СИМУЛЯЦІЇ

5.1. Дослідження розподілу протийонів між внутрішніми і зовнішніми областями подвійної спіралі ДНК

Дослідження розподілу протийонів між внутрішніми і зовнішніми областями подвійної спіралі ДНК здійснювалася в рамках підходів спрощених моделей поліелектролітів та в рамках методу молекулярної динаміки. Молекулярно-динамічні симуляції проводилися разом з канд. фіз.-мат. наук Олексієм Здоревським, за що автор висловлює йому свою подяку. Результати роботи опубліковано в статті [73]. Результати роботи неодноразово доповідалися на семінарах та наукових зібраннях різного рівня.

5.1.1. Іонна атмосфера ДНК в рамках спрощених поліелектролітних моделей. Сильно заряджені молекули поліелектролітів, такі як ДНК, конденсують протийони в хмару навколо макромолекули. Ефект конденсації протийонів для різних поліелектролітів був передбачений в рамках спрощених поліелектролітних моделей. У цих моделях макромолекула ДНК представлена у вигляді ланцюжка заряджених кульок, оточених протийонами, що знижують заряд макромолекули [15]. Деталі моделей такого типу описано в п. 1.4.1. представленої дисертації. Для випадку природної В-форми подвійної спіралі кількість протийонів в хмарі протийонів становить близько 0,76 на одну фосфатну групу, а товщина шару протийонів становить близько 7 Å [15]. Прояви ефектів конденсації та впорядкування протийонів навколо подвійної спіралі ДНК спостерігалися в експериментах з малокутового розсіювання рентгенівських променів [17,18] та інших, наприклад [59,67,124]. Результати експериментів підтверджують оцінки, зроблені в рамках спрощених моделей. Властивості поліелектролітних систем описано в ряді оглядів, наприклад, [16,162].

Спрощені моделі поліелектролітної теорії були розвинуті у 60х-70х років і зараз активно застосовуються для описання різних електростатичних ефектів в ДНК, зокрема для пояснення вигину подвійної спіралі, персистентної довжини, поляризованості хмари протийонів навколо подвійної спіралі [296,297]. У більш складних поліелектролітних моделях ДНК зазвичай представляється як рівномірно заряджений циліндр, що поміщений в позитивно заряджене середовище протийонів [16]. Такі системи аналізуються із застосуванням рівняння Пуассона-Больцмана. Деталі моделей такого типу описано в п. 1.4.1. представленої дисертації. В результаті розраховується розподіл протийонів як функція відстані від ДНК. В деяких випадках навіть були одержані аналітичні розв'язки [163–165]. Моделі, засновані на рівнянні Пуассона-Больцмана, дають якісно той самий висновок, пов'язаний з конденсацією протийонів, але концентрація протийонів у хмарі навколо ДНК поступово зменшується до об'ємної концентрації зі збільшенням відстані від макромолекули [16]. В цьому випадку не існує певної межі між іонною атмосферою і розчином, як це було одержано у простих моделях теорії конденсації протийонів [15]. Незважаючи на прогрес поліелектролітних теорій ДНК, структура іонної атмосфери все ще далека від повного розуміння.

Оболонку з протийонів навколо подвійної спіралі умовно можна розділити на внутрішню та зовнішню області макромолекули ДНК. Мінорний жолоб і головний жолоб подвійної спіралі можна розглядати як внутрішні ділянки ДНК, тоді як шар між поверхнею ДНК і розчином можна розглядати як зовнішню область іонної атмосфери. За даними молекулярно-динамічного моделювання, час перебування протийонів всередині ДНК знаходиться в діапазоні від 10 пс до 1 нс, залежно від типу протийону, області подвійної спіралі, послідовності нуклеотидних основ та характеру гідратації іонів [10–12,32,136,192,279]. У межах цих часів осілого життя протийони можуть здійснювати коливання, які спостерігаються в низькочастотних спектрах різних форм подвійної спіралі ДНК; зокрема, в розділах 2, 3 і 4 описано дослідження коливань протийонів відносно фосфатних груп (іон-фосфатні коливання) у діапазоні спектрів від 90 до 180 cm^{-1}

[25,39,41,42,216,223,275]. Протийони поза подвійною спіраллю рухаються навколо макромолекули без обмежень. Таким чином, структура хмари протийонів навколо ДНК неоднорідна і має різні властивості всередині і зовні подвійної спіралі. Для опису розподілу протийонів в областях подвійної спіралі необхідно розробити нові моделі. У зв'язку з цим в представлений дисертації було поставлено задачу дослідити структуру іонної атмосфери навколо макромолекули ДНК в рамках підходів спрощених поліелектролітних моделей та визначити частки конденсованих протийонів всередині та зовні подвійної спіралі.

5.1.2. Побудова спрощеної поліелектролітної ДНК моделі з урахуванням захоплених протийонів. Структура подвійної спіралі ДНК характеризується мінорним та головним жолобами, у яких можуть локалізуватися протийони (Рис. 5.1). Аби врахувати захоплення протийонів всередині подвійної спіралі ДНК, вихідна модель теорії конденсації протийонів [15], описана в п. 1.4.1, була розширена в представлений дисертаційній роботі. В даній моделі будемо розглядати випадок одновалентних протийонів типу Na^+ або K^+ .

У розробленій моделі макромолекула ДНК представлена як нескінченний ланцюжок заряджених кульок, розділених відстанню b' . Загальна кількість конденсованих протийонів, що припадають на одну фосфатну групу, становить θ . Вважається, що протийони конденсуються на ДНК, якщо вони локалізовані всередині об'єму V_p навколо поліелектроліту. Внутрішній об'єм подвійної спіралі ДНК представлений об'ємом V_1 навколо поліаніону. Протийони всередині цього об'єму (захоплені протийони) зменшують лінійну густину заряду макромолекули. Здатність поліаніону захоплювати протийони всередині описується параметром захоплення γ , який є кількістю захоплених протийонів на одну фосфатну групу (Рис. 5.1б).

Так само, як і в теорії конденсації Меннінга [15] представляємо вільну енергію системи у вигляді суми електростатичного g_{rep} і ентропійного g_{mix} внесків:

$$g = g_{rep} + g_{mix}. \quad (5.1)$$

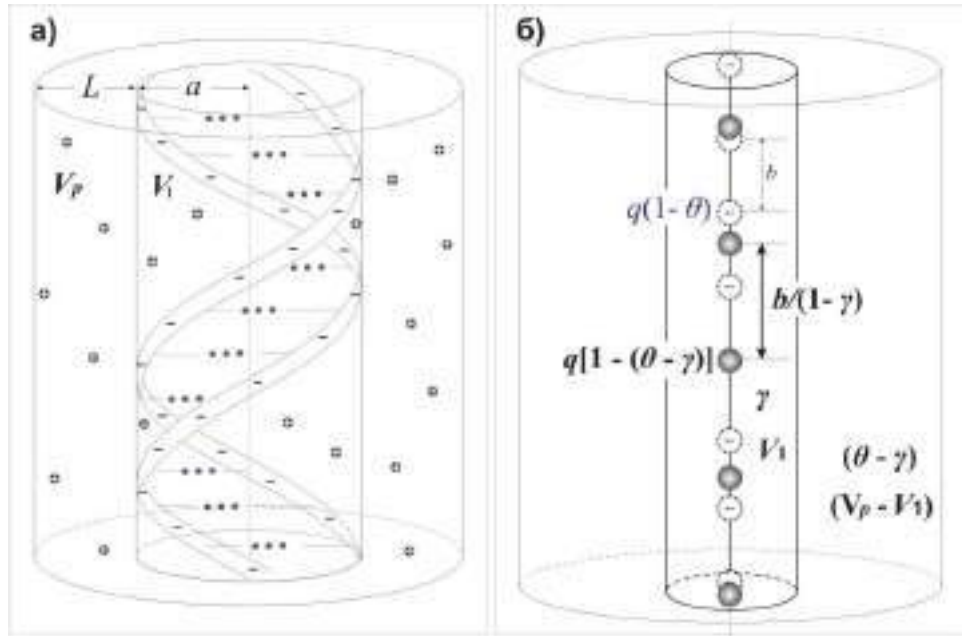


Рис. 5.1. а) Схематична структура подвійної спіралі ДНК, що зображує внутрішні і зовнішні області ДНК, де можуть локалізуватися протийони. б) Модель захоплення протийонів всередину подвійної спіралі ДНК. $b / (1 - \gamma)$ – відстань між перенормованими зарядами; θ – кількість конденсованих протийонів на одну фосфатну групу; V_1 – об'єм, що припадає на одну фосфатну групу, доступний для протийонів усередині ДНК; $(V_p - V_1)$ – об'єм на одну фосфатну групу, доступний для протийонів зовні макромолекули; γ – кількість протийонів на одну фосфатну групу всередині макромолекули. Положення зарядів на початкових відстанях b показано пунктирними кружками. Рисунок з роботи дисертанта [73].

В рівняння (5.1) вільна енергія виражена в одиницях $k_B T$ на одну фосфатну групу, k_B – стала Больцмана, T – температура в градусах Кельвіна.

Розглянемо внесок, що пов'язаний з електростатичною енергією g_{rep} . Через нейтралізацію фосфатних груп протийонами, локалізованими всередині макромолекули, лінійна густина заряду знижується. Таким чином, кількість заряджених кульок у нашій моделі N' зменшується на кількість захоплених протийонів: $N' = N\gamma$, де N – кількість фосфатних груп у молекулі ДНК (у нашій мо-

делі $N \rightarrow \infty$). Враховуючи, що $b' = L / (N' - 1)$ і $b = L / (N - 1)$, відстань між перенормованими зарядами в нашій моделі можна знайти в наступному вигляді:

$$b' = b / (1 - \gamma). \quad (5.2)$$

Заряди розділені відстанню b' і екрануються протийонами, локалізованими поза подвійною спіраллю у зовнішній області іонної атмосфери ДНК. Кількість протийонів поза подвійною спіраллю в розрахунку на одну фосфатну становить $(\theta - \gamma)$. Таким чином, з урахуванням формули (5.1) середню електростатичну енергію відштовхування заряджених кульок між собою, яка була одержана для випадку моделі Меннінга (1.2) можна переписати в наступному вигляді:

$$g_{rep} = -\xi(1 - \gamma)[1 - (\theta - \gamma)]^2 \ln \frac{\kappa b}{1 - \gamma}. \quad (5.3)$$

Як і в розділі 1 (п. 1.4.1) $\xi = L_B / b$ – безрозмірна лінійна густина заряду поліаніону. Параметр $L_B = q^2 / 4\pi\epsilon\epsilon_0 k_B T$ – довжина Б'єрума, ϵ – діелектрична проникність розчину, ϵ_0 – діелектрична проникність вакууму. Довжина Б'єрума – це відстань, при якій енергія взаємодії двох елементарних електростатичних зарядів дорівнює теплової енергії. Параметр κ – це радіус Дебая: $\kappa = \sqrt{8L_B \times 10^3 N_A^2 C} = A\sqrt{C}$, де N_A – стала Авогадро, а C – концентрація іонів в молях на літр.

Розглянемо детально ентропійний доданок g_{mix} в (5.1), що описує ентропію змішування протийонів в іонній атмосфері навколо макромолекули з іонами у розчині. Внесок ентропії змішування визначено з урахуванням протийонів, локалізованих в областях поза макромолекулами в об'ємі $(V_p - V_1)$ та всередині макромолекули в об'ємі V_1 (Рис. 5.1б). Об'єм внутрішньої частини подвійної спіралі ДНК V_1 , де локалізовані захоплені протийони, є характеристикою структури подвійної спіралі. Таким чином, частина вільної енергії, пов'язана з ентропією змішування, може бути переписана в такому вигляді:

$$g_{mix} = \theta \ln \frac{\theta}{V_p C} + \gamma \ln \frac{\gamma V_p}{V_1 \theta} + (\theta - \gamma) \ln \frac{(\theta - \gamma) V_p}{(V_p - V_1) \theta}. \quad (5.4)$$

Як і раніше, C – молярна концентрація в молях на літр, а V_p – об'єм на одну фосфатну групу у літрах на моль, який займають конденсовані протийони. Перший член у рівнянні (5.4) описує ентропію зумовлену змішуванням всіх конденсованих протийонів з іонами розчину, і він такий самий, як у випадку моделі Меннінга [15]. Другий доданок в (5.4) описує змішування захоплених в середину ДНК протийонів з протийонами усїєї іонної атмосфери. Третій доданок в (5.3) описує змішування протийонів, що знаходяться в зовнішній частині іонної атмосфери ДНК, з протийонами усїєї іонної оболонки.

З урахуванням електростатичного (5.3) та ентропійного (5.4) вкладів визначено вільну енергію системи протийонів навколо молекули поліелектроліту як функцію параметра θ . Рівноважне значення параметра θ визначено з умови мінімуму енергії $dg / d\theta = 0$, яке можна записати в наступному вигляді:

$$G(\theta) + F(\theta) \ln C = 0. \quad (5.5)$$

У формулі (5.5) $G(\theta)$ і $F(\theta)$ позначають такі функції:

$$G(\theta) = \xi [2(1 - \gamma) - \gamma'(1 - 3\gamma + \theta)] [1 - (\theta - \gamma)] \ln \frac{Ab}{1 - \gamma} + \ln \frac{(\theta - \gamma)e}{V_p - V_1} - \xi \gamma' [1 - (\theta - \gamma)]^2 + \gamma' \ln \frac{\gamma(V_p - V_1)}{(\theta - \gamma)V_1}, \quad (5.6)$$

$$F(\theta) = \frac{\xi}{2} [1 - (\theta - \gamma)] [2(1 - \gamma) - \gamma'(1 - 3\gamma + \theta)] - 1, \quad (5.7)$$

де $\gamma' = d\gamma / d\theta$, а e основа натурального логарифму.

Для того, аби позбутися сингулярності у випадку нульової концентрації солі ($C \rightarrow 0$) коефіцієнти біля $\ln C$ в рівнянні (5.5) потрібно покласти рівним нулеві, як і в теорії конденсації протийонів [15]. Враховуючи це, функції $G(\theta)$ (5.6) і $F(\theta)$ (5.7) слід прирівняти до нуля, оскільки вони є частинами одного рівняння (5.5). В результаті можна отримати такі рівняння:

$$2\ln \frac{Ab}{1-\gamma} + \ln \frac{(\theta-\gamma)e}{V_p-V_1} - \xi\gamma'[1-(\theta-\gamma)]^2 + \gamma' \ln \frac{\gamma(V_p-V_1)}{(\theta-\gamma)V_1} = 0, \quad (5.8)$$

$$\gamma'\theta^2 - 2\theta(1-\gamma)(1+\gamma') + (1+\gamma)[2(1-\gamma) - \gamma'(1-3\gamma)] - 2\xi^{-1} = 0. \quad (5.9)$$

Використовуючи рівняння (5.8) і (5.9), можна розрахувати рівноважні значення для об'єму V_p і параметра θ . У випадку $\gamma=0$ і $V_1=0$ рівняння (5.8) і (5.9) дають той самий результат, що й у випадку теорії конденсації протийонів [15], оскільки за таких умов немає ефекту захоплення протийонів всередині подвійної спіралі ДНК. Кількість протийонів всередині ДНК визначається параметром захоплення γ , який визначає характер перерозподілу протийонів між внутрішніми та зовнішніми областями подвійної спіралі. У загальному випадку параметр захоплення γ є функцією параметра θ . Форму цієї функції не визначено, і необхідно провести аналіз, аби з'ясувати характер її поведінки.

5.1.3. Аналіз функції захоплення протийонів. Розглянемо параметр захоплення γ як функцію параметра θ . Випадок нульового значення $\gamma(\theta)=0$ означає відсутність захоплених протийонів усередині поліелектроліту. Це може бути результатом відсутності протийонів навколо ДНК ($\theta=0$) або інших причин, пов'язаних з особливостями взаємодії протийонів із макромолекулою. Збільшуючи кількість протийонів навколо поліелектроліту, внутрішні області подвійної спіралі повинні поступово заповнюватися протийонами, і $\gamma(\theta)$ має збільшуватися зі збільшенням θ . Водночас кількість протийонів, які можуть бути локалізовані всередині подвійної спіралі, обмежена об'ємом доступної внутрішньої області (V_1) та електростатичним відштовхуванням протийонів між собою. Таким чином, параметр захоплення повинен вийти на плато, досягши деякого значення $\gamma_{\max}$ при максимально можливій концентрації конденсованих протийонів $\theta = \theta_{\max}$. Для визначення $\gamma_{\max}$ проаналізуємо рівняння (5.9) для випадку максимальної конденсації протийонів. Оскільки кількість протийонів в іонній атмосфері не може перевищувати кількості фосфатних груп, має виконуватися умова $\theta_{\max} \leq 1$. Для параметра захоплення, що відповідає плато, похідна

$\gamma' = 0$. Виходячи з таких міркувань, з рівняння (5.9) може бути отримане наступне рівняння відносно $\gamma_{\max}$:

$$\gamma_{\max}^2 - \gamma_{\max} + \xi^{-1} = 0. \quad (5.10)$$

Розв'язки квадратного рівняння (5.9) наступні:

$$\gamma_{\max}^{\pm} = \frac{1}{2} \pm \frac{1}{2} \sqrt{1 - 4\xi^{-1}}. \quad (5.11)$$

Слід зазначити, що для ДНК $\gamma_{\max}^{+} > \gamma_{\max}^{-}$. Розв'язок з меншим значенням параметра захоплення ($\gamma_{\max}^{-}$) є найбільш цікавим у нашому дослідженні, тому що у випадку $\gamma_{\max}^{+}$ поліаніон нейтралізується захопленими протийонами практично повністю, і ефект конденсації протийонів буде менш помітним. Це протирічить експериментальним даним. Для з'ясування характеру перерозподілу протийонів між внутрішніми та зовнішніми ділянками подвійної спіралі ДНК далі аналізуються деякі окремі випадки функції захоплення $\gamma(\theta)$.

У найпростішому випадку параметр захоплення можна розглядати як константу, яка не залежить від параметра θ , $\gamma(\theta) = \gamma_0$. Таке наближення може бути справедливим, якщо кількість протийонів всередині поліелектроліту слабко залежить від концентрації конденсованих протийонів навколо макромолекули. Для поліелектроліту ДНК концентрація протийонів іонній атмосфері має бути значно більшою, ніж у внутрішніх областях подвійної спіралі, і накладена умова може виконуватися. Враховуючи це та використовуючи рівняння (5.8) та (5.9), параметр θ та об'єм V_p можна визначити у такому вигляді:

$$\theta = 1 + \gamma_0 - \frac{1}{\xi(1 - \gamma_0)}, \quad (5.12)$$

$$V_p = V_1 + \frac{A^2 b^2 e}{(1 - \gamma_0)^2} \left[1 - \frac{1}{\xi(1 - \gamma_0)} \right]. \quad (5.13)$$

У цьому випадку параметр θ та об'єм V_p залежать від параметру захоплення.

З іншого боку важливим частинним випадком, який може реалізуватися, є випадок, коли функція захоплення описує рівномірний розподіл протийонів на-

вколо подвійної спіралі ДНК. У цьому випадку концентрація протийонів усередині подвійної спіралі (в об'ємі V_1) повинна дорівнювати середній концентрації протийонів у хмарі навколо ДНК (в об'ємі V_p). Для того аби ця умова виконувалася можна розглянути функцію захоплення у вигляді:

$$\gamma(\theta) = \theta V_1 / V_p \quad (5.14)$$

В результаті рівняння (5.8) та (5.9) приймають такий вигляд:

$$2 \ln \frac{Ab}{1 - \theta \frac{V_1}{V_p}} - \xi \frac{V_1}{V_p} \left[1 - \theta \left(1 - \frac{V_1}{V_p} \right) \right]^2 = 0, \quad (5.15)$$

$$3\theta^2 \frac{V_1}{V_p} \left(1 - \frac{V_1}{V_p} \right)^2 - 2\theta \left(1 - \frac{V_1}{V_p} \right) + 2(1 - \xi^{-1}) - \frac{V_1}{V_p} = 0. \quad (5.16)$$

Рівняння (5.16) має такі розв'язки:

$$\theta^{\pm} = \frac{1 + \frac{V_1}{V_p} \pm \sqrt{\left(1 + \frac{V_1}{V_p} \right)^2 - 3 \frac{V_1}{V_p} \left(2 - \frac{2}{\xi} - \frac{V_1}{V_p} \right)}}{3 \frac{V_1}{V_p} \left(1 - \frac{V_1}{V_p} \right)}. \quad (5.17)$$

Підставляючи рішення (5.17) у рівняння (5.15), отримуємо трансцендентне рівняння відносно V_p . Далі рівномірний розподіл протийонів відноситимемо до випадку, що відповідає мінімальній кількості захоплених протийонів, яке позначимо як $\gamma_{\min}$. Випадок, коли кількість захоплених протийонів менша за $\gamma_{\min}$, відповідає тому, що протийони повинні витіснятися з внутрішньої області ДНК, що експериментально не спостерігається. Навпаки, випадок, коли кількість захоплених протийонів більша, ніж середнє значення, можливий у тому випадку, коли протийони застряють у жолобах подвійної спіралі. Саме це спостерігається в молекулярно-динамічному моделюванні різних протийонів [12].

Таким чином, розроблена модель дозволяє аналізувати захоплення протийонів усередину подвійної спіралі ДНК. Параметр захоплення γ є ключовим і змінюється в діапазоні від $\gamma_{\min}$ до $\gamma_{\max}$. Верхня межа параметра захоплення $\gamma_{\max}$ визначена з рівняння (5.11) з умови електронейтральності. Мінімальне значення

параметра захоплення $\gamma_{\min}$ визначено з умови рівномірного розподілу конденсованих протийонів. Розподіл протийонів між внутрішньою та зовнішньою областями подвійної спіралі у випадку деяких проміжних значень γ може бути з'ясовано за допомогою рівнянь (5.12) та (5.13).

5.1.4. Модельні оцінки кількості захоплених протийонів. Використовуючи рівняння (5.8) і (5.9), можна оцінити частку конденсованих протийонів, які локалізовані всередині та поза макромолекулами. Для оцінок необхідно визначити параметри розробленої моделі. У моделі параметри b та V_1 є характеристиками поліаніону. Параметр b , що визначає відстань між елементарними зарядами в моделі, дорівнює половині відстані між парами основ ДНК вздовж осі спіралі (h). Параметр V_1 , що характеризує доступний для протийонів внутрішній простір макромолекули ДНК, визначається структурою подвійної спіралі. Структура подвійної спіралі істотно відрізняється у разі різних форм ДНК, тому параметри b і V_1 мають різні значення у випадку В-, А-, та Z-ДНК.

Параметр V_1 оцінимо як різницю об'єму циліндричного диску циліндру, описаного навколо подвійної спіралі ДНК, і об'єму, що займають атоми пари нуклеотидів ДНК (V_{bp}):

$$V_1 = \frac{1}{2}(\pi a^2 h - V_{bp}), \quad (5.18)$$

де a – радіус подвійної спіралі. У рівнянні (5.18) об'єм ділиться на 2, тому що пара нуклеотидів має дві фосфатні групи, а V_1 – це об'єм, що припадає на одну фосфатну групу. Значення об'ємів атомів у нуклеотидних парах ДНК були визначені в [298] для різних нуклеотидів: аденіну (А), гуаніну (G), тиміну (Т) та цитозину (С). Використовуючи дані [298], значення об'єму V_{bp} , необхідного для обчислення V_1 за формулою (5.18), було оцінено як середній об'єм комплементарних пар нуклеотидів АТ та GC: $V_{bp} = 613 \text{ \AA}^3$. Параметри моделі для В-форми подвійної спіралі ДНК представлені в Таблиці 5.1.

За визначенням, безрозмірна лінійна густина заряду ξ визначається відстанню між зарядами b та довжиною Б'єрума L_B . Водночас довжина Б'єрума залежить від діелектричної проникності розчину, в який занурена макромолекула ДНК. У даній роботі в розрахунках використовувалися значення діелектричної проникності $\varepsilon = 71$, яка відповідає випадку моделі води SPC/E [299], і $\varepsilon = 80$, яка близька до значення моделі води TIP3P [289]. Моделі води SPC/E та TIP3P часто використовуються в молекулярно-динамічному моделюванні ДНК у водному розчині [12,32,75]. Тому ці випадки діелектричної проникності є важливими для аналізу результатів та порівняння з результатами моделювання молекулярної динаміки. Довжина Б'єрума для таких значень діелектричної проникності становить 7,00 Å і 7,85 Å, відповідно. Значення параметра ξ для різних форм подвійної спіралі ДНК наведені в Таблиці 5.1. Використовуючи параметри (Таблиця 5.1) і формулу (5.11) для $\gamma_{\max}$ і формулу (5.17) для $\gamma_{\min}$ оцінено діапазон зміни константи захоплення (Таблиця 5.2).

Результати показали, що у випадку $\varepsilon = 71$ максимальна кількість протийонів, які можуть бути захоплені всередині подвійної спіралі ДНК, становить близько $0,23 \pm 0,09$, у той час як мінімальна кількість складає близько 0,14. У випадку $\varepsilon = 80$ кількість протийонів, це значення знаходиться в діапазоні від 0,16 до 0,43. Кількість протийонів, що знаходиться всередині жолобів подвійної спіралі значно менша, ніж загальна кількість сконденсованих протийонів. Цей діапазон кількості захоплених протийонів добре узгоджується з існуючими результатами молекулярно-динамічного моделювання [12].

Таблиця 5.1. Параметри моделі захоплення конденсованих протийонів у випадку B-ДНК.

h , Å [14]	b , Å	ξ	a , Å	V_1 , Å ³ (л/моль)
3,4	1,7	4,62	10,5	283 (0,170)

Таким чином, в рамках розробленої моделі досліджено частку конденсованих протийонів усередині макромолекули ДНК. Зважаючи на те, що

у випадку протийонів одновалентних металів кількість конденсованих іонів не може бути більшою за кількість фосфатних груп, було оцінено максимальну кількість протийонів, захоплених макромолекулою ДНК усередині подвійної спіралі. Ці значення відповідають умові повної нейтралізації подвійної спіралі і можуть бути нижчими. Отримані значення об'ємів, що займають конденсовані протийони, показують, що розроблена модель дає значення товщини іонної атмосфери навколо ДНК більша, ніж у теорії конденсації протийонів Меннінга. У випадку В-ДНК максимальне значення становить біля $13\text{\AA}$, що майже вдвічі більше, ніж у випадку теорії конденсації протийонів (Табл. 5.2).

Таблиця 5.2. Параметри іонної атмосфери для різних форм ДНК. $\gamma_{\min}$ і $\gamma_{\max}$ - мінімальне і максимальне значення кількості захоплених протийонів відповідно. $V_p^{\min}$ і $V_p^{\max}$ - мінімальне та максимальне значення об'єму, що припадає на одну фосфатну групу, відповідно. $L_{\min}$ і $L_{\max}$ - мінімальна та максимальна товщина іонної атмосфери навколо ДНК відповідно.

Параметр		θ	γ	V_p , л/моль	L , $\text{\AA}$
Мінімальне значення	$\varepsilon = 71$	0,85	0,143	1,009	8,8
	$\varepsilon = 80$	0,82	0,16	0,87	7,6
Максимальне значення	$\varepsilon = 71$	1	0,317	1,537	12,6
	$\varepsilon = 80$	1	0,43	1,63	13,2
Теорія Меннінга	$\varepsilon = 71$	0,78	-	0,73	6,6
	$\varepsilon = 80$	0,76	-	0,63	5,4

Використовуючи оцінені значення частки протийонів, захоплених усередині ДНК, можна оцінити середню відстань між цими протийонами вздовж подвійної спіралі. Для розрахунку середньої відстані між захопленими іонами використовувалися значення внутрішнього об'єму подвійної спіралі та максимальне значення параметру захоплення (Таблиця 5.2). Середня мінімальна відстань між протийонами всередині подвійної спіралі становить

біля 6 Å (Рис. 5.2). Враховуючи, що діаметри протийонів металів, таких як Na^+ та K^+ , становлять приблизно 1,9 Å та 2,7 Å відповідно, можна зробити висновок, що така відстань між протийонами вздовж макромолекули не забезпечує максимального заповнення внутрішніх об'ємів подвійної спіралі ДНК.

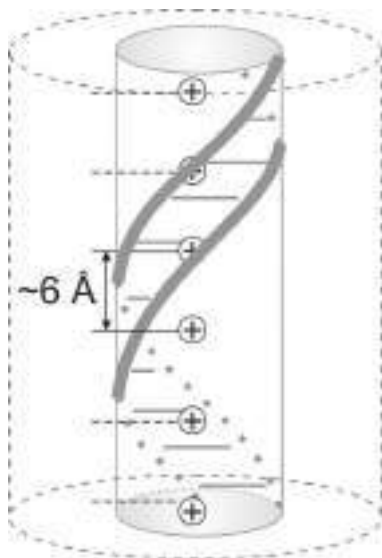


Рис. 5.2. Заповнення внутрішніх областей подвійної спіралі ДНК протийонами. Схематично показано максимально можливу середню відстань між протийонами вздовж подвійної спіралі, що впливає з розрахунків запропонованої моделі.

Розрахункові відстані між іонами у випадку максимального заповнення внутрішніх областей подвійної спіралі ДНК становлять величину приблизно на 1 Å меншу за довжину Б'єрума. В цьому випадку можуть мати місце ефекти електростатичної кореляції між протийонами. Проте в запропонованій моделі кореляція між протийонами не враховується, тому максимальне заповнення внутрішніх областей подвійної спіралі протийонами є граничним випадком для розробленої моделі. Через електростатичне відштовхування розгляд взаємодій протийонів уздовж ДНК має збільшити середню відстань між іонами до відстані у довжину Б'єрума. Таким чином, зроблені оцінки дають інформацію про обмеження на кількість протийонів всередині макромолекули ДНК, що викликані структурними особливостями подвійної спіралі, але не іонними кореляціями.

5.1.5. Порівняння результатів моделі захоплених протийонів з молекулярно-динамічними симуляціями для ДНК з протийонами K^+ . Для перевірки одержаних результатів в рамках побудованої моделі в роботі також було проведено моделювання методом атомістичної молекулярної динаміки нескінченної макромолекули з повторюваним фрагментом В-ДНК з 22 пар

основ d(CGCGAATTCGCGCGAATTCGCG). Фрагмент подвійної спіралі ДНК був занурений у водний бокс розміром $62 \times 62 \times 78 \text{ \AA}^3$. Число молекул води становило 8374. ДНК з цією нуклеотидною послідовністю складається з двох фрагментів, відомих як додекамер Дрю-Дікersona [106], і зазвичай використовується при моделюванні молекулярної динаміки систем ДНК [9,187,188]. Систему нейтралізували сіллю KCl концентрацією 0,15 моль/л. Початкові положення протийонів генерували випадковим чином, щоб вони знаходилися на відстані більше 5 Å один від одного і не менше 7 Å від подвійної спіралі ДНК. При моделюванні використовувалися періодичні граничні умови. Щоб створити модель нескінченного дуплексу ДНК, кінці полінуклеотиду були пов'язані з їхніми зображеннями у сусідніх комірках.

Комп'ютерна симуляція була виконана з використанням програмного пакету NAMD [167] та силового поля CHARMM27 [285]. Для побудови, візуалізації та аналізу систем використовувалася програма VMD [101]. Всі ковалентні зв'язки з атомами водню були обмежені алгоритмом SHAKE [300]. Важкими вважаються усі атомами окрім водню. Для зв'язування кінців фрагментів ДНК зі своїми зображеннями у сусідніх комірках було взято модуль (*patch*) LKNA з силового поля CHARMM33. Використовувалися модель води TIP3P [289] та параметри іонів Беглова та Ру (*Beglov, Roux*) [290]. Застосовувалася динаміка Ланжевена до всіх важких атомів з температурою 300 K. Далекодійні електростатичні взаємодії оброблялися методом Евальда (PME) [291]. Відстані вимикання та обрізання для далекосяжних взаємодій становили 8 Å і 10 Å відповідно. Система К-ДНК спочатку моделювалася при постійному тиску 101325 Па та температурі 300 K (ансамбль NPT). Процедури мінімізації, нагріву та врівноваження були виконані для системи, де на атоми ДНК було накладено обмеження: до кожного атому прикріплювалася пружинка. Обмеження поступово послаблювали, і через 5 нс врівноважування всі атоми ДНК могли вільно рухатися. Потім система моделювалася в ансамблі NVT протягом 300 нс. Для аналізу протийонів було взято останні 100 нс для аналізу.

Візуальний аналіз одержаних траєкторій моделювання показав, що протийони K^+ взаємодіють із ДНК у різних місцях зв'язування: у мінорному та головному жолобах, а також у областях біля фосфатних груп. Найбільш важливою особливістю є те, що іони K^+ проникають глибоко всередину мінорного жолоба, взаємодіючи з атомами нуклеотидних основ, і залишаються там досить довго (до наносекунд). Миттєві знімки ДНК з протийонами в мінорному та головному жолобах подвійної спіралі на 220 нс та на 212 нс, відповідно, показані в Рис. 5.3.

Для вивчення розподілу протийонів навколо ДНК було розраховано кількість іонів K^+ для різних відстаней від осі спіралі (Рис. 5.4а). У нашому аналізі центр подвійної спіралі був пов'язаний з атомом N_1 пуринових основ (гуаніну або аденіну). Результати показують, що кількість протийонів збільшується з відстанню і досягає значення 0,76 на одну фосфатну групу на відстані приблизно 21 Å від центру подвійної спіралі (Рис. 5.4а). Ця відстань є більшою, ніж впливає з теорії Меннінга. Водночас, отримані результати перебувають у інтервалі відстаней, передбаченому розробленою в представленій роботі моделлю (Таблиця 5.2). Слід зазначити, що похибки числа протийонів, пов'язані з флуктуацією іонів, досить великі і можуть бути оцінені в рамках моделі Меннінга [296,297].

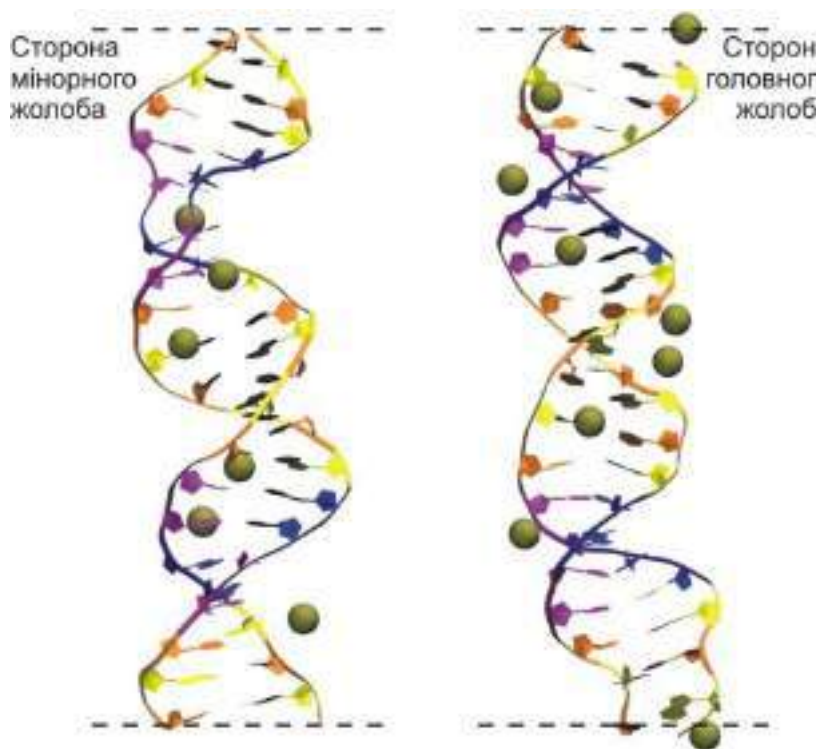


Рис. 5.3. ДНК з протийонами в мінорному та головному жолобі подвійної спіралі. Пунктирними лініями позначені межі періодичних граничних умов. Схема забарвлення ДНК відповідає типу нуклеотидів: Цитозин (оранжевий), Гуанін (жовтий), Аденін (синій), Тімін (фіолетовий). . Рисунок з роботи дисертанта [73]

В середньому близько 10 протийонів завжди присутні всередині подвійної спіралі ДНК у мінорному та головному жолобах. Протийони у мінорному жолобі розташовані ближче до центру подвійної спіралі, ніж у випадку головного жолобу, але в середньому кількість протийонів у межах фосфатного радіусу подвійної спіралі ДНК однакова в обох жолобах (Рис. 5.4б).). Таким чином, кількість протийонів усередині подвійної спіралі становить близько 0,22 на одну фосфатну групу, що добре узгоджується з результатами, отриманими за допомогою моделі, розробленої у цій роботі (Таблиця 5.2). Число протийонів всередині ДНК, отримане в результаті моделювання, знаходиться в діапазоні від $\gamma_{\min}$ до $\gamma_{\max}$, показуючи, що розподіл протийонів іонній атмосфері навколо макромoleкули не є рівномірним, й істотна частина протийонів захоплюється всередину подвійної спіралі.

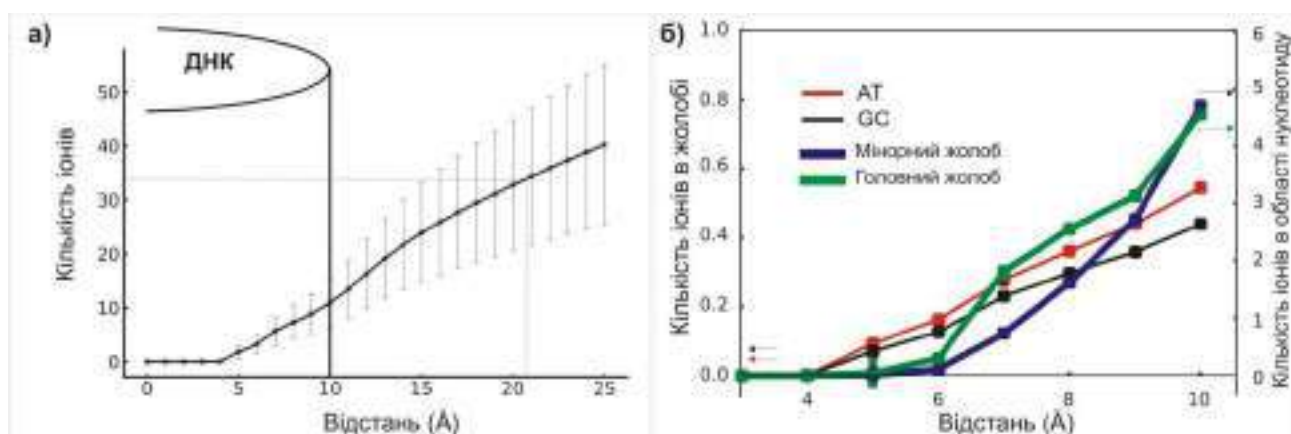


Рис. 5.4. а) Розподіл протийонів від центральної осі макромoleкули ДНК. Циліндр схематично зображає межу подвійної спіралі ДНК. Пунктирними лініями позначено відстань, на якій кількість протийонів відповідає коефіцієнту 0,76 одну фосфатну групу (значення Меннінга). б) Розподіл протийонів навколо центральної осі макромoleкули ДНК у мінорному та головному жолобах подвійної спіралі та у парах нуклеотидів. . Рисунок з роботи дисертанта [73].

Для аналізу ефектів послідовності розраховували кількість протийонів у нуклеотидних парах А-Т та G-С. Кількість іонів аналізували для зрізів, перпендикулярних до осі подвійної спіралі, які визначали як ділянки між атомами фо-

сфору нуклеотидів (Рис. 5.4б). Результати показують, що в середньому кількість протийонів у нуклеотидних парах А-Т систематично вища, ніж у випадку нуклеотидних пар G-C. Цей висновок можна пояснити природним звуженням мінорного жолоба в області А-Т, що робить її більш енергетично сприятливою для локалізації іона. Також він збігається з результатами попередніх моделей молекулярної динаміки ДНК із протийонами [10–12].

Моделювання методом молекулярної динаміки ДНК з протийонами K^+ , виконане іншими авторами [12], показало, що відстань, на якій негативний заряд подвійної спіралі ДНК повністю нейтралізується, знаходиться приблизно в 12 Å поверхню макромолекули. Така відстань близька до товщини хмари протийонів навколо В-ДНК, оціненої в рамках розробленої моделі (Таблиця 5.2). Згідно з результатами роботи [12], кількість іонів K^+ всередині подвійної спіралі становить близько 0,2 на одну фосфатну групу й істотно залежить від нуклеотидної послідовності. Це близько до результатів нашого МД моделювання та модельних оцінок (Таблиця 5.2).

Таким чином, отримані результати показують, що розподіл протийонів іонній атмосфері навколо подвійної спіралі ДНК є неоднорідним. Густина протийонів всередині подвійної спіралі загалом більша, ніж у області поза макромолекулами. Використовуючи розроблену модель на основі теорії конденсації протийонів Меннінга, такий ефект можна пояснити захопленням протийонів усередину жолобів ДНК. Причиною такого захоплення протийонів є прояв специфічних взаємодій K^+ з подвійною спіраллю ДНК, зокрема ефектів гідратації протийонів, що детально буде розглянуто далі. Отримані результати в цілому узгоджуються з експериментальними [17] і даними моделювання [12] та проведеними в роботі молекулярно-динамічними симуляціями.

5.2. Моделювання розподілу протийонів навколо подвійної спіралі ДНК методом молекулярної динаміки

В представлений роботі було проведено окреме дослідження розподілу протийонів навколо подвійної спіралі на основі проведених молекулярно-

динамічних симуляцій макромолекули ДНК з різними іонами металів. Було проведено молекулярно-динамічне моделювання фрагменту ДНК з одновалентними іонами Na^+ , K^+ , Cs^+ та двовалентними іонами Mg^{2+} , а також квазінескінченної подвійної спіралі ДНК з протийонами K^+ . Результати дослідження за цією проблемою висвітлено в одноосібній роботі автора [32], а також в статті спільно зі студентами Ольгою Любиш та Анастасією Власюк [57]. Автор представленої дисертації висловлює щирю вдячність своїм співавторам. Результати роботи неодноразово доповідалися на семінарах та наукових зібраннях різного рівня, зокрема на наукових конференціях [36,37,45].

5.2.1. Молекулярно-динамічна симуляція ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Cs^+ та Mg^{2+} . Фрагмент ДНК, що складається з 12 пар нуклеотидів d(CGCGAATTCGCG) було використана в якості стартової геометрії для подвійної спіралі. Полінуклеотид з такою послідовністю азотистих основ відомий як додекамер Дрю-Дікерсона [106]. Було побудовано чотири системи, кожна з яких містила фрагмент ДНК у водному кубі розміром $64 \times 64 \times 64 \text{ \AA}^3$ та протийони певного виду: Na^+ , K^+ , Cs^+ або Mg^{2+} . Нумерацію атомів ДНК наведено в Додатку Г (Рис. Г1.). У випадку систем з одновалентними іонами (системи Na-ДНК, K-ДНК та Cs-ДНК) кількість протийонів дорівнювала кількості фосфатних груп ДНК (22 іони), а кількість молекул води дорівнювала 7912. У випадку систем з двовалентними іонами (система Mg-ДНК) було додано 18 протийонів Mg^{2+} та 14 іонів Cl^- , а також 7902 молекули води. Усі розглянуті системи були електронейтральними. Слід зазначити, що для нейтралізації електростатичного заряду досліджуваного додекамера ДНК достатньо 11 двовалентних протийонів, але в представленому моделюванні кількість протийонів Mg^{2+} більша, що важливо для статистичного аналізу системи. В стартовій конфігурації іони були розташовані в елементарній комірці випадковим чином так, аби відстань один від одного була $> 5 \text{ \AA}$. Використовувалися періодичні граничні умови в усіх напрямках.

Комп'ютерне моделювання проводилося в рамках пакету програм NAMD [167]. Використовувалася версія силового поля CHARMM27 для нуклеїнових

кислот [284,285]. Для молекул води була взята модель TIP3P [301]. Використовувалися параметри для іонів Беглова та Ру (*Beglov-Roux*) [290]. Крок інтегрування за часом становив 2 фс. Довжини всіх зв'язків між важкими атомами і атомами водню обмежувалася а алгоритмом SHAKE [300]. Важкими вважаються усі атоми, окрім Н. Для обробки далекодіючих електростатичних взаємодій використовується метод Евальда (*Particle Mashed Ewald*) [291]. Відстані перемикання та обрізання для далекодіючих взаємодій були рівними 8 Å і 10 Å відповідно. Для всіх важких атомів використовується динаміка Ланжевена (константа тертя 5 пс^{-1}). Величини часу коливань та часу загасання для поршня Ланжевена становили 100 фс та 50 фс відповідно.

Процес моделювання проводився відповідно до наступного протоколу (деталі в Додатку Г, Таблиця Г1). На першому етапі мінімізація проводилася для системи з фіксованими важкими атомами (2000 кроків). Потім система була мінімізована з фіксованими атомами ДНК та фіксованими іонами (2000 кроків). Після мінімізації водна складова розчинника нагрівалася до температури 300 К з кроком збільшення 0,02 К/крок (атоми та іони ДНК залишалися фіксованими). Потім водний компонент розчинника врівноважували протягом 0,1 нс. На другому етапі систему з фіксованими атомами ДНК та утримуваними іонами нагрівали до температури 300 К, а потім протягом 0,1 нс врівноважували. Коефіцієнт жорсткості уявних пружин, які були прикладені до атомів для їх утримування, складав $k=5 \text{ ккал/моль}\text{\AA}^2$. На третьому етапі атомами ДНК почали поступово розморозуватися і стали можливими рухи атомів на уявних пружинках з коефіцієнтом жорсткості $k=5 \text{ ккал/моль}\text{\AA}^2$, а протийони починали рухатися без накладання обмежень; виконана мінімізація (2000 кроків) з наступним нагріванням до температури 300 К. Потім систему врівноважували в режимі, коли рухи атомів ДНК стримувалися на пружинках (протягом 1 нс). Обмеження на ДНК поступово прибиралися за виключенням кінцевих пар нуклеотидів. Симуляція системи здійснювалася протягом траєкторії 1 нс. Моделювання на цих етапах проводилося при постійному тиску (101325 Па). Далі система моделювалася при постійному об'ємі та температурі (ансамбль NVT) протягом 200 нс.

Усі атоми системи могли рухатися вільно, крім атомів нуклеотидних пар кінцях фрагмента ДНК. Ці атоми утримувалися у вихідному положенні за допомогою уявних пружин з коефіцієнтом жорсткості $k=5$ ккал/моль $\text{\AA}^2$, щоб уникнути ефектів спонтанного розкриття пар нуклеотидів, що виходило за межі даного дослідження. Координати атомів записувалися на кожному сотому часовому кроці. Записані таким чином набори координат (*фрейми*) для кожної системи складали траєкторію моделювання.

Для аналізу збіжності траєкторії моделювання було проаналізовано середньоквадратичні відхилення (RMSD) для атомів кожної системи. Результати показали, що після 100 нс моделювання амплітуди RMSD для атомів ДНК в досліджуваних системах нижчі 0,3 $\text{\AA}$ (Додаток Г, Рис. Г2), тоді як у випадку протийонів вони становлять близько 2 $\text{\AA}$ (Додаток Г, Рис. Г3). Детальне дослідження структури та динаміки додекамера Дрю-Дікersona з протийонами калію на довгих траєкторіях симуляції [191] показали, що радикальні зміни в динаміці підсистеми протийонів відбуваються протягом перших 100 нс, а потім поступово досягається баланс. Однак період часу, необхідний для повного врівноваження підсистеми протийонів, варіюється в діапазоні від 100 до 1000 нс залежно від послідовності нуклеотидних основ, області подвійної спіралі ДНК (мінорного чи головного жолобів) та параметрів силового поля [11,12,191]. В представленому дослідженні дані моделювання аналізуються лише після 100 нс врівноваження для інтервалу траєкторії від 101 до 200 нс включно.

Розподіл протийонів навколо подвійної спіралі та молекул води відносно іонів було проаналізовано з використанням радіальних функцій розподілу (RDF), отриманих за допомогою програмного пакету VMD [101]. Модуль VMD, для розрахунку радіальних функцій розподілу (RDF), розроблений в оригінальній у роботі [302]. Радіальна функція розподілу визначається наступним чином [302]:

$$g(r) = \lim_{\Delta r \rightarrow 0} \frac{p(r)}{4\pi r^2 \Delta r N_{pairs} / V}, \quad (5.19)$$

де N_{pairs} – кількість пар частинок між референтним атомом та атомами, розподіл яких досліджується (в представленому дослідженні це є протийони або атоми кисню фосфатних груп); V – загальний об’єм системи; $p(r)$ – середня кількість атомних пар, що знаходяться для випадку шару $(r \div r + \Delta r)$; Δr це є товщина цього шару, який в нашому дослідженні брався рівним 0,1 Å. Середня кількість атомних пар розраховувалася кожні 500 фреймів.

Кількість протийонів в певній області подвійної спіралі не є сталою величиною вздовж траєкторії моделювання. Це означає, що величина N_{pairs} змінюється з часом. В результаті, масштаб RDF для різних областей подвійної спіралі буде різним. Для уникнення цієї проблеми при порівнянні різних функцій розподілу для різних областей ДНК RDF для протийонів пере нормували на кожному фреймі. А саме, величину кількості пар $p(r)$, яка вираховувалася на кожному 500 фреймі траєкторії моделювання, нормували на сталі значення N_{pairs} , яке було покладене рівним кількості фосфатних груп фрагмента ДНК (22 фосфатні групи). Таке перенормування дозволяє порівнювати RDF, побудовані для протийонів в різних областях подвійної спіралі. Водночас, перенормування не потрібно для розрахунку кількості протийонів, що визначалося прямим інтегруванням RDF (5.19).

Аналіз розподілу протийонів здійснювався для об’єму диска навколо кожної пари нуклеотидів. Товщина кожного диска відповідає подвоєному радіусу ван дер Ваальса нуклеотидної основи (Рис. 5.5а). Таким чином, було побудовано такі радіальні функції розподілу для кожного кроку нуклеотиду в кожному часовому інтервалі.

1. RDF відносно центру пари нуклеотидів (c-RDF). Атом N_1 пуринової нуклеотидної основи розглядався як референтний атом. Для аналізу обиралися іони, які відповідають умові $|z - z_{N_1}| < 3,4 \text{ Å}$, де z_{N_1} – координата z атома N_1 пуринової нуклеїнової основи (Рис. 5.5б).

2. RDF для мінорного жолоба подвійної спіралі (m-RDF). Для аналізу обиралися іони з координатами, які задовольняють умовам $z_n(N_1) < 3,4 \text{ Å}$ і $L_{C_1} < L_{N_1}$. Тут $L_{C_1}^2 = (x - x_{C_1})^2 + (y - y_{C_1})^2$ і $L_{N_1}^2 = (x - x_{N_1})^2 + (y - y_{N_1})^2$ – відстані в

площині, ортогональній осі Z (Рис. 5.5б). $L_{C_1'}$ – відстань від іона, положення якого визначається координатами (x, y) до середини між атомами $C_{1'}$, що належать різним нуклеотидами в парі і має координати $(x_{C_1'}, y_{C_1'})$. L_{N_1} – відстань від іона до атома N_1 пуринової нуклеотидної основи з координатами (x_{N_1}, y_{N_1}) .

3. RDF для головного жолоба (j-RDF). Для аналізу обиралися іони з координатами, що задовольняють умовам $z_n(N_1) < 3,4 \text{ \AA}$ і $L_{C_1'} > L_{N_1}$.

4. RDF відносно фосфатних груп ДНК для тяжу А і тяжу В подвійної спіралі (phA-RDF та phB-RDF). Атом O_1 фосфатної групи був обраний як референтний атом. Для аналізу обиралися іони, що знаходяться за межами $10 \text{ \AA}$ від центральних атомів подвійної спіралі ДНК. Ph-RDF були побудовані для кожного наносекундного часового інтервалу для обох фосфатних груп кожної пари нуклеотидів (рис. 5.5б).

Для характеристики залежності розподілу протийонів як функції послідовності основ кількість іонів, що приходить на один крок нуклеотиду розраховувався шляхом інтегрування радіальної функції розподілу (5.19). Використовуючи визначену кількість протийонів на нуклеотидному кроці, кількість іонів на динуклеотидному кроці визначалася наступним чином:

$$N_{ij}(r_1 - r_2) = \frac{3}{4} (N_i(r_1 - r_2) + N_{i-1}(r_1 - r_2)), \quad (5.20)$$

де i та j — сусідні нуклеотиди ДНК, $N_i(r_1 - r_2)$ — кількість іонів на динуклеотидному кроці ij , $N_i(r_1 - r_2)$ — кількість іонів на нуклеотидний крок i в шарі, обмеженому радіусами r_1 та r_2 . RDF для кожної пари нуклеотидів були побудовані для об'єму, що обмежений простором диску товщиною $6,8 \text{ \AA}$ (два радіуси ван дер Ваальса нуклеотидної основи) й існує перекриття об'ємів сусідніх пар нуклеотидів. Для виключення подвійного врахування іонів, що виникає за рахунок перекриття досліджуваних об'ємів, формулі (5.20) ввело коефіцієнт $\frac{3}{4}$.

В представленій роботі для створення системи ДНК з протийонами, аналізу результатів моделювання та візуалізації молекулярних структур використано програмний пакет VMD [101].

Динаміку протийонів і молекул води в іон-гідратній оболонці макромолекули ДНК характеризували часами осідлого життя (τ) в різних областях подвій-

ної спіралі. В якості місць зв'язування розглядалися такі атоми: у випадку головного жолоба – N_7 і O_6 гуаніну, N_7 і N_6 аденіну, N_4 і C_5 цитозину, O_4 і C_5 ; у випадку мінорного жолоба – N_3 і N_2 гуаніну, N_3 і C_2 аденіну, O_2 цитозину і тиміну; у випадку остова – O_1 та O_2 фосфатних груп, O_4' дезоксирибози (Рис. 5.5). Позначення відповідних референтних атомів детально показано у Додатку Г (Рис. Г6).

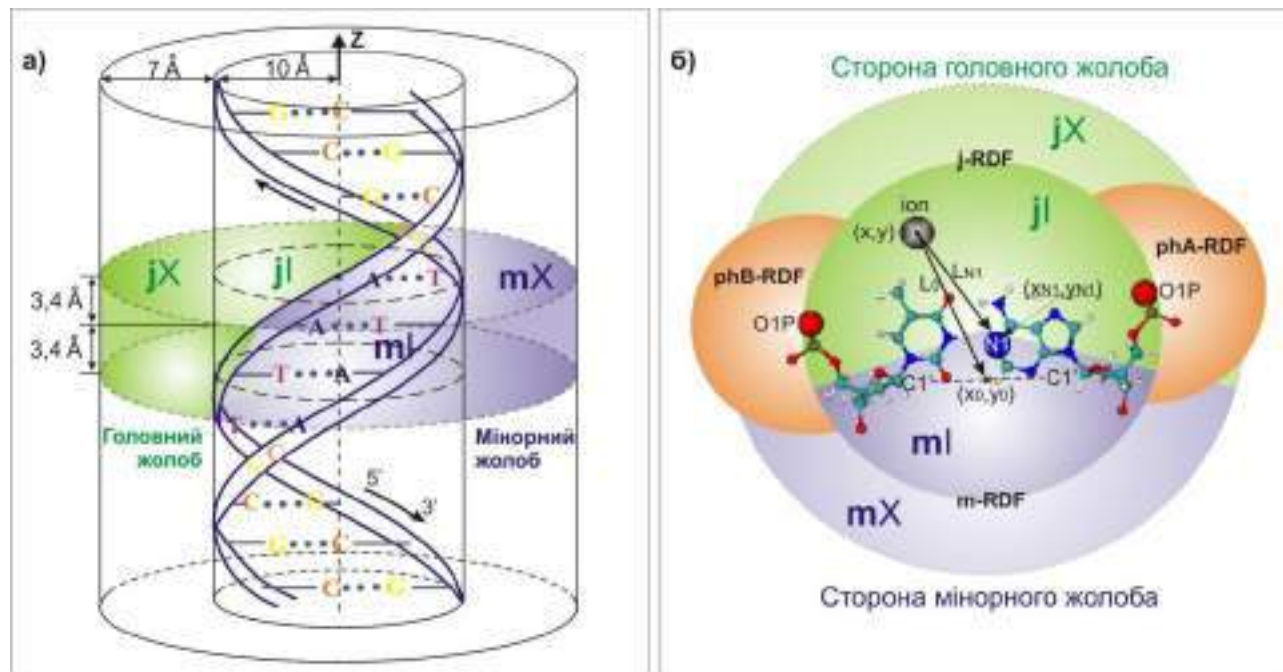


Рис. 5.5. Структура подвійної спіралі ДНК та області, що аналізувалися. Позначення областей використовувалися відповідно до роботи [12]. а) Схематична структура модельованого фрагмента ДНК з послідовністю нуклеотидів d(CGCGAATTCGCG) з його внутрішнім (I) та зовнішнім (X) областями. jI і mI – області головного та мінорного жолобів усередині подвійної спіралі ($R < 10 \text{ \AA}$). jX і mX – області головного та мінорного жолобів поза подвійної спіралі ($10 \text{ \AA} < R < 17 \text{ \AA}$). Показано дископодібний об'єм, що включає пару нуклеотидів, а сторони головного та мінорного жолобів виділені світло-зеленим та синім кольорами відповідно. б) До визначення радіальних функцій розподілу, що використовуються для дослідження різних областей подвійної спіралі: m-RDF для мінорного жолоба, j-RDF для головного жолоба, c-RDF включає малий та великий жолоби (відносно атома N_1 пуринової нуклеїнової основи нуклеотидної пари), ph-RDF та ph-RDF відносно фосфатних груп (відносно атома O_1 фосфатних груп нуклеотидної пари). Рисунок з роботи дисертанта [32]

Частинка (протийон або молекула води) вважалася зв'язаним з якимось атомом ДНК, якщо вона перебуває не далі, ніж певна відстань від референтного атома. Для досліджуваних протийонів Na^+ , K^+ , Cs^+ та Mg^{2+} граничні відстані були обрані рівними: 3 Å, 3,5 Å, 4 Å і 4,5 Å відповідно. У випадку молекул води гранична відстань була взята рівною 4 Å. Граничні відстані брали трохи більше суми ван-дер-ваальсових радіусів атомів.

5.2.2. Розподіл протийонів навколо фрагменту подвійної спіралі ДНК. Радіальні функції розподілу (m-RDF, j-RDF, c-RDF, phA- та phB-RDFs) були побудовані для кожної наносекунди траєкторії моделювання. Отримані RDF показують, що розподіл протийонів різний у різних областях подвійної спіралі та залежить від нуклеотидного кроку. Концентрація сконденсованих протийонів найбільша в центрі фрагмента ДНК і зменшується при наближенні до кінців макромолекули. Форма кожного RDF є досить схожою для випадку всіх часових інтервалів розглянутої траєкторії моделювання (Додаток Г, Рис. Г4 та Рис. Г5). Щоб підсумувати результати, отримані RDF були усереднені за усіма інтервалами траєкторії моделювання, а саме від 101 нс до 200 нс. Це було зроблено для кожного нуклеотидного кроку (Рис. 5.6). Пари нуклеотидів на кінці фрагмента ДНК не враховувалися для уникнення кінцевих ефектів.

Усереднені RDF для натрію показують, що типове положення протийонів у малому жолобі знаходиться на відстані 6,5 Å від осі подвійної спіралі (Рис. 5.6a). Така відстань відповідає опосередкованому водою контакту протийона з ДНК. Найбільш інтенсивний пік m-RDF на цій відстані спостерігається для ди-нуклеотидного кроку ТрС. У випадку області ААТТ також є пік на відстані близько 4,25 Å, що відповідає безпосередньому контакту іонів з атомами N_3 основ пуринових нуклеотидів. Інтенсивність цього піку дуже низька, що свідчить про те, що прямий контакт є досить рідкісною подією для протийону Na^+ .

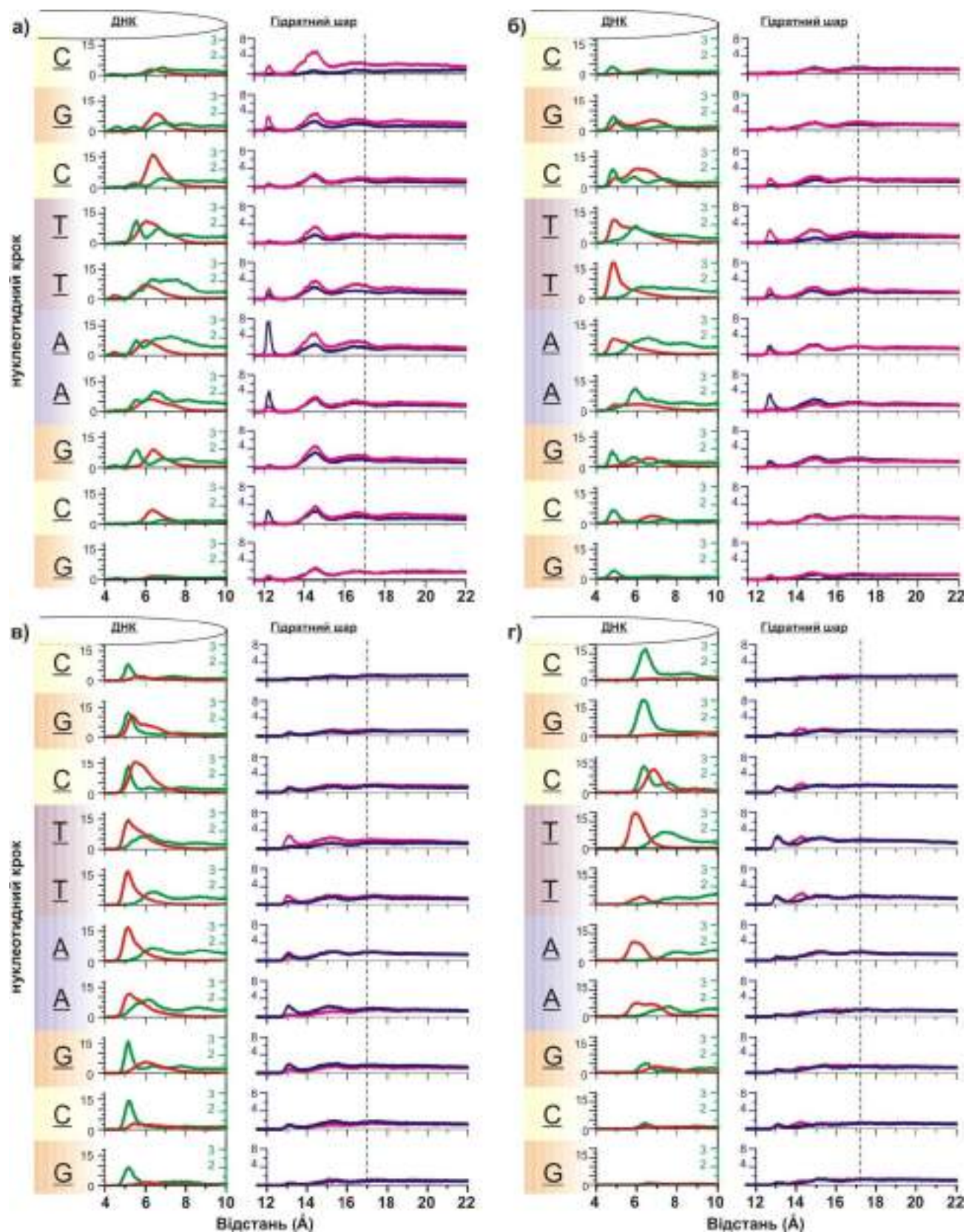


Рис. 5.6. (Підпис до рисунку на наступній сторінці)

Підпис до Рис. 5.6. Усереднені функції радіального розподілу змодельованих систем для кожного нуклеотидного кроку фрагмента ДНК. Системи: а) Na-ДНК; б) K-ДНК; в) Cs-ДНК; г) Mg-ДНК. Червона лінія — m-RDF (мінорний жолоб), зелена лінія — j-RDF (головний жолоб). Фіолетові та темно-сині лінії показують RDF, які були побудовані відносно фосфатних груп першого та другого ланцюга остова подвійної спіралі відповідно (phA- та phB-RDFs). Циліндр схематично показує межі подвійної спіралі ДНК. Пунктирна лінія на 17 Å показує межу гідратаційної оболонки ДНК. RDF кожного типу має власну шкалу, позначену різними кольорами (чорний, зелений, синій). Рисунок з роботи дисертанта [32].

У випадку головного жолоба j-RDF характеризуються широкою смугою на відстані від 5 до 9 Å з інтенсивністю, яка приблизно в чотири рази нижча за інтенсивність m-RDF. На відстані близько 4,25 Å від осі подвійної спіралі спостерігається дуже слабкий максимум j-RDF на CpG кроці, що характеризує безпосередню взаємодію протийона з атомами N₇ пуринових нуклеотидних основ. Такий характер j-RDF показує, що протийони в головному жолобі досить рухливі, і їх взаємодія з атомами ДНК відбувається переважно через молекули води. Таким чином, результати для протийонів Na⁺ у жолобах подвійної спіралі показують, що вони взаємодіють з ДНК переважно через молекули води, а утворення прямого контакту є досить рідкісною подією.

Розподіл калію у внутрішніх областях ДНК характеризується інтенсивними піками m-RDF на відстані приблизно 5 Å і 6,5 Å від осі подвійної спіралі, що характеризує прямий і опосередкований водою контакт відповідно (Рис. 5.6б). Інтенсивність піків змінюється, залежно від нуклеотидного кроку, і вони є найвищими в області АТТ фрагмента ДНК. Протийони часто утворюють прямі контакти з атомами N₃ пуринової нуклеотидної основи та O_{4'} дезоксирибози, які відбуваються одночасно. Локалізація протийонів K⁺ у головному жолобі подвійної спіралі характеризується слабкими максимумами j-RDF на відстані близько 5 та 6,5 Å на кінцях та в центральній частині фрагмента ДНК відповідно.

Таким чином, отримані RDF показують, що протийони K^+ можуть утворювати як прямі, так і опосередковані водою контакти в жолобах ДНК.

Результати для протийонів цезію показують, що форми *m*-RDF мають яскраво виражені піки на відстані близько 5,25 Å від осі подвійної спіралі, що характеризує утворення прямого контакту протийонів з атомами нуклеотидних основ (Рис. 5.6в). Інтенсивність цих піків висока у випадку області з нуклеотидною послідовністю AATTTCG і поступово зменшується на периферії фрагмента ДНК. Протийон у мінорному жолобі безпосередньо взаємодіє з атомами N_3 і O_2 нуклеотидних основ і з атомом O_4' дезоксирибози. Через великий розмір іону часто спостерігається одночасна його взаємодія з цими трьома атомами, а також одночасна взаємодія з атомом N_3 пуринових основ та атомом O_2 піримідинових основ різних ланцюгів подвійної спіралі ДНК (перехресний контакт). Перехресне положення протийона спостерігається у випадку центральної частини фрагмента ДНК. Комплекси протийонів Cs^+ у мінорному жолобі характеризуються великим часом осілого життя, що може досягати 10 нс. Протягом такого тривалого часу протийони можуть накопичуватися в мінорному жолобі. В ході дослідження під час візуального аналізу траєкторій симуляції часто виявлялося аж до п'яти протийонів Cs^+ , які одночасно перебували в мінорному жолобі фрагменту ДНК. У головному жолобі інтенсивність *j*-RDF приблизно в 5 разів нижча, ніж у випадку *m*-RDF. Вузькі піки *j*-RDF на відстані приблизно 5 Å від осі подвійної спіралі виникають на кроці динуклеотиду CpG, що характеризує прямі контакти з атомом N_7 пуринової основи. Широка смуга *j*-RDF, що спостерігається у випадку центральних пар нуклеотидів додекамеру, розташована на відстані приблизно від 5 до 7 Å від осі подвійної спіралі. Уширення смуги відбувається за рахунок рухливості протийонів у головному жолобі. Таким чином, аналіз розподілу протийонів Cs^+ у жолобі подвійної спіралі показує, що вони зазвичай утворюють безпосередні контакти з атомами ДНК.

Розподіл протийонів магнію характеризується максимумом RDF на відстані близько 6 Å від осі подвійної спіралі, що відповідає локалізації протийону з молекулами води першої гідратаційної оболонки (Рис. 5.6г). Розподіл протийо-

нів всередині подвійної спіралі в основному модулюється нуклеотидною послідовністю. У випадку мінорного жолоба найбільш вірогідна локалізація Mg^{2+} спостерігається на динуклеотидних кроках ApA та TpC. У головному жолобі макромолекули деякі піки j-RDF біля 6 Å спостерігаються на кроці GpC на одному з кінців додекамеру. У центральній частині фрагмента ДНК j-RDFs характеризуються широкими смугами від 6 до 8 Å, що виявляють взаємодію протийонів Mg^{2+} з ДНК через молекули води другої гідратаційної оболонки іона. Таким чином, аналіз розподілу протийонів Mg^{2+} показав, що вони утворюють лише опосередковані водою контакти.

Спостерігається взаємозв'язок між позиціонуванням протийонів у мінорному жолобі та положенням протийонів у головному жолобі у випадку всіх досліджуваних протийонів. У мінорному жолобі протийони, як правило, локалізуються в центрі фрагмента ДНК, тоді як у головному жолобі вони розташовані біля кінців подвійної спіралі. Такий розподіл може визначатися не тільки послідовністю нуклеотидних основ, а й електростатичним відштовхуванням протийонів між собою, що є більш сильним для іонів, які одночасно знаходяться в жолобах на одному і тому ж нуклеотидному кроці.

Розподіл протийонів у зовнішній області подвійної спіралі характеризується двома максимумами phA- і phB-RDFs (Рис. 5.6). Перший вузький максимум знаходиться на відстані, що відповідає безпосередньому контакту з атомами кисню фосфатних груп, а другий широкий максимум відповідає локалізації протийона в слабозв'язаному стані. У випадку Na^+ взаємодія з фосфатними групами є найбільш інтенсивною серед розглянутих одновалентних протийонів. Взаємодія K^+ і Cs^+ з фосфатними групами остова подвійної спіралі характеризується істотно нижчими максимумами phA- і phB-RDF, як і у випадку протийону Na^+ . У випадку іонів Mg^{2+} перший максимум радіальних функцій розподілу знаходиться на відстані близько 4,25 Å від атома кисню фосфатної групи, що відповідає контакту опосередкованому водою. Інтенсивність цього піку висока, що свідчить про переважну взаємодію протийонів магнію з фосфатними групами. Загалом, локалізація протийонів у зовнішній області подвійної спіралі є

кращою для центральної частини фрагмента ДНК, ніж для кінців, і вона не настільки чутлива до послідовності нуклеотидних основ, як у випадку внутрішніх областей подвійної спіралі.

Використовуючи інформацію, яку дають інтеграли радіальних функцій розподілу, була проаналізована кількість іонів як функція динуклеотидного кроку розраховували за формулою (5.20). В результаті було визначено середню концентрацію протийонів уздовж подвійної спіралі ДНК для внутрішніх та зовнішніх областей подвійної спіралі (Рис. 5.7).

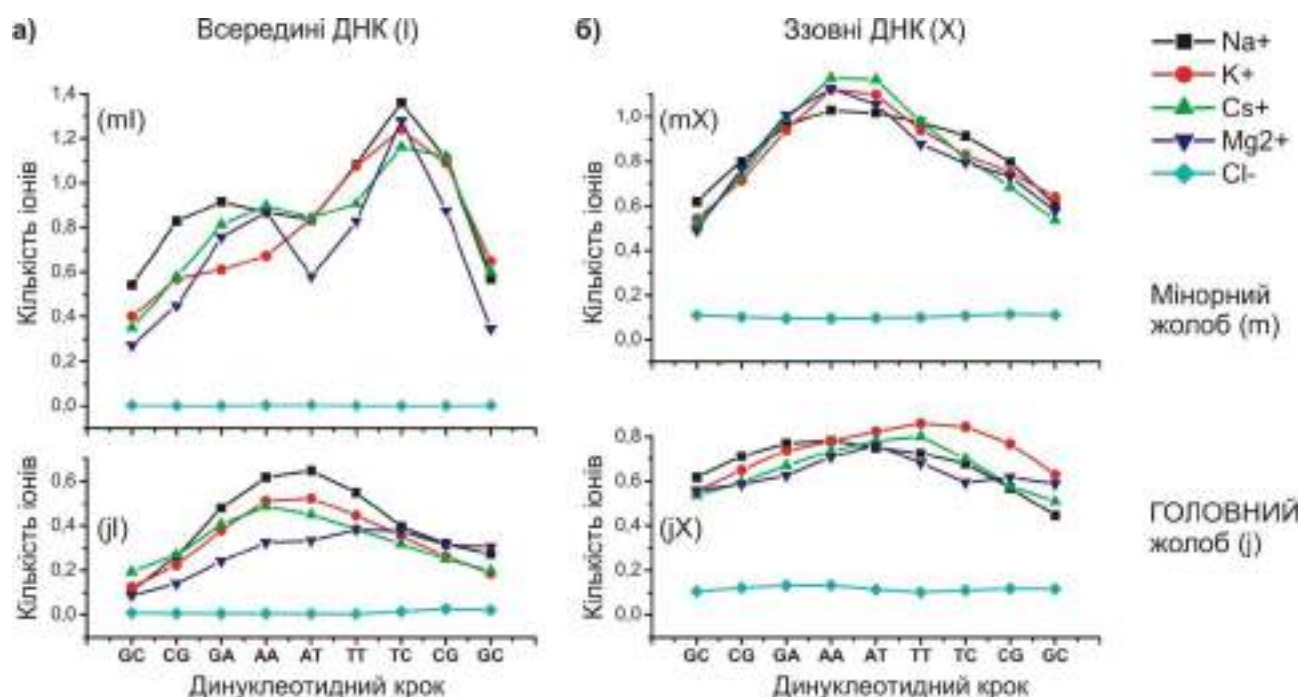


Рис. 5.7. Кількість протийонів на кожному динуклеотидному кроці фрагмента ДНК. а) Область всередині подвійної спіралі (I): мінорний жолоб (ml) і головний жолоб (jl). б) Область зовні подвійної спіралі (X): сторона мінорного жолоба (mX) і сторона головного жолоба (jX). Рисунок з роботи дисертанта [32]

Результати показують, що є відмінність розподілу іонів всередині подвійної спіралі у випадку мінорного та головного жолобів. Концентрація протийонів у малому жолобі істотно вища, ніж у головному жолобі. У мінорному жолобі подвійної спіралі залежність концентрації протийонів від кроку динуклеотиду характеризується одним помітним максимумом на ТрС кроці, який спостері-

гається у випадку всіх розглянутих протийонів. У випадку Na^+ , Cs^+ і Mg^{2+} також спостерігається другий максимум біля динуклеотидних кроків GrA та ApA. Кількість іонів у головному жолобі подвійної спіралі характеризується широким максимумом з центром на сходинці динуклеотиду ApT у випадку іонів Na^+ , K^+ та Cs^+ , тоді як у випадку протийонів Mg^{2+} цей максимум зміщений до одного з кінців фрагмента ДНК.

Концентрація розглянутих протийонів у зовнішній області подвійної спіралі максимальна в центрі макромолекули і поступово зменшується при наближенні до кінців подвійної спіралі. Концентрація іонів хлору в системі Mg-ДНК майже дорівнює нулю як для мінорного, так і для головного жолобів подвійної спіралі. У зовнішній області макромолекули концентрація іонів Cl^- дещо вища, ніж у внутрішній, але все ще занадто низька порівняно з концентрацією позитивно заряджених протийонів.

Для характеристики динаміки іон-гідратної оболонки макромолекули розраховано часи осілого життя (τ_{Na} , τ_{K} , τ_{Cs} , τ_{Mg}) протийонів і молекул води (τ_{w}) поблизу атомів нуклеотидів (Додаток Г, Табл. Г2 і Табл. Г3). Для узагальнення результатів були розраховані усереднені значення часів осілого життя на різних нуклеотидних кроках для випадку мінорного жолоба, головного жолоба і фосфатних груп (Рис. 5.8).

Отримані часи осілого життя показують, що динаміка протийонів у мінорному жолобі подвійної спіралі значно повільніша, ніж в інших областях подвійної спіралі (Рис. 5.8a). У випадку протийонів Cs^+ середній час осілого життя має найвищі значення (близько 1 нс), а у випадку протийонів Na^+ – найменші (близько 0,1 нс). Загалом середні часи осілого життя протийонів у мінорному жолобі характеризуються ієрархією: $\tau_{\text{Cs}} > \tau_{\text{Mg}} > \tau_{\text{K}} > \tau_{\text{Na}}$. Найдовше протийони знаходяться поблизу атомів кисню TO_2 і CO_2 (Додаток Г, Таблиця Г2). Залежність часів осілого життя від нуклеотидної послідовності якісно повторює розподіл протийонів, отриманий з радіальних функцій розподілу (Рис. 5.7).

У випадку інших областей подвійної спіралі час перебування протийонів значно нижчий, ніж у мінорному жолобі. У головному жолобі протийони, як

правило, локалізуються поблизу атомів азоту AN_7 або GN_7 (Додаток Г, Табл. Г2). Найвищі значення часів осідлого життя виявлено для протийонів Cs^+ та Mg^{2+} (близько 0,2 нс). Залежність від послідовності нуклеотидних основ спостерігається лише у випадку Mg^{2+} . Розраховані часи перебування протийонів поблизу фосфатних груп показують, що їх значення знаходяться в діапазоні $<0,4$ нс з ієрархією: $\tau_{Mg} > \tau_{Na} > \tau_{Cs} > \tau_K$.

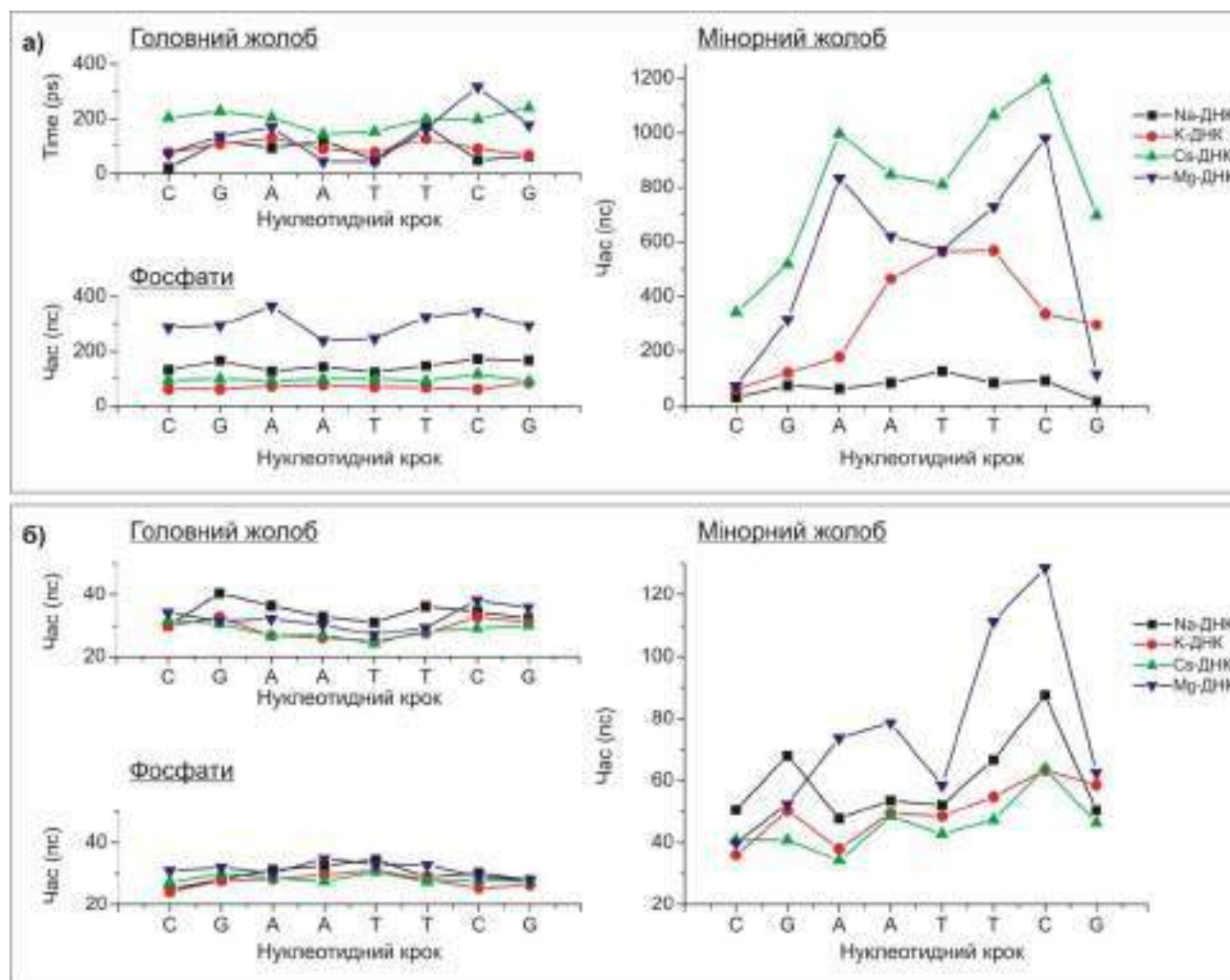


Рис. 5.8. Часи осідлого життя протийонів (а) і молекул води (б) іон-гідратної оболонки на різних нуклеотидних кроках подвійної спіралі. Рисунок з роботи дисертанта [32].

Результати для молекул води показують, що у випадку міnorного жолоба подвійної спіралі розраховані часи осідлого життя є найвищими в міnorному жолобі подвійної спіралі (у діапазоні 40-120 нс) і мають помітну залежність від нуклеотидної послідовності (Рис. 5.8б). Найдовше молекули води проводять

біля атомів азоту GN_2 , AN_3 , TO_2 та CO_2 (Додаток Г, Таблиця Г3). Ці атоми утворюють разом з молекулами води гідратний хребет, який спостерігається в рентгенівських експериментах [99,106]. Спостерігається залежність τ_w від типу протийонів: час перебування молекул води випадку систем Mg^{2+} та Na^+ , вищий, ніж у випадку систем з протийонами Cs^+ та K^+ . Це пов'язано з характером гідратації протийонів. Даний ефект буде детально досліджуватися в наступному підрозділі.

Часи перебування молекул води в головному жолобі приблизно вдвічі нижчі, ніж у мінорному, що якісно узгоджується з детальним аналізом гідратної оболонки в жолобах додекамера Дрю-Дікерсона [111]. У головному жолобі молекули води найдовше часу проводять біля атомів азоту GN_7 і AN_7 (Додаток Г, Таблиця Г3). Поблизу фосфатних груп остова подвійної спіралі молекули води, як правило, перебувають довший час біля атомів кисню O_1P , а не O_2P (Додаток Г, Таблиця Г3). Цей ефект можна пояснити особливостями будови подвійної спіралі: атом O_1P спрямований в бік мінорного жолоба, де, як відомо, молекули води повільніше, ніж в інших областях подвійної спіралі [107,111]. У випадку головного жолоба ДНК і фосфатних груп остова макромолекули не спостерігається чіткої специфічності часу осілого життя молекул води щодо послідовності нуклеотидних основ.

Проведений аналіз показує, що розподіл протийонів у внутрішніх областях подвійної спіралі модулюється послідовністю нуклеотидних основ й істотно відрізняється у випадку мінорного і головного жолобів. Розподіл протийонів у зовнішній області макромолекули досить рівномірний. Утворення прямих контактів протийонів з атомами ДНК, зазвичай, спостерігалось у випадку іонів, що слабкіше зв'язують молекули води своєї гідратної оболонки (Cs^+ і K^+), тоді як опосередковані водою контакти виявлялися типовими для іонів, що сильно зв'язують воду в гідратній оболонці (Mg^{2+} і Na^+). Загалом спостерігається взаємозв'язок між гідратацією іонів і характером протийонної взаємодії з ДНК.

5.3. Ефекти гідратації протийонів та вплив на взаємодію з атомними групами подвійної спіралі ДНК в молекулярно-динамічному моделюванні

Результати досліджень гідратації протийонів ДНК та ролі характеру гідратації для їхнього розподілу навколо подвійної спіралі опубліковано в одноосібних роботах дисертанта [32,33]. Результати роботи неодноразово доповідалися на семінарах та наукових зібраннях різного рівня [35–37,45].

5.3.1. Структура гідратної оболонки протийонів в різних областях подвійної спіралі ДНК. Фізичні властивості іон-гідратної оболонки ДНК істотно відрізняються від властивостей об'ємної води і залежать від області подвійної спіралі: мінорного жолоба, головного жолоба та області зовні макромолекули [2,3]. У мінорному жолобі подвійної спіралі середній час осідлого життя молекули води найдовший (до 100 пс), тоді як у головному жолобі, особливо поблизу фосфатних груп, він у кілька разів коротший, ніж у малому жолобі макромолекули [102,107]. Протийони можуть порушувати або стабілізувати структуру води всередині іон-гідратної оболонки ДНК. Залежно від структурної організації молекул води іони зазвичай поділяють на позитивно гідратовані та негативно гідратовані [135]. У випадку позитивно гідратованих іонів, наприклад Li^+ , Na^+ і Mg^{2+} , молекули води в гідратних оболонках високо впорядковані, і середній час перебування молекули в гідратній оболонці іонів набагато довший, ніж у об'ємній фазі розчину [135]. Тому ці іони також відомі як іони, що стабілізують структуру водного середовища (*structure making*) [134]. У випадку негативно гідратованих іонів, наприклад K^+ , Rb^+ і Cs^+ , середній час перебування молекул води біля іона коротший, ніж в об'ємі [135], а структура гідратної оболонки більш рихла, ніж в об'ємній воді. Тому ці іони також відомі як іони, що порушують структуру водного середовища (*structure breaking*) [134]. Будова і динаміка іон-гідратної оболонки ДНК залежать від характеру гідратації протийонів.

Для опису структури іон-гідратної оболонки подвійної спіралі ДНК необхідно розробити теорію, подібну до статистичної теорії електролітів Юхновського-Головка [303], а також провести молекулярно-динамічні дослідження. В

представленій роботі метою було дослідження характеру гідратації протийонів Na^+ , K^+ , Cs^+ і Mg^{2+} в гідратній оболонці подвійної спіралі ДНК в рамках методу молекулярної динаміки. Для проведення дослідження використовувалися ті самі траєкторії моделювання, що описувалися в попередньому підрозділі. Характеристика гідратації іонів здійснювалася за допомогою радіальних функцій розподілу атомів кисню молекул води відносно кожного протийону системи (w-RDF) для кожної наносекунди траєкторії моделювання, а також були побудовані w-RDF усереднені за усіма наносекундами траєкторій моделювання та за усіма протийонами системи (Рис. 5.9).

Для аналізу змін гідратації протийонів було розраховано кількість молекул води (координаційні числа) у першій та другій гідратних оболонках для кожного протийону системи на кожній наносекунді траєкторії моделювання. В результаті було отримано залежність координаційних чисел від часу (Додаток Г, Рис. Г7 - Рис. Г10). Ці залежності розкривають докладну інформацію про взаємодію протийону з подвійною спіраллю у різні моменти часу, оскільки взаємодія іонів з атомами ДНК спричиняє зменшення координаційних чисел у гідратних оболонках іона.

Отримані усереднені w-RDF характеризуються двома максимумами, що пов'язані з гідратними оболонками. Перший максимум є найбільш помітним і відповідає першій гідратаційній оболонці, де атоми кисню молекул води знаходяться в безпосередньому контакті з іоном. Другий максимум приблизно на порядок нижче першого, що відповідає другій гідратаційній оболонці іона. У випадку іонів Na^+ , Mg^{2+} , Cl^- також спостерігається третій максимум. Він істотно нижчий, ніж перші два, і відповідає молекулам води, які є майже об'ємною водою, але все ще обмежені взаємодією з іоном. У випадку іонів K^+ усереднена радіальна функція розподілу має плече на відстані трохи ближче, ніж положення першого максимуму (Рис. 5.9б). Аналіз показує, що це плече з'являється через іншу упаковку молекул води в першій гідратній оболонці K^+ , яка відбувається на 121-125 нс траєкторії моделювання. В результаті положення першого максимуму w-RDF зміщується з 2,73 до 2,35 Å (Рис. 5.9б, вставка).

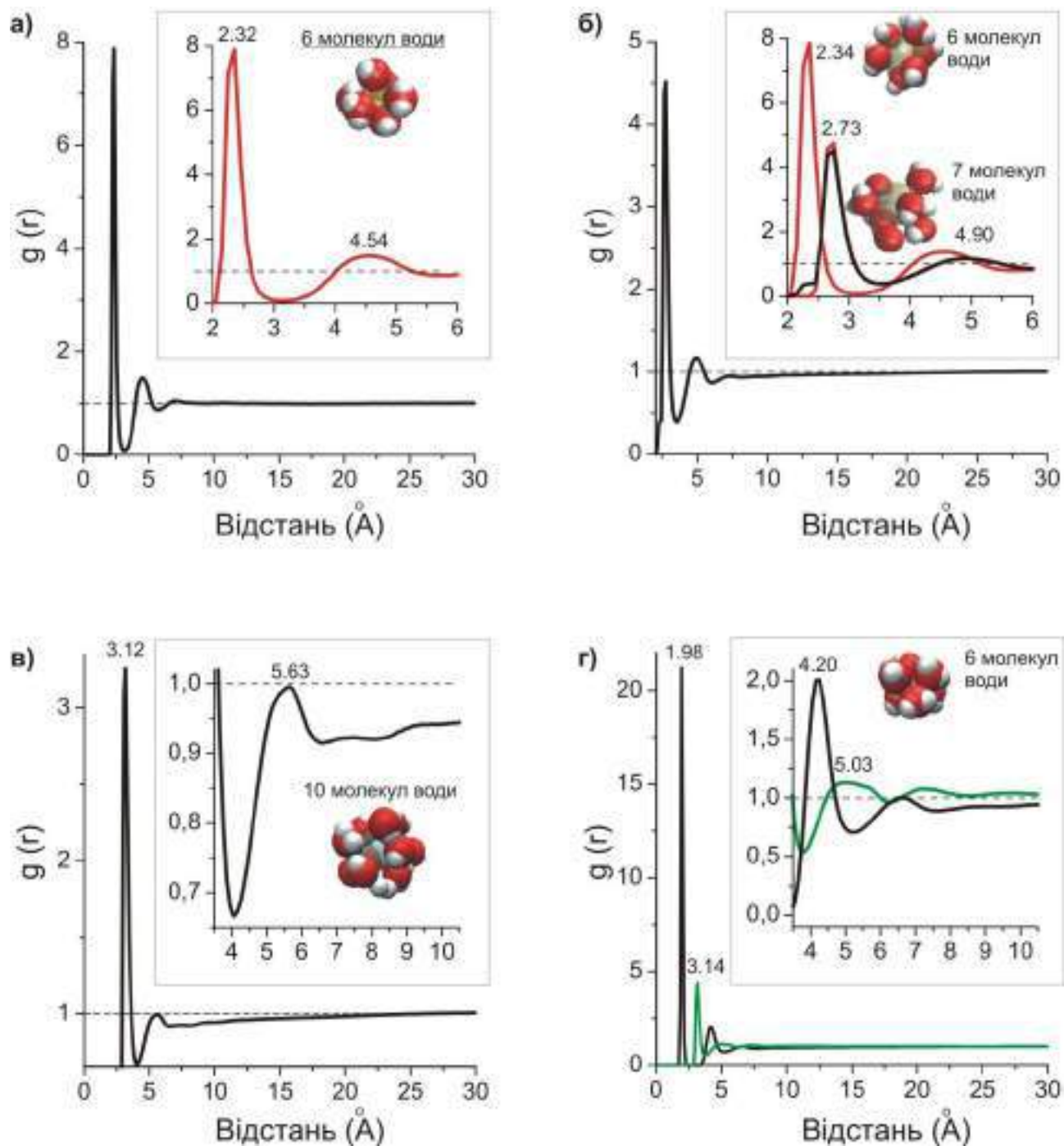


Рис. 5.9. Радіальні функції розподілу атомів кисню відносно іонів. а) RDF системи Na-ДНК. На вставці показано збільшений RDF і зображення іона з першою гідратаційною оболонкою. б) RDF системи K-ДНК. На вставці показано розщеплення першого максимуму на два максимуми на $2,34$ і $2,73$ Å (червона крива). Чорним зображено усереднену криву. в) RDF системи Cs-ДНК. На вставці показано збільшений другий максимум RDF. г) RDF системи Mg-ДНК. Показано RDF для випадку протийонів Mg^{2+} (чорна лінія) та Cl^- (зелена лінія). На вставці показано збільшені RDF. Рисунок з роботи дисертанта [32]

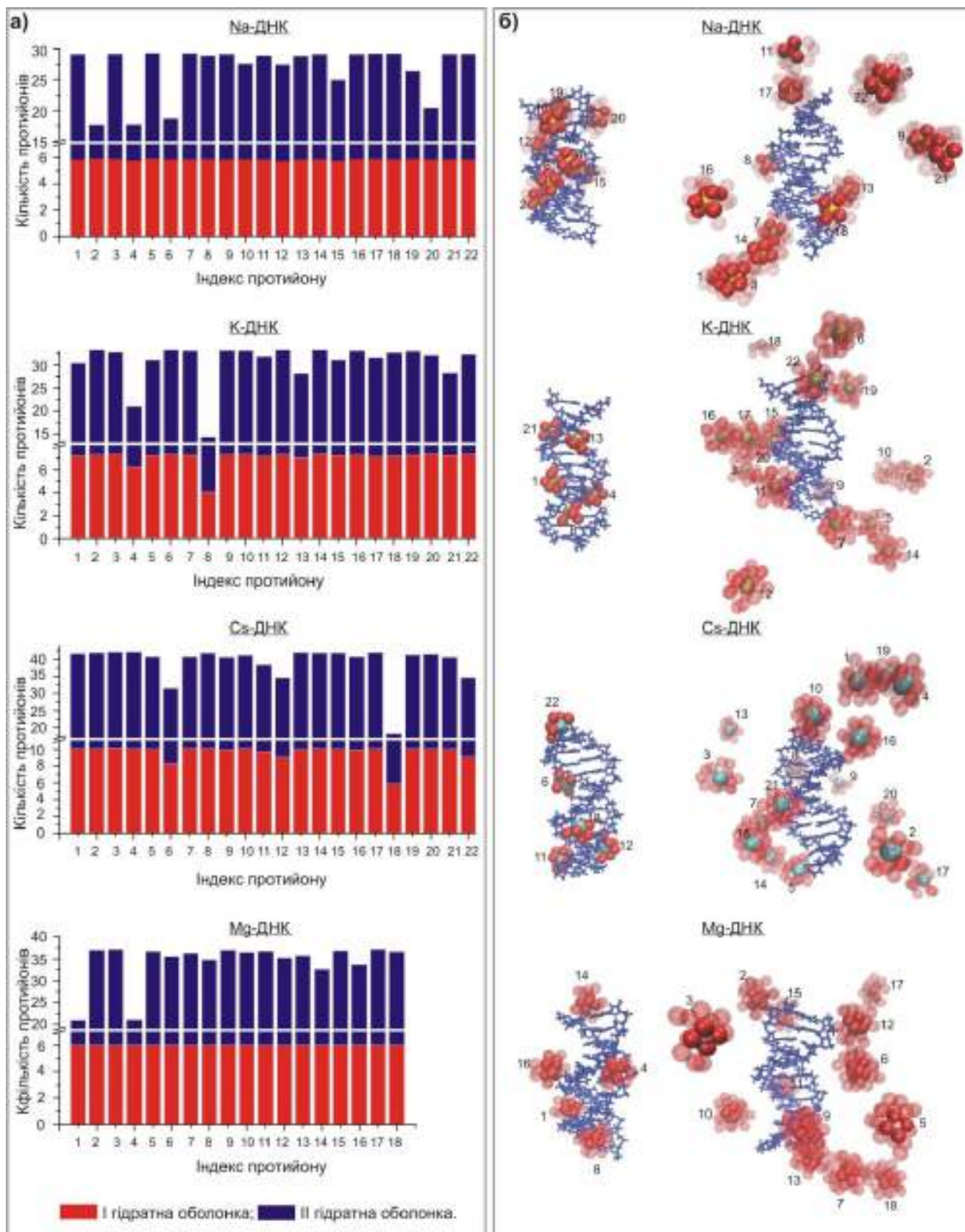


Рис. 5.10. (Підпис до рисунку на наступній сторінці)

Підпис до Рис. 5.10. Гідратація протийонів навколо ДНК у наносекундному часовому інтервалі траєкторії моделювання. а) Кількість молекул води в першій і другій гідратних оболонках кожного протийону, усереднення здійснено за 1 нс моделювання траєкторії Na-ДНК (191 нс), K-ДНК (180 нс), Cs-ДНК (180 нс), і системи Mg-ДНК (181 нс). б) Зображення систем, що описують розташування протийонів з їхніми гідратними оболонками. Зображення ліворуч показують протийони поблизу подвійної спіралі ДНК, а знімки праворуч показують протийони в об'ємі на великій відстані від ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [32]

В якості прикладу на Рис. 5.10а показані координаційні числа першої та другого гідратних оболонок протийонів для певних моментів часу (інтервалу часу в 1 наносекунду). На Рис. 5.10б показано зображення систем, що відповідають цим моментам в траєкторії моделювання. Видно, що у випадку протийонів Na^+ і Mg^{2+} перша гідратна оболонка складається з 6 молекул води, і ця кількість однакова для випадку протийонів всередині подвійної спіралі та в об'ємі.

Стала кількість молекул води в першій гідратаційній оболонці цих протийонів є проявом позитивної гідратації цих іонів. Водночас координаційне число другої гідратаційної оболонки може змінюватися, що видно у випадку протийонів, які знаходяться всередині областей подвійної спіралі. У цьому випадку друга гідратна оболонка може втратити майже половину молекул води. Навпаки, протийони K^+ і Cs^+ можуть бути частково дегідратовані через взаємодію з подвійною спіраллю ДНК, що видно за змінами координаційних чисел як в першій, так і в другій гідратаційних оболонках. Перша гідратна оболонка протийону Cs^+ може бути зменшена з 10 до 6 молекул води у випадку прямого контакту протийону з атомами нуклеотидних основ у мінорному жолобі (Рис. 5.10а, див. протийон з індексом 18).

У випадку протийонів K^+ перша гідратна оболонка може бути зменшена з 7 до 4 (Рис. 5.10а, див. протийон з індексом 8). Зменшення координаційних чисел у першій гідратаційній оболонці завжди призводить до зменшення координаційних чисел в другій з різною амплітудою, що залежить від того, в якій області

подвійної спіралі локалізований протийон. Так, у випадку прямого контакту іону з атомами ДНК спостерігається зменшення координаційних чисел як в першій, так і в другій гідратних оболонках, тоді як у випадку опосередкованої водою взаємодії координаційне число зменшується лише в шарі другої гідратної оболонки.

Щоб охарактеризувати типові масштаби змін в характері гідратації іонів, часові залежності координаційних чисел (Додаток Г, Рис. Г7 - Рис. Г10) усереднювалися за часом, а потім підраховувалися частоти значень координаційних чисел для кожного протийону. Отримані частоти усереднювалися за всіма протийонами системи. В результаті були побудовані розподіли координаційних чисел для першої та другої гідратних оболонок протийонів (Рис. 5.11). За отриманим розподілом координаційних чисел визначено середні значення координаційних чисел першої та другої гідратних оболонок (n_1 та n_2), а також частину траєкторії моделювання, яку іон проводить у прямому (τ_d) та опосередкованому водою (τ_w) контакті з ДНК та у об'ємі далеко від макромолекули (τ_b) (Таблиця 5.3).

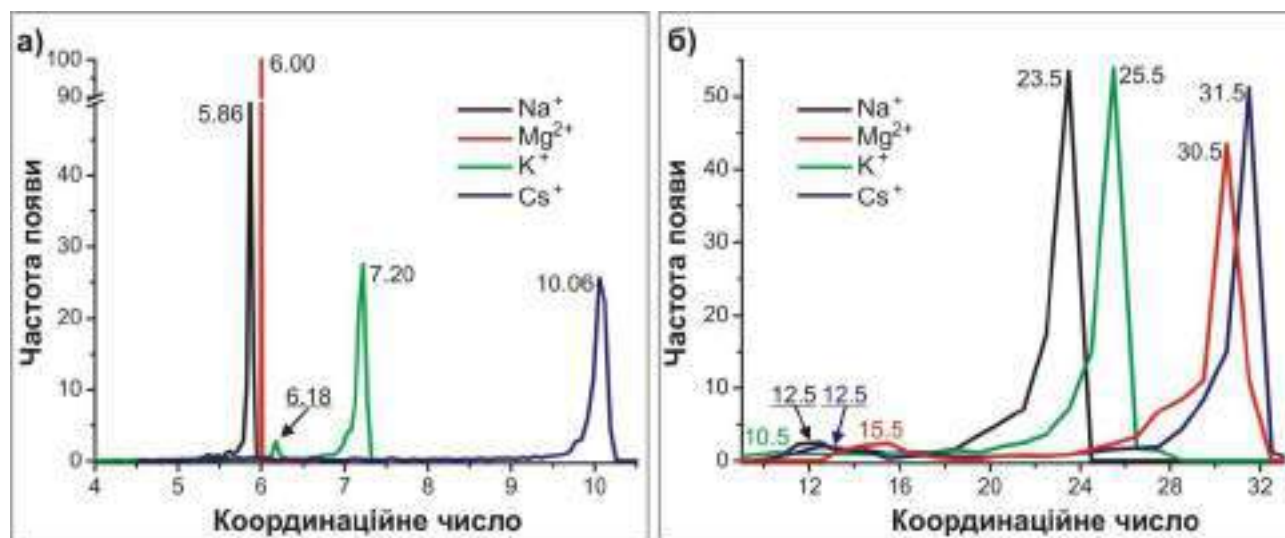


Рис. 5.11. Розподіл кількості молекул води (координаційні числа) у першій (а) та другій (б) гідратаційних оболонках протийонів Na⁺, K⁺, Cs⁺ та Mg²⁺. Рисунок з роботи дисертанта [32]

Результати для протийонів натрію показують, що гідратний шар має 6 молекул води в першій гідратній оболонці, що є типовим для іону в об'ємній фазі,

а також для іону, який знаходиться в опосередкованому водою контакті з ДНК (Рис. 5.11а). Отримане значення координаційного числа узгоджується з експериментальними даними для сольових розчинів [304]. Іон Na^+ може бути дегідратований, що видно за хвостом розподілу координаційних чисел. Дегідратація може відбуватися через втрату однієї або навіть двох молекул води внаслідок прямого контакту з атомами подвійної спіралі, але це досить рідкісна подія, яка відбувається у випадку приблизно 1% траєкторії моделювання (Таблиця 5.3). Друга гідратна оболонка натрію у заповненому стані складається приблизно з 24 молекул води (гідратація об'ємного типу). У випадку опосередкованих водою контактів з ДНК та у випадку локалізації протийону всередині подвійної спіралі кількість молекул води у другій гідратній оболонці зменшується приблизно вдвічі (Рис. 5.11б). В середньому іон Na^+ проводить близько чверті часу в опосередкованому водою контакті з ДНК (Таблиця 5.3).

У випадку протийонів K^+ розподіл координаційних чисел першої гідратної оболонки характеризується одним яскраво вираженим максимумом на 7 та одним слабким максимумом на 6 (Рис. 5.11б). За рахунок прямої взаємодії з ДНК іон калію може втратити до 3 молекул води першої гідратної оболонки і провести в цьому стані досить тривалий час (Таблиця 5.3). Друга гідратна оболонка K^+ у заповненому стані складається приблизно з 26 молекул води і внаслідок локалізації в жолобах подвійної спіралі може бути зменшена приблизно до 10 (Рис. 5.11б). Слабкий максимум розподілу координаційних чисел виникає через спонтанну зміну упаковки молекул води в першій гідратній оболонці всіх протийонів у системі К-ДНК, яке супроводжується зсувом першого максимуму $w\text{-RDF}$ з 2,73 до 2,34 Å. (Рис. 5.9б, вставка). Такий стан гідратної оболонки іона калію продовжується протягом 5 нс усієї траєкторії, тому відповідний максимум у розподілі координаційних чисел не є інтенсивним. Бімодальний характер упаковки води в першій гідратній оболонці іонів калію спостерігається експериментально та пояснюється різними іонними радіусами шести- та семикоординованого іона калію, що становлять 1,38 та 1,46 Å відповідно [134].

У випадку іонів Cs^+ отримані результати показують, що координаційне число першої гідратної оболонки становить близько 10. Водночас експериментальні дані дають значення 9 або менше [134,304]. Оскільки положення першого максимуму w-RDF знаходиться на відстані $3,09\text{\AA}$, що відповідає експериментальним даним для відстані Cs-O [304], різниця між отриманими значеннями координаційних чисел і експериментальними даними може бути пов'язана з параметризацією моделі молекул води TIP3P або з силовим полем в цілому. Через прямі контакти з атомами подвійної спіралі іон Cs^+ може втратити до 5 молекул води. Близько 14% часу Cs^+ проводить у частково дегідратованому стані (Таблиця 5.3). Цей час є найдовшим серед усіх досліджуваних протийонів. Друга гідратна оболонка Cs^+ у заповненому стані складається приблизно з 32 молекул води, і у випадку локалізації протийону у внутрішніх областях подвійної спіралі координаційне число суттєво зменшується, що проявляється невеликим мінімумом на 13 (Рис. 5.11б).

Таблиця 5.3. Параметри гідратних оболонок протийонів. n_1 і n_2 – середні координаційні числа першої та другої гідратних оболонок відповідно (у дужках зазначені середні мінімальні координаційні числа). τ_d , τ_w та τ_b – частини траєкторії моделювання (у відсотках), які іон проводить у прямому контакті з ДНК, в опосередкованому водою контакті з ДНК та у гідратованому стані об'ємного типу, відповідно.

Ion	Na^+	K^+	Cs^+	Mg^{2+}
n_1	5.86 (4.4)	7.20 (3.5)	10.06 (4.5)	6 (6)
n_2	23.5 (12.5)	25.5 (10.5)	31.5 (12.5)	30.5 (15.5)
τ_d	1.2	7.4	14.0	0
τ_w	23.8	16.8	14.2	69.9
τ_b	74.0	75.8	71.8	31.1

Час, який іони Na^+ , K^+ та Cs^+ перебувають у гідратованому стані об'ємного типу, практично однаковий (Таблиця 5.3). При збільшенні розміру протийону частина часу, що характеризує опосередковані водою контакти, зменшується, а

частина часу, що характеризує прямі контакти, збільшується. Такий ефект є проявом характеру гідратації іонів, яка є позитивною у випадку натрію та негативною у випадку калію та цезію. У випадку протийонів Mg^{2+} розподіл координаційних чисел першої гідратної оболонки має лише один різкий максимум (лінія), що відповідає 6 молекулам води (Рис. 5.11а).

Частково дегідратовані стани іонів магнію відсутні. Магній має 6 молекул води у першій гідратній оболонці протягом усієї траєкторії моделювання. Це означає, що взаємодія іонів із ДНК може відбуватися лише через молекули води. Друга гідратна оболонка іона Mg^{2+} характеризується інтенсивним та слабким максимумами розподілу координаційних чисел, що відповідають 30,5 та 15,5 молекулам води відповідно (Рис. 5.11б). Перший максимум характеризує об'ємну гідратацію магнію, а другий максимум характеризує частково дегідратований іон через взаємодію з ДНК. У середньому близько двох третин усієї траєкторії іони Mg^{2+} перебувають у стані об'ємного типу (Таблиця 5.3). Решту часу вони знаходяться в опосередкованому водою контакті з ДНК і, зокрема, проводить близько 8% часу з мінімальною гідратацією (10-14 молекул води у другій гідратній оболонці), що відповідає локалізації іону у внутрішніх областях подвійної спіралі.

Взаємодія з ДНК викликає зміни координаційних чисел першої та другої гідратних оболонок протийону, які взаємопов'язані. Для з'ясування цього взаємозв'язку було вивчено співвідношення координаційних чисел першої та другої гідратних оболонок. В результаті було отримано кореляційні діаграми гідратних оболонок всіх протийонів системи. На Рис. 5.12 показані кореляційні діаграми гідратних оболонок всіх досліджуваних протийонів кожної системи. Кожна точка отриманої кореляційної діаграми відповідає кількості молекул води у першій та другій гідратній оболонці деякого протийону на одній із 100 наносекунд траєкторії моделювання. Дані для всіх протийонів кожної системи показані на одному графіку.

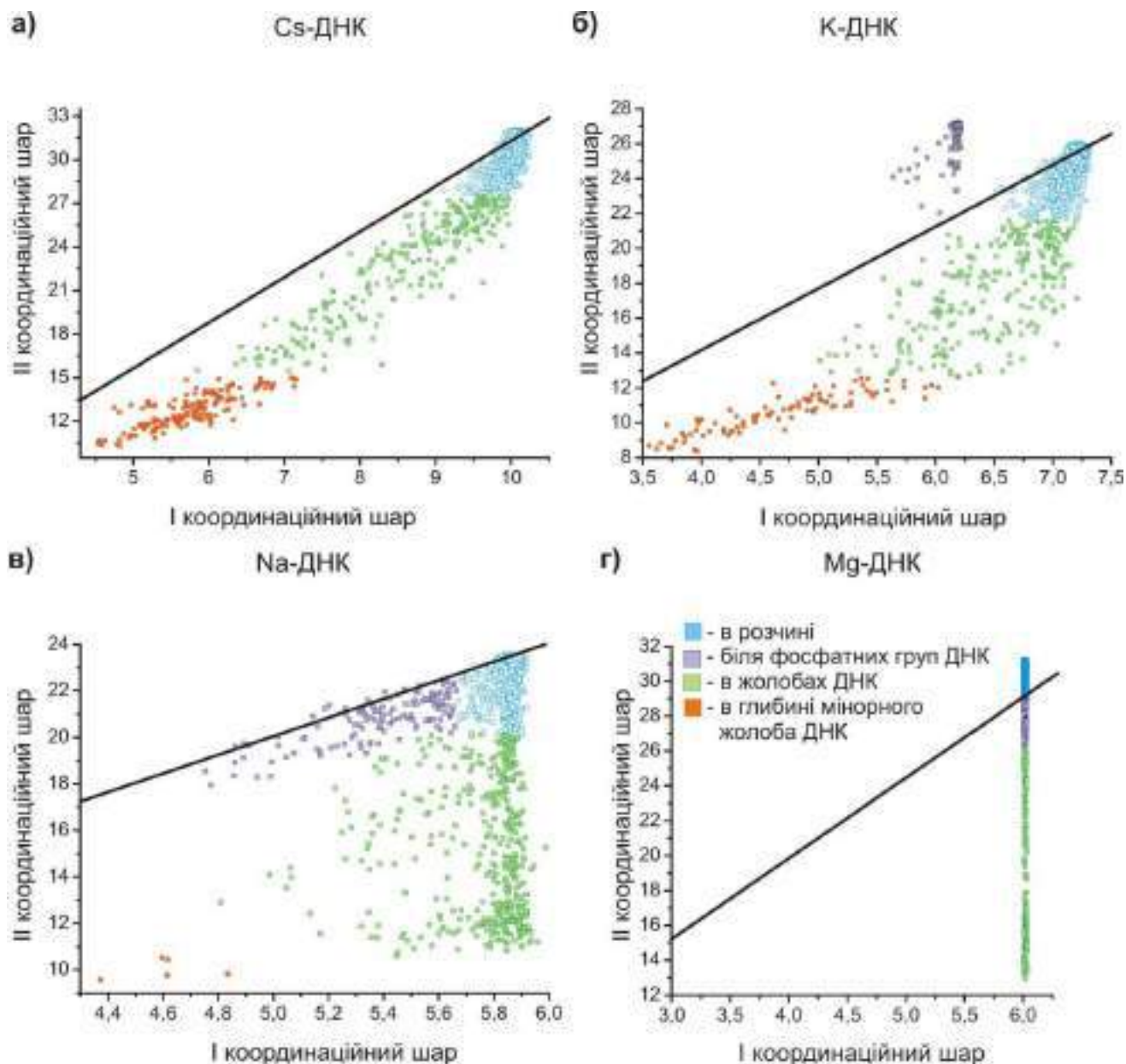


Рис. 5.12. Кореляційні діаграми, що показують взаємозв'язок між першою та другою гідратними оболонками протийонів Cs^+ (а), K^+ (б), Na^+ (в), Mg^{2+} (г). Кореляційна діаграма для кожного протийону системи нанесена на один графік. Колір точок вказує на локалізацію протийона відносно ДНК: глибоко в мінорному жолобі (червоні точки), у головному жолобі та на верхньому краю мінорного жолоба (зелені точки), біля фосфатних груп (темно-сині точки), і в об'ємній фазі далеко від ДНК (сині точки). Чорна лінія – це кореляційна крива відповідно до моделі виключеного об'єму. Рисунок з роботи дисертанта [32].

З урахуванням результатів візуального аналізу траєкторій моделювання точки кореляційних діаграм розфарбовані відповідно до локалізації протийону відносно подвійної спіралі. Протийони з великими значеннями координаційних чисел обох гідратних оболонок мають характер гідратації за об'ємним типом (сині точки на діаграмі). Найменші значення координаційних чисел в обох оболонках характерні для локалізації протийонів в глибині мінорного жолоба ДНК (червоні точки на діаграмі).

Протийони, що знаходяться у безпосередньому контакті з фосфатними групами, мають знижені значення координаційних чисел першої гідратної оболонки та високі значення координаційних чисел другої (сині точки на діаграмі). При деяких проміжних значеннях координаційних чисел обох гідратних оболонок (зелені точки на діаграмі) протийони локалізуються у великому жолобі або верхньому краї мінорного жолоба подвійної спіралі.

Отримані діаграми показують майже лінійну кореляцію першої та другої гідратними оболонками у випадку протийонів Cs^+ (Рис. 5.12а): зменшення кількості молекул води у першій гідратній оболонці супроводжується зменшенням кількості молекул води у другій. У випадку протийонів K^+ кореляція також лінійна і є додаткова пляма з точок, що характеризує взаємодію протийонів із фосфатними групами (Рис. 5.12б). У випадку протийону Na^+ кореляційна діаграма має багато точок біля значення 6 для першої гідратної оболонки, що пов'язано з позитивним характером гідратації цього іона (Рис. 5.12в). Дуже мало точок з низькими значеннями в обох гідратних оболонках, що описують локалізацію протийону натрію в глибині мінорного жолоба ДНК, у той час як є багато точок із середнім ступенем дегідратації протийонів, що описують опосередковані водою контакти в жолобах та при взаємодії з фосфатними групами остова подвійної спіралі ДНК. У випадку протийону Mg^{2+} молекули води першої гідратної оболонки сильно зв'язані, що призводить до тривіальної кореляції між першою та другою гідратними оболонками (Рис. 5.12г). Є лише опосередковані водою контакти, для яких характерне зменшення координаційних чисел у другій гідратній оболонці та незмінність координаційних чисел у першій.

Дегідратація протийонів через взаємодію з атомами ДНК може бути якісно описана в термінах простої моделі виключеного об'єму, що пропонується в даній роботі. Ця модель представляє протийон з першою та другою гідратними оболонками у вигляді сфери. Об'єм, який займає одна молекула води в гідратній оболонці, можна визначити як: V_i / n_i , де V_i – об'єм i -ї гідратної оболонки (у нашому випадку $i = 1, 2$), а n_i – координаційне число в оболонці. Об'єм, який буде вивільнений в результаті зневоднення, дорівнює $V_{dh} = (n_i - x_i)V_i / n_i$, де x_i – кількість молекул води, що залишилися в гідратній оболонці після дегідратації. Еквівалентний об'єм сферичного сектора з тілесним кутом θ_i можна визначити наступним чином: $V_s = V_i[1 - \cos(\theta_i / 2)] / 2$. Вважаючи ці об'єми рівними один одному, $V_{dh} = V_s$, може бути отримана формула для кількості молекул води, що залишаються в гідратній оболонці іону після дегідратації:

$$x_i = \frac{n_i}{2} \left(1 - \cos \frac{\theta_i}{2} \right). \quad (5.21)$$

Залежність кількості молекул води у першій та другій гідратних оболонках від тілесного кута сферичного сектора θ_i показана у Додатку Г (Рис. Г11). Значення тілесних кутів першої та другої гідратних оболонок описують ступінь дегідратації протийону за рахунок взаємодії з ДНК. Кути, що характеризують дегідратацію θ_1 та θ_2 , мають бути взаємопов'язані і в найпростішому випадку дорівнювати один одному, $\theta_1 = \theta_2$. Тоді з формули (5.21) випливає співвідношення між кількістю молекул води, що залишаються у першій та другій гідратних оболонках:

$$x_2 = \frac{n_2}{n_1} x_1. \quad (5.22)$$

Використовуючи рівняння (5.22) і параметри Таблиці 5.3, було побудовано відповідні кореляційні криві (Додаток Г, Рис. Г11). Видно, що у випадку іонів з негативною гідратацією (Cs^+ і K^+) одержані модельні лінії якісно описують характер кореляції між першою та другою гідратними оболонками, але практично всі точки, отримані в результаті симуляції, знаходяться нижче за модельну лінію

(Рис. 5.12а, б). Це означає, що кути дегідратації у другій гідратній оболонці більші, ніж у першій ($\theta_2 > \theta_1$), що обумовлено локалізацією протийонів цезію та калію у внутрішніх областях подвійної спіралі, в основному там, де дегідратація більш інтенсивна. У випадку протийонів K^+ точки, що описують взаємодію з фосфатними групами, що знаходяться поза подвійною спіраллю, знаходяться вище модельної лінії, показуючи менші кути дегідратації у другій гідратній оболонці, ніж у першій ($\theta_2 < \theta_1$). У випадку протийонів Na^+ модельна лінія добре описує точку, що характеризує взаємодію з фосфатними групами (Рис. 5.12в). Це означає, що при взаємодії з атомами кисню фосфатних груп кути дегідратації першої та другої гідратних оболонок рівні. У випадку протийонів Mg^{2+} модельна лінія не описує кореляцію, тому що перша гідратна оболонка дуже стійка і лише друга гідратна оболонка може бути дегідратована (Рис. 5.12г).

Аналіз показує, що у випадку іонів з негативною гідратацією (Cs^+ і K^+) дегідратація протийону внаслідок взаємодії з атомами ДНК може бути якісно описана у межах простої моделі виключеного об'єму. У випадку іонів з позитивним характером гідратації іони (Mg^{2+} та Na^+), їхня дегідратація більш складна через сильну зв'язаність молекул води першої гідратної оболонки. Таким чином, вплив молекул води на взаємодію протийонів з ДНК є суттєвим для всіх розглянутих протийонів і специфічним для кожного типу іона.

Проведене молекулярно-динамічне моделювання ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Cs^+ та Mg^{2+} показало, що через взаємодію з ДНК дві гідратні оболонки протийонів зазнають змін. Значення координаційних чисел першої та другої гідратних оболонок залежать від розташування протийонів відносно подвійної спіралі. Протийони, локалізовані всередині жолобів ДНК, характеризуються суттєвим зменшенням координаційних чисел другої гідратної оболонки, а у випадку їх локалізації глибоко всередині жолобу – також і першої. Здатність протийону до дегідратації багато в чому визначається характером взаємодії протийону з ДНК. Протийони з позитивним характером гідратації (Na^+ та Mg^{2+}) мають стабільну першу гідратну оболонку, тому вони утворюють із ДНК в основному опосередковані водою контакти. Навпаки, протийони Cs^+ і K^+ , що характеризу-

ються негативною гідратацією, можуть бути легко дегідратовані, тому вони утворюють прямі контакти з атомами ДНК і можуть проникати глибоко всередину жолобів подвійної спіралі. Загалом, найчастіші контакти протийонів з ДНК можна описати 8 моделями (Рис. 5.13).

Взаємодія протийонів з фосфатними групами остова подвійної спіралі реалізується за моделями (1), (6) та (7). Прямий контакт (1) характерний для протийонів Na^+ , K^+ та Cs^+ і відбувається за рахунок взаємодії протийону з одним з атомів кисню фосфату. Незважаючи на досить стабільну структуру першої гідратної оболонки, прямий контакт Na^+ з фосфатними групами є найінтенсивнішим серед розглянутих одновалентних протийонів, що видно за інтенсивним першим піком радіальної функції розподілу відносно фосфатних груп (Рис. 5.9а) та характерними часами осідлого життя протийону (Рис. 5.11а).

Отриманий середній час осідлого життя протийону натрію біля фосфатних груп трохи вищий за 0,1 нс, що узгоджується з результатами попередніх розрахунків [186,305]. Цей час є більш ніж удвічі вищим, ніж для іону в об'ємній воді. Формування відносно стабільного комплексу відбувається за рахунок заміщення однієї молекули води першого гідратного іону на атом кисню фосфатної групи. Прямі контакти аналізованих моновалентних протийонів з атомами кисню фосфатних груп були виявлені в рентгенівських експериментах з рентгеноструктурного аналізу ДНК [98] (коди PDB: 1I0G і 1I0Q Na^+ ; 1I0P і 1I0O K^+ , 1I0K і 1I0J Cs^+).

Опосередкований водою контакт з фосфатними групами згідно з моделлю (6) характерний для структур, що утворюють іони Na^+ і Mg^{2+} . У випадку протийонів магнію це є один з найчастіших типів контактів серед усіх можливих для цього протийону. Взаємодія протийону з ДНК за моделлю (7) реалізується тільки у випадку протийону Mg^{2+} через великий розмір гідратованого протийону. Взаємодія протийонів магнію через молекули води з атомами кисню подвійної спіралі виявили в експериментах з дифракції рентгенівських променів [306] (код PDB: 436D). Спектроскопічні дані ДНК тимусу теляти в розчині також підтверджують взаємодію протийонів Mg^{2+} з фосфатними групами ДНК через молекули води у розчині як найбільш ймовірну модель взаємодії [157].

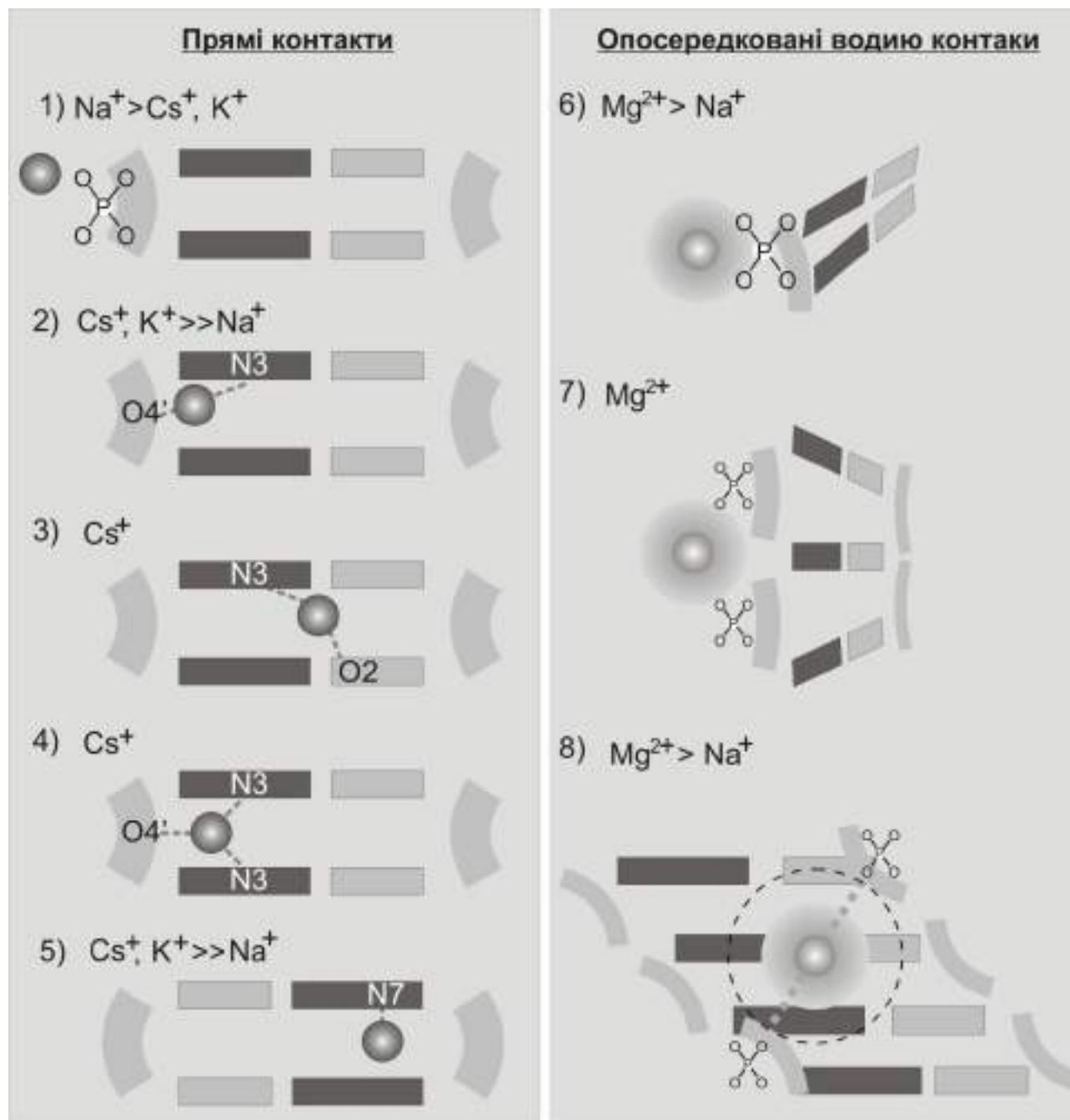


Рис. 5.13. Схеми прямих і опосередкованих водню контактів протийонів з ДНК. 1) безпосередня взаємодія з атомами кисню фосфатної групи; 2) - 4) безпосередня взаємодія протийону з атомами в мінорному жолобі; 5) безпосередня взаємодія протийону з атомами в головному жолобі; 6), 7) опосередкована водою взаємодія протийонів із фосфатними групами; 8) опосередкована водою перехресна взаємодія протийону в звуженому мінорному жолобі. Рисунок з роботи дисертанта [32]

Локалізацію протийонів у мінорному жолобі подвійної спіралі можна описати моделями (2) – (4) та (8). Найбільш частий прямий контакт відбувається за моделлю (2), характерний для протийонів K^+ та Cs^+ . Хоча у випадку іонів Na^+ такий прямий контакт теж спостерігався, але значно рідше. Моделі (3) і (4) характерні для протийону Cs^+ через його великий розмір.

У випадку моделі (3) протийон замінює молекулу води гідратного хребта, який зазвичай формується в області ААТТ мінорного жолоба подвійної спіралі [2,99,106]. У експериментах з рентгеноструктурного аналізу аналогічний комплекс спостерігався у випадку протийону Rb^+ , локалізованого між атомами O_2 нуклеотидів тиміну [99] (код PDB: 460D).

Час перебування протийонів K^+ та Cs^+ у мінорному жолобі найвищий (близько 1 нс). Ці іони з негативним характером гідратації роблять гідратну оболонку більш рихлою, що проявляється в зменшенні часу перебування молекул води. Комплекси (2) – (4) характеризуються часом життя до кількох наносекунд. У випадку протийонів Cs^+ час осідлого життя є найбільшим і може досягати 10 нс. Протягом такого тривалого періоду часу протийони можуть накопичуватися в мінорному жолобі, і в певний момент виявлялося п'ять протийонів Cs^+ . Через обмежений об'єм у мінорному жолобі та через координацію атомами нуклеїнових основ накопичені іони цезію утворюють динамічну структуру, яка досить регулярна через регулярність подвійної спіралі. Спостережувана структура протийонів Cs^+ нагадує модель іон-фосфатної ґратки ДНК, яка успішно використовувалася для описання коливань протийону в мінорному жолобі ДНК [39,41,42].

Гідратовані іони Na^+ і Mg^{2+} можуть переміщуватися по мінорному та головному жолобах подвійної спіралі, а в центральній звуженій частині мінорного жолоба ДНК протийон може бути затисненим на верхньому краю мінорного жолоба, як показано на моделі (8). Протийони у поперечному положенні зв'язують фосфатні групи подвійної спіралі через молекули води гідратної оболонки. У випадку протийонів Mg^{2+} у мінорному жолобі є два динуклеотидні кроки АрА і ТрС, де така модель контакту спостерігається при моделюванні найчастіше. Така модель взаємодії узгоджується з експериментальними даними

[306], де гідратований протийон магнію був виявлений у мінорному жолобі між тяжами подвійної спіралі (код PDB: 436D).

У головному жолобі протийони не настільки зв'язані, як у мінорному, тому вони легко переміщуються, що видно за значеннями часу осідлого життя. Найбільш важливим сайтом зв'язування в моделюванні є атом N₇ пуринових нуклеотидів (модель 5), з яким безпосередньо взаємодіють іони з негативною гідратацією K⁺ та Cs⁺, а також іони з позитивною гідратацією Na⁺ та Mg²⁺ через молекули води гідратної оболонки. Однак протийони також взаємодіють з іншими атомами у головному жолобі, що спостерігається за часом осідлого життя. У рентгеноструктурних експериментах виявлено локалізацію іонів у головному жолобі поблизу атомів O₆, N₆ і N₇ пуринових нуклеотидів (структури в роботі [306]).

Таким чином, дане дослідження показує, що характер взаємодії протийонів з ДНК суттєво залежить від типу протийонів, зокрема, від характеру гідратації іона. Іони з позитивним характером гідратації, такі як Na⁺ та Mg²⁺, взаємодіють із ДНК через молекули води в основному тому, що дегідратація – це енергоємний процес. Водночас, іони з негативним характером гідратації, такі як K⁺ і Cs⁺, проникають глибоко в жолоби і взаємодіють безпосередньо з атомами нуклеотидних основ. Протийони усередині гідратної оболонки подвійної спіралі впливають на динаміку молекул води, суттєво змінюючи структуру гідратної оболонки ДНК. Цей вплив якісно інший у випадку іонів з позитивним і негативним характером гідратації. Перебудова гідратної оболонки ДНК під дією протийонів може вплинути на конформаційні властивості подвійної спіралі, які є важливими для її біологічного функціонування.

5.3.2. Енергетичні та динамічні характеристики молекул води в гідратній оболонці протийонів, що знаходяться в різних областях подвійної спіралі ДНК. Для вивчення динамічних та енергетичних властивостей молекул води в гідратній оболонці протийонів ДНК в представленій роботі проведено окреме дослідження. Для цього здійснювався аналіз гідратних оболонок протийонів, локалізованих у різних областях подвійної спіралі, на основі молекулярно-динамічного моделювання фрагменту ДНК з послідовністю

нуклеотидів d(CGCGAATTCGCG), що було одержано раніше (див. деталі симуляції в п.п. 5.2.1 цього розділу).

Для проведення аналізу був застосований метод радіальних функцій (RDF). RDF будувалися для атомів кисню молекул води відносно іонів, локалізованих у різних областях подвійної спіралі: у мінорному та головному жолобах ($RDF_{\text{Ion}}^{\text{minor}}$ та $RDF_{\text{Ion}}^{\text{major}}$), біля фосфатних груп ($RDF_{\text{Ion}}^{\text{ph}}$) та в об'ємі далеко від ДНК ($RDF_{\text{Ion}}^{\text{bulk}}$). Вважалося, що деякий протийон локалізований в деякій області подвійної спіралі, якщо він знаходився в межах 5 Å від одного з референтних атомів. Референтні атоми ДНК показані в Додатку Г (Рис. Г12б, Таблиця Г4). Так само радіальні функції розподілу було розраховано для атомів кисню молекул води відносно атомів кисню інших молекул води, локалізованих в різних областях макромолекули ДНК ($RDF_{\text{W}}^{\text{minor}}$, $RDF_{\text{W}}^{\text{major}}$, $RDF_{\text{W}}^{\text{ph}}$ і $RDF_{\text{W}}^{\text{bulk}}$). Референтні молекули води обиралися так, аби вони не контактували безпосередньо з атомами ДНК. Як і раніше для аналізу та візуалізації використовувалося програмне забезпечення VMD [101]. RDF розраховувалися за допомогою модуля VMD [302] відповідно до формули (5.19).

Отримані радіальні функції розподілу молекул води відносно протийонів характеризуються двома максимумами: перший – інтенсивний, другий – слабкий (Рис. 5.14а). Положення максимумів визначається ванн дер вальсовими радіусами протийону та атому кисню молекули води. Інтенсивність першого та другого максимумів залежить від області подвійної спіралі, де локалізовано протийон. Єдиний виняток спостерігався у випадку першого максимуму для протийонів Na^+ , що мають приблизно однакову висоту для всіх областей локалізації протийонів. Водночас у випадку протийонів K^+ і Cs^+ різниця суттєва як для першого, так і для другого максимумів. RDF молекул води відносно інших молекул води характеризуються сильним першим максимумом та пологою кривою після нього (Рис. 5.15б). Другий максимум дуже слабкий та малопомітний. Отримані форми RDF притаманні моделі води TIP3P [307]. Різниця між RDF вода-вода для різних областей подвійної спіралі спостерігається тільки для першого піку, який завжди має меншу інтенсивність для молекул води у мінорному жолобі ДНК.

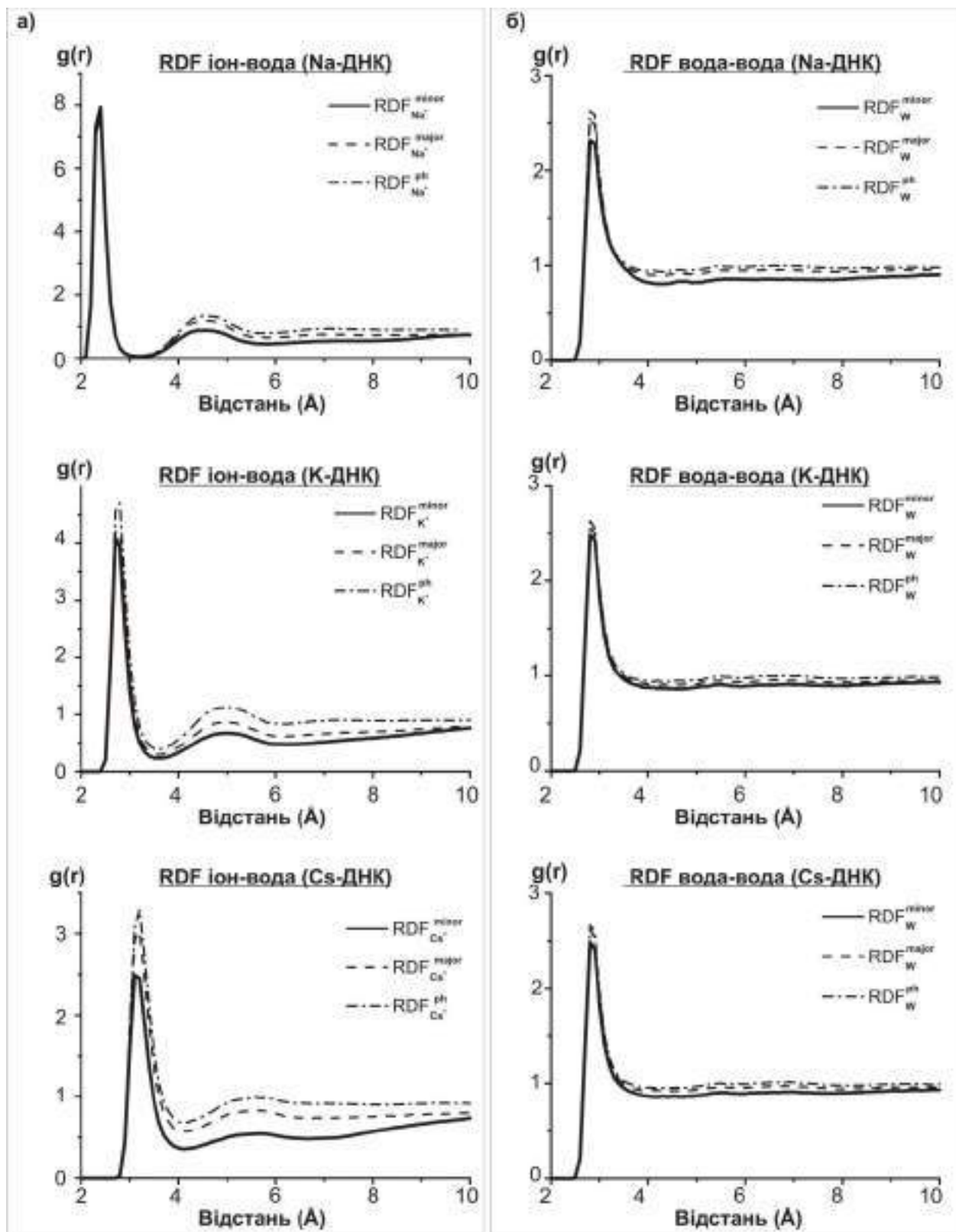


Рис. 5.14. Радіальні функції розподілу (RDF) атомів кисню в молекулах води відносно протийонів Na^+ , K^+ , Cs^+ (а) та відносно інших атомів кисню молекул води (б) в різних областях подвійної спіралі: мінорний жолоб ($\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{minor}}$ та $\text{RDF}_W^{\text{minor}}$), головний жолоб ($\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{major}}$ та $\text{RDF}_W^{\text{major}}$), а також біля фосфатних груп остова ДНК ($\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{ph}}$ та RDF_W^{ph}). Рисунок з роботи дисертанта [136].

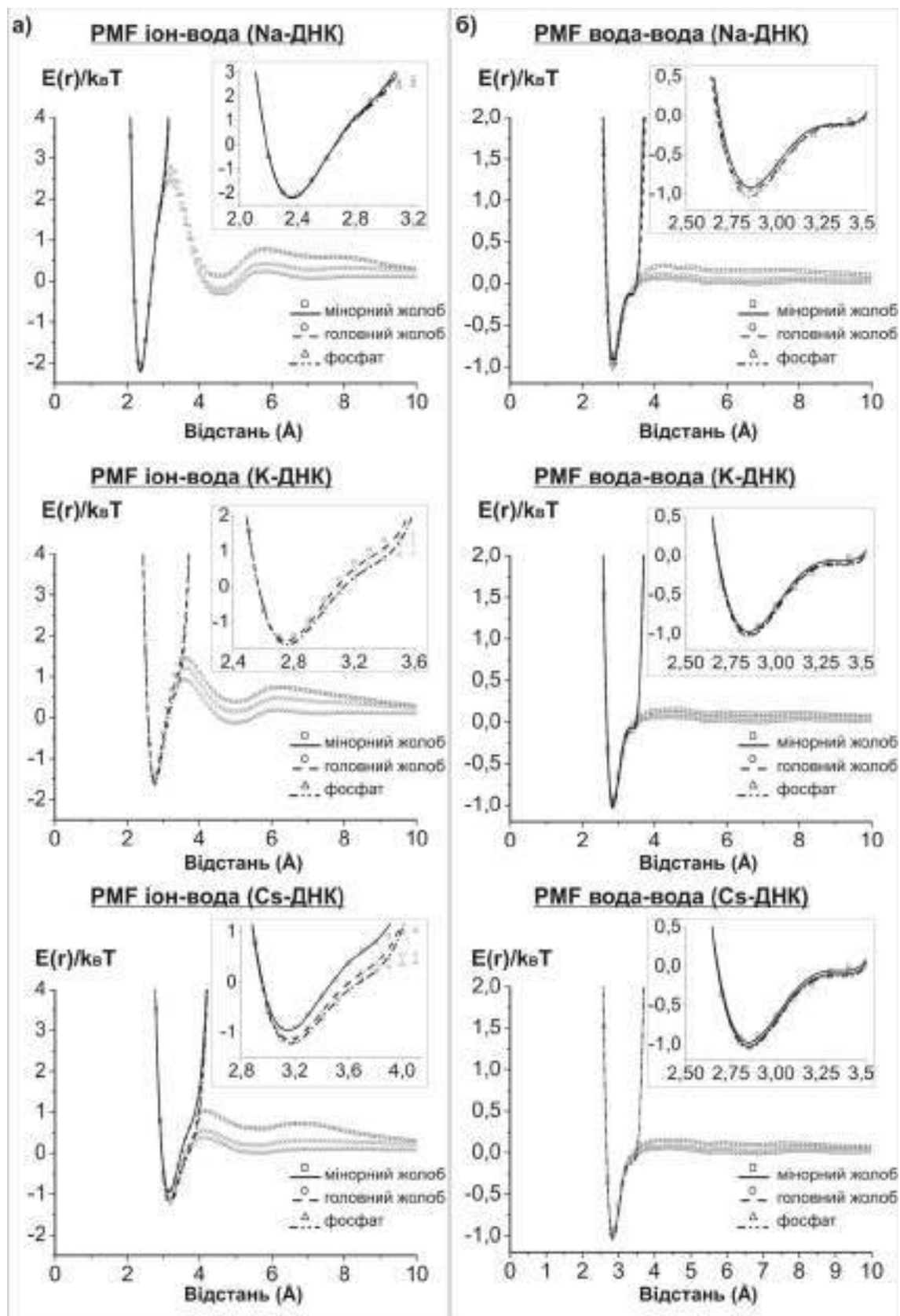


Рис. 5.16. Потенціали середньої сили молекули води (PMF). а) PMF для молекул води відносно Na⁺, K⁺, Cs⁺ у різних областях ДНК. б) PMF для молекул води відносно атомів кисню молекул води у різних областях ДНК: в мінорному жолобі, головному жолобі та біля фосфатних груп остова макромолекули. Рисунок з роботи дисертанта [136].

Таблиця 5.4. Параметри потенціалу середньої сили. Положення мінімуму та максимуму потенційної ями r_a та r_b відповідно (Å). Значення потенційних бар'єрів у ккал/моль для молекул води в гідратній оболонці іона (ΔE_{ion}) та для молекули води, оточеної іншими молекулами води (ΔE_w).

Система	Na-ДНК			K- ДНК			Cs- ДНК		
Іон-вода	r_a	r_b	ΔE_{ion}	r_a	r_b	ΔE_{ion}	r_a	r_b	ΔE_{ion}
Міnorний жолоб	2,36	3,20	3,00	2,75	3,60	1,77	3,15	4,10	1,20
Головний жолоб	2,36	3,20	2,85	2,75	3,60	1,65	3,16	4,10	1,03
Фосфатні групи	2,36	3,20	2,78	2,75	3,60	1,45	3,17	4,10	0,97
Об'єм	2,32	3,15	2,82	2,71	3,55	1,58	3,10	4,05	1,03
Вода-вода	r_a	r_b	ΔE_w	r_a	r_b	ΔE_w	r_a	r_b	ΔE_w
Міnorний жолоб	2,85	4,20	0,68	2,85	4,20	0,67	2,85	4,20	0,68
Головний жолоб	2,85	4,30	0,64	2,85	4,20	0,67	2,85	4,40	0,66
Фосфатні групи	2,85	4,25	0,67	2,85	4,30	0,66	2,85	4,20	0,66
Об'єм	2,79	4,05	0,67	2,84	4,20	0,67	2,84	4,20	0,69

Наведені значення потенційних бар'єрів для молекули води в гідратній оболонці іона (ΔE_{ion}) максимальні у випадку іонів Na^+ , а у випадку для іонів K^+ і Cs^+ значення ΔE_{ion} приблизно вдвічі нижчі. Така поведінка є результатом різного поверхневого заряду іонів, що обумовлено різними радіусами іонів. Енергетичний бар'єр для молекули води в гідратній оболонці протийону набагато вищий, ніж енергетичний бар'єр для молекули води в об'ємі ($\Delta E_{ion} > \Delta E_w$), більш того, у випадку протийонів у міnorному жолобі потенційний бар'єр найвищий, а у випадку протийону поблизу фосфатних груп та в об'ємі він набагато нижчий (Таблиця 5.4). Розраховані значення потенційних бар'єрів були співставлені з результатами молекулярно-динамічного моделювання [308] для іонів

у водних розчинах при 25 °C. Отримані в роботі значення ΔE_{ion} для молекул води в гідратній оболонці іонів Na^+ , K^+ і Cs^+ [308] рівні 2,3 ккал/моль, 1,3 ккал/моль та 0,9 ккал/моль відповідно. Такі значення досить близькі до наших результатів, але загалом потенційні бар'єри в Таблиці 5.4 дещо вищі, ніж у роботі [308]. Причина різних значень ΔE_{ion} може бути пов'язана з різними моделями води та параметрами іонів, які використовувалися в нашій роботі та в роботі [308]. Різниця енергетичних бар'єрів для молекули води в гідратній оболонці протийону та в об'ємі ($dE = \Delta E_{ion} - \Delta E_w$) визначає характер гідратації протийону. Нагадаємо, іони з позитивним характером гідратації мають $dE > 0$, а іони з негативним характером гідратації – $dE < 0$ (Рис. 5.15).

Отримані результати (Таблиця 5.4) показують, що значення dE позитивні для всіх протийонів: 2,15 ккал/моль, 0,91 ккал/моль і 0,34 ккал/моль для Na^+ , K^+ і протийони Cs^+ відповідно. Водночас експериментальні дані [135] показують, що серед розглянутих протийонів тільки іон натрію має позитивну різницю потенційних бар'єрів $dE = 0,25$ ккал/моль, і вона набагато менша, ніж у наших симуляціях. Іони калію і цезію мають негативну різницю потенційних бар'єрів $dE = -0,25$ ккал/моль і $dE = -0,33$ ккал/моль відповідно, тому вони, власне, є негативно гідратовані [135]. Причина розбіжності між отриманими енергетичними бар'єрами та експериментальними даними може бути пов'язана з параметризацією моделей води, яка обговорюватиметься далі.

Визначені потенціали середньої сили дозволяють оцінити час осілого життя τ для молекул води, використовуючи рівняння типу Арреніуса [135]. В даній роботі це рівняння представлено у такому вигляді:

$$\tau = 2\tau_0 \exp\left(\frac{\Delta E}{k_B T}\right), \quad (5.24)$$

де τ_0 – характерний час наближення молекули до потенційного бар'єру ΔE . Множник 2 у формулі (5.24) означає, що молекула води, що знаходиться на вершині потенційного бар'єру, може залишити гідратну оболонку або повернутися назад в потенціальну яму з рівною ймовірністю. Величина τ_0 оцінюється як

період коливань частинки в потенційній ямі з використанням закону збереження енергії для фінітного руху [309]:

$$\tau_0 = \sqrt{2\mu} \int_{x_{\min}}^{x_{\max}} \frac{dx}{\sqrt{E_0 - E(x)}}, \quad (5.25)$$

де μ – маса молекули води; $x = r - r_a$ – зміщення молекули води з положення рівноваги r_a ; $x_{\min}$ і $x_{\max}$ – амплітудні зміщення; E_0 – амплітуда коливань молекули води у потенційній ямі (Рис. 5.15). Потенційна функція $E(x)$ визначається з потенціалу середньої сили, який апроксимується поліноміальною функцією:

$$E(x) \approx E_a + C_2 \frac{x^2}{2} + C_3 \frac{x^3}{3} + C_4 \frac{x^4}{4}, \quad (5.26)$$

де E_a – глибина потенційної ями; C_2 , C_3 , C_4 – параметри припасування. Зміщення амплітуди ($x_{\min}$ і $x_{\max}$) визначалося з умови: $E(x) = E_0$ (Рис. 5.16). З урахуванням принципу Больцмана про рівнорозподіл енергії за ступенями свободи величина енергії амплітуди коливань визначалася наступним чином: $E_0 = E_a + k_B T$. Підставивши (5.26) рівняння (5.25), було отримано еліптичний інтеграл, який далі обраховувалося чисельно.

Розрахунковий середній час осідлого життя молекул води в гідратній оболонці іона знаходиться в діапазоні від 2 до 50 пс (Таблиця 5.5). Найбільший час перебування спостерігається для води біля протийонів натрію, а у випадку іонів калію та цезію це значення у кілька разів менше. Також спостерігається залежність значень τ від області локалізації протийонів. Найбільший час осідлого життя молекул води спостерігається у гідратних оболонках іонів, локалізованих у мінорному жолобі подвійної спіралі ($\tau_{\min}$), а у головному жолобі ($\tau_{\max}$) та поблизу фосфатних груп остова макромолекули (τ_{ph}) часи осідлого життя коротші: $\tau_{\min} > \tau_{\max} > \tau_{ph}$.

Час перебування молекул води біля протийонів також було розраховано іншим способом безпосередньо з траєкторій моделювання. При аналізі молекула води враховувалася як частина гідратної оболонки іона, якщо атом кисню знаходився в області менше деякого радіусу до іона r_h . Відстань r_h характери-

зує зовнішню межу гідратної оболонки і має бути близькою до мінімуму радіальної функції розподілу (значення r_b у Таблиці 5.4). Значення часів осідлого життя усереднювалися за всіма протийонами системи.

Таблиця 5.5. Час осідлого життя (τ) і напівперіод коливань (τ_0) у пс для молекул води в гідратній оболонці протийону та в середовищі інших молекул води (в об'ємі).

Система	Na-ДНК		K- ДНК		Cs- ДНК	
Іон-вода	τ	τ_0	τ	τ_0	τ	τ_0
Міnorний жолоб	52,33	0,18	8,87	0,23	5,02	0,34
Головний жолоб	41,54	0,18	7,60	0,24	4,29	0,39
Фосфатні групи	37,02	0,18	5,26	0,23	4,40	0,41
Об'єм	39,28	0,18	6,51	0,24	4,05	0,36
Вода-вода	τ	τ_0	τ	τ_0	τ	τ_0
Міnorний жолоб	3,61	0,58	4,22	0,69	4,34	0,71
Головний жолоб	3,79	0,65	4,19	0,69	4,31	0,72
Фосфатні групи	4,15	0,69	4,23	0,71	4,68	0,85
Об'єм	3,25	0,54	3,29	0,54	4,86	0,74

Отримані значення часів осідлого життя збільшуються зі збільшенням відстані r_h (Рис. 5.17). У випадку протийонів Na^+ значення τ , отримані з PMF (Таблиця 5.5), узгоджуються зі значеннями, отриманими при аналізі траєкторій моделювання на відстані $r_h = r_b$ (сіра область на Рис. 5.17). У випадку протийонів K^+ і Cs^+ значення часів осідлого життя, розраховані різними методами, близькі на деякій відстані, меншій, ніж r_b . Різниця $r_h - r_b$ менша за $0,2 \text{ \AA}$, що знаходиться в межах точності наших оцінок. Значення τ для молекул води в об'ємі (вставка на Рис. 5.17) узгоджуються з розрахунковими значеннями з PMF. Таким чином, значення середніх часів осідлого життя молекул води, оцінені в даній роботі двома різними методами, узгоджуються між собою.

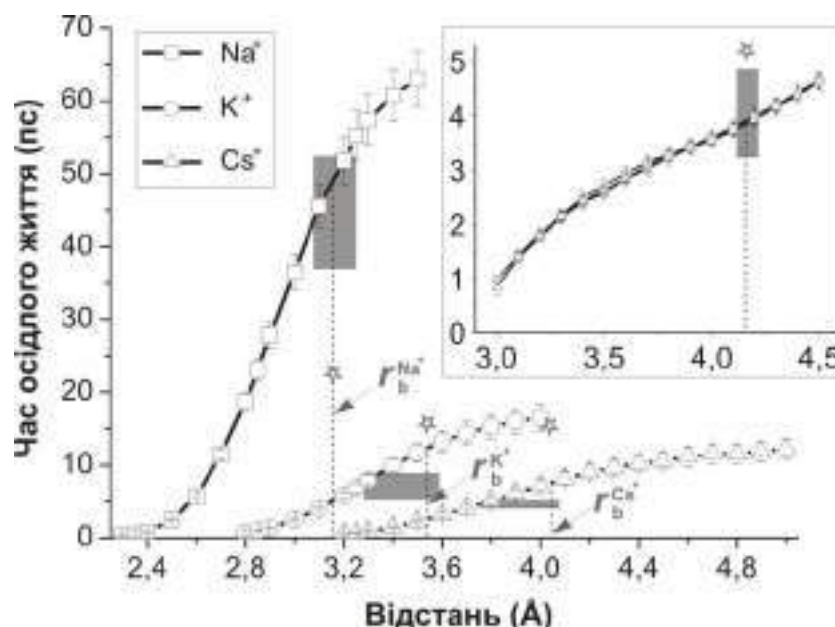


Рис. 5.17. Залежність середнього часу осідлого життя молекул води біля протийонів Na^+ , K^+ , Cs^+ від відстані до іона. Діапазон, що відповідає значенням з Таблиці 5.5 виділено сірим кольором. Пунктирними лініями показано відстані мінімумів RDF (r_b), які також відповідають положенню потенційних бар'єрів PMF. На вставці: залежність середнього часу осідлого життя від відстані O-O для молекул води в об'ємі для трьох змодельованих систем. Зірочки показують значення часів осідлого життя, отримані у роботі. Рисунок з роботи дисертанта [136].

Таким чином, результати моделювання методом молекулярної динаміки для ДНК з позитивно гідратованими протийонами Na^+ і негативно гідратованими K^+ і Cs^+ показують, що динаміка молекул води в гідратній оболонці протийонів залежить від їх локалізації навколо подвійної спіралі. Зокрема, найбільший час осідлого життя спостерігається у молекул води біля протийону, локалізованого всередині мінорного жолоба подвійної спіралі, і він більший, ніж для молекули води біля того ж іона, але в об'ємній воді. Ця відмінність може бути пов'язана з обмеженим простором усередині подвійної спіралі і через структуровану систему молекул води, яка утворюється в жолобах ДНК. Водночас, результати чітко показують, що отримані енергетичні бар'єри для молекул води поблизу іонів занадто високі, що робить гідратну оболонку занадто жорсткою.

Протийони Na^+ , K^+ і Cs^+ у модельованих системах позитивно гідратовані, а ефект негативної гідратації для K^+ та Cs^+ взагалі не спостерігався.

Щоб пояснити причину високих значень потенційних бар'єрів необхідно проаналізувати можливий вплив моделі молекули води в нашому моделюванні. Модель води TIP3P, яка використовувалася в розрахунках, характеризується значенням дипольного моменту 2,35 Д, тоді як експериментальне значення для молекули води в газовій фазі становить 1,86 Д, а в рідкій фазі – 2,95 Д [310]. У зв'язку із цим проаналізуємо потенційний бар'єр як функцію дипольного моменту. Для цього потенціал середньої сили був оцінений як зміна вільної енергії молекули води після її виходу з гідратної оболонки іона та заміщення молекулою об'ємної води:

$$E \equiv \Delta G = \Delta H - T\Delta S + \Delta G_0, \quad (5.27)$$

де ΔH і $T\Delta S$ – внески ентальпії та ентропії, а ΔG_0 - деяка постійна частина зміни вільної енергії.

Внесок ентальпії здебільшого обумовлений взаємодією молекули води з іоном. У роботі [311] енергія молекули води поблизу іона була успішно описана шляхом представлення молекули води у вигляді диполя в полі іона. У нашій моделі також додатково враховується відштовхування між молекулою води та іоном на малих відстанях. В результаті зміна ентальпії може бути представлена як сума середнього іон-дипольного ($\langle U_{i-d}(r) \rangle$) та відштовхувального ($\langle U_{rep}(r) \rangle$) доданків:

$$\Delta H = \langle U_{i-d}(r) \rangle + \langle U_{rep}(r) \rangle, \quad (5.28)$$

Враховуючи, що напрямок вектора диполя в електричному полі іона описується розподілом Больцмана, середню іон-дипольну взаємодію можна представити у такому вигляді:

$$\langle U_{i-d}(r) \rangle = -k_B T L(\alpha) \alpha(r), \quad (5.29)$$

де $L(\alpha) = \coth \alpha - 1/\alpha$ - функція Ланжевена і

$$\alpha(r) = \frac{1}{k_B T} \frac{qd}{4\pi\epsilon\epsilon_0 r^2}. \quad (5.30)$$

Тут q – заряд іона; ε – діелектрична проникність середовища поблизу іона; ε_0 – діелектрична проникність вакууму; d – дипольний момент молекули води.

Відштовхування між молекулою води та іоном описується потенціалом у формі Борна-Майєра, який використовується при описі іонів в іонних кристалах [204] та іон-фосфатній ґратці ДНК [216]:

$$U_{rep}(r) = Ae^{-r/b}, \quad (5.31)$$

де A і b – параметри, що описують відштовхування між іоном та молекулою води як твердими сферами.

Рух дипольних моментів молекул води навколо іона загальмований, і загалом молекули сильно орієнтовані в електростатичному полі. Тому в нашій моделі передбачається, що ентропія збільшується зі збільшенням відстані між іонами та водою так само, як і середній напрямок диполя води, що описується функцією Ланжевена $L(\alpha)$. В результаті зміна ентропії має вигляд:

$$\Delta S = -s_0 L(\alpha), \quad (5.32)$$

де s_0 – ентропія молекули води в об'ємі. Параметри A і s_0 отримуємо з умови максимуму та мінімуму на відстані r_a та r_b : $\left. \frac{d\Delta G(r)}{dr} \right|_{r=r_a} = 0$ і $\left. \frac{d\Delta G(r)}{dr} \right|_{r=r_b} = 0$.

Доданок ΔG_0 визначається енергією взаємодії з іншими молекулами води системи, яка включає внесок як ентальпії, так і ентропії. Визначення цих внесків є складним завданням і не потрібне для оцінки висоти потенційного бар'єру. У цій роботі він визначається з умови $\Delta G(r_c) = 0$, тут r_c – деяка точка, в якій потенціал середнього дорівнює нулю. Беручи до уваги і використовуючи рівняння (5.27) – (5.32), зміну потенціалу середньої сили в одиницях $k_B T$ можна записати так:

$$\tilde{E}(r) = -L(\alpha)[\alpha(r) + s_0] + Be^{\frac{r-r_a}{b}} + \Delta g_0, \quad (5.33)$$

де $\tilde{E}(r) = E(r) / k_B T$, $B = -A / k_B T$, $\Delta g_0 = -L(\alpha_c)(\alpha_c + s_0) + Be^{-(r_c-r_a)/b}$ та $\alpha_c = \alpha(r_c)$.

Для оцінки енергії за формулою (5.33) параметри були визначені в такий спосіб. Параметр відштовхування взятий таким, як і у випадку кристалів іонів

лужних металів $b \approx 0,3$ Å. Температура взята така, як і при моделюванні методом молекулярної динаміки $T = 300$ К. Дипольний момент $d = 2,35$ Д був узятий таким, як і в моделі молекули води TIP3P. Значення рівноважних відстаней (r_a) та бар'єрної відстані (r_b) були взяті з Таблиці 5.4. Відстань r_c визначається як: $r_c = (r_a + r_b) / 2$. Діелектрична проникність була визначена за допомогою діелектричної функції [231], розробленої для опису електростатичних взаємодій у нуклеїнових кислотах: $\varepsilon(r) = 78 - 77(0,0128\bar{r}^2 + 0,16\bar{r} + 1)e^{-0,16\bar{r}}$, де $\bar{r}$ - відстань між зарядами в Ангстремах. На відстані від 2 до 4 Å ця функція дає значення в діапазоні 1,3-3.

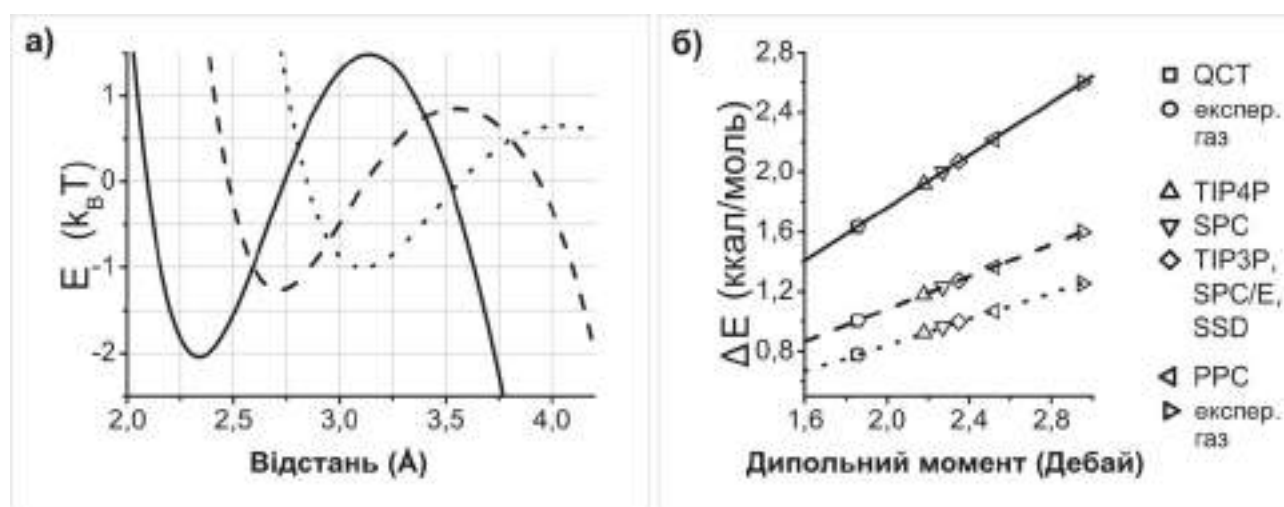


Рис. 5.18. а) Залежність енергії молекули води у першій гідратній оболонці від відстані до іона. б) Залежність потенційного бар'єру ΔE від дипольного моменту молекули води. Значення потенційних бар'єрів, що відповідають дипольним моментам різних моделей води [299,312–315] та експериментальні значення для молекули води [310] показані фігурними точками. Суцільна, штрихована та точкова лінії відповідають іонам Na^+ , K^+ та Cs^+ , відповідно. Рисунок з роботи дисертанта [136].

Оцінки показують, що висота потенційного бар'єру $\Delta E = E(r_b) - E(r_a)$ зменшується зі збільшенням розміру протийону: $\Delta E(\text{Na}^+) > \Delta E(\text{K}^+) > \Delta E(\text{Cs}^+)$ (Рис. 5.18а). Така сама залежність ΔE спостерігалася у наших молекулярно-динамічних розрахунках (Таблиця 5.4). Щоб проаналізувати роль дипольного

моменту молекули води, потенціальний бар'єр розрахований за формулою (5.32) для різних значень дипольного моменту (Рис. 5.18б). Результати показують, що потенційний бар'єр молекули води в гідратній оболонці іона лінійно збільшується зі збільшенням значення дипольного моменту. Значення потенційних бар'єрів, що відповідають дипольним моментам різних моделей води та експериментальним даним [299,310,312–315] (точки на Рис. 5.18б) знаходяться в межах 1.6 – 2.6 ккал/моль, 1.0 – 1.5) ккал/моль і 0.7 – 1.2 ккал/моль для Na^+ , K^+ і Cs^+ відповідно. З огляду на це можна зробити висновок, що моделі молекули води з меншими дипольними моментами повинні більш точно описувати ефекти гідратації протийонів.

ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ

ДНК – це сильний поліелектроліт, що конденсує протийони розчину, які можуть локалізуватися в атмосфері навколо макромолекули та всередині внутрішніх областей подвійної спіралі (мінорному та головному жолобах). З урахуванням відмінності протийонів у внутрішній та зовнішній областях ДНК була розроблена аналітична модель для опису захоплення одновалентних протийонів усередині жолобів подвійної спіралі. За основу була взята модель теорії конденсації протийонів Меннінга [15]. В результаті було визначено діапазон концентрацій протийонів, які можуть бути захоплені всередині жолобів подвійної спіралі: від 0,16 до 0,43 на одну фосфатну групу. Для валідації розробленої моделі було проведено молекулярно-динамічне моделювання В-ДНК з протийонами K^+ . Дані моделювання показують, що в середньому кількість іонів усередині жолобів подвійної спіралі становить близько 0,22 на одну фосфатну групу, що підтверджує результати запропонованої моделі. Таким чином, розроблена модель описує загальні особливості структури іонної атмосфери навколо ДНК та здатна передбачити кількість протийонів, захоплених у жолобах подвійної спіралі.

Виконано окреме молекулярно-динамічне дослідження динаміки та розподілу протийонів Na^+ , K^+ , Cs^+ та Mg^{2+} в іон-гідратній оболонці фрагмента ДНК

d(CGCGAATTCGCG). Результати показують, що розподіл протийонів зовні ДНК є досить рівномірним, а в жолобах подвійної спіралі він модулюється послідовністю нуклеотидів. Встановлено, що розташування протийонів відносно атомів подвійної спіралі суттєво залежить від характеру гідратації іонів. Заповнена перша гідратна оболонка іонів з позитивним характером гідратації Mg^{2+} та Na^{+} складається з 6 молекул води. Ці іони переважно утворюють опосередковані водою контакти з ДНК. Протийон магнію настільки сильно зв'язує молекули води першої гідратної оболонки, що обмін з об'ємною водою не спостерігався під час моделювання. Встановлено, що перша гідратна оболонка іонів з негативним характером гідратації Cs^{+} і K^{+} , складається приблизно з 10 і 7 молекул води відповідно. Взаємодіючи з атомами макромолекули, ці протийони можуть легко дегідратуватися на 5 і 3 молекулами води відповідно і протискуватися крізь гідратну оболонку ДНК вглиб подвійної спіралі. У мінорному жолобі подвійної спіралі вони утворюють порівняно довгоживучі комплекси з атомами N_3 та O_2 нуклеотидних основ та O_4 дезоксирибози. У випадку протийонів цезію спостерігався перехресний зв'язок між атомами N_3 та O_2 різних пар нуклеотидів у центрі фрагмента ДНК. Він утворюється за рахунок заміщення молекулою води гідратного хребта мінорного жолоба. Час перебування протийонів у мінорному жолобі набагато більший, ніж у головному жолобі, а у випадку протийонів Cs^{+} він може досягати 10 нс. У цьому масштабі часу протийони можуть накопичуватися в мінорному жолобі, утворюючи регулярну структуру вздовж подвійної спіралі.

Через взаємодію з ДНК дві гідратні оболонки протийонів зазнають змін. Прямі контакти протийонів з ДНК характеризуються зменшенням координаційних чисел як у першій, так і у другій гідратній оболонці іона, тоді як у випадку опосередкованих водою контактів зменшуються лише координаційні числа другої гідратної оболонки. У характері гідратації іонів виявляється взаємозв'язок координаційних чисел першої та другої гідратних оболонок. У випадку протийонів з негативним характером гідратації, вона майже лінійна, тоді як у випадку іонів з позитивним характером гідратації, кореляція набагато склад-

ніша через зв'язування молекул води першої гідратної оболонки. Отримані результати показують, що структурування першої та другої гідратних оболонок протийону відіграє важливу роль у специфічних взаємодіях протийонів з ДНК та їхньому розподілі навколо подвійної спіралі.

В рамках методу молекулярної динаміки досліджено динаміку молекул води в гідратній оболонці позитивно (Na^+) та негативно (K^+ та Cs^+) гідратованих протийонів навколо подвійної спіралі ДНК. Аналіз показує, що динаміка молекул води у гідратній оболонці протийонів залежить від їхньої локалізації навколо подвійної спіралі, що є проявом взаємодії молекул води у гідратній оболонці ДНК та протийонів. Найбільший час перебування молекули води спостерігається для протийонів у мінорному жолобі подвійної спіралі: біля 50 пс для протийону Na^+ і менше 10 пс для протийонів K^+ та Cs^+ . У головному жолобі і зовні подвійною спіраллю характерний час осілого життя протийону значно нижчий. При моделюванні протийони занадто сильно зв'язують молекули води, роблячи гідратну оболонку жорсткішою, ніж вона має бути. Аналіз, проведений у в рамках розробленої феноменологічної моделі, показав, що стабільність гідратної оболонки пропорційна величині дипольного моменту моделі води. Очікується, що моделі води з нижчими дипольними моментами дадуть кращий опис ефектів гідратації протийонів.

Таким чином, дослідження розподілу протийонів навколо подвійної спіралі ДНК, проведені в рамках підходів простих поліелектролітних моделей і молекулярно-динамічних досліджень, показало, що іонна атмосфера має свою структуру. Зв'язані протийони, що знаходяться в певній області подвійної спіралі (мінорний та головний жолоби ДНК, області біля фосфатних груп) займають певні положення в сайтах взаємодії, що визначається послідовністю пар основ, типом протийону та характером їхньої гідратації. Протийони ззовні подвійної спіралі є мобільними і знаходяться в стані динамічної рівноваги з тими протийонами на поверхні ДНК. Результати дослідження показують динамічний характер впорядкування протийонів ДНК.

РОЗДІЛ 6

ВПЛИВ МОЛЕКУЛ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ НА СТРУКТУРУВАННЯ ПРО- ТИЙОНІВ МЕТАЛІВ НАВКОЛО ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК: МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Результати дослідження, які представлені в даному розділі, опубліковано в статті [74] в журналі *European Biophysics Journal* (квартиль Q2). Дане дослідження проводилося спільно з д-р. фіз.-мат. наук С.Н. Волковим (ІТФ ім. М.М. Боголюбова НАН України) та проф. Йозефом Улічним (Університет ім. П.Й. Шафарика в Кошиці, Словачька Республіка). Автор висловлює щирю вдячність своїм колегам. Усі симуляції та їх аналіз здійснювалися автором на обчислювальному кластері Університету Шафарика. За результатами роботи було зроблено ряд доповідей на семінарах Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова Національної академії наук України.

6.1. Моделювання подвійної спіралі ДНК з пероксидом водню та протийонами натрію методом молекулярної динаміки

6.1.1. Утворення пероксиду водню в живій клітині та проблема взаємодії з макромолекулою ДНК. Молекули пероксиду водню (H_2O_2) завжди присутні в організмі в мікромольних концентраціях за рахунок біохімічних реакцій, що постійно протікають в живій клітині [316,317]. Концентрація H_2O_2 контролюється спеціальними клітинними механізмами за участі органел пероксидом і специфічних ферментів пероксидаз (Рис. 6.1а). Проте під дією зовнішніх факторів концентрація молекул H_2O_2 може значно підвищуватися, зокрема після впливу пучків прискорених важких іонів. Потрапляючи в середовище, іони віддають свою енергію наприкінці траєкторії руху, що викликає появу піку (Рис. 6.1б). Це явище було вперше спостережено понад сто років тому Бреггом для альфа-частинок, які проходять крізь воду [318]. За рахунок вузько напрямленої дії іонних променів в глибині від поверхні входження в середовище (біля 10 см) ефект

піку Брегга широко застосовується в протираковій терапії [29,319]. В якості іонів часто використовуються ядра C^{6+} , які прискорюються до енергії порядку 100 MeV.

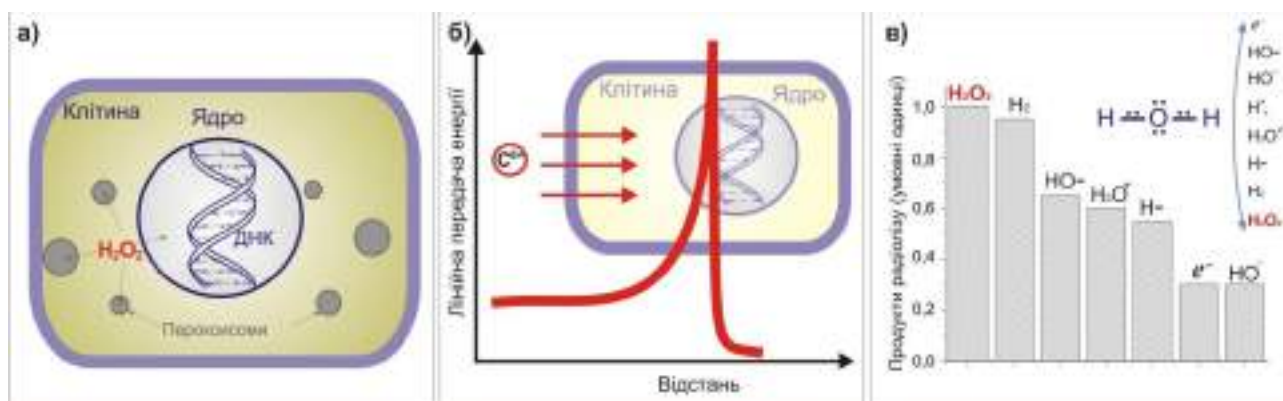


Рис. 6.1. а) Пероксид водню в живій клітині. б) Пік Брегга. Утворення молекул пероксиду водню під дією важких іонів в процесі терапії ракових клітин. в) Продукти радіолізу молекул води. Гістограма побудовано за даними [29,319].

Молекули пероксиду водню утворюються як продукт реакцій між радикалами, що з'являються в результаті розпаду молекул води під дією опромінення (радіолізу води). Радикали безпосередньо пошкоджують структуру макромолекули ДНК, індукуючи утворення одно- та дволанцюгових розривів подвійної спіралі. Докладний аналіз дії пучків важких іонів на ДНК показав, що активність радикалів та ефекти прямого опромінення є недостатніми для зупинення біологічної функції ДНК. Тому були запропоновані інші механізми дії на ДНК пучків важких іонів високої енергії [320–324]. Зокрема, блокування біологічно активних центрів подвійної спіралі ДНК молекулами пероксиду водню розглядається як альтернативний механізм у протираковій терапії [323,324]. У зв'язку з цим вивчення взаємодії пероксиду водню зі структурними елементами подвійної спіралі ДНК може поліпшити наше розуміння молекулярних механізмів іонно-променевої терапії. Використання результатів моделювання системи ДНК з пероксидом та протийонами в рамках методу молекулярної динаміки може надати важливу інформацію про механізми взаємодії молекул H_2O_2 з подвійною спіраллю.

Молекула пероксиду водню може зв'язуватися з ДНК через атоми азотистих основ у жолобах і неспецифічно через атоми кисню фосфатних груп остова макромолекули. В рамках розрахунків з використанням атом-атомних потен-

ційних функцій [323,324] та методів квантової механіки молекул [325,326] було передбачено, що комплекси фосфатних груп з пероксидом водню є більш стабільними. Також було розглянуто можливість блокування сайтів впізнавання ДНК молекулами пероксиду водню в процесі розкриття пар основ [326]. Реалістичне моделювання процесів взаємодії пероксиду водню з елементами структури ДНК має включати взаємодії з навколишніми молекулами води та іонами розчину, що можна зробити в рамках методів атомістичної молекулярної динаміки. Однак жодних докладних молекулярно-динамічних досліджень взаємодії пероксиду водню з подвійною спіраллю ДНК не проводилося до цього часу.

Для виконання моделювання методом молекулярної динаміки на атомістичному рівні необхідно визначити потенційні функції, що описують внутрішньомолекулярні та міжмолекулярні взаємодії для всіх атомів системи. У стандартних наборах параметрів для потенційних функцій, відомих як силові поля (наприклад, силове поле CHARMM [174,284,285]), параметри для молекули пероксиду водню не були впроваджені, і молекула H_2O_2 параметризувалася різними способами [327–330]. В роботі [327] силові константи для внутрішньомолекулярних потенціалів молекули H_2O_2 були отримані з порівняння результатів аналізу нормальних мод з експериментальними спектрами пероксиду водню [331–333]. В роботі [330] міжмолекулярні параметри для молекули H_2O_2 були перенесені з моделі води TIP3P [289], а внутрішньомолекулярні параметри взяті з [327]. Дослідження [330] було зосереджено на проблемі утворення розривів хімічних зв'язків під дією опромінення макромолекули ДНК у моделюванні в рамках методу атомістичної молекулярної динаміки, та взаємодії пероксиду водню з подвійною спіраллю ДНК не розглядалася. Для моделювання розриву хімічних зв'язків в рамках методу атомістичної молекулярної динаміки було застосовано феноменологічний метод, розроблений в роботі [334] для застосування в програмному пакеті молекулярної динаміки MBN Explorer [335]. Послідовна розробка моделі молекули пероксиду водню для атомістичного моделювання була проведена лише недавно в роботі [336], де параметри як для міжмолекулярного, так і для внутрішньомолекулярного потенціалів були ретель-

но розроблені. Використовуючи отримані параметри [336] в представленій роботі вперше проведено систематичне дослідження взаємодії молекул пероксиду водню з ДНК у водному середовищі та протийонами натрію.

6.1.2. Молекулярно-динамічні симуляції систем з пероксидом водню. В даному дослідженні було виконано моделювання методом атомістичної молекулярної динаміки для п'яти різних систем: три системи містили макромолекули ДНК, а дві системи – без ДНК. ДНК була змодельована як нескінченна ланцюг подвійної спіралі в канонічній *B*-формі, що складається з повторюваного фрагмента з 20 пар основ з нуклеотидною послідовністю d(CGCGAATTCGCGAATTCGCG). Ця нуклеотидна послідовність складається з двох мотивів, подібних до відомого модельного полінуклеотиду – додекамеру Дікерсона-Дрю [106], який широко використовується у моделюванні методом молекулярної динаміки (див., наприклад, [32,71,75,337]).

Подвійна спіраль ДНК у в елементарній комірці була сольватована розчином, що складається з приблизно 4 тисяч молекул води, 40 протийонів Na^+ та молекул пероксиду водню різної концентрації. Число позитивно заряджених протийонів Na^+ дорівнює кількості негативно заряджених фосфатних груп подвійної спіралі ДНК. В початковій системі молекули пероксиду водню розташовувалися на відстані більше 2,5 Å від ДНК таким чином, аби вони не перекривалися між собою. Комірка моделювання у випадку кожної системи містила близько 15 тисяч атомів і мала прямокутну форму з початковими розмірами XYZ 54Å × 54Å × 70Å. В моделюванні використовувалися періодичні граничні умови. Аби змодельовати нескінченну подвійну спіраль, кінці фрагмента ДНК були замкнені на їхні зображеннями у сусідніх комірках. Приклад початкового стану системи з ДНК, що моделюється, показаний на Рис. 6.2.

Кількість молекул пероксиду водню в системах з ДНК становила 0, 36 і 432, що відповідає концентраціям 0 моль/л, 0,3 моль/л і 3,5 моль/л H_2O_2 відповідно. Відповідно, ці системи моделювання були позначені як DNA0, DNA03 та DNA35. В представленому дослідженні системи DNA35 і DNA03 відносяться до систем ДНК з високою та низькою концентрацією H_2O_2 відповідно.

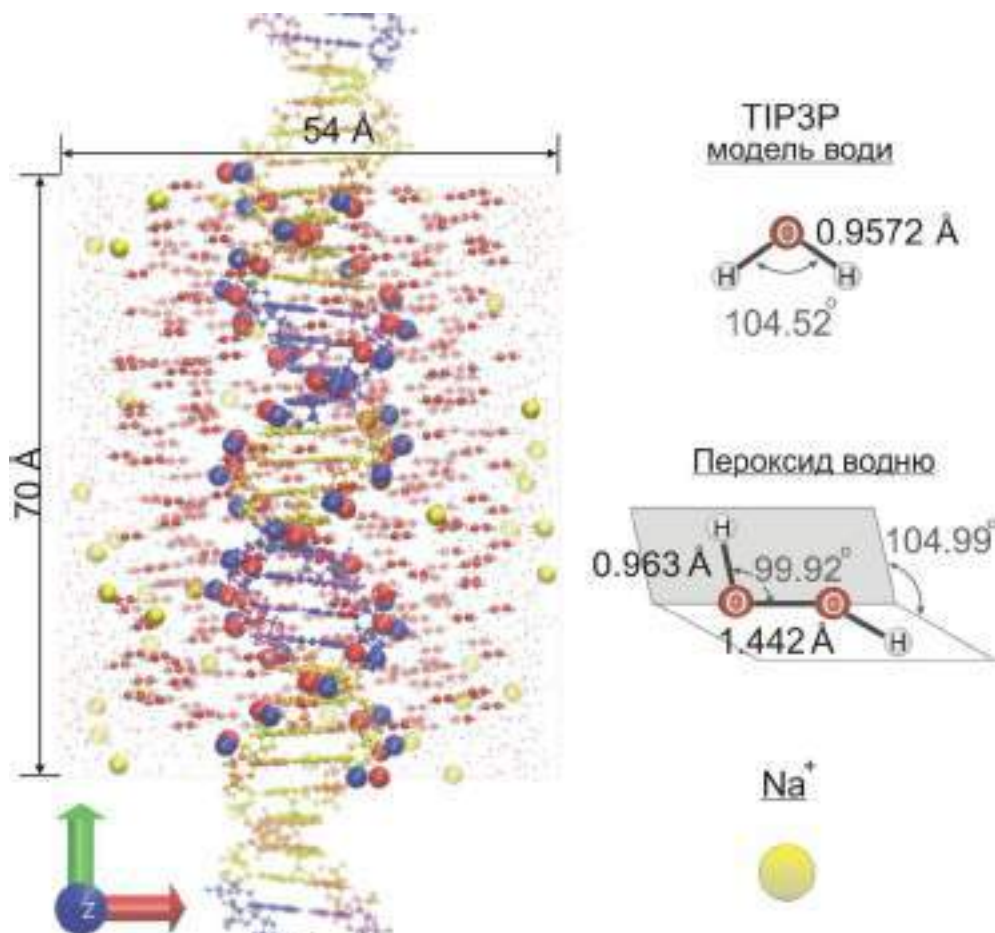


Рис. 6.2. Система нескінченної подвійної спіралі ДНК у водній комірці з 3,5 моль/л молекул пероксиду водню та протійонами Na^+ , що змодельована у цій роботі (система DNA35). Параметри структури молекул H_2O_2 та H_2O взяті з [336] та [289] відповідно. Рисунок з роботи дисертанта [74].

Слід зазначити, що кількість H_2O_2 у системах DNA03, і DNA35 набагато перевищує кількість пероксиду водню у живій клітині. Як відомо, у фізіологічних умовах концентрація пероксиду водню залишається у мікромольному діапазоні концентрацій [316,317], тоді як у нашій системі навіть одна молекула H_2O_2 у комірці моделювання відповідає приблизно 8 ммоль/л. Однак в протипу-хлинній терапії пучками важких іонів концентрація пероксиду водню суттєво збільшується [29,319]. Зокрема, розрахунки [29] показали, що один іон C^{6+} може викликати збільшення концентрації H_2O_2 приблизно до десятків мкмоль/л за час ~ 1 мкс. Тому, враховуючи, що пероксид водню може накопичуватися під час сеансу терапії, її кількість H_2O_2 може досягати значних концентрацій.

Щоб охарактеризувати вплив молекул пероксиду водню на структуру розчину, були змодельовані дві системи водного розчину H_2O_2 без ДНК. Ці системи містили H_2O , H_2O_2 , Na^+ і Cl^- і були позначені як WP03 та WP35. Концентрації молекул пероксиду водню та іонів натрію в системах WP03 та WP35 були такими ж, як у системах DNA03 та DNA35 відповідно. Іони хлору були додані до систем WP03 і WP35, щоб зробити їх електрично нейтральними. Детальна інформація про системи, що моделювалися в даній роботі наведена в Додатку Д (Таблиця Д1).

Для моделювання системи ДНК у водному розчині з іонами Na^+ та молекулами пероксиду водню було взято силове поле CHARMM [174,284,285,338,339]. Зокрема, для нуклеїнових кислот використовувався набір параметрів CHARMM36 [339]. Щоб зв'язати кінці фрагмента ДНК з їхніми зображеннями в сусідніх комірках, спеціальний модуль силового поля CHARMM36 (патч/*patch* LKNA) був застосований до кінцевих нуклеотидів. Використовувалася модель молекули води TIP3P [289]. Для іонів Na^+ були використані параметри, розроблені Бегловим та Ру (*Beglov* та *Roux*) [290].

Параметри, необхідні для моделювання молекул пероксиду водню, не впроваджені в стандартних силових полях. Водночас в роботі [336] було проведено докладне дослідження з метою розробки адитивної моделі для моделювання молекули пероксиду водню. Зокрема, в [336] методами квантової механіки молекул були розраховані параметри структури молекули H_2O_2 і частоти коливань на різних рівнях теорії, а параметри, що описують енергію розтягування хімічних зв'язків (O – H та O – O), валентних кутів (H – O – O) та двограних кутів (H – O – O – H) були визначені з порівняння розрахункових частот коливань з експериментальними коливальними спектрами H_2O_2 . На основі аналізу розрахункових структур систем пероксиду водню з молекулами води визначено потенціали ван дер Ваальсових та кулонівських незв'язаних взаємодій. Розроблена чотириточкова адитивна модель для молекули H_2O_2 відтворює експериментальні властивості систем пероксид водню-вода, що розраховані спільно з моделлю води TIP3P. В нашому дослідженні були використані пара-

метри молекули пероксиду водню, що взяті з роботи [336]. Значення параметрів для моделі H_2O_2 показані в Таблиці 6.1.

Комп'ютерне моделювання було виконано з використанням програмного пакету NAMD [167]. Довжини всіх зв'язків з атомами водню були обмежені за допомогою алгоритму SHAKE [300]. Електростатичні взаємодії на великих відстанях розраховувалися з використанням методу Евальда із сіткою частинок (*particle meshed Ewald*, PME) [291]. Відстані вимикання та обрізання для далекодіючих взаємодій були 8 Å та 10 Å відповідно. Крок інтегрування – 2 фс. Температура підтримувалася на рівні 300 К за допомогою термостата Ланжевена для всіх важких атомів (коефіцієнт тертя 5 ps^{-1}). Сталі для часу коливань та часу загасання для поршня Ланжевена прийняті рівними 100 фс та 50 фс відповідно. Тиск становив 101325 Па. Моделювання з постійним тиском та температурою (ансамбль NPT) було виконано для випадку систем з гнучкою елементарною коміркою (налаштування в NAMD *flexible cell*), що допускає коливання об'єму системи. Після кількох наносекунд моделювання в ансамблі NPT моделювання було переключено на режим постійного об'єму та температури (ансамбль NVT). На виробничій стадії симуляції системи моделювалися в ансамблі NVT з кроком за часом 2 фс. Протокол моделювання описаний у Додатку Д (Таблиця Д2).

Для перевірки збіжності отриманих траєкторій моделювання було проведено детальний аналіз середньоквадратичних відхилень (RMSD). Розрахунки для атомів ДНК показали, що залежності RMSD виходять на плато на самому початку траєкторії (Додаток Д, Рис. Д1). Аналіз карт об'ємної густини (VDM) показав, що у випадку систем DNA35, DNA03 і DNA0 присутність ДНК суттєво впливає на розподіл густини підсистем розчину (Додаток Д, Рис. Д2, Д3, Д4).

Аналіз отриманих траєкторій симуляції проводився з використанням програмного пакету VMD [101]. Розподіли густини води, пероксиду водню та протийонів досить добре відтворюються після перших 100 нс траєкторії моделювання. У випадку систем без ДНК (WP35 та WP03) густина компонент розчину характеризується рівномірним розподілом, починаючи з першого часового інтервалу 1–100 нс (Додаток Д, Рис. Д5, Д6). Таким чином, порівняння отриманих

карт об'ємної густини показало, що часового інтервалу в 100 нс достатньо для досягнення достатньої однорідності систем. Тому в представленій роботі часовий інтервал від 0 до 100 нс траєкторії моделювання був відкинутий як період часу, необхідний для врівноваження системи, і наступна частина траєкторії моделювання була використана для аналізу.

Таблиця 6.1. Параметри моделі молекули пероксиду водню [336]

<u>Хімічні зв'язки</u>	K_b (ккал/моль $\text{\AA}^2$)	b_0 (Å)	
O-O	285,500	1,442	
O-H	521,000	0,963	
<u>Валентні кути</u>	K_b (ккал/моль рад ^{2})	θ_0 (°)	
H-O-O	60,400	99,92	
<u>Торсійні кути</u>	K_b (ккал/моль)	n	δ (°)
H-O-O-H	2,02	2	0,00
<u>Далекосяжні взаємодії</u>	ε_{ij} (ккал/моль)	$R_{ij}^{\min} / 2$ (Å)	q (e)
O	-0,20384	1,67423	-0,41
H	-0,046000	0,224500	0,41

6.2. Структура сольватної оболонки фосфатних груп остова подвійної спіралі ДНК у водному розчині пероксиду водню та іонів натрію

6.2.1. Розрахунок радіальних функцій розподілу для змодельованих систем. Структура комплексів протийонів, молекул води та молекул пероксиду водню з фосфатними групами остова ДНК вивчалися за допомогою радіальних функцій розподілу (RDF). Ці функції були розраховані за допомогою модуля [302] програмного пакету VMD [101]. Нагадаємо формулу, за якою здійснювався розрахунок радіальних функцій розподілу [302]:

$$g(r) = \frac{p(r)}{4\pi r^2 \Delta r N_p / V}, \quad (6.2)$$

де $p(r)$ – середня кількість пар атомів, що знаходяться на відстані в межах шару $(r, r + \Delta r)$, N_p – кількість пар обраних атомів для в яких будуються радіальні функції розподілу, V – повний об’єм системи, Δr – товщина сферичного шару, яка в наших розрахунках взята рівною $0,1\text{\AA}$. Як випливає з рівняння (6.2), RDF визначає відношення значення локальної концентрації частинок у сферичному шарі радіусом r до середньої концентрації частинок у системі. Кількість частинок, що знаходяться в сферичному шарі між радіусами r_1 і r_2 визначається прямим інтегруванням функції $g(r)$ [302]:

$$n_{12} = \int_{r_1}^{r_2} \rho r^2 g(r) dr, \quad (6.3)$$

$\rho = N_p / V$ – густина пар атомів у системі. Число частинок, локалізованих у максимумі RDF, називається координаційним числом. Координаційне число було обчислено шляхом інтегрування піку функції радіального розподілу від одного мінімуму до іншого. Радіальні функції розподілу розраховувалися відносно атомів кисню O_1 і O_2 фосфатних груп для атомів кисню молекул пероксиду водню (RDF_{PER}^{O1} та RDF_{PER}^{O2}), атомів кисню молекул води (RDF_W^{O1} та RDF_W^{O2}) та протийонів Na^+ (RDF_{Ion}^{O1} та RDF_{Ion}^{O2}). RDF були розраховувалися для різних часових інтервалів траєкторії моделювання. У випадку системи DNA35, яка має 3 траєкторії моделювання, а саме траєкторія 1 довжиною 200 нс, траєкторія 2 довжиною 200 нс і траєкторія 3 довжиною 500 нс, середні RDF були отримані шляхом усереднення кожного часового інтервалу в 100 нс, починаючи з 101 нс (всього 6 інтервалів по 100 нс з усіх траєкторій). Для інших систем RDF розраховувалися на часовому інтервалі 101-200 нс. Усі радіальні функції розподілу, що були розраховані для систем, що містять макромолекули ДНК (ДНК0, ДНК03 та ДНК35), показані у Додатку Д (розділ Д3). Кожен з атомів кисню фосфатної групи PO_4^- (O_1 та O_2) пов’язаний одним хімічним зв’язком з атомом фосфору. Атом O_2 спрямований у бік головного жолоба подвійної спіралі, а атом O_1 спрямований назовні від макромолекули (Рис. 6.3). В результаті ці атоми фо-

сфатної групи остова ДНК доступні для молекул та іонів розчину різною мірою, що спостерігається за формою отриманих RDF.

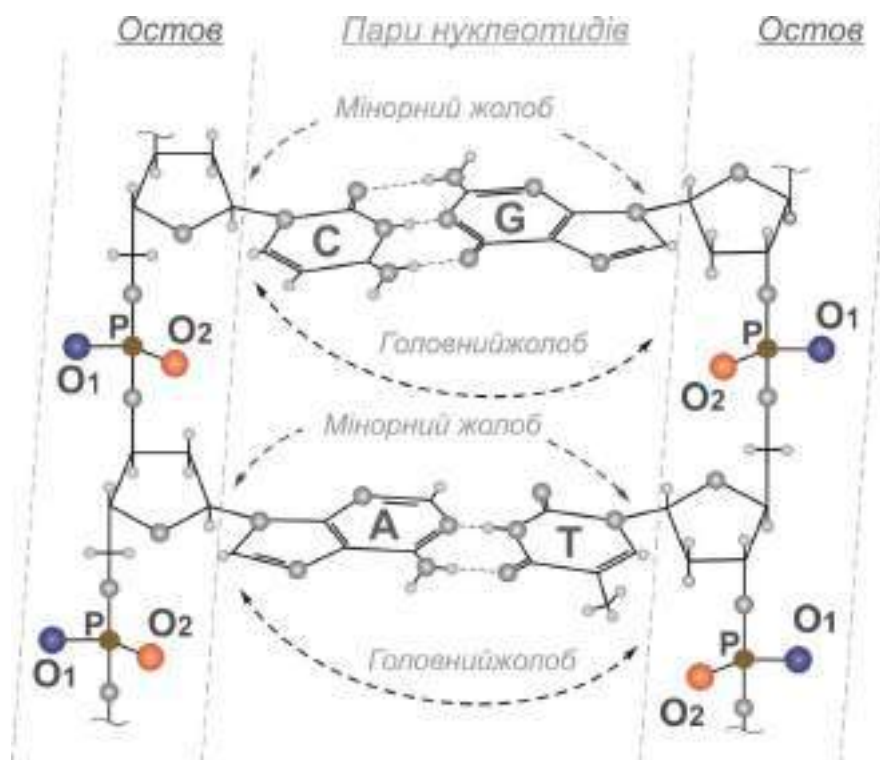


Рис. 6.3. Схематичне зображення макромолекули ДНК. Показано Уотсон-Кріківські пари нуклеотидів, міnorний та головний жолоби подвійної спіралі, ланцюги цукрово-фосфатного остова. Атоми кисню O_1 та O_2 фосфатної групи остова ДНК показані збільшеними темносиніми та червоними сферами відповідно. Рисунок з роботи дисертанта [74].

6.2.2. Радіальні функції розподілу для пероксиду водню. Усереднені за усіма фосфатними групами остова ДНК радіальні функції розподілу для атомів кисню молекул пероксиду водню (RDF_{PER}^{O1} та RDF_{PER}^{O2}) у випадки системи з високою концентрацією H_2O_2 (DNA35) показано на Рис. 6.4., а RDF для різних часових інтервалів траєкторії моделювання однієї і тієї ж системи показано в Додатку Д (Рис. Д7). RDF_{PER}^{O1} та RDF_{PER}^{O2} для випадку системи з меншою концентрацією пероксиду водню (система DNA03) мають якісно таку ж структуру, як і у випадку системи DNA35 (Рис. 6.5).

Радіальні функції розподілу характеризуються піками, що виникають через більш високу локальну концентрацію частинок в області піку в порівнянні з їх середньою концентрацією в системі.

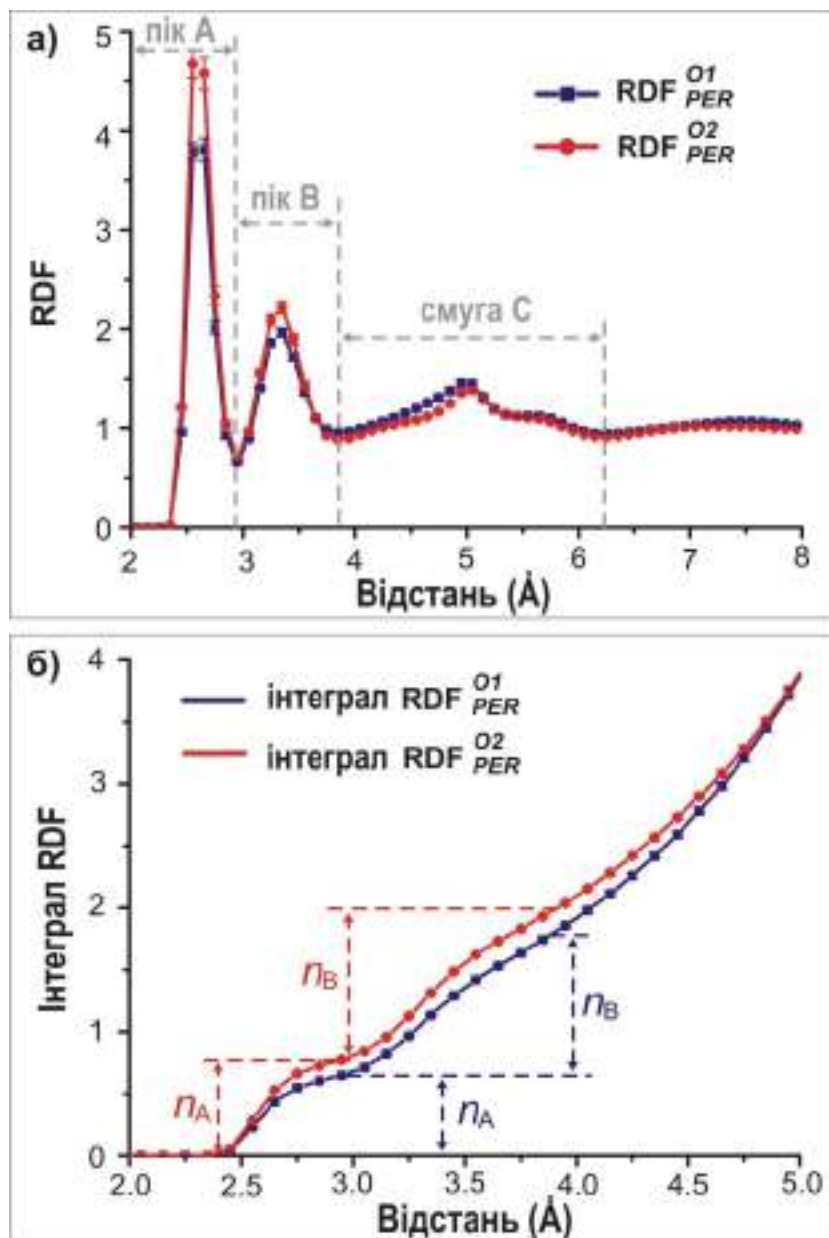


Рис. 6.4. Середні радіальні функції розподілу та їх інтеграли для атомів кисню молекул пероксиду водню для системи DNA35 (3,5 моль/л H_2O_2). RDF усереднені за усіма фосфатними групами остова ДНК. Похибки з'явилися в результаті усереднення RDF за всіма часовими інтервалами, які показані у Додатку Д (Рис. Д7). а) RDF_{PER}^{O1} та RDF_{PER}^{O2} для атомів кисню H_2O_2 відносно атомів O_1 та O_2 фосфатної групи відповідно. Точки на RDF для кожного кроку відстані ($\Delta r = 0,1 \text{ \AA}$) показані червоними кружками (RDF_{PER}^{O1}) та синіми квадратами (RDF_{PER}^{O2}). в) Інтеграли від RDF_{PER}^{O1} та RDF_{PER}^{O2} . Пунктирні стрілки вказують координаційні числа n_A і n_B , що відповідають піку А та піку В відповідно. Рисунок з роботи дисертанта [74].

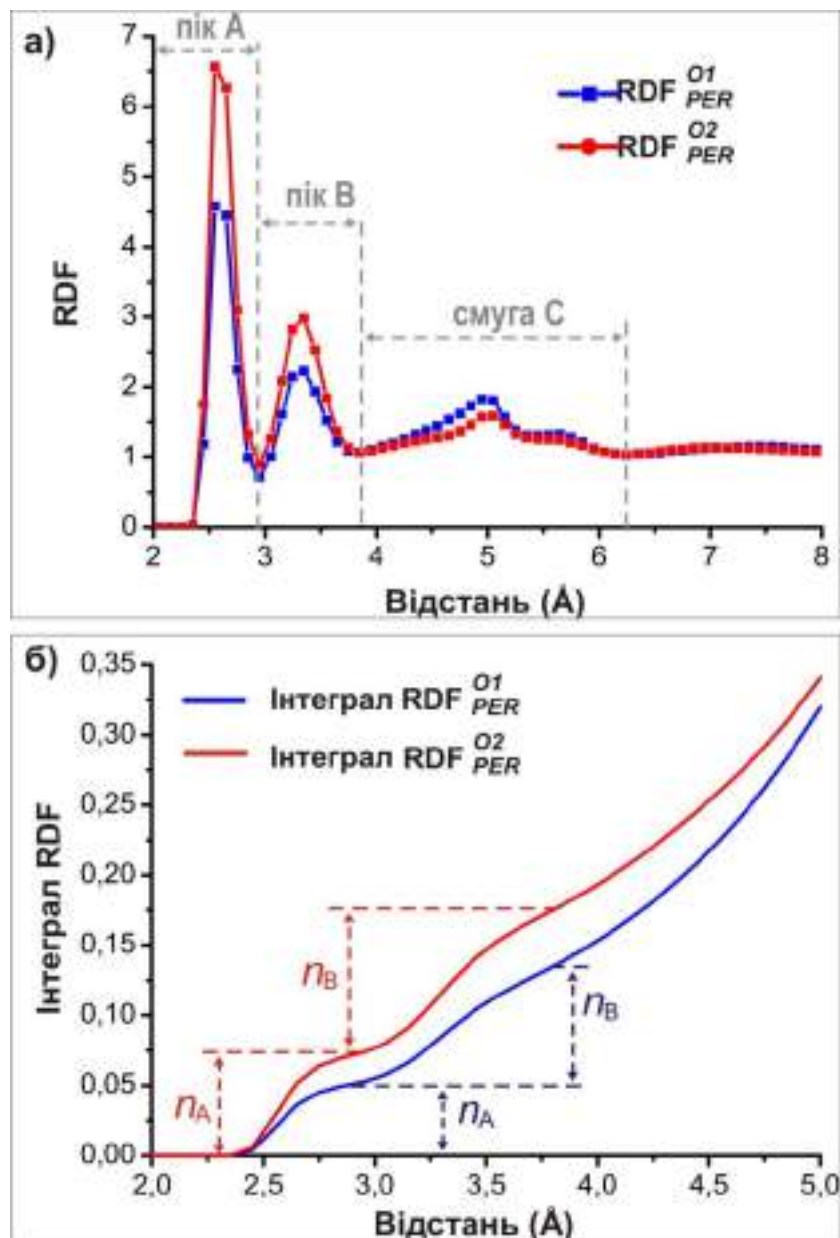


Рис. 6.5. Радіальні функції розподілу та їхні інтеграли для атомів кисню молекул пероксиду водню відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп остова подвійної спіралі ДНК для системи DNA03 (0,3 моль/л H_2O_2). а) Радіальні функції розподілу атомів кисню молекул пероксиду водню відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп остова подвійної спіралі ДНК (RDF_{PER}^{O1} , RDF_{PER}^{O2}). б) Інтеграли радіальних функцій розподілу атомів кисню молекул пероксиду водню відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп остова подвійної спіралі ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [74].

Перший пік (пік А) і другий пік (пік В) $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1}}$ та $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2}}$ локалізуються на відстані близько 2,6 Å та 3,3 Å відповідно (Рис. 6.4а та 6.5а). Пік А приблизно вдвічі вищий, ніж пік В. Інтенсивність піків RDF визначається відносним збільшенням локальної концентрації атомів кисню молекул H_2O_2 порівняно із середньою концентрацією в системі. Широка смуга С від 4 Å до 6 Å з центром біля 5 Å, має порівняно слабку інтенсивність.

Інтеграли $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1}}$ та $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2}}$ для піку А (координаційне число n_A), що характеризують кількість частинок поблизу атомів O_1 та O_2 фосфатної групи, мають значення $n_A \approx 0,65$ та $n_A \approx 0,75$ відповідно. У випадку піку В значення інтегралів (координаційні числа n_B) рівні $n_B \approx 1,10$ і $n_B \approx 1,20$ для атомів O_1 та O_2 фосфатної групи відповідно (Рис. 6.3б та 6.4б). Середня кількість атомів кисню в молекулах пероксиду водню на відстані $< 3\text{Å}$ до атома кисню фосфатної групи приблизно удвічі менше кількості атомів кисню, локалізованих в інтервалі від 3 Å до 4 Å. Можна зробити висновок, що пік А виникає за рахунок атомів кисню молекули H_2O_2 , що пов'язані Н-зв'язком з атомом кисню фосфатної групи, а пік В виникає за рахунок внеску другого атома кисню тієї ж молекули пероксиду водню, а також за рахунок внеску від атомів кисню інших молекул пероксиду водню, локалізованих в області цього піку. Походження широкої смуги С RDF пов'язане з атомами кисню молекул пероксиду водню, які локалізовані переважно поблизу сусідніх фосфатних груп.

6.2.3. Радіальні функції розподілу для молекул води. Для характеристики розподілу молекул води навколо кисню фосфатних груп ДНК побудовано радіальні функції розподілу атомів кисню молекул води відносно атомів O_1 та O_2 фосфатних груп ДНК. Усереднені радіальні функції розподілу для атомів кисню молекул води відносно фосфатних груп остова ДНК (RDF_w^{O1} та RDF_w^{O2}) у випадку системи з високою концентрацією H_2O_2 (система DNA35) показані на Рисунку 6.6, а RDF для різних часових інтервалів траєкторії моделювання однієї і тієї ж системи показані в Додатку Д (Рис. Д8).

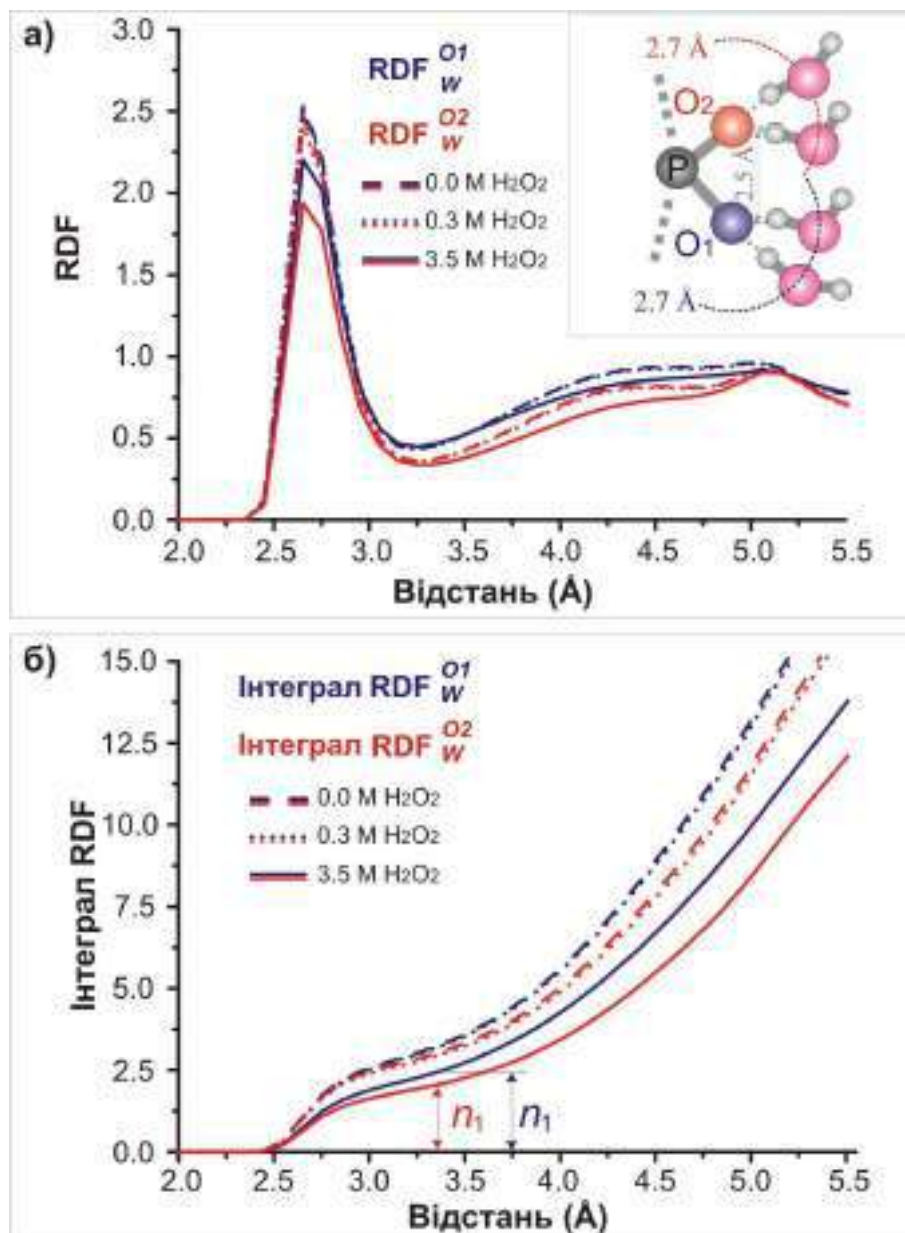


Рис. 6.6. Радіальні функції розподілу RDF_W^{O1} та RDF_W^{O2} та їх інтеграли для атомів кисню молекул води відносно атомів O₁ та O₂ фосфатних груп остова ДНК. Суцільні, пунктирні та штрих-пунктирні лінії показують результати для системи DNA35 (3,5 моль/л H₂O₂), DNA03 (0,3 М H₂O₂) та DNA0 (0 моль/л H₂O₂) відповідно. а) Радіальні функції розподілу RDF_W^{O1} та RDF_W^{O2} . На вставках схема показана будова комплексів H₂O з фосфатними групами ДНК. Синіми та червоними пунктирними напівкружками позначено відстані, які характерні для піків RDF_W^{O1} та RDF_W^{O2} відповідно. б) Інтеграли радіальних функцій розподілу RDF_W^{O1} та RDF_W^{O2} . Координаційні числа n_1 показані стрілками. Рисунок з роботи дисертанта [74].

RDF_W^{O1} та RDF_W^{O2} для систем з нижчою концентрацією пероксиду водню (система DNA03) та без пероксиду водню (система DNA0) якісно мають таку ж саму структуру, що і у випадку системи DNA35 (Рис. Д10 та Д12а). RDF_W^{O1} та RDF_W^{O2} мають інтенсивний пік на відстані 2,7 Å, що відповідає довжині водневого зв'язку між молекулою води та атомом кисню фосфатної групи. Широка смуга від 3,5 до 5,5 Å відноситься до другої гідратної оболонки групи PO_4^- (Рис. 6.6а).

Інтеграли RDF показують, що перше координаційне число, що характеризує кількість молекул води навколо атома кисню фосфатної групи, знаходиться в межах $n_1 = 2 - 2,3$ (Рис. 6.6б). Атом O_1 має дещо більше координаційне число, ніж атом O_2 , що обумовлено різною орієнтацією цих атомів кисню в структурі подвійної спіралі ДНК: O_1 направлено у бік об'єму розчину, а O_2 направлено у бік головного жолоба (Рис. 6.3). Таким чином, в середньому близько двох молекул води пов'язані водневими зв'язками з кожним атомом кисню фосфатної групи (див. схеми на вставці Рис. 6.6а).

6.2.4. Радіальні функції розподілу для протийонів. Радіальні функції розподілу протийонів Na^+ відносно атомів кисню фосфатних груп O_1 (RDF_{Ion}^{O1}) та O_2 (RDF_{Ion}^{O2}) для всіх змодельованих систем з ДНК показані у Додатку Д (Рис. Д9, Д11 та Д12б). Форма RDF для протийонів якісно однакова для всіх систем. Для випадку системи з високою концентрацією пероксиду водню (система DNA35) середні RDF показані на Рис. 6.7. Отримані RDF характеризуються двома піками (Рис. 6.7а). Перший пік на відстані 2,25 Å відповідає прямому контакту іонів з атомом кисню групи PO_4^- . Ця відстань приблизно на 0,1 Å менша, ніж сума радіусів Полінга для іона Na^+ та атома кисню [204], що обумовлено електростатичним притяганням. Na^+ зазвичай зв'язується з одним із двох атомів кисню фосфатної групи (O_1 та O_2), що пов'язано зі структуроутворюючим характером гідратації даного протийону [32,33]. Другий пік на відстані близько 4,6 Å відноситься до протийонів, які утворюють опосередковані водою контакти з атомами кисню груп PO_4^- . Комплекси протийонів Na^+ з фосфатною групою показані на вставці Рис. 6.7а.

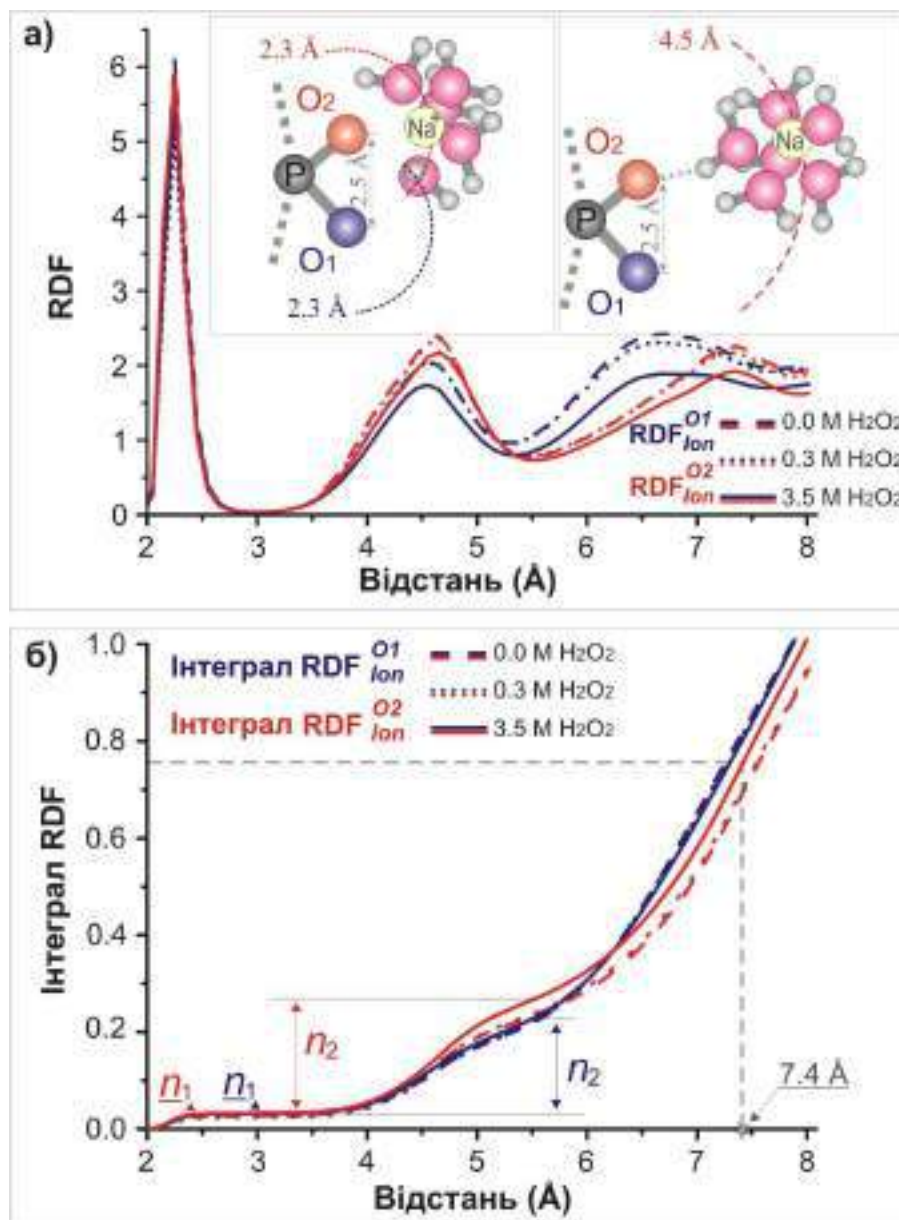


Рис. 6.7. Радіальні функції розподілу $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O1}}$ та $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O2}}$ та їх інтеграли для протийонів Na^+ відносно атомів O_1 та O_2 фосфатних груп остова ДНК. Суцільні, пунктирні та точкові лінії показують результати для системи DNA35 (3,5 моль/л H_2O_2), DNA03 (0,3 моль/л H_2O_2) та DNA0 (0 моль/л H_2O_2) відповідно. а) Радіальні функції розподілу $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O1}}$ та $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O2}}$. На вставках показана схема будови комплексів Na^+ з фосфатними групами ДНК: прямі контакти (ліворуч) та опосередковані водою контакти (праворуч). Синім та червоним пунктиром кружками позначені відстані до піків $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O1}}$ та $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O2}}$ відповідно. б) Інтеграли радіальних функцій розподілу $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O1}}$ та $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O2}}$. Показано координаційні числа n_1 та n_2 . Відстань 7,4 Å, де інтеграл RDF дає середнє координаційне число близько 0,76, позначено зірочкою. Рисунок з роботи дисертанта [74].

Інтеграли від $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O1}}$ та $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O2}}$ показують, що середня кількість протийонів на відстані першого піку (координація число n_1) становлять близько 0,03 для атомів O_1 та O_2 фосфатної групи (Рис. 6.7б). Такі значення координаційних чисел вказують на те, що як атоми O_1 , так і O_2 фосфатної групи однаково доступні для прямого контакту з іонами Na^+ . Інтеграли для другого піку (координаційне число n_2) рівні 0,17 та 0,22 для атомів O_1 та O_2 фосфатної групи відповідно. Отримане співвідношення координаційних чисел, $n_2 > n_1$, показує, що опосередкований водою контакт протийонів Na^+ з фосфатними групами є більш частим. Це обумовлений структуруючим характером гідратації іонів Na^+ [32,136]. На відстані 7,4 Å інтеграл від RDF дає середнє координаційного числа близько 0,76 (Рис. 6.7б). Це добре узгоджується з теорією конденсації протийонів [15], що передбачає таку кількість конденсованих протийонів на одну фосфатну групу у випадку В-форми подвійної спіралі ДНК.

6.2.5. Сольватна оболонка іонів Na^+ в розчині. Для порівняння структури сольватної оболонки фосфатної групи проаналізовано структуру об'ємного розчину. Побудовано радіальні функції розподілу компонентів розчину: молекул води та пероксиду водню, іонів Na^+ (Рис. 6.8). На моментальному знімку показано типову конфігурацію молекул води в гідратній оболонці іонів натрію. Така структура цілком відповідає тій, що була одержана в детальному дослідженні гідратації протийонів ДНК в попередньому розділі.

Радіальні функції розподілу для молекул води (Рис. 6.8а) показують, що в гідратній оболонці іону в середньому близько 5 атомів кисню молекул води. З іншого боку, радіальні функції розподілу для молекул пероксиду водню (Рис. 6.8б) показують, що в гідратній оболонці протийону Na^+ в середньому знаходиться 1 атом кисню молекули пероксиду. Таким чином, гідратна оболонка протийону Na^+ у водному розчині пероксиду водню складається з 6 атомів кисню, що узгоджується з дослідженнями гідратації протийонів, описаними у попередньому розділі.

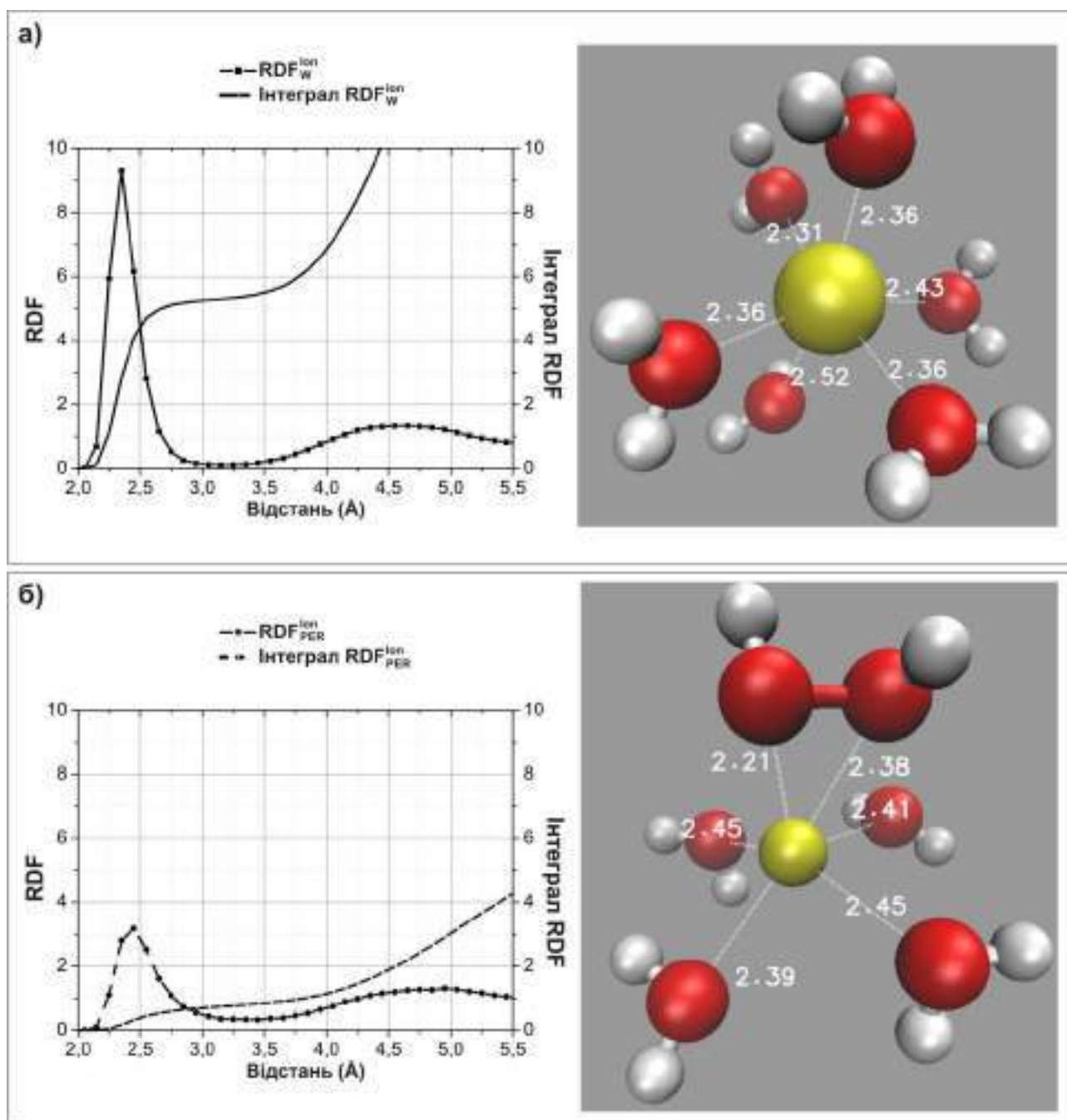


Рис. 6.8. Радіальні функції розподілу $\text{RDF}_{\text{ion}}^{\text{W}}$ та $\text{RDF}_{\text{ion}}^{\text{PER}}$ (вісь зліва) та їх інтеграли (вісь справа) для атомів кисню молекул води (а) та пероксиду водню (б) відносно протийонів Na^+ у випадку системи DNA35 (3,5 моль/л H_2O_2) На вставці справа показані моментальні знімки іону Na^+ гідратованого молекулами води та пероксиду водню. Наведено відстані між атомами О і Na^+ в ангстремах.

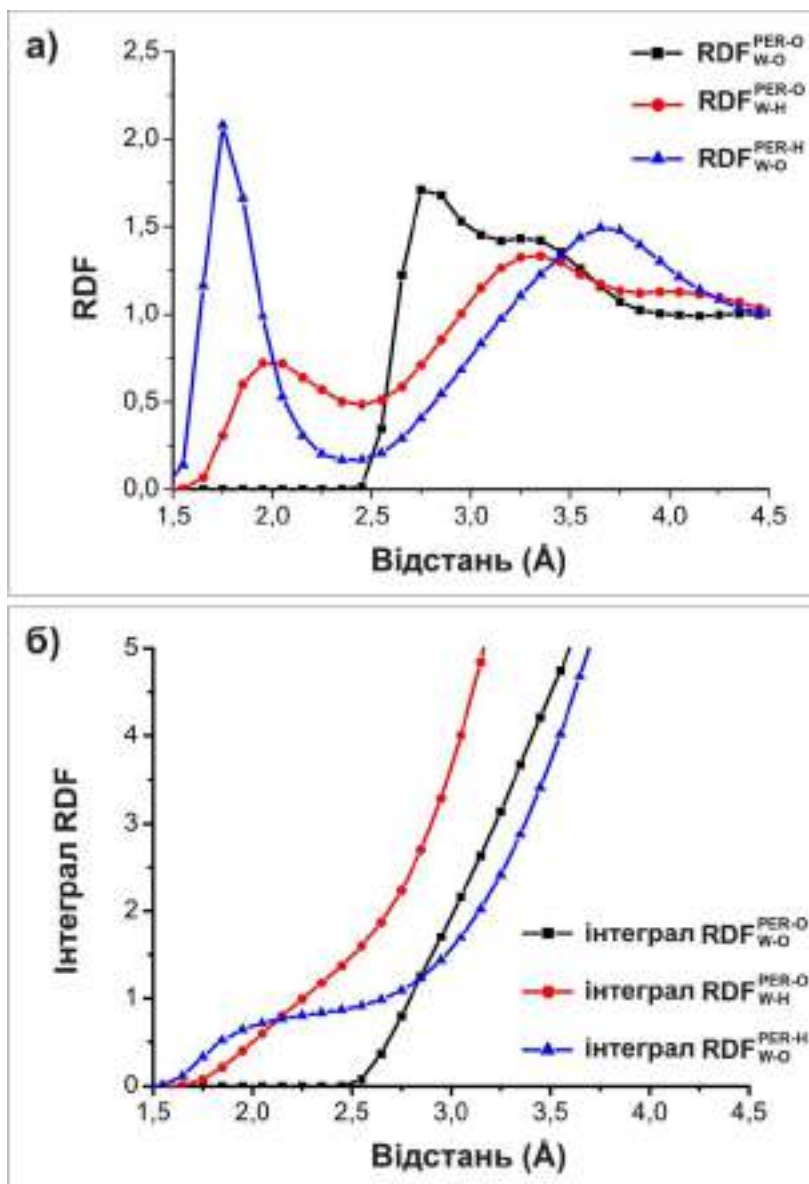


Рис. 6.9. Радіальні функції розподілу та їх інтеграли для молекул води відносно молекули пероксиду водню: атоми кисню молекул води відносно атомів кисню пероксиду водню ($\text{RDF}_{\text{PER-H}}^{\text{W-O}}$), атоми водню молекул води відносно до атомів кисню молекул пероксиду водню ($\text{RDF}_{\text{PER-O}}^{\text{W-H}}$), атоми кисню молекул води відносно до атомів водню молекул пероксиду водню ($\text{RDF}_{\text{W-O}}^{\text{PER-H}}$).

Водночас, слід зазначити, що структура радіальної функції розподілу для пероксиду водню $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{PER}}$ (Рис. 6.8а) якісно відрізняється від тієї, що була одержана для випадку $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}1}$ $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}2}$ (Рис. 6.4). Ця різниця полягає в тому, що в $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{PER}}$ є лише один пік на відстані 2,3Å, а пік на відстані 3,3Å відсутній. Відсутність другого піку вказує на те, що обидва атоми кисню молекули H_2O_2 формують прямий контакт з протийоном Na^+ .

Таким чином, молекула пероксиду водню в гідратній оболонці протийону Na^+ дотикається до іону обома атомами кисню. Беручи до уваги те, що в гідратній оболонці Na^+ може бути 6 атомів кисню, можна зробити висновок, що пероксидований іон Na^+ містить 4 молекули води і 1 молекулу H_2O_2 . Конкретно у випадку системи DNA35, для якої встановлено, що гідратна оболонка іону Na^+ містить 5 атомів кисню молекул води і 1 атом кисню молекули пероксиду водню, можна стверджувати, що в середньому половина з усіх протийонів містить в своїй гідратній оболонці 1 молекулу пероксиду водню.

Взаємодія пероксиду водню з молекулами води описується радіальними функціями розподілу ($\text{RDF}_{\text{W-O}^{\text{PER-O}}}$, $\text{RDF}_{\text{PER-O}^{\text{W-H}}}$ і $\text{RDF}_{\text{PER-H}^{\text{W-O}}}$) атомів молекул води відносно атомів молекули H_2O_2 (Рис. 6.9). Значення інтегралів наведених радіальних функцій розподілу на відстані, що відповідає мінімуму $\text{RDF}_{\text{W-O}^{\text{PER-O}}}$ (координаційне число) дорівнює 2. Координаційне число в даному випадку вказує на те, що кожен атом кисню молекули пероксиду водню бере участь у двох Н-зв'язках з молекулами води. В одному Н-зв'язку він є донором протона, а в іншому – акцептором протону. Положення перших піків в радіальних функціях $\text{RDF}_{\text{PER-O}^{\text{W-H}}}$ і $\text{RDF}_{\text{PER-H}^{\text{W-O}}}$ відрізняється: у випадку $\text{RDF}_{\text{PER-H}^{\text{W-O}}}$ максимум біля 1,8 Å, а у випадку $\text{RDF}_{\text{PER-O}^{\text{W-H}}}$ – біля 2 Å. Така структура радіальних функцій розподілу вказує на те, що Н-зв'язок, де атом кисню пероксиду водню є донором протону, коротший, ніж в тому, де він є акцептором.

6.3. Комплекси молекул пероксиду водню з фосфатними групами остова подвійної спіралі ДНК

Отримані функції радіального розподілу пероксиду водню, молекул води та протийонів Na^+ відносно фосфатних груп остов подвійної спіралі є результатом фізичних особливостей сольватної оболонки фосфатної групи. Положення піків RDF вказують на найімовірнішу локалізацію атомів, а значення інтегралів вказують на середню кількість частинок в областях піків. Аналізуючи структурну

форму RDF, можна визначити структуру комплексів молекули H_2O_2 з фосфатною групою ДНК. Таким чином, з урахуванням отриманих радіальних функцій розподілу ($\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1}}$ та $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2}}$, Рис. 6.4) були побудовані структури комплексів молекули H_2O та молекули H_2O_2 з фосфатною групою ДНК (Рис. 6.10).

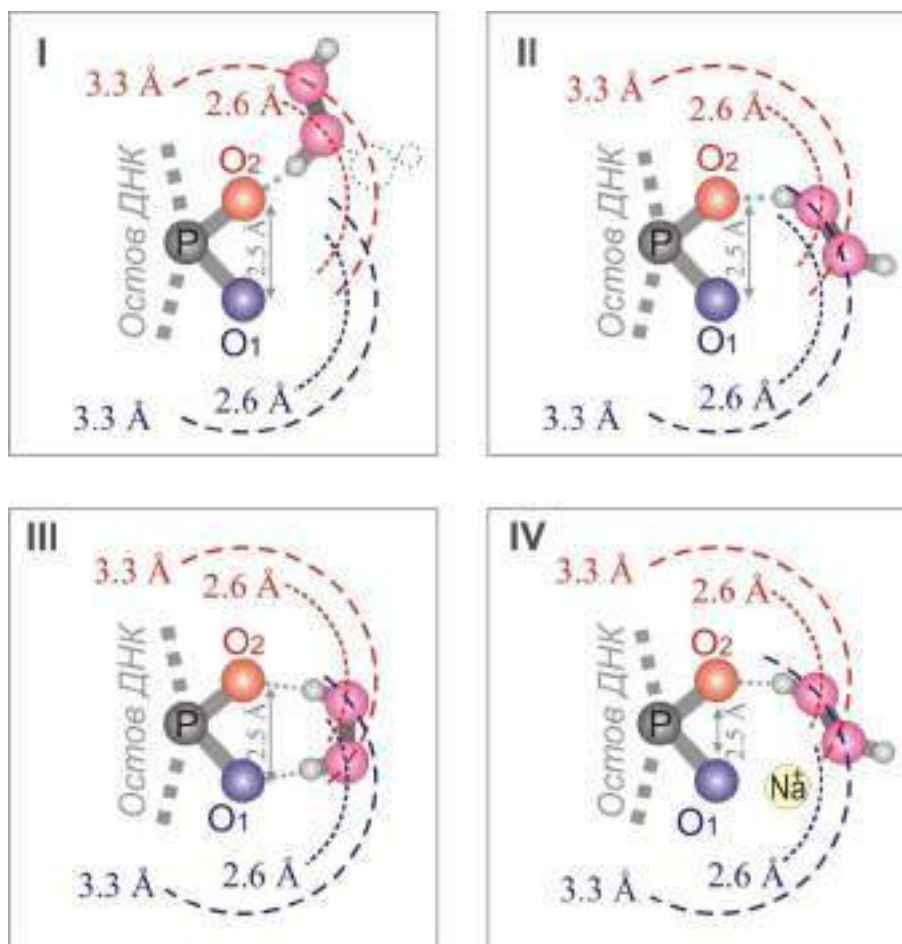


Рис. 6.10. Структурні схеми комплексів H_2O_2 з фосфатними групами остова подвійної спіралі ДНК. Короткими та штрихпунктирними лініями відзначені відстані до піку А та піку В функцій радіального розподілу $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1}}$ та $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2}}$ на Рис. 6.4а. Молекули води не показані для ясності викладу. Рисунок з роботи дисертанта [74].

У комплексі I молекула пероксиду водню зв'язана з одним з атомів фосфатної групи (O_1 або O_2) остова ДНК за допомогою одного Н-зв'язку. У цьому випадку один атом кисню молекули H_2O_2 зв'язаний з фосфатною групою, що спричиняє появу піку А RDF, а інший атом кисню H_2O_2 – спрямований назовні

від фосфатної групи, сприяючи появу піку В RDF. Комплекс II подібний до Комплексу I з тією різницею, що другий атом кисню молекули H_2O_2 робить внесок у пік А та пік В різних RDF ($\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}1}$ та $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}2}$). У Комплексі III молекула пероксиду водню зв'язана з групою PO_4^- за допомогою двох Н-зв'язків, які утворюються з атомами O_1 і O_2 . У Комплексі IV молекула пероксиду водню зв'язується з атомами O_1 або O_2 групи PO_4^- через один Н-зв'язок і за участі протийону Na^+ . При цьому протийон Na^+ безпосередньо контактує з одним з атомів кисню фосфатної групи та з одним атомом кисню молекули пероксиду водню. Порівняння RDF для молекул H_2O_2 (Рис. 6.4 і Рис. 6.5 і в Додатку Д, Рис. Д7) з RDF для молекул H_2O (Рис. 6.6 і в Додатку Д на Рис. Д10а і Д12а) показали, що в комплексах I і II молекула пероксиду водню замінює одну молекулу води з сольватної оболонки фосфатної групи, тоді як у комплексах III і IV кількість заміщеної молекули води становить дві або більше.

Аби зрозуміти, які з комплексів найбільш часто зустрічаються (є домінуючими), було проведено аналіз розподілу молекул пероксиду водню навколо фосфатних груп за допомогою радіальних функцій розподілу з накладеними умовами на положення окремих атомів. Зокрема, для перевірки комплексів II і III в розрахунках RDF була накладена така умова: до уваги враховувалися лише ті атоми кисню, які входять до складу молекули H_2O_2 , що має один із атомів кисню в межах 3 Å від нереперентного атома групи PO_4^- . Таким чином, було розраховано дві радіальні функції розподілу такого роду $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}1-\text{O}2}$ і $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}2-\text{O}1}$. Радіальна функція розподілу $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}1-\text{O}2}$ була побудована відносно атома O_1 групи PO_4^- (реперентний атом) лише для тих атомів кисню, які належать до молекули H_2O_2 , що мають один з двох атомів кисню, локалізованих в межах 3 Å від атома O_2 фосфатної групи (нереперентний атом). Радіальна функція розподілу $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}2-\text{O}1}$ побудована за схемою, подібною до $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}1-\text{O}2}$, але в цьому випадку атом O_2 було прийнято як реперентний атом, а O_1 як нереперентний.

Частоту появи комплексу IV було перевірено за допомогою радіальних функцій розподілу, які були обчислені з дотриманням умов, накладених на положення атомів кисню молекули H_2O_2 та іона Na^+ відносно O_4^- . Відповідно до

накладених умов при розрахунку радіальних функцій розподілу враховувалися тільки ті атоми кисню, які входять до структури молекул H_2O_2 , один з атомів кисню яких локалізований у межах $3 \text{ \AA}$ від протийона Na^+ , що в свою чергу пов'язаний з нереферентним атомом фосфатної групи. Протийон враховувався в аналізі, якщо його виявлено у межах $3 \text{ \AA}$ від атома кисню фосфатної групи. Таким чином, було обчислено дві такі радіальні функції розподілу: $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1-NaO2}}$ і $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2-NaO1}}$. Радіальна функція розподілу $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1-NaO2}}$ побудована відносно атому O_1 фосфатної групи тільки для тих атомів кисню молекул H_2O_2 , які мають один із двох атомів кисню, локалізованих в межах $3 \text{ \AA}$ від іона Na^+ , що приєднаний до нереферентного атома O_2 фосфатної групи PO_4^- . Схема побудови $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2-NaO1}}$ така сама, як і у випадку $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1-NaO2}}$, але O_2 атом був референтним атомом, а O_1 – нереферентним.

Отримані радіальні функції розподілу для системи з високою концентрацією пероксиду водню (система DNA35), усереднені за різними часовими інтервалами, показано на Рисунку 6.11, а RDF для кожного окремого інтервалу траєкторії моделювання тієї ж системи показані в Додатку Д (Рис. Д13, Д14). RDF для системи з нижчою концентрацією пероксиду водню (система DNA03) мають якісно такий самий характер, що і RDF для системи DNA35, і показані в Додатку Д (Рис. Д15, Д16). Через накладені обмеження об'єм локалізації виділених частинок набагато менший за об'єм системи (V). Це призводить до того, що середня концентрація системи, яка використовується при розрахунку радіальної функції розподілу, може змінюватися з часом. В результаті нормалізація радіальних функцій розподілу, яка знаходиться у знаменнику у формулі (6.2), відрізняється від нормування радіальної функції розподілу без накладання умов на положення атомів (звичайна радіальна функція розподілу). Тому порівнювати між собою отримані RDF із накладеними умовами можна лише якісно. У цьому відношенні радіальні функції розподілу без нормування (без знаменнику в формулі (6.2)) є достатньо інформативними і також використовувалися для аналізу появи комплексів (Додаток Д, Рис. Д14-Д16).

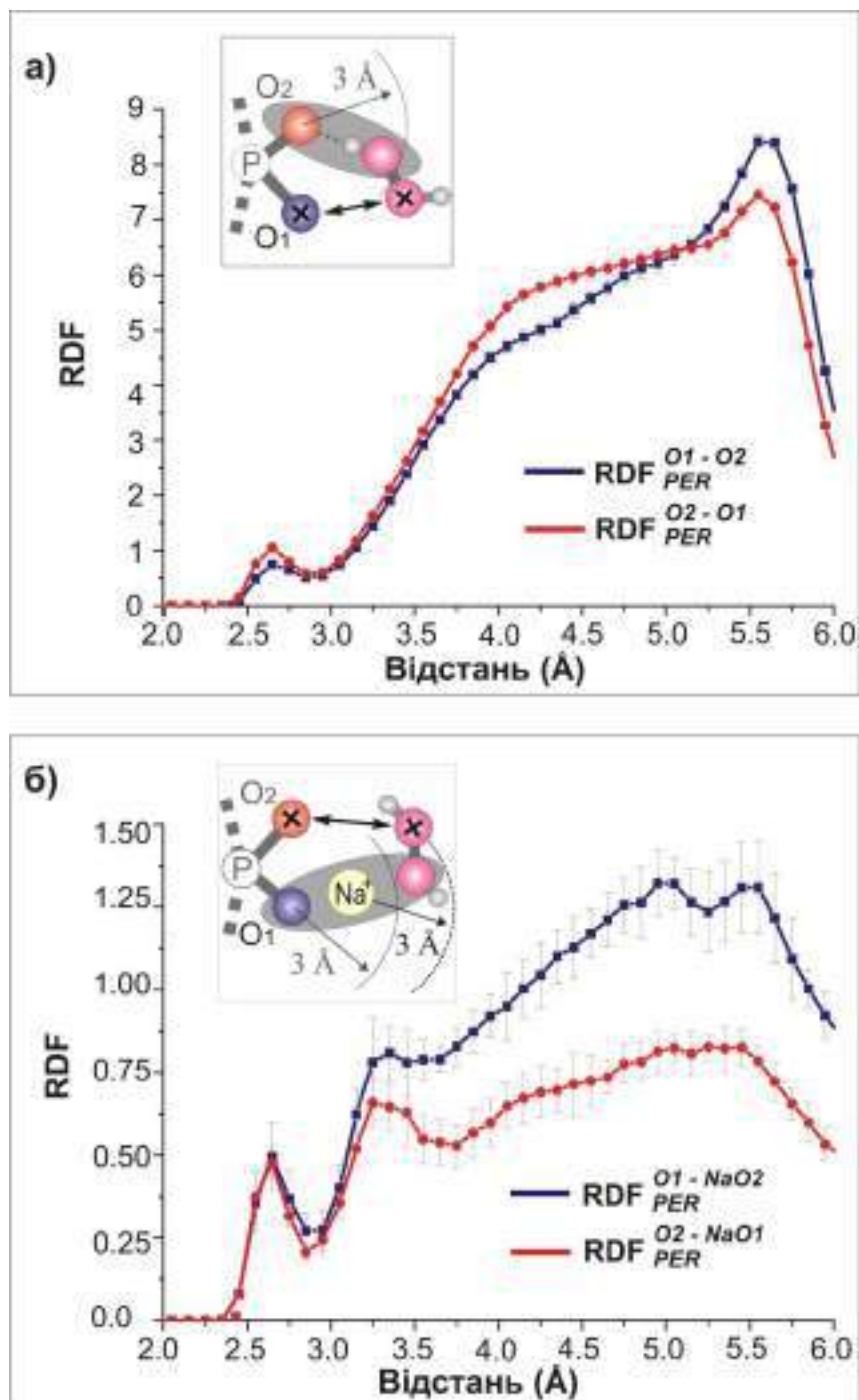


Рис. 6.11. Радіальні функції розподілу атомів кисню молекул H_2O_2 відносно референтних атомів фосфатних груп остова ДНК (O_1 або O_2) у випадку системи DNA35 (3,5 моль/л H_2O_2). а) RDF, які тестують формування комплексу III. б) RDF, які тестують формування комплексу IV. На вставках показані схеми, що описують побудову функцій RDF для тестування комплексів III та IV. На схемах: атоми, які повинні бути на певних відстанях, обведені сірими еліпсами, референтний атом і атом, для якого побудована конкретна RDF, позначені хрестиками. Рисунок з роботи дисертанта [74].

Результати розрахунків показали, що RDF, отримані для аналізу комплексів III та IV, мають один пік та одну широку смугу (Рис. 6.11). Пік знаходиться на відстані близько 2,6 Å, що відповідає прямому контакту атома кисню молекули пероксиду водню з фосфатною групою. Широка смуга з максимумом на відстані близько 5 Å виникає через атоми кисню молекул пероксиду водню, які задовольняють заданим умовам, але не утворюють прямого контакту з атомами кисню фосфатних груп. Спостереження піку у цій області доводить формування комплексів III та IV. Водночас середня кількість атомів кисню на відстані близько 2,6 Å досить низька: близько 0,03 та 0,003 для комплексів III та IV відповідно (пікові значення на відстані 2,6 Å ненормалізованих RDF на Рис. Д14, Д15 Додатку Д). Порівняння цих значень з координаційним числом n_A , отриманим для піку А середніх RDF для молекул пероксиду водню (Рис. 6.4а), показав, що у випадку комплексу III середня кількість атомів кисню на порядок нижче, ніж n_A (Рис. 6.11а), а у випадку комплексу IV ще менше (Рис. 6.11б). Беручи це до уваги, можна дійти висновку, що найпоширенішим комплексом є комплекс I. Комплекс II має досить схожу структуру з комплексом I і може розглядатися як його різновид. Комплекси III і IV зустрічаються рідко, але їх не можна нехтувати.

6.4. Можливе біологічне значення формування комплексів молекул пероксиду водню з фосфатними групами остова подвійної спіралі ДНК

Представлене молекулярно-динамічне дослідження системи подвійної спіралі ДНК у водному розчині з пероксидом водню та протийонами Na^+ показало, що молекули H_2O_2 беруть участь у формуванні сольватної оболонки фосфатної групи остова макромолекули. Аналіз структури комплексів, утворених компонентами розчину з фосфатною групою, показав, що найбільш ймовірними є чотири типи комплексів молекули H_2O_2 та групи PO_4^- (Рис. 6.10). Було показано, що комплекс, у якому молекула пероксиду водню пов'язана з одним з атомів кисню фосфатної групи (O_1 або O_2) одним Н-зв'язком (комплекс I) є доміную-

чим. Молекула пероксиду водню в комплексі такого типу може обертатися навколо Н-зв'язку і не має жодних обмежень для конформаційної зміни молекули. Водночас комплекси, в яких молекула H_2O_2 пов'язана з фосфатною групою двома Н-зв'язками (комплекс III) або Н-зв'язком і контактом, опосередкованим протийоном (комплекс IV), характеризуються фіксованими положеннями атомів кисню молекули пероксиду водню по відношенню до атомів кисню фосфатної групи. Такі комплекси рідко спостерігалися при моделюванні. Зважаючи на відносну рухливість молекули пероксиду водню в комплексах I та II, їх можна розглядати як "відкритий" стан, тоді як через обмежену рухливість молекули H_2O_2 у комплексах III та IV їх можна віднести до випадку "закритого" стану (Рис. 6.12).

Взаємодіючи з фосфатною групою остова ДНК у випадку комплексів з "відкритим" станом, молекула пероксиду водню замінює одну молекулу води, пов'язану з одним з атомів кисню фосфатної групи. У випадку комплексу III дві молекули H_2O витісняються з гідратної оболонки групи PO_4^- і замінюються однією молекулою H_2O_2 . Утворенню комплексу IV сприяє наявність протийонів Na^+ з гідратною оболонкою, де дві молекули H_2O замінюються однією молекулою H_2O_2 . Протийони з приєднаним пероксидом водню, конденсуючись на макромолекулі ДНК, доставляють молекули H_2O_2 до подвійної спіралі. Молекула пероксиду водню протийону поблизу ДНК може залишати гідратну оболонку іона або залишатися в ній, що дозволяє утворювати всі типи комплексів.

Вплив молекули H_2O_2 на біологічні механізми функціонування ДНК можна розглядати як багатостадійний процес з подальшим утворенням комплексів "відкритого" та "закритого" типу (Рис. 6.12). Молекула пероксиду водню з розчину зв'язується з одним з атомів кисню фосфатної групи (O_1 або O_2), утворюючи комплекс "відкритого" типу. Перебуваючи деякий час у цьому стані, молекула H_2O_2 може дисоціювати від фосфатної групи назад у розчин або перейти в "закритий" комплекс стану. В "закритому" стані комплексу атоми фосфатної групи подвійної спіралі ДНК недоступні для утворення Н-зв'язку з іншими молекула-

ми. Водночас, утворення двох водневих зв'язків з атомами ДНК необхідно для процесу нуклеїново-білкового розпізнавання [340,341], що робить його надзвичайно точним. Тому зв'язування молекул пероксиду водню з фосфатними групами остова подвійної спіралі може спричинити інгібування біологічного процесу.

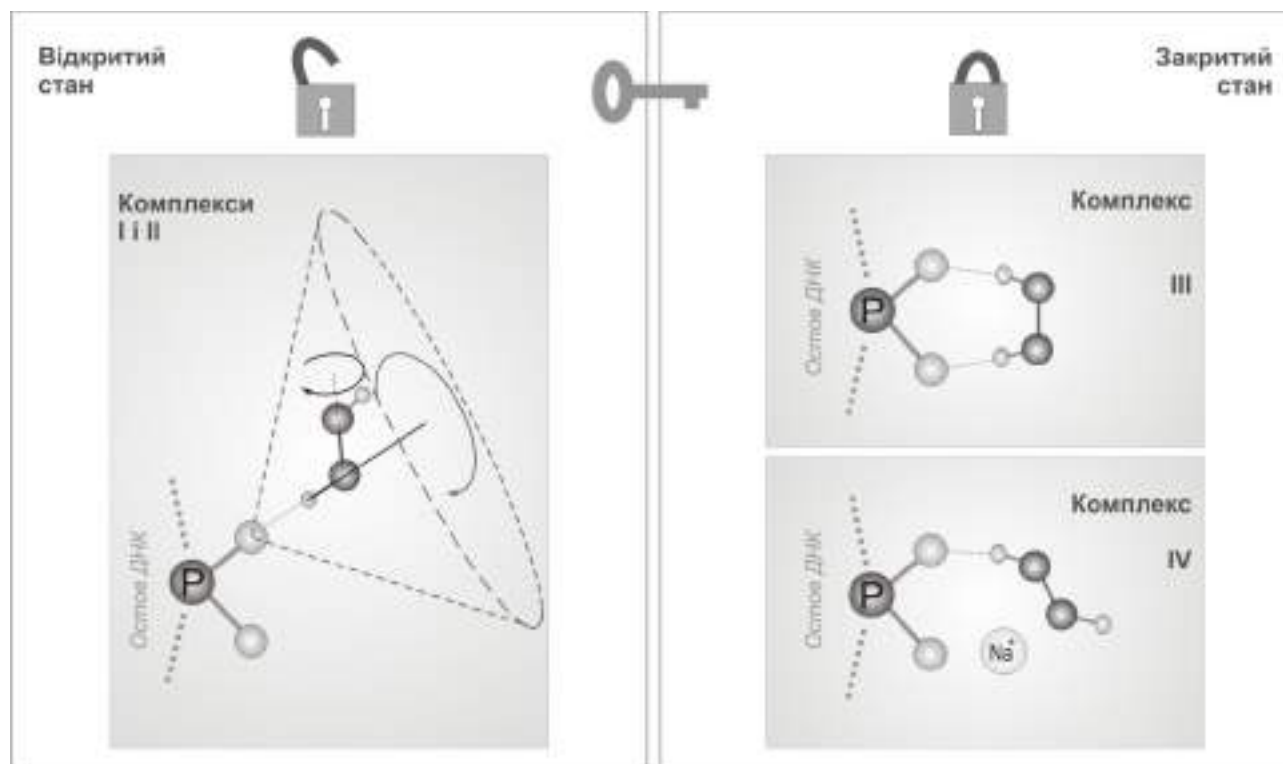


Рис. 6.12. Схеми формування комплексів відкритого і закритого типу.

Для з'ясування ймовірного впливу пероксиду водню на ДНК необхідно продовжити дослідження стабільності подвійної спіралі та комплексів H_2O_2 з фосфатними групами та іншими структурними елементами макромолекули. Очікується, що пероксид водню впливатиме на структуру ДНК, оскільки, як ми спостерігали в наших розрахунках, значення середньоквадратичних відхилень атомів у структурі ДНК збільшуються у випадку систем з H_2O_2 (Додаток Д, Рис. Д1с). Отже, рухливість різних структурних елементів подвійної спіралі може мати різну чутливість до взаємодії з пероксидом водню, що представляє особливий інтерес для подальших досліджень.

ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ

Проведено молекулярно-динамічне дослідження розподілу протийонів Na^+ навколо подвійної спіралі В-ДНК в присутності молекул пероксиду водню. Показано, що середня кількість протийонів, які є у безпосередньому контакті з атомами кисню O_1 та O_2 фосфатних груп остова ДНК є значно меншою, ніж тих, що формують опосередкований водою контакт. Це обумовлено структуруючим характером гідратації іонів Na^+ . На відстані 7,4 Å середнє значення координаційного числа для протийонів становить близько 0,76. Це добре узгоджується з теорією конденсації протийонів, що передбачає таку кількість конденсованих протийонів на одну фосфатну групу у випадку В-форми подвійної спіралі ДНК.

Молекула пероксиду водню в гідратній оболонці протийону Na^+ дотикається до іону обома атомами кисню. Беручи до уваги те, що в гідратній оболонці Na^+ може бути 6 атомів кисню, зроблено висновок про те, що за даної концентрації H_2O_2 пероксидований іон Na^+ в своїй першій координаційній сфері містить чотири молекули H_2O і одну молекулу H_2O_2 . У розчині кожен атом кисню молекули пероксиду водню бере участь у двох водневих зв'язках з молекулами води. В одному водневому зв'язку він є донором протона, а в іншому – акцептором. Водневий зв'язок, де атом кисню H_2O_2 є донором протону, коротший, ніж в тому, де він є акцептором.

Дослідження будови сольватної оболонки фосфатної групи ДНК показали, що молекули пероксиду водню зв'язуються з атомами кисню O_1 та O_2 фосфатних груп остова подвійної спіралі, витісняючи молекули води з гідратної оболонки. Аналіз можливих структур, які можуть бути утворені молекулою H_2O_2 у комплексі з фосфатною групою ДНК, показав, що найбільш ймовірними є чотири комплекси. Комплекси, в яких молекула пероксиду водню пов'язана з одним з атомів кисню фосфатної групи одним водневим зв'язком, є домінуючими, а комплекси, в яких молекула H_2O_2 пов'язана з фосфатною групою за допомо-

гою двох водневих зв'язків або за допомогою водневого зв'язку та контакту, опосередкованого протийоном, при моделюванні спостерігаються рідко.

Таким чином, протийони Na^+ у водному розчині ДНК з молекулами пероксиду водню формують прямі і опосередковані водою та пероксидом водню контакти з атомами подвійної спіралі. Суттєві зміни відбуваються в гідратації протийонів натрію, що впливає на формування прямих контактів з ДНК. В цілому, розподіл протийонів натрію навколо подвійної спіралі ДНК за присутності молекул пероксиду водню подібний до того, що в системі без молекул пероксиду водню. Протийони формують досить впорядковану систему за рахунок розташування в сайтах взаємодії вздовж макромолекули, що узгоджується з концепцією динамічної іон-фосфатної ґратки.

МОДЕЛЮВАННЯ ДИНАМІКИ ТА СТРУКТУРУВАННЯ ПОЛІКАТІОНІВ
ПРИРОДНИХ ПОЛІАМІНІВ НАВКОЛО ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК**7.1. Специфічність взаємодії природних поліамінів путресцину²⁺, спермідину³⁺ і сперміну⁴⁺ до різних нуклеотидних мотивів ДНК**

Представлене дослідження виконано в тісній співпраці з професором Йозефом Улічним (*Jozef Uličný*) з Університету ім. П.Й. Шафарика в Кошиці (Республіка Словаччина), професором Аатто Лааксоненом (*Aatto Laaksonen*) з Університету Стокгольму (Швеція) і професором Франческою Моччі (*Francesca Mossi*) з університету Кальярі (Сардинія, Італія). Усі етапи дослідження виконувалися спільно усіма авторами. Дисертант висловлює щирю вдячність своїм колегам. Розрахунки виконано на обчислювальному кластері CELIMKBF Університету ім. П.Й. Шафарика в Кошиці, обчислювальному кластері Шведського обчислювального центру (SNIC) та на локальній станції Університету Кальярі. За результатами дослідження опубліковано статтю в журналі *Nucleic Acids Research* (квартиль Q1) [75]. Результати роботи неодноразово доповідалися автором на наукових зібраннях різного рівня, зокрема на конференціях [76–78].

7.1.1. Дослідження розподілу природних поліамінів навколо подвійної спіралі ДНК. Розподіл поліамінів навколо подвійної спіралі ДНК ретельно досліджувався експериментально і теоретично [138,148,348–353,149,150,342–347]. Ранні експериментальні дослідження та моделювання методом молекулярної динаміки не виявили помітної специфічності до нуклеотидної послідовності ДНК [149,150,342–347]. Експериментальні спектри комбінаційного розсіювання світла показали, що взаємодія з негативно зарядженими фосфатними групами є найбільш інтенсивною, і передбачалося, що послідовність нуклеотидів відіграє лише другорядну роль в розпізнаванні ДНК [346]. Проте інші дослідження (експериментальні і комп'ютерні симуляції) виявили важливість нуклеотидної послідовності у взаємодії поліамінів з ДНК

[138,148,348–353]. Розрахунки енергії фрагмента ДНК із сперміном⁴⁺ з використанням методу атом-атомних потенційних функцій показали, що енергії комплексу у випадку послідовності нуклеотидів АТ є нижчими, порівняно з нуклеотидною послідовністю СГ [350].

Комбіноване дослідження за допомогою методу молекулярної динаміки та методу флуоресцентного резонансного переносу енергії (FRET) чітко показало, що у присутності сперміну⁴⁺ взаємодія між макромолекулами ДНК має залежний від послідовності пар нуклеотидів характер, і це притягання є більшим у випадку послідовності нуклеотидів АТ, порівняно з послідовністю СГ [349]. Ці результати також підтверджуються недавніми калориметричними експериментами, проведеними у присутності путресцину²⁺, спермідину³⁺ та сперміну⁴⁺ на макромолекулах ДНК різних організмів, що містять різну кількість пар нуклеотидів СГ [348]; дійсно, це дослідження виразно показує, що енергія взаємодії ДНК з поліаміном вище у випадку ДНК, багатою на пари АТ. Взаємодія поліамінів з А-трактами, своєрідним типом АТ-багатої послідовності, що характеризується наявністю принаймні чотирьох сусідніх пар основ АТ (5'-ТрА-3'), було вивчено за допомогою фотозонду ураніла [351] і дійсно показало переважне зв'язування поліамінів з А-трактами. Однак молекулярні деталі взаємодій ДНК з поліамінами, зокрема А-трактами, і фізичні механізми цих взаємодій ще не вивчені достатньо. Аби заповнити цю прогалину, в представленій роботі проведено молекулярно-динамічне дослідження у поєднанні з теоретичною моделлю, що стосується взаємодій трьох різних поліамінів, путресцину²⁺, спермідину³⁺ і сперміну⁴⁺, з послідовністю ДНК, що містить як А-тракти, так і послідовності СГ, що чергуються.

7.1.2. Молекулярно-динамічне моделювання взаємодії молекул поліамінів з нескінченною подвійною спіраллю ДНК. Для проведення моделювання взаємодії молекул природних поліамінів з макромолекулою ДНК за допомогою методу молекулярної динаміки було побудовано три системи. Кожна система моделює нескінченну макромолекулу з фрагментом В-ДНК, що

повторюється. Фрагмент складався з 20 пар нуклеотидів з послідовністю d(CGCGAATTCGCGAATTCGCG). Даний полінуклеотид складається з двох мотивів послідовності Дрю-Дікерсона [106], що містить А-тракти (ділянка нуклеотидів, що підкреслена). Схематична структура фрагмента ДНК та позначення нуклеотидів у кожному ланцюгу подвійної спіралі показані на Рисунках 7.1а та 7.1б. Термінологія для позначення конкретних ділянок подвійної спіралі ДНК, де можуть розташовуватись поліаміни, взята з роботи [12].

Фрагмент ДНК був занурений у об'єм води з молекулами поліамінів певного типу: путресцин²⁺ (Put²⁺), спермідин³⁺ (Spd³⁺) або спермін⁴⁺ (Spm⁴⁺) (Рис. 7.1а). У представленому моделюванні система нейтралізувалася одновалентними протийонами Na⁺ разом з поліамінами путресцину²⁺, спермідину³⁺ та сперміну⁴⁺ (Додаток Е, Таблиця Е1). Кількість протийонів Na⁺ відповідає 281 ммоль/л, 270 ммоль/л та 288 ммоль/л у системах з путресцином²⁺ (Put-DNA), спермідин³⁺ (Spd-DNA) та спермін⁴⁺ (Spm-DNA) відповідно. У цьому діапазоні концентрацій протийони можуть впливати тільки на локальну структуру подвійної спіралі, і в цілому ДНК зберігатиме В-форму. Детальну інформацію про модельні системи Put-DNA, Spd-DNA і Spm-DNA наведена в Додатку Е (Таблиця Е1).

Комп'ютерне моделювання проводилося з використанням пакету програм NAMD [167]. Використовувалися набори параметрів силового поля CHARMM [172,284,285,339]. Для нуклеїнових кислот та поліамінів використовували параметри CHARMM27. Для контролю якості силового поля нуклеїнової кислоти система ДНК зі спермідин³⁺ була також змодельована з використанням CHARMM36. Модуль (*patch*) LKNA силового поля CHARMM33 використовувався для зв'язування кінців фрагмента ДНК із їхніми зображеннями у сусідніх комітках, аби моделювати нескінченну подвійну спіраль ДНК. Використовувалася модель молекул води TIP3P [289]. Для Na⁺ використовували параметри Беглова та Ру (*Beglov* та *Roux*) [290]. Крок інтегрування становив 2 фс. Довжина всіх зв'язків із атомами водню обмежувалася за алгоритмом SHAKE [300]. Для обробки далекосяжних електростатичних взаємодій використовувався метод Евальда (*PME*) [291]. Відстані вимикання та обрізання для длекодіючих

взаємодій були встановлені на 8 Å і 10 Å відповідно. Був перевірений ефект, що пов'язаний з використанням довшого радіусу обрізання для далекодіючих взаємодій, і результати моделювання показують, що характеристики взаємодій поліамінів з ДНК практично не змінюються зі збільшенням радіусів обрізання. Температура була взята 300 К, що підтримувалася термостатом Ланжевена для всіх важких атомів (константа згасання 5 ps^{-1}). Сталі часу коливань та часу згасання для поршня Ланжевена становлять 100 фс та 50 фс відповідно. Тривалість моделювання становила 1 мкс для всіх систем, крім тих, що моделювалися для тесту впливу радіусу обрізання, для якої траєкторія становила 0,2 мкс.

Параметри поліамінів безпосередньо не впроваджені у силовому полі CHARMM. Тому в цій роботі параметри силового поля для поліамінів були побудовані з використанням параметрів атомів амінокислот з аміногрупами, що є в силовому полі CHARMM22. Цей метод визначення силових констант для моделювання ДНК з поліамінами був успішно використаний раніше Королевим та співавторами [149,150,343,354]. Заряди та типи атомів у молекулах поліамінів були визначені відповідно до схеми силового поля CHARMM22 (Рис. E1 у Додатку E). Деталі про системи моделювання та процес симуляції описані у Додатку E (Рис. E2 та Таблиця E2). Програмний пакет VMD [355] використовувався для побудови системи, аналізу результатів моделювання та візуалізації молекулярних структур. Моментальні знімки початкового стану систем, що моделювалися показано на Рисунку E2 в Додатку E.

Для аналізу стабільності та збіжності траєкторії моделювання були розраховані середньоквадратичні відхилення (RMSD) для атомів ДНК та поліамінів вздовж всієї траєкторії. В Додатку E на Рис. E3, E4, E5 показано RMSD для всіх систем, розраховані з використанням силового поля CHARMM27, а на Рисунку E10 RMSD для системи зі спермідіном³⁺, розраховані з використанням силового поля CHARMM36. Результати показують, що RMSD коливаються з часом відносно середнього значення. Середнє значення у випадку атомів ДНК становить близько 2,4 Å, що є досить невеликим, тому симуляцію можна вважати стабільною. У випадку молекул поліамінів RMSD мають середнє значення бли-

зько 1,3 Å, показуючи, що підсистема поліамінів врівноважена. У періоди часу, коли молекули поліаміну перебувають у сайтах зв'язування ДНК, амплітудні значення RMSD для поліамінів значно зменшуються. Таким чином, аналіз флуктуацій RMSD показує, що протягом перших 100 нс подвійна спіраль ДНК та молекули поліамінів врівноважуються. Водночас, підсистема протийонів може ще не врівноважитись через їхню велику рухливість.

Детальні дослідження ДНК з протийонами за допомогою моделювання методом молекулярної динаміки з мікросекундною траєкторією [11,12,191] показують, що врівноваження протийонів може вимагати досить тривалого часу, залежно від нуклеотидної послідовності та місця локалізації на ДНК. Для деяких послідовностей ДНК час 100 нс є достатнім для врівноваження підсистеми протийонів, але в деяких випадках цього не достатньо. Дійсно, у випадку послідовності нуклеотидів d(AAAA) у мінорному жолобі навіть 1000 нс недостатньо для досягнення балансу [12]. Причина такої поведінки до кінця не вивчена і, як вважають автори роботи [12], вона пов'язана зі специфічними взаємодіями протийонів з атомами ДНК у певних ділянках подвійної спіралі, а також зі здатністю іонів структурувати молекули води, що суттєво впливає на взаємодії протонів з ДНК. Слід зазначити, що дослідження, представлені в дисертації, свідчать про важливість характеру гідратації протийонів (див. розділ 5).

Для того аби перевірити врівноваженість системи відносно взаємодії поліамінів з подвійною спіраллю ДНК, було розраховано розподіл довжини молекул поліамінів за різними інтервалами часу вздовж усієї траєкторії. Результати наведено в Додатку Е, (Рис. Е6 з використанням силового поля CHARMM27 і Рис. Е11 з використанням силового поля CHARMM36). Аналіз показує, що через деякий час форма розподілів довжин молекул поліамінів стає однаковою для всіх молекул поліамінів у кожній системі: у випадку путресцину²⁺ – через перші 200 нс, у випадку спермідину³⁺ та сперміну⁴⁺ – приблизно через 400 нс. Така поведінка пов'язана з часом осілого життя поліаміну, що взаємодіє з ДНК. Цей час є коротшим для путресцину²⁺, що дозволяє всім молекулам поліамінів, присутнім в системі, знаходитися однаково довго як в зв'язаному, так і в незв'язаному стані.

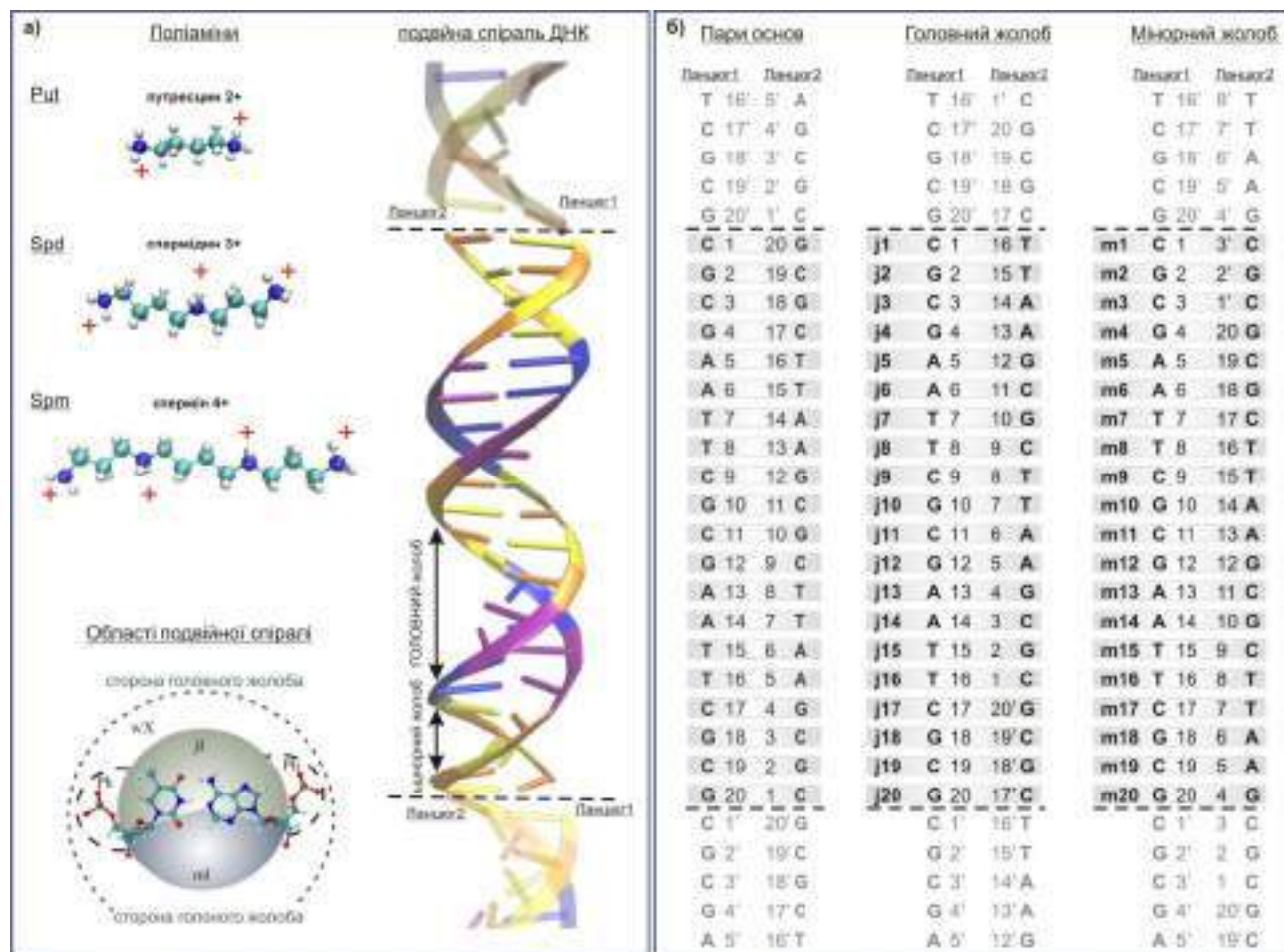


Рис. 7.1. Змодельований фрагмент ДНК з поліамінами. а) Схематична структура молекул поліамінів та областей навколо пари нуклеотидів подвійної спіралі. Області ДНК визначено відповідно до позначень [12]: mI і jI – внутрішні області всередині мінорного та головного жолобів, Ph – області навколо фосфатних груп, wX – зовнішня область навколо подвійної спіралі. Показана схематична структура нескінченної подвійної спіралі ДНК, що моделюється. Кольорова схема нуклеотидів: цитозин (оранжевий), гуанін (жовтий), аденін (синій), тимін (фіолетовий). Зображення ДНК, що відносяться до верхнього та нижнього повторення періодичного прямокутника, розділені пунктирними лініями. б) Позначення пар нуклеотидів у подвійній спіралі; нумерація нуклеотидів на сторонах головного та мінорного жолобів відповідає найкоротшій відстані між атомами фосфору тяжів подвійної спіралі. З урахуванням періодичних граничних умов нуклеотиди, що належать зображенню фрагмента ДНК, позначені штрихом ('). Рисунок з роботи дисертанта [75].

У випадку спермідину³⁺, який характеризується більш тривалим часом перебування в прямому контакті з ДНК, в деяких часових інтервалах всі три молекули поліамінів мають однакову середню поведінку. У випадку найдовших і найбільш заряджених поліамінів – сперміном⁴⁺ характерний час осілого життя на ДНК дуже великий, і обидва А-тракти ДНК містять зайняті поліамінами на більшій частині траєкторії. Ці результати показують, що системи знаходяться в рівновазі на стадії продукування результатів. Як і можна було очікувати, врівноваження системи ДНК з поліамінами займає більше часу у випадку більш довгих і заряджених молекул поліамінів.

Беручи до уваги проведений аналіз траєкторій симуляції ДНК з поліамінами, в представленому дослідженні вважали, що перші 200 нс симуляції більш ніж достатньо для врівноваження структури подвійної спіралі ДНК та молекул поліамінів. Наступні 800 нс траєкторії моделювання (від 201 нс до 1000 нс включно) брали для аналізу рівноважних конфігурацій систем.

Ширини жолобів були розраховані як мінімальна відстань між двома атомами фосфату протилежних ланцюгів макромолекули, як показано на Рис. 7.1б, за вирахуванням ефективних радіусів фосфатів 5,8 Å [14]. Для аналізу конформаційної гнучкості поліамінів розраховувалася залежність від часу відстані між їх кінцевими групами на кожній наносекунді траєкторії моделювання. Використовуючи отримані результати, було розраховано розподіл відстаней для кожної молекули поліаміну в кожній системі для чотирьох часових інтервалів траєкторії моделювання.

Для того аби охарактеризувати розташування молекули поліаміну відносно атомних груп подвійної спіралі, розраховувалися відстані від кожного атома остова молекули поліаміну до найближчого атома фосфатної групи ДНК на кожній наносекунді траєкторії моделювання. Ці відстані були усереднені для кожної молекули поліаміну системи. Для того, аби визначити області, де локалізована деяка молекула поліаміну (області показано на Рис. 7.1а), користувалися такими критеріями.

Молекула поліаміну локалізується всередині подвійної спіралі (області мінорного або великого жолобів), якщо середня відстань від молекули поліаміну до центру подвійної спіралі була меншою за 10 Å (радіус ДНК у В-формі подвійної спіралі). В якості центру подвійної спіралі взято атом N₁ пуринового нуклеотиду. Молекула поліаміну вважалася локалізованою в мінорному жолобі (область mI), або у головному жолобі (область jI) подвійної спіралі, якщо хоча б один важкий атом молекули поліаміну був локалізований в межах 5 Å від нуклеотидних основ збоку мінорного або головного жолобів відповідно. У жолобах в якості референтних точок взято такі атоми: з боку мінорного жолоба – O₂ тиміну і цитозину, C₂ і N₃ аденіну, N₂ і N₃ гуаніну, O_{4'} і H_{4'} дезоксирибози; з боку головного жолоба – C₆, C_{5M}, O₄ тиміну, C₆, C₅, N₄ цитозину, C₅, N₇ та C8 аденіну та гуаніну, N₆ аденіну, O₆ гуаніну. Передбачалося, що молекула поліаміну знаходиться в області навколо фосфатних груп (область Ph), якщо молекула поліаміну не знаходиться всередині жолобів подвійної спіралі і хоча б один важкий атом знаходиться в межах 7 Å від одного з атомів кисню фосфатної групи O₁ чи O₂. Якщо молекула поліаміну знаходиться поза подвійною спіраллю і не обмежена фосфатними групами макромолекули, вона вважається у вільному стані (тобто у зовнішній області wX). Таким чином, простір навколо подвійної спіралі, де може бути локалізована молекула поліаміну, розділено на чотири області: мінорний та головний жолоби (mI- та jI-області), фосфатні групи остова подвійної спіралі (Ph-область) та область за межами подвійної спіралі (область wX, див. рисунок 7.1a).

7.1.3. Аналіз розподілу поліамінів навколо подвійної спіралі ДНК. Щоб охарактеризувати взаємодію молекул поліамінів з ДНК, було проаналізовано структурні параметри подвійної спіралі та молекул поліамінів. Зокрема, досліджено ширини жолобів ДНК, відстань між кінцями молекул поліамінів та часи осілого життя поліамінів у різних областях подвійної спіралі. Залежності ширини жолобів від часу було розраховано вздовж всього ланцюгу макромолекули ДНК і представлені на малюнку Рис. 7.2a для всіх систем, змо-

дельованих за допомогою силового поля CHARMM27. У Додатку Е наведено результати, одержані за допомогою силового поля CHARMM36 (Рисунок Е12а).

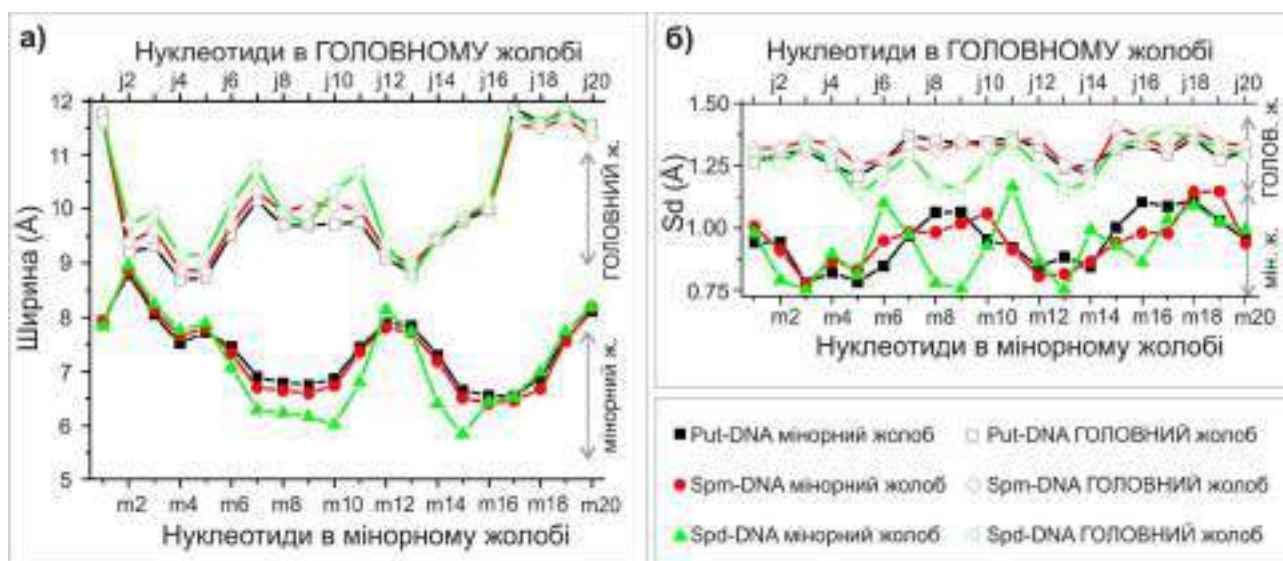


Рис. 7.2. Залежності середньої ширини (а) та стандартних відхилень (б) міnorного та головного жолобів від нуклеотидного кроку. Чорний, червоний та зелений кольори відповідають системам Put-DNA, Spd-DNA та Spm-DNA відповідно. Для визначення ван дер ваальсової ширини жолоба радіус фосфатів (5,8 Å) віднімається від значень відстаней між фосфатними групами. Нумерація нуклеотидних кроків зі сторони міnorного та головного жолобів наведена згідно з Рис. 7.1. Рисунок з роботи дисертанта [75].

Як і очікувалося для *B*-ДНК, ширина міnorного жолоба завжди залишається меншою за ширину головного жолоба. Середні значення їх ширини становлять 7,3 Å і 10,1 Å відповідно. Як для міnorного, так і для головного жолобів ширина модулюється послідовністю нуклеїнових основ. Використовуючи позначення, введені на Рис. 7.1б, можна помітити, що міnorний жолоб є найвузчим (близько 6,5 Å) в областях нуклеотидів (m6÷m10) і (m14÷m18), що відповідають частині ДНК з (AATT):(TTAA) мотивами нуклеотидів. Міnorний жолоб найширший (близько 8 Å) в областях (m1÷m4), (m19÷m20) і (m11÷m13), які відповідають (CGCG):(CGCG) нуклеотидному мотиву. Головний жолоб найвузчий (близько 14,5 Å) в областях (j2÷j5) і (j10÷j14), а найширша частина великого жолобу знаходиться в областях (j6÷j12) і (j12÷j20). Крім того, проглядається

антикореляція ширини мінорного і головного жолобів: області з найвужчим мінорним жолобом мають найширший великий жолоб, і навпаки (Рис. 7.2а). Коливання жолобів характеризуються стандартним відхиленням ширини відносно середнього значення. Стандартні відхилення, отримані для траєкторії моделювання на кожному кроці нуклеотиду, показують, що існує різниця для мінорного і головного жолобів. На Рис. 7.2б показано результати для всіх систем, розрахованих за допомогою CHARMM27 і в Додатку Е наведено результати для системи з спермідини³⁺, що одержані з використанням силового поля CHARMM36 (Рис. E12б). Таким чином, амплітуди зміни ширини жолобів вищі для великого жолобу, ніж для мінорного.

Для розуміння конформаційної гнучкості поліамінів розраховано розподіли відстаней між кінцями молекули. Результати наведено у Додатку Е (Рис. E6 і E11). У випадку путресцину²⁺ розподіли мають два помітні максимуми, що характеризують зігнуті та розтягнуті стани молекули, тоді як у випадку молекул спермідину³⁺ і сперміну⁴⁺ розподіл є мультимодальним, з кількома максимумами, що перекриваються. Ці максимуми характеризують зігнуті та розтягнуті конформації молекули поліаміну. Для сперміну⁴⁺ спостерігається інтенсивний максимум біля 15,33 Å, що відповідає розтягнутій конформації поліаміну, який все ще вигинається через контакт з ДНК. У нашому моделюванні ми спостерігаємо, що поліаміни в основному перебувають у вигнутій конформації, яка є енергетично більш вигідною через більшу конформаційну ентропію цього стану. Розтягнуті конформації спостерігаються для молекул поліаміну, які взаємодіють з подвійною спіраллю ДНК переважно через електростатичні взаємодії. У випадку путресцину²⁺ розподіли відстані між кінцями молекули є однаковим для всіх розглянутих часових інтервалів моделювання, тоді як у випадку спермідину³⁺ і сперміну⁴⁺ розподіли відстані між кінцями молекули різних молекул поліаміну стають схожим лише у другій половині траєкторії моделювання. Час, необхідний для збіжності розподілу довжини молекули поліаміну, пов'язаний з часом перебування поліамінів у сайтах зв'язування ДНК і збільшується із збільшенням довжини та заряду поліаміну. Конформаційна гнучкість молекул по-

ліаміну є однією з особливостей, що визначає їх локалізацію в місцях зв'язування.

Аналіз сайтів зв'язування молекул поліаміну з ДНК шляхом візуального дослідження динаміки системних координат показує, що сайти взаємодії поліаміну з ДНК, як правило, локалізуються в мінорному жолобі подвійної спіралі, і що зв'язування часто починається з безпосереднього контакту поліаміну з фосфатними групами, після чого поліамін заповзає в мінорний жолоб. Моментальні фото комплексів з молекулою поліаміну в мінорному жолобі ДНК показують, що путресцин²⁺, спермідин³⁺ і спермін⁴⁺ розташовані однаковим чином (Рис. 7.3). Поліаміни безпосередньо контактують переважно з атомами O₂ пурину та атомами N₃ піримідинових нуклеотидних основ (відстань між атомами остова поліаміну та атомами нуклеотиду коливається біля 4 Å). Відстань до інших атомів ДНК у мінорному жолобі більша, але все ще не настільки велика, аби вмістити молекулу води. Таким чином, поліаміни в мінорному жолобі витісняють молекули води, тим самим порушуючи гідратну оболонку подвійної спіралі ДНК.

Залежності середніх відстаней кожної молекули поліаміну до найближчої фосфатної групи від часу (Додаток Е, Рис. Е7а, Е8а, Е9а, Е13а) дозволяють охарактеризувати локалізацію молекул поліамінів відносно подвійної спіралі ДНК. Досліджено характерні часи осідлого життя поліамінів на ДНК: загальний (τ_{tot}), максимальний (τ_{max}) і середній (τ_{mean}) часи осідлого життя поліаміну в чотирьох областях, визначених на Рис. 7.1а. Час осідлого життя явно залежить від типу молекули поліаміну і збільшується зі збільшенням заряду молекули (Таблиця 7.1; Таблиця Е3 у Додатку Е). У мінорному жолобі як загальний, так і максимальний час осідлого життя є найдовшими. Характерні часи осідлого життя в головному жолобі значно коротші, ніж у мінорному жолобі і є на порядок меншими. Така різниця вказує на більш високу рухливість молекул поліаміну в головному жолобі, ніж у мінорному. Локалізація поліамінів поблизу фосфатних груп характеризується найнижчими значеннями часу осілого життя, що свідчить про високий ступінь рухливості молекул у цій області поза жолобами.

Аналіз характерних часів осілого життя на ДНК для досліджуваних молекул поліамінів виявляє ієрархію часів осідлого життя в трьох ділянках зв'язування на поверхні ДНК:

$$\tau_{ml} > \tau_{jl} > \tau_{ph}. \quad (7.1)$$

де τ_{ml} , τ_{jl} , і τ_{ph} , — характерні часи осілого життя молекул поліамінів в мінорному жолобі, головному жолобі та в областях поблизу фосфатних груп відповідно. Єдиний виняток з цієї тенденції спостерігається для одного з спермінів⁴⁺ (Spm1), який проводить більшу частину часу моделювання в мінорному жолобі і, отже, не взаємодіє з головним жолобом.

Аби проаналізувати залежність локалізації поліаміну від послідовності пар основ, нуклеотиди, найближчі до молекули поліаміну, визначалися на кожному збереженому кроці траєкторії, а залежність від часу найближчого пронумерованого нуклеотиду була побудована для кожної молекули поліаміну на кожній наносекунді траєкторії моделювання (Додаток Е, Рис. Е7б, Е8б, Е9б та Е13б). Підсумок специфічності в розташуванні поліамінів до послідовності ДНК наведено в Таблиці 7.2.

У зв'язку з видовженою структурою полікатіонів сайти зв'язування є ділянками ДНК, що пов'язані з певною послідовністю нуклеотидів у першому та другому ланцюгах, між якими розташована молекула поліаміну. Використовуючи ці дані, були визначені області, де розташована молекула поліаміну та позначено положення нуклеотиду, використовуючи позначення, представлені на Рис. 7.1а. Результати, що наведено в Таблиці 7.2, показують, що існує чітка специфічність зв'язування поліаміну з В-ДНК до послідовності нуклеотидів. У випадку путресцину²⁺ найбільш вірогідні позиції знаходяться в (m14÷m18) і (m7÷m10) областях нуклеотидів мінорного жолоба. У випадку молекули спермідину³⁺ місцями взаємодії є (m15÷m18) і (m6÷m10) у мінорному та (j10÷j13) у головному жолобі. У випадку системи з молекулами сперміну⁴⁺ є дві ділянки в мінорному жолобі (m7÷m9) і (m14÷m16), де локалізація молекули поліаміну найбільш вірогідна.

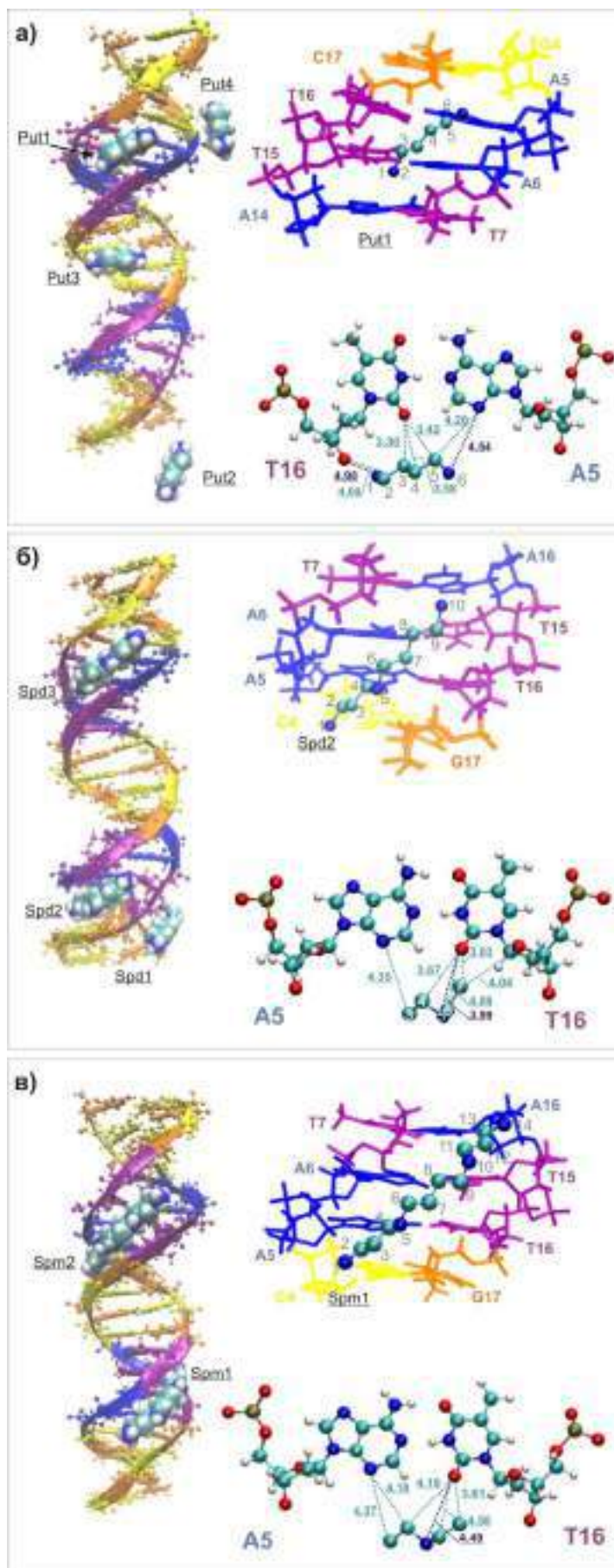


Рис.7.3. Зображення систем, що показують типові сайти зв'язування молекул поліамінів з подвійною спіраллю ДНК. Ліворуч показані характерні положення молекул поліаміну. Праворуч у верхній частині показано деталі розташування обраної молекули поліаміну в мінорному жолобі. Праворуч унизу показано відстані від деяких атомів поліаміну до найближчих атомів нуклеотидної пари (відстані наведено в Å). Атоми в основі молекули поліаміну пронумеровано. а) Система Put-ДНК. Put1, Put2, Put3, Put4 — молекули путресцину²⁺; б) Система Spd-ДНК. Spd1, Spd2, Spd3 — молекули спермідину³⁺; в) Система Spm-ДНК. Spm1, Spm2 — молекули сперміну⁴⁺. Схема кольорів нуклеотидів: цитозин (оранжевий), гуанін (жовтий), аденін (синій), тимін (фіолетовий). Рисунок з роботи дисертанта [75].

Таблиця 7.1. Часи осілого життя молекул поліамінів в різних областях навколо подвійної спіралі ДНК: τ_{tot} , τ_{max} і τ_{mean} – загальний, максимальний та середній час перебування локалізації (у нс). Позначення ділянок навколо макромолекули ДНК: mI – мінорний жолоб, jI – головний жолоб, Ph – остов, wX – зовнішня область (Рис. 9.1a). N_0 – кількість важких атомів (C, N) у поліаміновому ланцюзі.

Полімін	Локалізація молекули поліаміну навколо ДНК											
	mI-область			jI- область			Ph- область			wX- область		
	τ_{tot}	τ_{max}	τ_{mean}	τ_{tot}	τ_{max}	τ_{mean}	τ_{tot}	τ_{max}	τ_{mean}	τ_{tot}	τ_{max}	τ_{mean}

Путресцин²⁺ ($N_0=6$)

Put1	268.2	28.6	2.2	51.0	9.0	0.1	9.2	0.4	0.0	471.6	30.0	1.5
Put2	205.8	19.8	0.9	48.6	5.0	0.1	12.2	0.2	0.0	533.4	16.4	1.3
Put3	150.2	21.4	1.1	64.8	5.2	0.1	9.0	0.2	0.0	576.0	24.0	2.0
Put4	246.0	42.0	2.0	39.4	5.2	0.0	9.0	0.2	0.0	505.6	20.0	1.7
<...>	217.6	28.0	1.6	51.0	6.1	0.1	9.9	0.3	0.0	521.7	22.6	1.6

Спермідин³⁺ ($N_0=10$)

Spd1	127.8	16.8	0.3	88.0	6.6	0.1	17.0	0.4	0.0	567.2	39.0	2.0
Spd2	415.8	69.0	10.9	52.0	8.4	0.1	15.2	0.4	0.0	317	22.6	1.2
Spd3	566.2	81.0	13.3	5.6	1.0	0.0	11.6	0.4	0.0	216.6	17.2	0.9
<...>	369.9	55.6	8.2	48.5	5.3	0.1	14.6	0.4	0.0	366.9	26.3	1.4

Спермін⁴⁺ ($N_0=14$)

Spm1	635.8	71.8	17.73	0.0	0.0	0.0	11.0	0.4	0.0	153.2	21.6	1.0
Spm2	523.8	71.2	17.20	12.0	2.8	0.0	9.2	0.4	0.0	255.0	16.2	1.0
<...>	580.0	71.5	17.47	6.0	1.4	0.0	10.0	0.4	0.0	204.1	18.9	1.0

Таблиця 7.2. Положення нуклеотидів першого та другого ланцюга подвійної спіралі, де найчастіше локалізуються молекули поліаміну. Нумерація нуклеотидних основ і відповідних областей показана на Рис. 7.1б.

Система	Поліамін	Область
Put-DNA	Put1	mI: m14-m17
	Put2	mI: m16-m18
	Put3	mI: m7-m10
	Put4	mI: m14-m16
Spd-DNA	Spd1	jI: j10-j13
	Spd2	mI: m6-m10
	Spd3	mI: m15-m18
Spm-DNA	Spm1	mI: m7-m9
	Spm2	mI: m14-m16

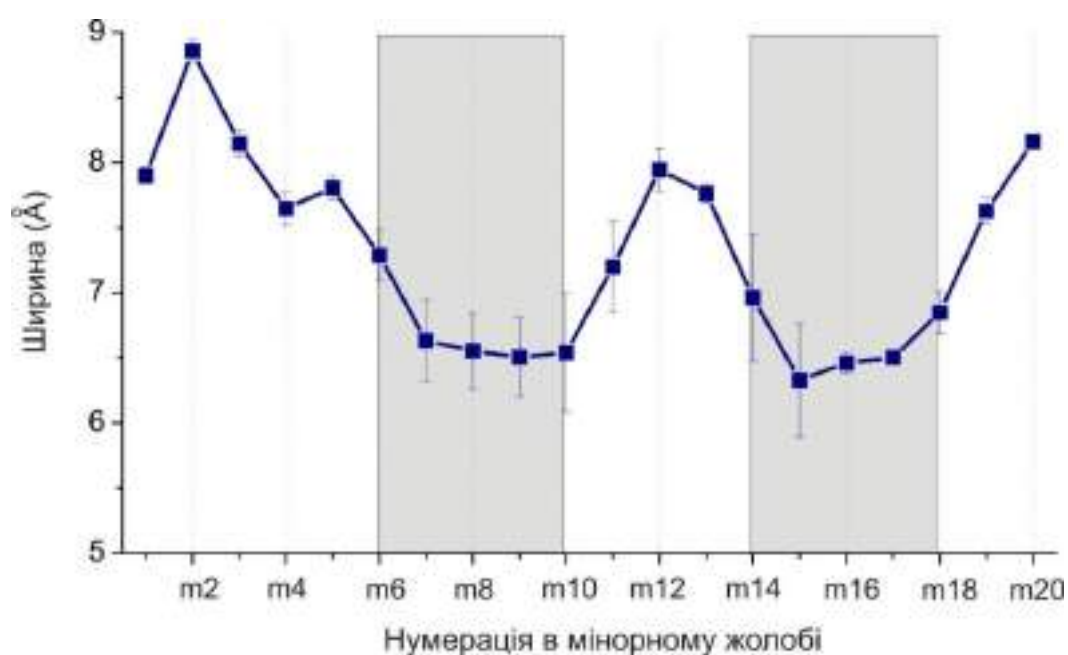


Рис. 7.4. Залежність ширини мінорного жолоба від нуклеотидної послідовності, усередненої за усіма змодельованими системами. Найбільш вірогідна локалізація поліамінів показана сірими смугами. Рисунок з роботи дисертанта [75].

Беручи до уваги залежність ширини мінорного жолоба від послідовності нуклеотидних основ (Рис. 7.2), можна спостерігати чітку кореляцію між розташуванням поліаміну та шириною мінорного жолоба. Таку кореляцію краще видно на Рисунку 7.4, де зображено усереднену ширину мінорного жолоба за усіма змодельованими системами та позначено найбільш ймовірні місця розташування поліамінів. Видно, що молекули поліаміну мають тенденцію до локалізації в найвужчих ділянках мінорного жолоба подвійної спіралі в областях нуклеотидів (m14÷m18) і (m6÷m10). Ці області зосереджені навколо двох А-трактів.

Таким чином, результати моделювання показують, що молекули поліаміну мають тенденцію до локалізації в мінорному жолобі ДНК в областях з найменшою шириною. При цьому ширина мінорного жолоба подвійної спіралі залежить від послідовності нуклеотидних основ. У випадку змодельованої послідовності ДНК найвужча ширина мінорного жолоба знаходиться в А-тракті. Результати мають однаковий характер у випадку силового поля CHARMM27 і у випадку силового поля CHARMM36.

7.1.4. Електростатична модель взаємодії молекули поліаміну з подвійною спіраллю ДНК. Для того аби пояснити фізичний механізм специфічної взаємодії молекул поліамінів з ДНК, що спостерігається під час моделювання методом молекулярної динаміки, розроблено електростатичну модель. Модель представляє ДНК у вигляді пари лінійних ланцюгів з негативними зарядами, що відповідають фосфатному остову подвійної спіралі (Рис. 7.5). Простір між ланцюгами обмежений атомними групами ДНК (нуклеотидні основи, цукрові кільця, фосфатні групи) і відповідає одному з жолобів подвійної спіралі. Ширина жолобу в цій простій моделі – це відстань між зарядженими ланцюгами.

Вільну енергію такої системи можна представити у вигляді суми енергій:

$$\Delta G = \Delta G_{el} + \Delta G_{rep} + \Delta G_0, \quad (7.2)$$

де ΔG_{el} і ΔG_{rep} описують електростатичне притягання і відштовхування відповідно між ДНК і молекулою поліаміну; ΔG_0 містить решту внесків у вільну енергію взаємодії.

Електростатичне притягання виникає внаслідок взаємодії позитивно заряджених аміногруп з негативно зарядженими фосфатними групами остова ДНК, і його можна описати різними підходами, починаючи з простих поліелектролітних моделей [15] і закінчуючи більш детальними розрахунками в рамках рівняння Пуассона-Больцмана [16].

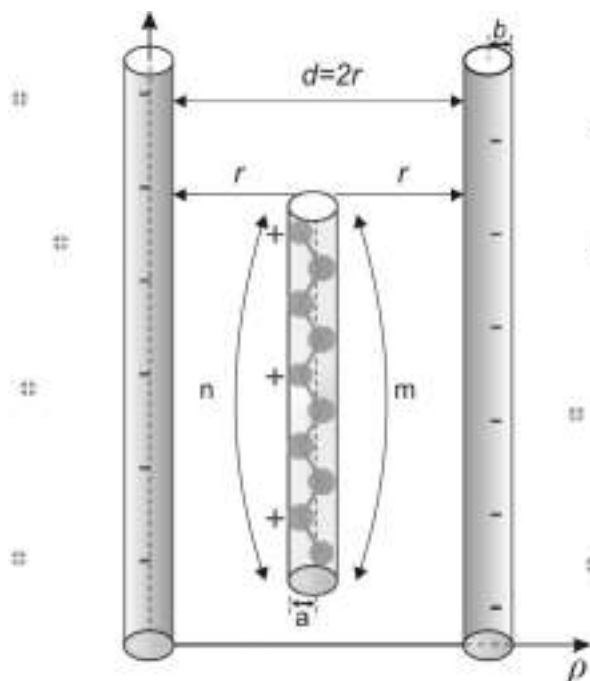


Рис.7.5. Модель взаємодії поліаміну з подвійною спіраллю ДНК. r — відстань від центру атомної групи поліаміну до зарядженого ланцюга; m — кількість атомних груп молекули поліаміну; n — кількість заряджених атомних груп у молекулі; b — характерний розмір фосфатної групи та атомної групи молекули поліаміну. У моделі для прикладу схематично показана молекула спермідину³⁺. Рисунок з роботи дисертанта [75].

При побудові моделі будемо дотримуємося концепції іон-фосфатної ґратки ДНК, яка була розроблена для опису коливань протийонів ДНК [25,38,39,41,216,223,224]. Відповідно до цього підходу подвійна спіраль ДНК є ґраткою, що складається з зарядів фосфатних груп і протийонів. Для опису енергії електростатичного притягання та відштовхування взаємодії поліамінів з ДНК використовувався потенціал Борна-Майєра, який запропоновано для опису енергії іонних кристалів [204]. Даний потенціал застосовувався для визначення константи іон-фосфатних коливань (розділ 2):

$$U(\rho) = -\frac{M_a e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0\rho} + B e^{-\frac{\rho}{\kappa}}, \quad (7.3)$$

де e — заряд електрона, M_a — стала Маделунга, що описує взаємодію заряду з іншими зарядами системи, ϵ — діелектрична проникність, ϵ_0 — діелектрична

проникність вакууму, ρ – координата, що описує локалізацію іона в точці ґратки; B і κ – параметри, що описують відштовхування на малих відстанях.

Потенціальну енергію, що представляє електростатичні взаємодії та взаємодії відштовхування для випадку молекули поліаміну між двома зарядженими ланцюгами ($\Delta G_1 = \Delta G_{el} + \Delta G_{rep}$), у формі потенціалу Борна-Майєра (7.3), можна записати наступним чином:

$$\Delta G_1 = -n \frac{M_a e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0} \left(\frac{1}{\rho} + \frac{1}{2r - \rho} \right) + Bm \left(e^{\frac{\rho}{\kappa}} + e^{\frac{2r - \rho}{\kappa}} \right), \quad (7.4)$$

де n – кількість заряджених аміногруп у молекулі поліаміну, r – відстань від центру мінорного жолоба до центру зарядженого циліндра (остов ДНК, див. Рис. 7.5). В рівнянні (7.4) перший доданок описує електростатичне притягнення молекули поліаміну з першим і другим фосфатними ланцюгами подвійної спіралі ДНК. Другий доданок в рівнянні (7.4) описує відштовхування на близьких відстанях між атомами молекул поліаміну та фосфатними групами ДНК (експоненти в дужках описують відштовхування від першого та другого ланцюгів подвійної спіралі ДНК відповідно). Взаємодії заряджених аміногруп між собою вважаються однаковими в жолобі ДНК і в об'ємі, тому їх внеском в енергію нехтуємо.

Константу B можна знайти з умови рівноваги: $\partial \Delta G_1 / \partial \rho|_{\rho=\rho_0} = 0$, ρ_0 де рівноважна відстань для молекули поліаміну та одного з негативно заряджених цукрово-фосфатних ланцюгів подвійної спіралі:

$$B = \frac{n}{m} \cdot \frac{M_a e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0} \cdot \frac{4r(r - \rho_0)\kappa}{\rho_0^2(2r - \rho_0)^2} \cdot \frac{1}{e^{\frac{\rho_0}{\kappa}} + e^{\frac{2r - \rho_0}{\kappa}}}. \quad (7.5)$$

Третій доданок (ΔG_0) в рівнянні (7.2) описує внески від енергії гідратації, конформаційної ентропії та ентропії змішування. Зміна гідратаційного внеску відбувається внаслідок заміщення молекул води гідратаційної оболонки ДНК молекулою поліаміну. Конформаційна енергія обумовлена зміною конформаційного стану молекули поліаміну. Внесок ентропії змішування виникає внаслідок

док збільшення локальної концентрації молекул поліаміну поблизу подвійної ДНК. Енергія гідратації допомагає стабілізувати подвійну спіраль за рахунок гідрофобних нуклеотидних основ [14], тоді як конформаційна енергія і енергія змішування дають дестабілізуючий внесок. У цій роботі ми припускаємо, що стабілізуючий і дестабілізуючий члени, які входять в доданок ΔG_0 компенсують один одного і в подальшому розгляді його прирівнюємо до нуля.

Використовуючи вираз для довжини Б'єрума та враховуючи рівняння (7.4) і (7.5), вільну енергію системи (7.2), нормалізовану на $k_B T$, можна записати у вигляді:

$$\Delta g \approx -nM_a L_B \left(\frac{1}{\rho} + \frac{1}{2r - \rho} \right) + \frac{4nL_B M_a r (r - \rho_0) \kappa}{\rho_0^2 (2r - \rho_0)^2} \cdot \frac{\cosh\left(\frac{r - \rho}{\kappa}\right)}{\sinh\left(\frac{r - \rho_0}{\kappa}\right)}, \quad (7.6)$$

де k_B – стала Больцмана; $\Delta g = \Delta G / k_B T$. У рівнянні (7.6) перший доданок описує електростатичне притягання, а другий — відштовхування між ДНК і молекулою поліаміну. $L_B = e^2 / 4\pi\epsilon\epsilon_0 k_B T$ — довжина Б'єрума.

Таблиця 7.3. Параметри, використані при розрахунку енергії молекули поліаміну в жолобі подвійної спіралі.

Поліамін	Ширина жолоба ($d = 2r$), Å		m	n	ρ_0 Å	κ [42]	L_B Å	M_a [42]
	Мінорний жолоб	Головний жолоб						
Путрецин ²⁺	12	17	6	2	5,8	3,28	7,7	1.5
Спермідин ³⁺			10	3				
Спермін ⁴⁺			14	4				

Для розрахунку енергії молекули поліаміну поблизу подвійної спіралі за формулою (7.6) необхідні такі параметри: параметр відштовхування (κ), константа Маделунга (M_a), рівноважна відстань між молекулою поліаміну та остовом ДНК (ρ_0) і довжина Б'єрума (L_B). Константа Маделунга у випадку диполя дорі-

вноє 1, у випадку одновимірної іонної ґратки 1,386, а у випадку іонної ґратки NaCl — 1,748 [204]. Оцінені значення M_a для іон-фосфатної ґратки ДНК становлять приблизно 1,1 – 1,5 залежно від типу протийонів [224]. Параметр відштовхування в потенціалі Борна-Майєра приймається таким же, як і в іонних кристалах [224]. Значення довжини Б'єрума розраховано для діелектричної проникності об'ємної води $\varepsilon = 78$ та температури 300 К (температура модельованих систем). Рівноважну відстань взято рівною радіусу ван дер Ваальса фосфатної групи. Усі параметри, використані для оцінки енергії, наведені в Таблиці 7.3.

Розраховані за рівнянням (7.6) вільні енергії для випадків локалізації молекули поліаміну у вузькому мінорному жолобі (припускаючи ширину $d = 12 \text{ \AA}$) і широкому головному жолобу (припускаючи ширину $d = 17 \text{ \AA}$) і поза подвійною спіраллю ($d = \infty$) показано на рисунку 7.6. Як видно з рисунку, функції вільної енергії можуть мати різну форму. У випадку звуженого жолоба (мінорний жолоб В-ДНК) існує одна потенціальна яма, яка є глибшою порівняно з тією, що у випадку головного жолоба. Таким чином, молекула поліаміну в мінорному жолобі затиснена фосфатним остовом і утворює більш стабільний комплекс з ДНК (Рис. 7.6а). У випадку широкого жолобу подвійної спіралі (головний жолоб) утворюються дві потенціальні ями, що описують взаємодії з першим і другим ланцюгами подвійної спіралі.

Таким чином, у випадку широкого жолобу (головний жолоб В-ДНК) молекула поліаміну може бути локалізована поблизу одного з ланцюгів фосфатного остова (Рис. 7.6б). Також можуть бути сформовані поперечні зв'язки між різними тяжами ДНК за допомогою молекули поліаміну. У випадку локалізації молекули поліаміну поблизу фосфатного остова з зовнішньої сторони подвійної спіралі функція вільної енергії має одну порівняно неглибоку потенціальну яму (Рис. 7.6в). Значення вільних енергій в мінімумі потенціальних ям наведено в Таблиці 7.4.

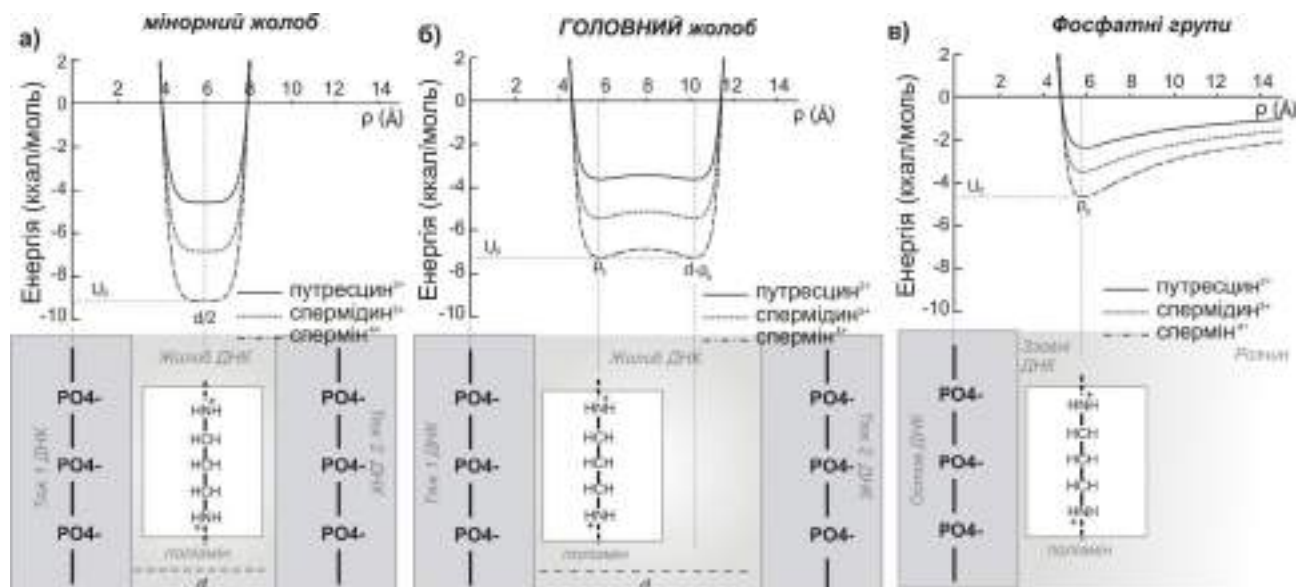


Рис. 7.6. Залежність енергії від ширини жолобів подвійної спіралі для молекул путресцину²⁺, спермідину³⁺ та сперміну⁴⁺ у комплексі з ДНК. Випадки локалізації молекули поліаміну в мінорному жолобі (а), головному жолобі (б) та поблизу фосфатних груп і зовнішнього боку подвійної спіралі (в). Рисунки в нижній частині кожного графіка ілюструють схему локалізації молекули поліаміну відносно ланцюгів подвійної спіралі (розмір молекули поліаміну та остова ДНК показано пропорційними ширині жолоба подвійної спіралі). Рисунок з роботи дисертанта [75].

Таблиця 7.4. Значення вільної енергії молекул поліаміну в різних областях подвійної спіралі, розраховані за рівнянням (9.6) (у ккал/моль). У круглих дужках наведено значення, отримані в результаті моделювання молекулярної динаміки [147]. Діапазон експериментальних значень енергії [348] вказано у квадратних дужках.

Поліамін	Мінорний жолоб	Головний жолоб	Фосфатна група	Експеримент [348]
Путресцин ²	-4.6	-3.5	-2.3	-[5.781÷6.808]
+		(-7.1±3.7)		
Спермідин ³	-6.9	-5.3	-3.5	-[5.821÷7.602]
+	(-11.1±6.4)			
Спермін ⁴⁺	-9.2	-7.0	-4.7	-[6.60÷8.441]
		(-13.7±6.5)		

У випадку мінорного жолоба молекули поліаміну мають приблизно на 25% нижчу енергію, ніж у головному жолобі, і приблизно вдвічі нижчу енергію, ніж поза подвійною спіраллю. Отримані вільні енергії локалізації поліаміну в жолобах подвійної спіралі показують, що здатність поліаміну взаємодіяти з ДНК має такий порядок: спермін⁴⁺ > спермідин³⁺ > путресцин²⁺. Цей результат узгоджується з нашими даними моделювання молекулярної динаміки, де спостерігалася така ж ієрархія часів осілого життя молекул поліамінів в областях подвійної спіралі (7.1) (Табл. 7.1). Абсолютні значення енергій взаємодії узгоджується з калориметричними даними [348]. У запропонованій моделі стабілізуючий і дестабілізуючий внески компенсують один одного, а поведінка вільної енергії регулюється електростатичним і відштовхуючим внеском. Порівняння наших результатів з енергіями, отриманими з моделювання молекулярної динаміки [147], показує узгодження в межах оцінених похибок.

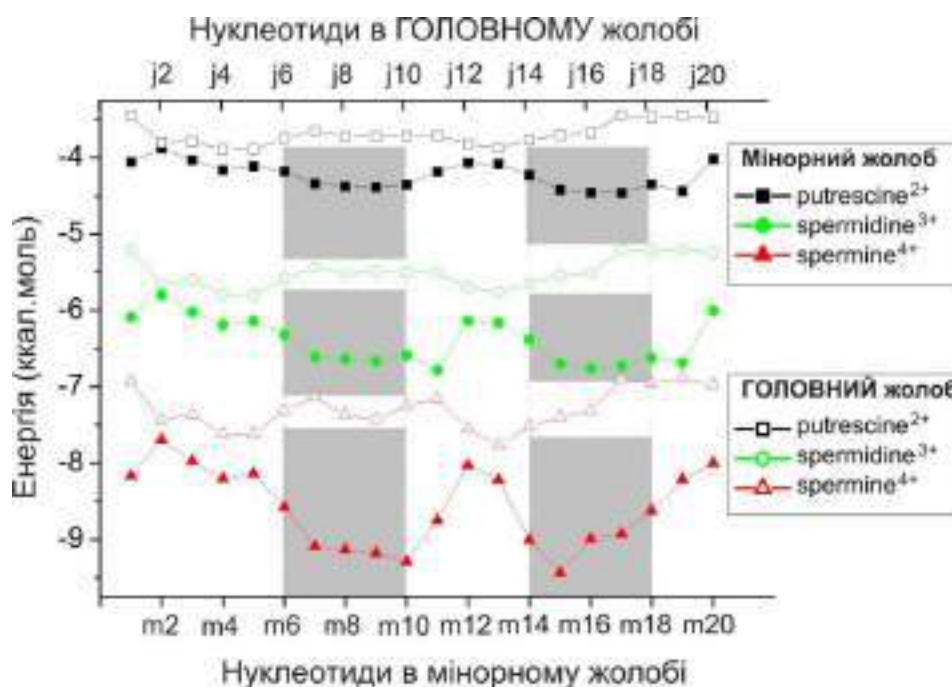


Рис. 7.7. Залежність вільної енергії від ширини мінорного та головного жолобів змодельованого фрагмента ДНК. Енергія була розрахована за допомогою рівняння (7.6) для значень ширини жолобів, представлених на Рис. 7.3. Нумерація нуклеотидних кроків зі сторони мінорного та головного жолобів показана згідно з визначенням на Рис. 7.1б. Місця найбільш вірогідної локалізації молекул поліаміну, визначені з молекулярно-динамічного моделювання, показані сірими смугами. Рисунок з роботи дисертанта [75].

Використовуючи розроблену модель, було розраховано вільну енергію взаємодії поліамінів у мінорному та головному жолобі як функцію ширини цього жолобу, розраховану на основі моделювання методом молекулярної динаміки. Результати вказують на явну кореляцію між значеннями енергії та шириною жолобів (Рис.7.7). Вільна енергія має найнижчі значення у вузькому мінорному жолобі і найвищі в головному жолобі. Порівняння результатів, отриманих за допомогою розробленої теоретичної моделі, з результатами, отриманими в результаті моделювання методом молекулярної динаміки, показує, що нуклеотидні послідовності, що відповідають найменшій вільній енергії, розрахованої за формулою (7.6), є найбільш вірогідними ділянками взаємодії для всіх трьох досліджуваних поліамінів.

Крім того, розроблена модель показує, що спорідненість поліамінів до макромолекули ДНК зростає із збільшенням заряду поліамінів. Локалізація поліамінів у вузькому жолобі енергетично більш вигідна, ніж у широкому жолобі та ззовні подвійної спіралі. Таким чином, молекули поліаміну мають тенденцію локалізуватися в мінорному жолобі подвійної спіралі В-ДНК. Розроблена феноменологічна модель дає якісний опис взаємодії молекул поліамінів з подвійною спіраллю ДНК.

7.1.5. Механізм взаємодії молекул природних поліамінів з ДНК в жолобах подвійної спіралі. Оскільки фосфати подвійної спіралі є атомними групами, що найбільш відкриті до взаємодії з розчинником, взаємодія поліамінів з ДНК починається переважно з контактів з цими групами. Після утворення поліамін-фосфатних комплексів полікатіонні молекули переміщуються в один з жолобів подвійної спіралі або повертаються назад у розчин. Поліаміни заповнюють переважно найвужчу частину жолобів, що визначається мінімумом електростатичної енергії. Ширина мінорного та головного жолобів подвійної спіралі ДНК не є сталою, характеризується тепловими флуктуаціями і залежність від нуклеотидної послідовності [14]. Амплітуда теплових коливань ширин жолобів становить близько 1 Å (Рис. 7.26 і Е126), що порівняна з характерними

амплітудами конформаційних коливань ДНК, які спостерігаються в низькочастотних спектрах [39,199,216,223,224]. Зміна ширини жолоба в залежності від нуклеотидної послідовності становить приблизно 2 Å або вище, що означає, що ширина жолобів ДНК модулюється нуклеотидною послідовністю. Найменша ширина спостерігається в мінорному жолобі в області А-тракту, тоді як найбільша в головному жолобі в області з нуклеотидною послідовністю CG (Рис. 7.2 і E12). Така залежність ширини жолоба від послідовності нуклеотидів добре відома, зокрема відомо, що А-тракт має набагато вужчий мінорний жолоб, ніж в середньому у канонічної В-ДНК, і містить упорядковану систему з молекул води, відому як гідратний хребет [2,14,106]. Наявність ланцюга 5'-ТрА-3' в послідовності багатій на нуклеотиди АТ призводить до іншої гідратації та до розширення мінорного жолоба. Візуальний аналіз траєкторій моделювання показав, що завдяки цьому ефекту, що залежить від послідовності, молекули поліаміну рухаються у жолобах подвійної спіралі, аби знайти область, де ширина жолобу найменша. Схема комплексоутворення деякої молекули поліаміну з жолобом ДНК зображена на Рисунку 7.8.

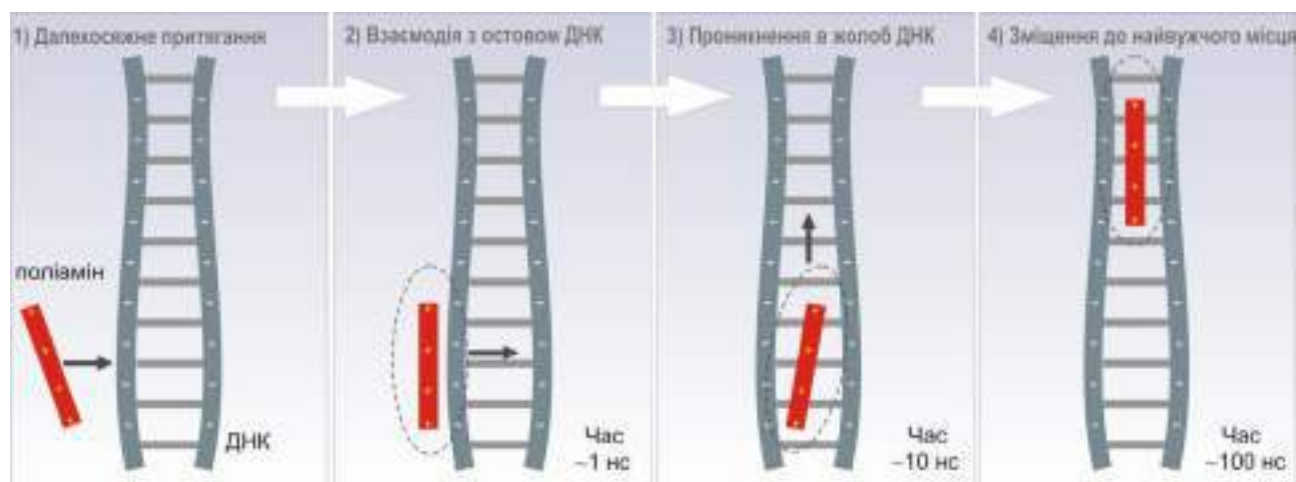


Рис.7.8. Схема взаємодії молекули поліаміну з подвійною спіраллю ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [75].

Попередні калориметричні дослідження для систем ДНК з путресцином²⁺, спермідином³⁺ і сперміном⁴⁺ відповідно вказують на переважність взаємодії молекул поліаміну з АТ багатими мотивами ДНК [138,348]. Причиною такої

поведінки припускалася різна організація гідратної оболонки подвійної спіралі для різної нуклеотидної послідовності [348]. Відповідно до нашої моделі, електростатичний внесок може пояснити цю поведінку; однак, враховуючи припущення, зроблене в нашій моделі, не можна виключити деякі внески через різні ефекти гідrataції. Цей результат також узгоджується з експериментально спостережуваним збільшенням спорідненості поліаміну з ДНК при збільшенні заряду молекули поліаміну [348].

Переважне зв'язування поліамінів з мінорним жолобом, виявлене в представленому дослідженні, не було виявлено попередніми моделюваннями методом молекулярної динаміки [149,343,349,352–354,356]. Причиною цього в деяких випадках може бути короткий час моделювання, або змодельовані послідовності пар основ, які використовувалися в тих моделюваннях, або не містили А-тракту, або мали занадто довгу послідовність А-тракту. У роботах [149,150,342,343] траєкторії моделювання не перевищували 5 нс; виходячи з представлених результатів, такі короткі довжини, швидше за все, не дозволяють зібрати необхідну статистику взаємодій для описання взаємодії поліамінів з ДНК. У роботі [352] досліджувався фрагмент ДНК з нуклеотидним мотивом CG, а не AT. В роботі [353] проводили дослідження взаємодії сперміну⁴⁺ з В-ДНК і РНК, що знаходиться в А-формі подвійної спіралі, з метою дослідження процесу конденсації, індукованої молекулами поліамінів. У цьому дослідженні атоми В-ДНК були зафіксовані протягом всієї траєкторії моделювання, і це усуває природні коливання ширини жолобів, зберігаючи жолоби рівномірними вздовж подвійної спіралі. У тому ж дослідженні атоми молекули РНК і поліаміни могли вільно рухатися, і в результаті поліаміни були знайдені в головному жолобі подвійної спіралі, який, у випадку А-форми подвійної спіралі, є вузьким, ніж мінорний [14]. У роботі [357] змодельовано фрагмент В-ДНК poly(dA)poly(dT) з молекулами сперміну⁴⁺ і було виявлено, що найбільш імовірно є локалізація поліамінів у мінорному жолобі. Таким чином, наш аналіз попередніх робіт з симуляцій ДНК з поліамінами показав, що в роботах [149,150,342,343,353] ефект переважної локалізації поліамінів в А-тракті мінор-

рного жолоба не спостерігався через обрані особливості моделювання, тоді як у роботах [349,357] прослідковувалася певна специфічність поліамінів до послідовності нуклеотидів ДНК.

Наше моделювання вказує на значну перевагу зв'язування поліамінів в А-тракті мінорного жолоба ДНК. Очікується, що виявлена особливість буде важливою для розуміння біологічних механізмів функціонування ДНК у живих клітинах. А-тракт відомий як характерний мотив послідовності нуклеотидів ДНК в генах, з яким зазвичай зв'язуються білки (гістони та інші білки, що зв'язують ДНК) [102,107,112,358]. Непряме розпізнавання А-тракту білками відбувається завдяки характерним особливостям будови подвійної спіралі та впорядкованості молекул води в сайті гідратації [102,107]. Відомо, що гідратна оболонка в мінорному жолобі в області А-тракту характеризується системою з молекул води, що з'єднують атоми азотистих основ різних ланцюгів. Локалізація високзарядженої молекули поліаміну в мінорному жолобі подвійної спіралі порушує структуру гідратного хребта. Наявність поліамінів повинна також впливати на здатність до згинання ДНК в області АТ, які відрізняють цей мотив послідовності від інших і викликають деяку модуляцію еластичності макромолекули відносно нуклеотидної послідовності. Таким чином, переважна локалізація поліамінів в А-тракті мінорного жолоба ДНК має впливати на механізми нуклеїново-білкового розпізнавання і компактизації ДНК в хроматині.

7.2. Дослідження методом молекулярної динаміки індукованої спермідином³⁺ конденсації двох фрагментів ДНК

Дослідження виконано в тісній співпраці з професором Аатто Лааксоненом (*Aatto Laaksonen*) з Університету Стокгольму (Швеція), професором Франческою Моччі (*Francesca Mocci*) з Університету Кальярі (Італія), доктором Ліоном Енджелбрехтом (*Leon Engelbrecht*) з Університету Кальярі (Італія), доктором Тудором Васіліу (*Tudor Vasiliu*) з Інституту макромолекулярної хімії (Яси, Румунія). Усі етапи дослідження виконувалися спільно. Дисертант висловлює

щирі вдячність своїм колегам. Розрахунки виконано на обчислювальному кластері Шведського обчислювального центру (SNIC) і на локальних станціях Університету Кальярі та Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова Національної академії наук України. Результатами проведених досліджень опубліковано окремим розділом в колективній монографії [79] під редакцією Л.А. Булавина і М.І. Лебовки (видавництво Springer), і в статті [80] в журналі *Frontiers in Chemistry* (Q1). Результати роботи неодноразово доповідалися на наукових зібраннях різного рівня, зокрема на наукових конференціях [82–84].

7.2.1. Конденсація ДНК: експеримент та моделі. Експериментальні дані показують, що протийони із зарядом більше або рівним 3 індують компактизацію макромолекули ДНК. Цей ефект залежить від типу та концентрації протийонів [252,359]. Поліаміни спермідин³⁺ і спермін⁴⁺ індують конденсацію ДНК у випадку концентрації за якої поліаніон повністю нейтралізується поліамінами. У випадку сперміну⁴⁺ та деяких його ізомерів були встановлені ефекти посилення та інгібування активності генів у випадку низьких та високих концентрацій поліамінів відповідно [360,361]. Проблема молекулярних механізмів поліамін-індукованої конденсації ДНК належить до міждисциплінарних досліджень на границі фізики, хімії та біології.

Для опису ефектів конденсації ДНК, індукованої іонами багатовалентних металів та поліамінів, були розроблені різні теоретичні моделі (див. огляди [7,162]). У підходах статистичної механіки [362] колапс макромолекулярного ланцюга ДНК розглядався як перехід спіраль-глобула. Даний підхід потім розвивався для різних випадків стану ДНК (див. огляд [7]). Показано, що притягання між подвійними спіралями ДНК в результаті конденсації виникає внаслідок взаємодії поліаніонних макромолекул ДНК з мобільними протийонами, які у випадку заряду іонів ≥ 3 утворюють структуровану систему між двома макромолекулами, що нагадує кристал Вігнера [153]. Така модель описує притягувальний характер ДНК-ДНК взаємодії у випадку малих багатовалентних іонів, але фізичні механізми притягання, яке виникає у випадку деяких двовалентних іонів

металів (Mn^{2+} або Ca^{2+}) та видовжених молекул поліамінів, залишається не зрозумілими [162].

Для врахування особливостей розподілу протийонів навколо макромолекули ДНК в моделі електростатичної «застібки» враховано локалізацію протийонів у жолобах подвійної спіралі [363]. У цій моделі посилення притягання між різними подвійними спіралями з'являється через співставлення негативно заряджених фосфатних груп остова макромолекули з позитивно зарядженими протийонами в жолобах ДНК. Незважаючи на успіх теоретичних моделей і великі зусилля вчених, мікроскопічний механізм конденсації ДНК, викликаній гнучкими високозарядженими молекулами поліамінів (спермідин³⁺ і спермін⁴⁺), все ще потребує розгляду. У зв'язку з цим важливими є дослідження динаміки поліамінів в системах з багатьма макромолекулами ДНК. Зокрема, дослідження структурних та динамічних характеристик комплексів спермідину³⁺ з двома подвійними спіралями макромолекул ДНК різної послідовності нуклеотидів представляє значний інтерес. Тому в представленій дисертації виконано окреме моделювання для систем, що складаються з двох молекул ДНК у водному розчині з високою концентрацією спермідину³⁺.

7.2.2. Деталі молекулярно-динамічних симуляцій ДНК з спермідин³⁺. Змодельовано кілька систем, кожна з яких містила два фрагменти дуплексів В-ДНК з 22 пар нуклеотидів кожна з різною послідовністю азотистих основ: А) CGCGAATTCGCGCGAATTCGCG, В) CGCGATATCGCGCGAATTCGCG, С) CGCGATATCGCGCGATATCGCG. Початкова структура полінуклеотиду А була створена шляхом повторення послідовності додекамеру Дікерсона-Дрю [106]. два А-тракти (підкреслено в послідовності) знаходяться у фазі з поворотом оберту подвійної спіралі: один А-тракт на один виток подвійної спіралі. Аби перевірити роль А-тракту у взаємодії з поліамінами, послідовність ААТТ була замінена у фрагменті В на альтерновану послідовність АТАТ. Відомо, що А-тракти та альтерновані послідовності АТАТ мають різні структурні особливості, які також впливають на їх взаємодію з іонами [189]. У послідовності С лише один з двох А-трактів, присутніх в А, був замінений послідовніс-

тю АТАТ. Наявність двох багатих на АТ ділянок у кожній з досліджуваних послідовностей та наявність двох дуплексів ДНК у кожній елементарній комірці симуляції дає можливість дослідити особливості, що стосуються специфічності взаємодії поліамінів до послідовності нуклеотидів макромолекули ДНК.

Таким чином, побудовано три системи, що містять дві ідентичні молекули ДНК у водному розчині з спермідином³⁺, які позначено: RandA, RandB і RandC. Також було побудовано аналогічні системи, але без поліамінів: FreeA, FreeB і FreeC. Дуплекси ДНК були розміщені в центрі комірки на відстані 40 Å між осями подвійної спіралі (Рис. 7.9а). У випадку систем з спермідином³⁺ поліаміни вносилися в комірку моделювання випадковим чином із випадковою орієнтацією перед додаванням молекул води та іонів.

Таблиця 7.5. Склад систем без накладених обмежень на ДНК.

Назва	Кількість ДНК	Послідовність пар нуклеотидів	Кількість води	Кількість іонів (K ⁺ /Cl ⁻)	Кількість спермідину ³⁺
RandA	2	CGCGAATTCGCGCGAATTCGC G	69885	198/240	42
RandB	2	CGCGA- TATCGCGCGAATTCGCG	69873	198/240	42
RandC	2	CGCGATATCGCGCGA- TATCGCG	69948	198/240	42
FreeA	2	CGCGAATTCGCGCGAATTCGC G	70331	282/198	0
FreeB	2	CGCGA- TATCGCGCGAATTCGCG	70333	282/198	0
FreeC	2	CGCGATATCGCGCGA- TATCGCG	70346	282/198	0

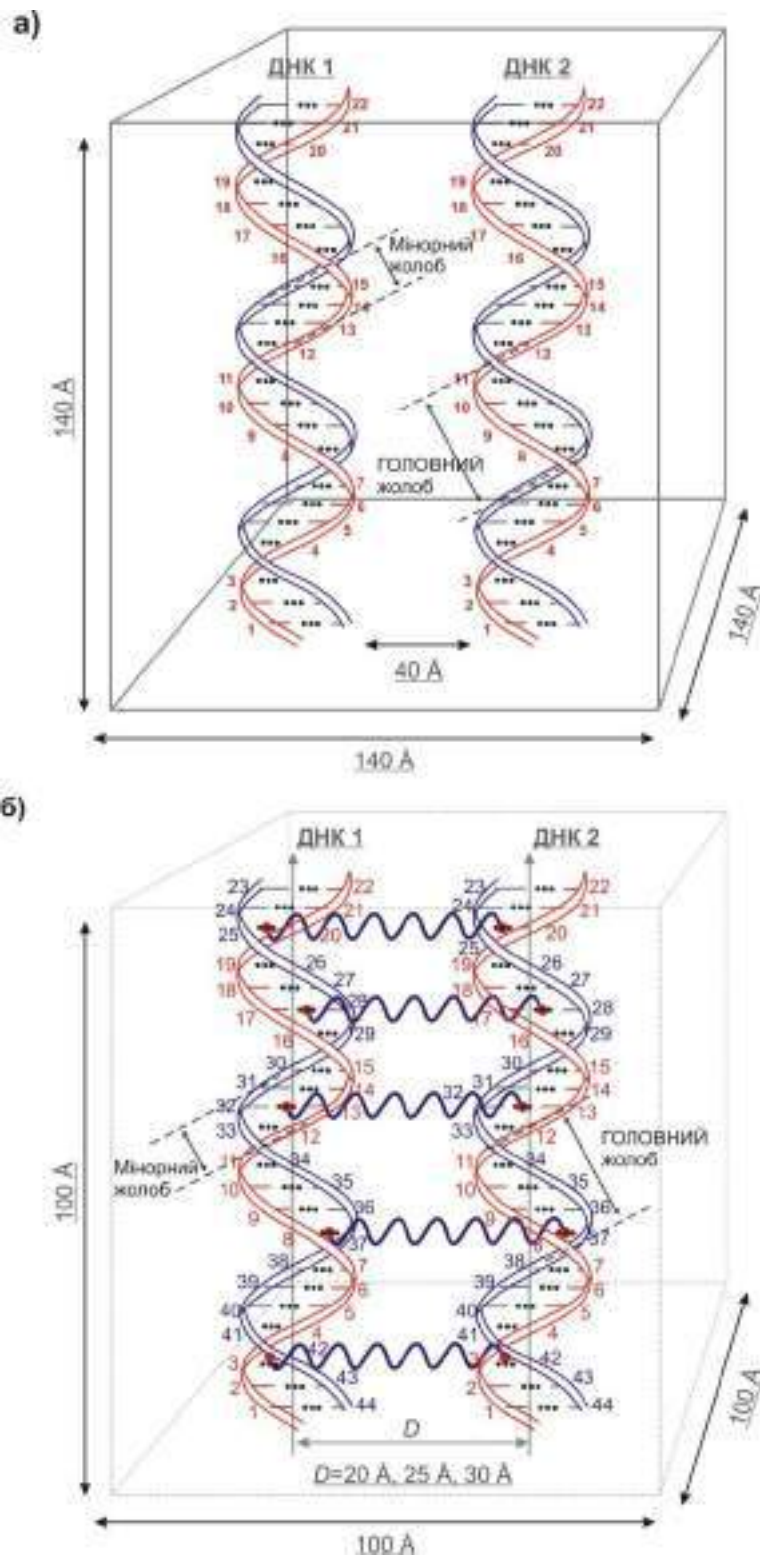


Рис. 7.9. Схематична ілюстрація відносної орієнтації двох фрагментів ДНК у вихідній конфігурації у випадку систем без накладання обмежень (а) та у випадку систем з накладеними обмеженнями (б). Вказано нумерацію пар нуклеотидів та розмір комірки для моделювання. У випадку системи з обмеженнями вказано пружини, що використовувалися для утримування макромолекул ДНК на певних відстанях. Рисунки з робіт дисертанта [79,80].

У стартовій конфігурації мінімальна відстань між поліамінами та ДНК була не менше 10 Å. Концентрацію спермідину³⁺ в системах з поліамінами вибрали достатньо великою, щоб спостерігати конденсацію макромолекул ДНК, присутніх у комірці моделювання. Як відомо, згідно з експериментальними даними, конденсацію ДНК можна спостерігати з протийонами, що мають заряд $>3+$, і співвідношенням заряду протийон-ДНК ≥ 1 [7,252]. Для того, аби за обмежений час моделювання спостерігати конденсацію ДНК у наших модельних системах сумарний заряд молекул поліамінів перевищував заряд ДНК 1,5 рази. Детальна інформація про системи наведена в Таблиці 7.5.

Для аналізу динаміки молекул поліамінів навколо макромолекул ДНК, що знаходяться на різних відстанях одна від одної, було виконано симуляцію трьох модельних систем. Кожна система містила дві ідентичні молекули ДНК, що складаються з 22 пар основ з послідовністю, ідентичною до тієї, що в системі А: CGCGAATTCGCGCGAATTCGCG. Макромолекули розміщені паралельно одна одній на відстані між осями подвійних спіралей 20, 25 і 30 Å відповідно. Системи позначено як DD-20Å, DD-25Å, DD-30Å. В кожній системі було додано однакову кількість молекул спермідину³⁺. Концентрація молекул спермідину³⁺ була такою, аби забезпечити співвідношення заряду поліамін-ДНК >1 , що необхідно для спостереження конденсації ДНК. Макромолекули утримувалися на потрібних відстанях за допомогою уявних пружин, що прикладалися до певних атомів, як показано на Рис. 7.9б.

Крім того, щоб порівняти результати з модельних систем, що містять ДНК з обмеженнями, з реальною системою з ДНК, було проведено моделювання послідовності нуклеосомної ДНК, довжиною 146 пар основ, з конфігурацією, взятою з експериментальної рентгенівської структури [364] (*Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank* ID: 2cv5). Обгортання ДНК навколо гістонового кору створює ділянку, де два сегменти дуплекса (приблизно 66 пар основ кожний) знаходяться паралельно один одному. Схематичне зображення комірки симуляції системи з нуклеосомною ДНК показано на Рис. 7.10. Склад кожної системи детально наведено в Таблиці 7.6.

Параметризація моделі ДНК та спермідину³⁺ було виконано за допомогою Amber Tools18 [365]. Макромолекули ДНК були побудовані відповідно до канонічної структури В-ДНК за Арнотом (Arnett) за допомогою інструменту для створення нуклеїнових кислот (NAB), що входить до пакету Amber18 [365]. Структура спермідину³⁺ була створена за допомогою програмного пакету Avogadro [366,367]. Параметри зв'язаних та незв'язаних (міжмолекулярних) взаємодій були взяті відповідно до силового поля AMBER версія BSC1 [368] для ДНК, а для спермідину³⁺ версія GAFF2 узагальненого силового поля AMBER (*Generalized Amber Force Field*) [369], що входить в Amber18. В симуляціях було використано модель води TIP3P [289]. Параметри для іонів K⁺ і Cl⁻ взято відповідно до силового поля *ionsjc* [370]. Нумерація атомів та заряди на атомах в молекулі спермідину³⁺ показано в Додатку Е (Рис. E14)

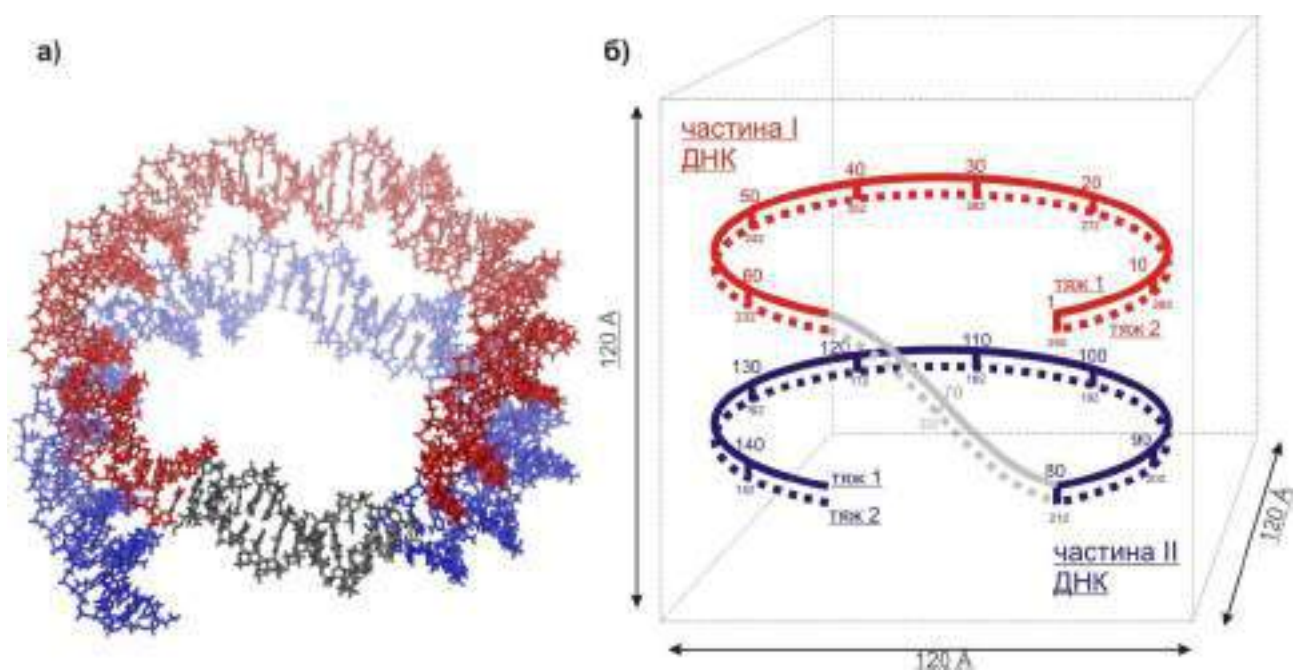


Рис. 7.10. Змодельована система нуклеосомної ДНК. а) Нуклеосомна ДНК: червоний і синій кольори вказують на частини подвійної спіралі ДНК, що перекриваються; та частина ДНК, що не перекривається показано сірим кольором. б) Схематична структура нуклеосомної ДНК у комірці симуляції. Вказана нумерація нуклеотидних пар. Рисунок з роботи дисертанта [80].

Усі комп'ютерні симуляції проводили за допомогою пакету програм GROMACS 2018 [168]. Для контролю температури при 293 К використовували термостат Нозе-Гувера [371,372], а для контролю тиску — 1 бар — баростат Паррінелло-Рахмана [373]. Довжини всіх зв'язків з атомами водню обмежували за допомогою алгоритму LINCS [288]. Далекосяжні електростатичні взаємодії обробляли за допомогою методу Евальда [291]. Відстань вимикання та обрізання для далекосяжних взаємодій було встановлено на 10 Å, а Фур'є інтервал (*Fourier spacing*) — 1,2 Å. Довжини траєкторій симуляції становили від 500 нс до 1000 нс.

Для систем DD-20Å, DD-25Å і DD-30Å, де застосовувалися обмеження, використовувався метод витягування COM з параболічним потенціалом (*umbrella potential*) [168]. Було розміщено 5 гармонійних пружин між тією ж парою основ у двох молекулах ДНК, як показано на Рис. 7.9б. Основна перевага використання цього методу стримування макромолекул на потрібній відстані, на відміну від класичних обмежень положення з фіксацією усіх атомів, полягає в тому, що молекули ДНК можуть вільно переміщуватися (поступальні рухи по комірці моделювання, обертатися відносно один одного, стискатися, подовжуватися або згинатися). Саме цей метод стримування було обрано, для того, аби мінімізувати артефакти, які можуть з'явитися через жорстку природу обмежень положень атомів. Для моделювання нуклеосомної ДНК ми використовували класичні обмеження положення, які обмежували всі важкі атоми (умі атоми, окрім H), оскільки було важливо зберегти фрагмент ДНК у специфічній «конформації нуклеосоми».

Аналіз та візуалізацію траєкторій моделювання здійснювали за допомогою програмного пакету VMD [355]. Розподіл молекул поліамінів навколо подвійної спіралі ДНК та відносну орієнтацію макромолекул досліджено за допомогою радіальних функцій розподілу (RDF). RDF було розраховано за допомогою плагіна [302], реалізованого у програмі VMD [355]. Відповідні формули для розрахунку інтегралів наведено в попередньому розділі.

Таблиця 7.6. Склад систем з накладеними на ДНК обмеженнями. У випадку нуклеосомної ДНК відстань між сегментами ДНК означає відстань між центрами частин подвійної спіралі, що перекриваються.

Назва системи	Кількість ДНК	Кількість пар нуклеотидів	Відстань між ДНК	Кількість молекул спермидину ³⁺	Кількість молекул води	Кількість іонів/ (K ⁺ /Cl ⁻)
DD-20Å	2	22	20 Å	30	31308	84/90
DD-25Å	2	22	25 Å	30	31308	84/90
DD-30Å	2	22	30 Å	30	31308	84/90
Nucleosome	1	146	25-28 Å	100	50583	156/166

Радіальні функції розподілу, що описують локалізацію поліамінів відносно атомних груп подвійної спіралі, розраховані з урахуванням лише важких атомів молекул спермидину³⁺. Для розрахунку RDF в якості референтних атомів були взяті атоми N₃, O₂ у мінорному жолобі, C₈, N₇, C₅, C_{5m}, C₆, N₆, O₆ у головному жолобі, а також атоми кисню O_{1P} та O_{2P} фосфатних груп (Рис. 7.11). Таким чином, для кожної молекули ДНК у комірці симуляції було отримано три набори радіальних функцій розподілу для спермидину³⁺: RDF відносно атомів мінорного жолоба (RDF_{MIN}), RDF відносно атомів головного жолоба (RDF_{MAJ}) і RDF відносно фосфатних груп (RDF_{PH}). Радіальні функції розподілу були розраховані для кожної молекули ДНК в елементарній комірці.

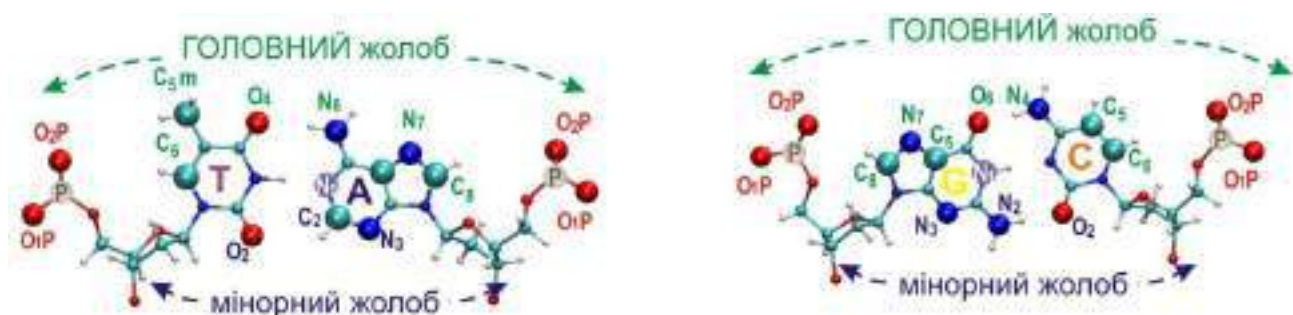


Рис. 7.11. Пари нуклеотидів ДНК та референтні атоми з боку мінорного та головного жолобів подвійної спіралі.

Для аналізу орієнтації олігомерів ДНК один щодо одного були розраховані радіальні функції розподілу кінцевих пар нуклеотидів одного олігомеру ДНК відносно кожної пари нуклеотидів іншого олігомеру ДНК. Таким чином, для кожної системи було отримано два набори радіальних функцій розподілу: RDF нуклеотидних пар 1 і 22 ДНК-1 відносно кожного з 22 нуклеотидів ДНК-2 (RDF_{DNA21}) і навпаки, RDF для пар нуклеотидів 1 і 22 ДНК-2 щодо кожного з 22 нуклеотидів ДНК-1 (RDF_{DNA12}).

Для характеристики структури подвійної спіралі ДНК, ширину мінорного та головного жолобів розраховували як найкоротшу відстань між фосфатними групами протилежних ланцюгів подвійної спіралі (Рис. 7.9а) за алгоритмом 3DNA [286,374] реалізованим в плагіні do_x3dna [287] програмного пакету VMD [355]. Ширина жолобів визначалася за правилами Хассана-Калладіна [375].

7.2.3. Розподіл молекул спермідину³⁺ навколо подвійної спіралі у випадку вільних фрагментів ДНК. Для характеристики розподілу молекул поліамінів навколо подвійної спіралі ДНК в системах RandA, RandB і RandC розраховано радіальні функції розподілу (RDF) поліамінів відносно атомів у жолобах подвійної спіралі та відносно фосфатних груп кожної пари нуклеотидів. RDF та їхні інтеграли. Одержані радіальні функції розподілу та інтеграли потім було усереднено за нуклеотидами двох молекул ДНК (Рис. 7.12).

Одержані RDF характеризуються кількома максимумами на відстані до 6 Å, які пов'язані з положеннями атомів в остові молекули спермідину³⁺. Піки RDF, що описують взаємодію між поліамінами та фосфатними групами, є різними, що вказує на те, що комплекси спермідину³⁺ з ДНК є досить жорсткими та стійкими. Середньоквадратичні відхилення (RMS), зазначені на графіку у вигляді помилок, виявляють істотну варіацію RDF з нуклеотидною послідовністю. У випадку RDF_{MIN} , що характеризує розподіл поліамінів відносно атомів мінорного жолобу ДНК, форми середніх RDF різняться для різних нуклеотидних послідовностей (Рис. 7.12).

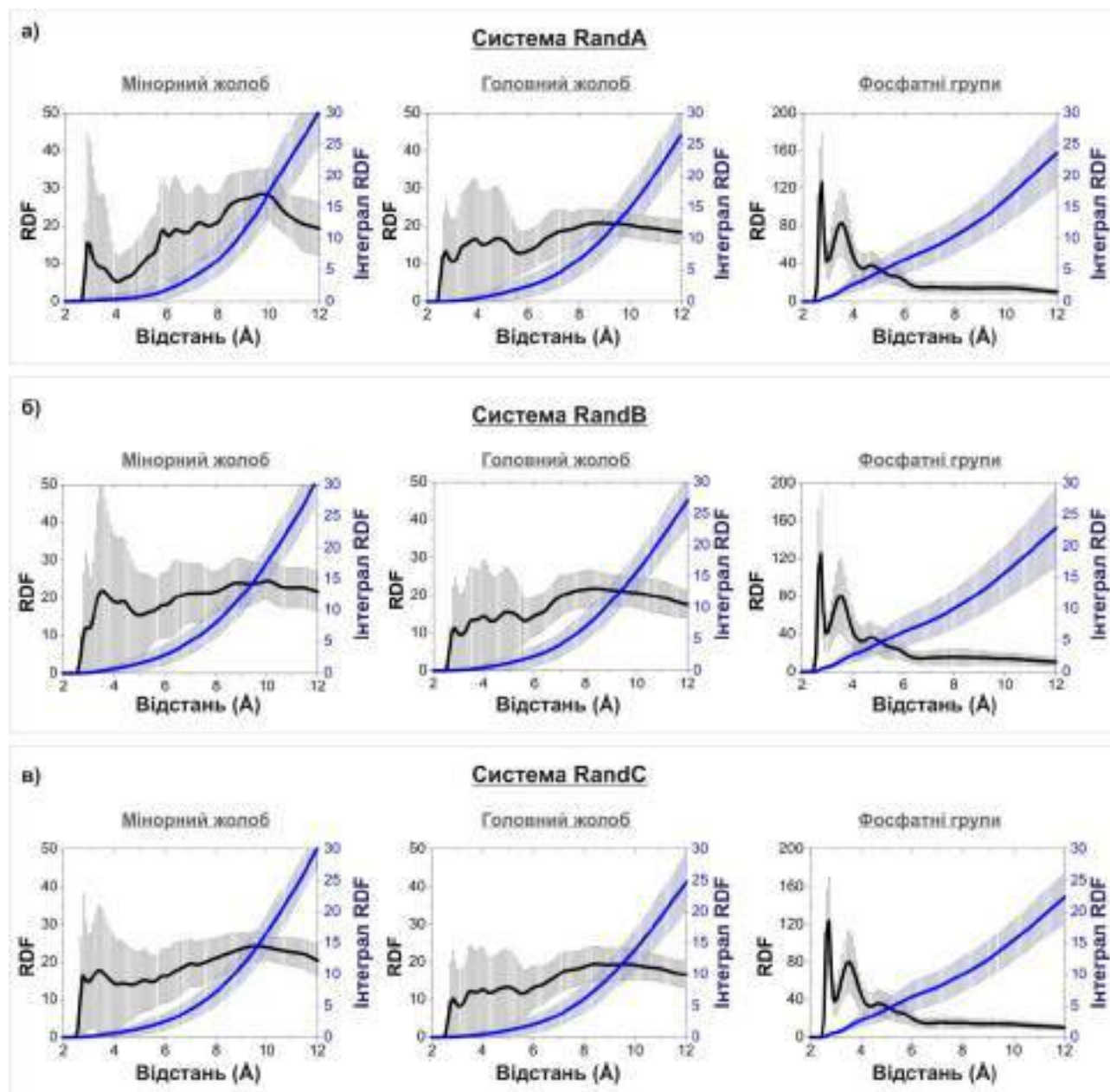


Рис. 7.12. Радіальні функції розподілу (чорний) та відповідні інтеграли (синій) для поліамінів відносно референтних атомів у міnorному жолобі (RDF_{MIN}), головному жолобі (RDF_{MAJ}) та фосфатних групах (RDF_{PH}) для систем ДНК: а) RandA з нуклеотидною послідовністю ДНК CGCGAATTCGCGCGAA-TTCGCG, б) RandB з нуклеотидною послідовністю ДНК CGCG-ATATCGCGCGAATTCGCG, в) RandC з нуклеотидною послідовністю ДНК CGCGATATCGCGCGATATTCGCG. Радіальні функції розподілу були усереднені для всіх нуклеотидів у кожній системі моделювання. Діапазон помилок показує середньоквадратичні відхилення. Рисунок з роботи дисертанта [79].

У випадку системи RandA в якій дуплекси ДНК містять два А-тракти, спостерігається чіткий пік на відстані приблизно 2,8 Å. Цей пік характеризує безпосередній контакт молекули поліаміну з атомами азотистих основ. На відстані біля 3,5 Å спостерігається плече. У випадку систем RandB, в якій ДНК містять по одному А-тракту в кожному олігомері, і RandC, в якій ДНК не мають А-трактів, перший максимум зменшується, і плече перетворюється на досить помітний максимум. Така поведінка RDF вказує на те, що для поліамінів безпосередній контакт у мінорному жолобі найбільш вірогідний у послідовності, що містить А-тракти.

Форми RDF, що характеризують локалізацію поліамінів відносно атомів головного жолоба ДНК (RDF_{MAJ}), є досить схожими для трьох досліджуваних послідовностей (Рис. 7.12). Є один чіткий пік на 2,8 Å, за яким йдуть кілька менш чітко визначених піків, відокремлених між собою менше ніж 1 Å. Ці піки виникають за рахунок атомів остова молекули поліаміну. Такі структури радіальних функцій розподілу можуть виникати через ортогональну орієнтацію молекул поліамінів по відношенню до осі подвійної спіралі.

Радіальні функції розподілу для поліамінів відносно атомів кисню фосфатних груп мають найбільш чітко виражену структуру (Рис. 7.12). Перший пік RDF_{PH} значно вищий, ніж у випадку RDF_{MIN} і RDF_{MAJ} , і розташований на відстані 2,7 Å, дещо ближче, ніж у випадку першого піку RDF для жолобів подвійної спіралі. Це є результатом електростатичного притягання позитивно заряджених молекул поліамінів та негативно заряджених фосфатних груп подвійної спіралі ДНК. Другий пік розташовується на відстані 3,5 Å і має майже на половину нижчу інтенсивність, ніж перший. Зі збільшенням відстані спостерігається кілька дуже слабких максимумів. Така структура свідчить про те, що молекули спермідину³⁺ дуже міцно зв'язуються з фосфатними групами ДНК. Наявність високого першого піку вказує на те, що молекули поліаміну, зв'язуючись з фосфатними групами, орієнтовані паралельно остову подвійної спіралі. Водночас, максимуми в області від 3 до 5 Å можуть виникати у зв'язку з переважною ортогональною орієнтацією молекул поліамінів до осі подвійної спіралі. Інтеграли RDF (сині лінії на Рис. 7.12) у випадку RDF_{MIN} і RDF_{MAJ} в діапазоні до 5 Å повільно зростають зі збільшенням

відстані, а потім крива стає гострішою. Навпаки, RDF_{PH} з самого початку збільшується майже лінійно. На відстанях $< 5 \text{ \AA}$ середня кількість частинок біля фосфатних груп становить близько 5, що значно більше, ніж у жолобах (Рис. 7.13). У випадку системи RandA кількість частинок у мінорному і головному жолобах майже однакова (Рис. 7.13а), тоді як у випадку RandB і RandC вона завжди більша в мінорному жолобі, ніж у великому жолобі (Рис. 7.13б,в).

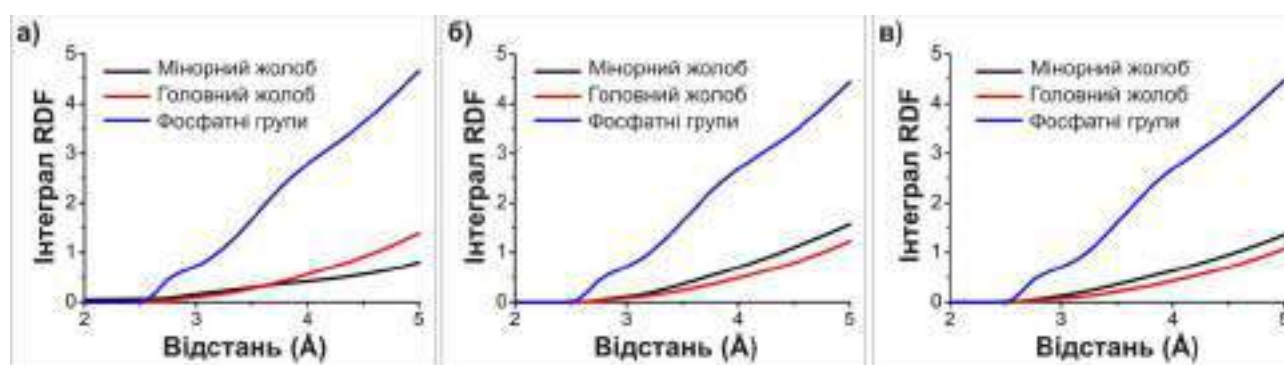


Рис. 7.13. Інтеграли радіальних функцій розподілу для поліамінів відносно атомів у мінорному та головному жолобах та фосфатних групах подвійної спіралі ДНК. а) Система RandA з нуклеотидною послідовністю ДНК CGCGAATT-CGCGCGAATTCGCG. б) система RandB з нуклеотидною послідовністю ДНК CGCGATATCGCGCGAATTCGCG. в) система RandC з нуклеотидною послідовністю ДНК CGCGATATCGCGCGATATCGCG. Рисунок з роботи дисертанта [79].

Беручи до уваги результати аналізу RDF та візуального огляду траєкторій моделювання, можна запропонувати такі моди локалізації молекул поліамінів відносно подвійної спіралі ДНК (Рис. 7.14). Молекули поліамінів можуть бути локалізовані в мінорному жолобі, головному жолобі та поблизу фосфатних груп за межами подвійної спіралі. Найімовірнішою є взаємодія поліамінів із фосфатними групами ДНК, і в цьому випадку молекули поліаміну здебільшого орієнтовані паралельно до остова подвійної спіралі (Рис. 7.14а). У випадку системи RandA локалізація поліамінів в мінорному жолобі, паралельно осі подвійної спіралі (Рис. 7.14б), є найбільш частою в областях А-тракту. У всіх розглянутих системах також зазвичай спостерігається орієнтація спермідину³⁺, ортогональна до осі спіралі. Способи локалізації поліаміну суттєво залежать від конкретної нуклеотидної послідовності та від відносної орієнтації олігомерів ДНК.

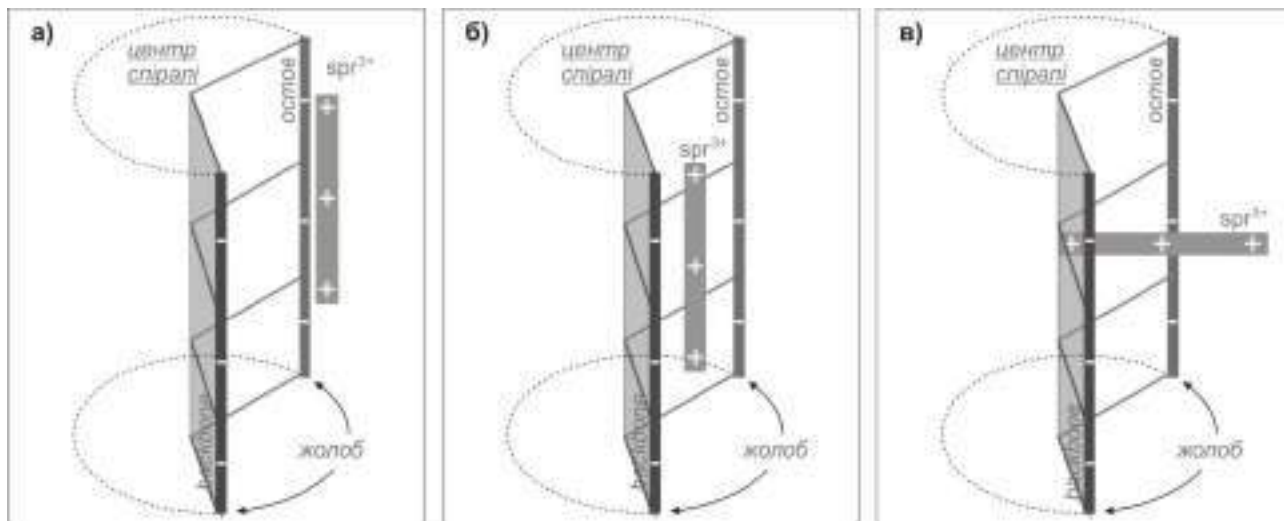


Рис. 7.14. Моді локалізації поліамінів навколо подвійної спіралі ДНК. а) Паралельна орієнтація поблизу фосфатних груп за межами подвійної спіралі. б) Паралельна орієнтація поліаміну в мінорному або головному жолобі подвійної спіралі. в) Ортогональна орієнтація молекули поліамінів, що частково проникли в мінорний або головний жолоб подвійної спіралі. Рисунок з роботи дисертанта [79].

На Рисунку 7.15 представлено чотири набори знімків, що описують моді локалізації поліаміну навколо подвійної спіралі ДНК на прикладі системи RandA. Кожен набір представляє положення відносно молекули ДНК даної молекули поліаміну вздовж усієї траєкторії. Різне забарвлення молекули поліаміну використовується для представлення різних моментів часу, як вказано в підписі до рисунку. Слід зазначити, що остов ДНК рухається під час траєкторії, і для наочності представлення показано лише початкову структуру ДНК. На першому наборі знімків у верхньому рядку положення молекули поліаміну змінюється з часом, і можна побачити всі три моді орієнтації поліаміну, описані на Рис. 7.14. Спочатку (перші 100 нс) спермідин³⁺ орієнтований ортогонально до макромолекули, частково проникає в мінорний жолоб подвійної спіралі, що відповідає типу взаємодії, схематично показаному на Рис. 7.14в. Потім він потрапляє всередину мінорного жолоба (мода, описана на Рис. 7.14б), де залишається близько 50 нс. У заключній частині траєкторії моделювання молекула поліаміну виходить з мінорного жолоба і прилипає до остова макромолекули за межами подвійної спіралі.

Вигляд спереду

Вигляд збоку

Вигляд згори

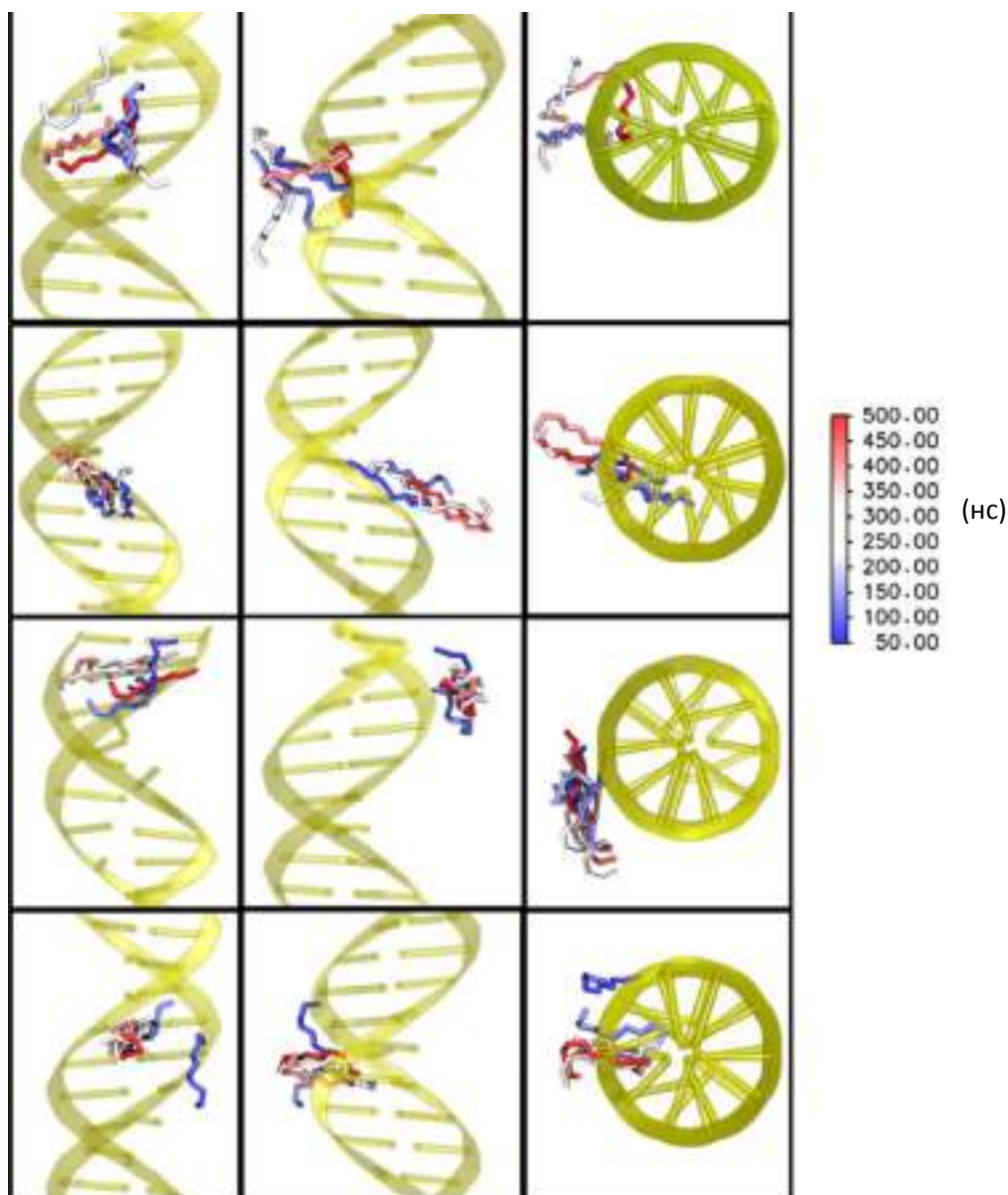


Рис. 7.15. Миттєві знімки, що представляють орієнтацію відносно ДНК для деякої молекули спермідину³⁺ з використанням вигляду спереду, збоку та зверху. Кожен рядок зображень представляє траєкторію однієї молекули поліаміну. Кольорова схема відповідає часу (шкала праворуч). У верхньому рядку показаний випадок, коли в різний час використовуються різні способи локалізації поліаміну. Другий рядок ілюструє моду паралельної орієнтації для поліаміну в головному пазу. Третій рядок показує моду паралельної орієнтації спермідину³⁺ поблизу фосфатних груп за межами подвійної спіралі. Внизу показана мода ортогональної орієнтації з молекулою поліаміну, частково зануреного в мінорний жолоб. Рисунок з роботи дисертанта [79].

Візуальний аналіз показав, що молекула спермідину³⁺ протягом майже усієї траєкторії моделювання залишається в деякому визначеному місці зв'язування, приймаючи лише один із типів взаємодії, описаних на Рис. 7.14. Другий ряд знімків на Рис. 7.15 описує випадок молекули поліаміну, локалізованої всередині головного жолоба подвійної спіралі протягом усієї траєкторії моделювання. Цей випадок взаємодії поліаміну з ДНК пов'язаний з модою взаємодії, що схематично показана на Рис. 7.14б. Третій ряд знімків (Рис. 7.15) ілюструє моду взаємодії з молекулою поліаміну поза подвійною спіраллю, що схематично показано на Рис. 7.14а. У нижньому рядку (Рис. 7.15) показаний випадок ортогональної орієнтації поліамінів, що відповідає моді на Рис. 7.14в.

7.2.4. Залежність характеру розподілу молекул спермідину³⁺ від послідовності пар нуклеотидів ДНК. Для вивчення специфічності послідовності зв'язування поліаміну з ДНК інтегральні значення середніх RDF що представлені на Рис. 7.12, було проаналізовано більш детально, розглянувши окремо RDF відносно кожної пари основ ДНК. Враховуючи, що перший мінімум RDF знаходиться на відстані ≥ 3 Å, в залежності від області подвійної спіралі, інтеграли розраховані до 4 Å, прийняті як репрезентативна відстань для порівняння координаційних чисел, отриманих з різних RDF.

Залежність координаційних чисел від нуклеотидної послідовності показано на Рис. 7.16 разом із шириною жолоба, аби можна було виявити кореляцію двох властивостей, оскільки специфічність зв'язування поліаміну з деякими нуклеотидними послідовностями ДНК пов'язана з цим структурним параметром (див. п. 7.2).

У мінорному жолобі (Рис. 7.16а) значення координаційних чисел показують явну перевагу у випадку областей, багатих на пари нуклеотидів А-Т. У випадку систем з молекулами ДНК, які мають одну або дві нуклеотидні послідовності АТАТ (RandB і RandC), координаційні числа поліамінів мають максимуми в цих областях. У випадку RandA, що має дві послідовності ААТТ, найвище значення координаційного числа спостерігається в одній з областей А-тракту,

тоді як воно залишається дуже низьким в іншій області А-тракту, що містить пари основ з номерами від 5 до 8. Така асиметрія у взаємодії ДНК з протийонами, порівнюючи два А-тракти паліндромної послідовності нуклеотидів, зумовлена асиметричною взаємодією між двома дуплексами після конденсації двох молекул ДНК. В А-тракті ДНК системи RandB координаційне число поліаміну не демонструє високих піків, які коливаються в межах від 0,5 до 1.

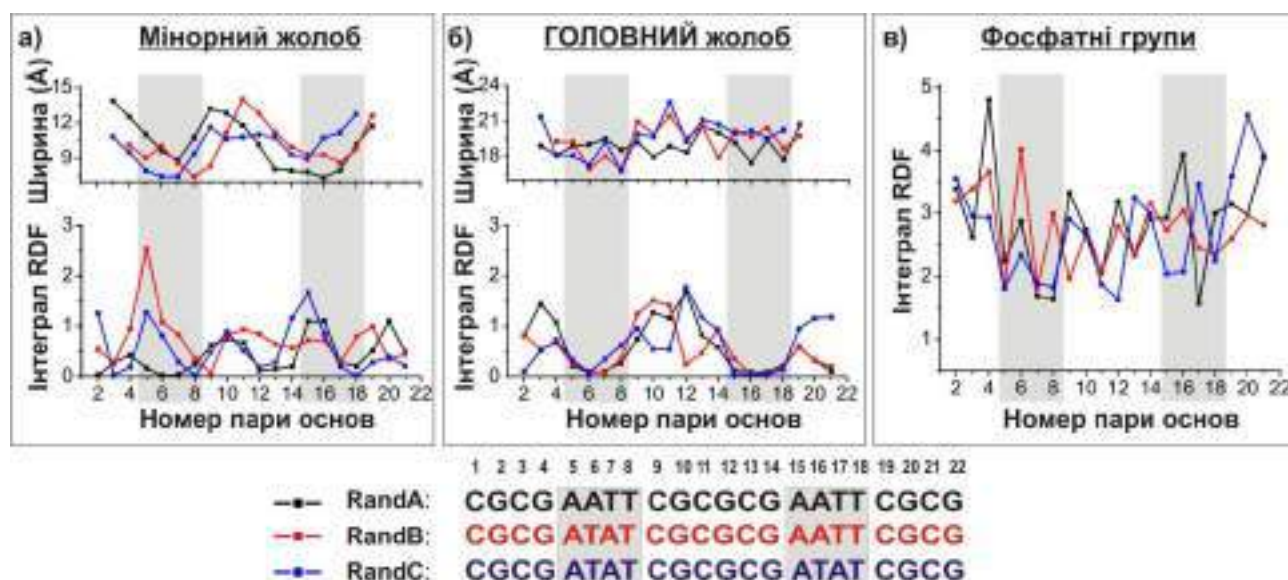


Рис. 7.16. Залежність інтегралів радіальних функцій розподілу для поліамінів відносно ДНК, розрахованих до відстані 4 Å від референтних атомів ДНК, для трьох різних нуклеотидних послідовностей. а) Інтеграли RDF для області мінорного жолоба. Ширина мінорного жолоба вказана зверху. б) Інтеграли RDF для області головного жолоба. Ширина головного жолоба вказана зверху. в) Інтеграли RDF для області навколо фосфатних груп ДНК. Три комплементарні послідовності показані внизу. Для візуальної орієнтації області AATT і ATAT позначені сірим кольором. Рисунок з роботи дисертанта [79].

Слід зазначити, що молекули спермідину³⁺ спостерігаються в мінорному жолобі в центральній частині фрагментів ДНК у випадку всіх змодельованих систем з поліаміни. Порівнюючи ширину мінорного жолоба з координаційними числами, можна зробити висновок, що в областях з більшою шириною мінорного жолоба (тих, у яких чергуються пари основ C-G) зайнятість не досягає ви-

соких піків, як це у випадку областей з парами основ А-Т. Більше того, у випадку альтернованої нуклеотидної послідовності А-Т координаційне число досягає вищих значень, ніж в А-трактах.

У випадку головного жолоба (Рис. 7.16б) значення інтегралів RDF зменшуються майже до нуля в областях з нуклеотидними послідовностями ААТТ та АТАТ у всіх модельованих системах. При цьому в області CGCG в середині фрагментів ДНК спостерігається збільшення координаційних чисел, що досягають значень, подібних до тих, що спостерігаються для максимумів в АТ-областях мінорного жолоба. На кінцях макромолекул також спостерігається збільшення координаційних чисел. Якщо порівняти ширину головного жолоба, усереднену за двома молекулами ДНК (у верхній частині Рис. 7.16б), з координаційним числом спермідину³⁺, то кореляції не виявлено. Відсутність поліамінів, локалізованих в головному жолобі біля пар нуклеотидів А-Т, може бути пов'язана з кількістю атомних груп, які діють як акцептори Н-зв'язку. Через СН₃ групу тиміну кількість акцепторних груп менша, ніж у випадку нуклеотидної пари С-Г. В результаті молекули поліаміну в головному жолобі утворюють менше Н-зв'язків з акцепторними атомами ДНК в областях поблизу нуклеотидних пар А-Т. Такий же ефект спостерігався при моделюванні ДНК за допомогою сперміну⁴⁺ [349].

В області поблизу фосфатних груп координаційні числа змінюються випадковим чином з послідовністю нуклеотидів. Проте спостерігається деяка тенденція до збільшення на кінцях фрагментів ДНК. Враховуючи, що в центрі фрагмента ДНК електростатичне поле сильніше, ніж на кінцях, для центральної частини ДНК очікується збільшення значень інтегралів RDF. Такий перерозподіл поліамінів може бути пов'язаний з ДНК-ДНК взаємодією, що буде обговорено далі.

Для того, аби оцінити вплив поліамінів на ширину мінорного і головного жолобів, ці параметри були розраховані як з поліаміном, так і без нього і показано на Рисунку 7.17 для кожної з молекул ДНК. Видно, що за наявності поліамінів (системи RandA, RandB, RandC) ширина мінорного жолоба значно зменшується в областях з нуклеотидними послідовностями ААТТ та АТАТ (Рис.

7.17а). Ширина мінорного жолоба в цих ділянках знаходиться в межах 6 – 8 Å. В центрі та на кінцях фрагмента ДНК, де присутні пари нуклеотидів CG, мінорний жолоб досить широкий у випадку всіх систем з поліамінами (близько 13 – 14 Å), за винятком однієї з молекул RandC. Незважаючи на симетричну локалізацію нуклеотидних ділянок ААТТ і АТАТ, звуження жолобів не є симетричним і загалом не є рівномірним.

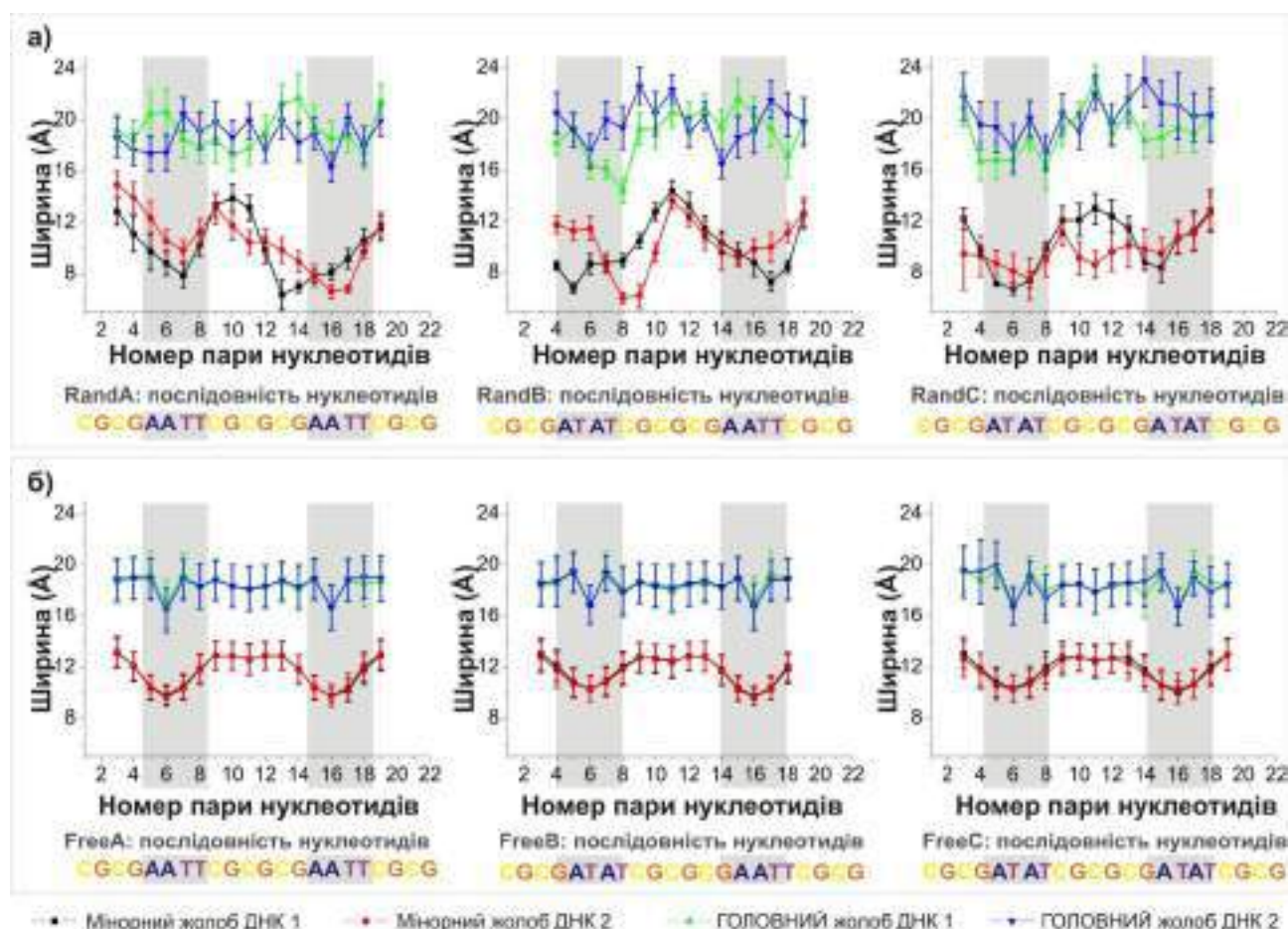


Рис. 7.17. Залежності ширини мінорного та головного жолобів від нуклеотидної послідовності у випадку різних систем. а) Системи ДНК з молекулами спермидину³⁺: RandA, RandB і RandC. б) Системи ДНК без молекул спермидину³⁺: FreeA, FreeB і FreeC. Ширина жолобів була усереднена за траєкторіями моделювання, а інтервали помилок показують середньоквадратичні відхилення. Параметри були розраховані для кожного олігомеру ДНК у комірці моделювання. Внизу показано послідовності пар нуклеотидів олігомеру ДНК у випадку кожної системи. Області ААТТ і АТАТ позначено сірим кольором. Рисунок з роботи дисертанта [79].

Вплив спермідину³⁺ на звуження мінорного жолоба можна визначити, порівнявши той самий параметр, розрахований для тієї ж послідовності в системах без поліаміну (системи FreeA, FreeB і FreeC). Результати (Рис. 7.176) показують, що навіть за відсутності поліамінів ширини мінорних жолобів подвійних спіралей є вужчими в областях з нуклеотидними послідовностями ААТТ і АТАТ (близько 9 Å). Примітно, що у випадку області ААТТ ширина мінорного жолоба приблизно на 0,5 Å вужча, ніж в нуклеотидній послідовності АТАТ. Ця властивість структури подвійної спіралі добре відома для таких специфічних нуклеотидних послідовностей [376].

Ширина головного жолоба подвійної спіралі також залежить від послідовності нуклеотидів, але вона не така помітна, як у випадку мінорного жолоба. Середнє значення ширини жолоба становить біля 19 Å. У випадку систем без поліамінів (FreeA, FreeB і FreeC) відбувається звуження головного жолоба до 16 Å в центрі областей ААТТ і АТАТ (Рис. 7.176). Це звуження знаходиться в межах середньоквадратичного відхилення ширини жолоба, але систематично повторюється. У випадку систем з поліамінами (RandA, RandB, RandC) головний жолоб загалом звужується і залежність від послідовності нуклеотидів нерегулярна (Рис. 7.176).

7.2.5. Характеристика ДНК-ДНК взаємодії. В представленому молекулярно-динамічному дослідженні комірки моделювання містили два олігомери ДНК, які не є фіксованими і взаємодіють один з одним. У випадку системи ДНК з поліамінами (RandA, RandB, RandC) у наших моделюваннях слід також спостерігати ефект конденсації ДНК, який спостерігається експериментально [153]. Візуальний аналіз траєкторій моделювання показав, що ДНК-ДНК контакти відбуваються переважно через утворення комплексів на кінцях олігомерів. Тому для вивчення взаємодій між олігомерами ДНК були розраховані RDF кінцевих пар нуклеотидів одного з двох олігомерів ДНК відносно кожної пари нуклеотидів іншого олігомеру. Отримані RDF у випадку систем ДНК з поліамінами наведені на рисунку 7.18.

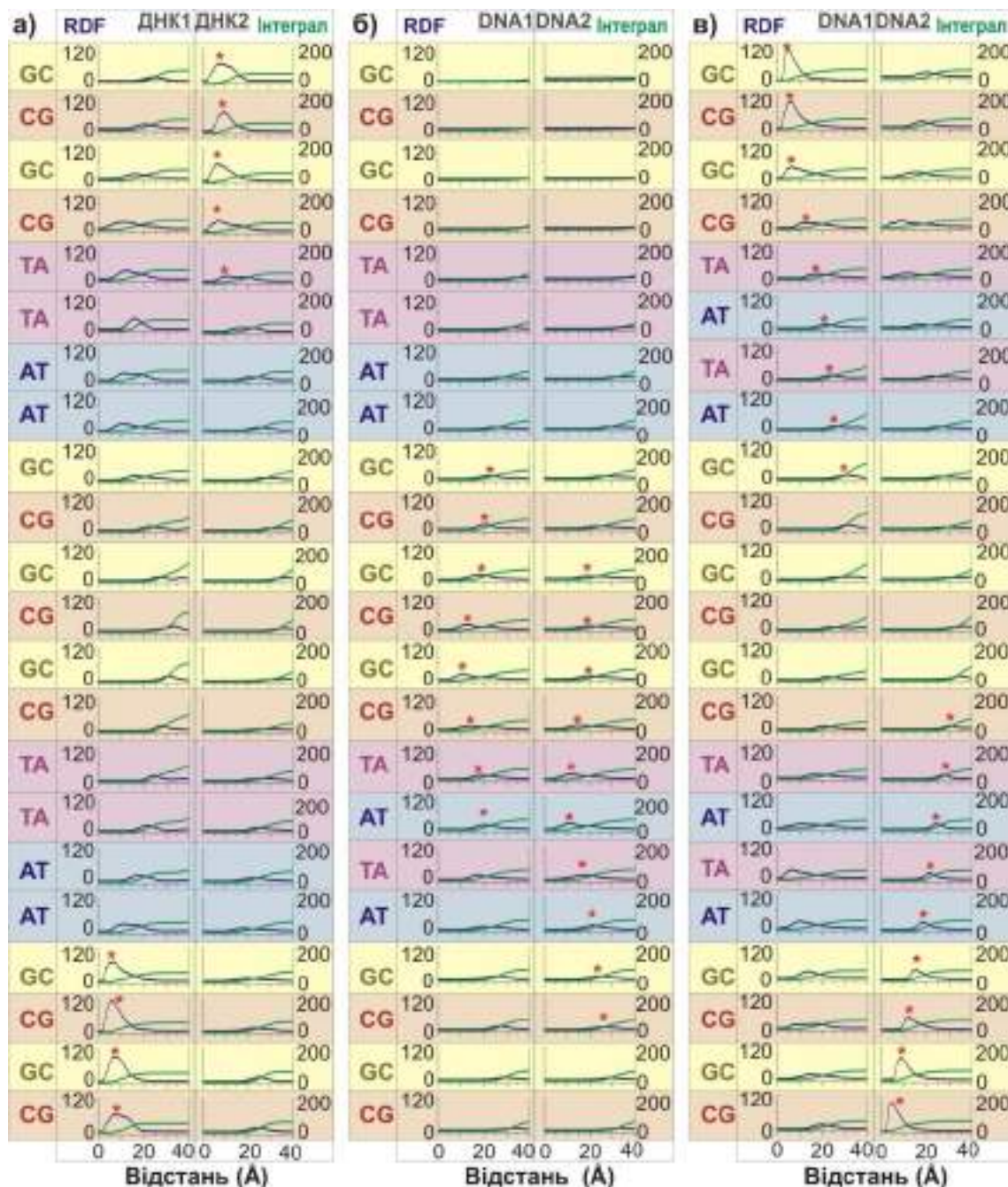


Рис. 7.18. Радіальні функції розподілу та їхні інтеграли для кінцевих пар нуклеотидів одного олігомеру ДНК відносно кожної пари нуклеотидів іншого олігомеру ДНК. Системи моделювання: а) RandA – олігомери ДНК CGCG-AATTCGCGCGAATTCGCG; б) RandB – олігомер ДНК CGCGATATCGCGCG-AATTCGCG; в) RandC – олігомер ДНК CGCGATATCGCGCGATATCGCG. RDF та їх інтеграли показані синіми та зеленими лініями відповідно на подвійній діаграмі для кожної пари нуклеотидів. Послідовність пар нуклеотидів показана зліва різними кольорами. Червоними зірочками позначені максимуми RDF, які відповідають ДНК-ДНК контактам. Рисунок з роботи дисертанта [79].

Максимуми отриманих RDF характеризують контакти нуклеотидних пар однієї молекули ДНК з кінцями іншої молекули ДНК. Положення та інтенсивність максимумів є проявом структури ДНК-ДНК комплексів. Найкоротша відстань між молекулами ДНК відповідає за перший максимум RDF, який знаходиться на відстані приблизно 10 Å. Олігомери ДНК, які локалізовані на такій відстані, знаходяться у безпосередньому контакті.

Для ДНК в системах RandA і RandC високі максимуми RDF спостерігаються на кінцях макромолекул (максимуми позначені червоними зірочками на Рис. 7.18). Інтенсивність цих максимумів поступово зменшується при віддаленні пари нуклеотидів від кінця до центру макромолекули, а положення цих максимумів віддаляються на більшу відстань. Таке зникнення максимумів RDF вказує на те, що різні молекули ДНК взаємодіють через кінцеві нуклеотиди, утворюючи комплекси.

У випадку ДНК у системі RandB ДНК-ДНК контакти спостерігаються між нуклеотидами, які знаходяться ближче до центральної частини макромолекули (Рис. 7.18б), тому RDF, які використовуються для аналізу контактів з кінцями ДНК молекули не демонструють помітних максимумів. Візуальне дослідження траєкторій показує, що ДНК-ДНК комплекси в системах з сперимідином³⁺ утворюються з нуклеотидами з номерами 3 – 5 кожної молекули ДНК (Рис. 7.18). У комплексі молекули поліаміну локалізовані паралельно остову ДНК і утворюють поперечні зшивки між негативно зарядженими фосфатними групами. Одна позитивно заряджена молекула поліаміну може координуватися двома або трьома ланцюгами негативно заряджених фосфатних груп остова ДНК тих самих або різних макромолекул.

У випадку систем ДНК без молекул поліамінів (FreeA, FreeB і FreeC) RDF кінцевих нуклеотидів однієї молекули ДНК відносно нуклеотидів іншої макромолекули ДНК показують наявність помітних максимумів лише у випадку системи FreeA (Додаток Е, Рис. Е15). Положення цих максимумів можуть знаходитися навіть ближче 10 Å, а їхня інтенсивності – зменшуються зі збільшенням відстані, як у випадку систем RandA і RandC.

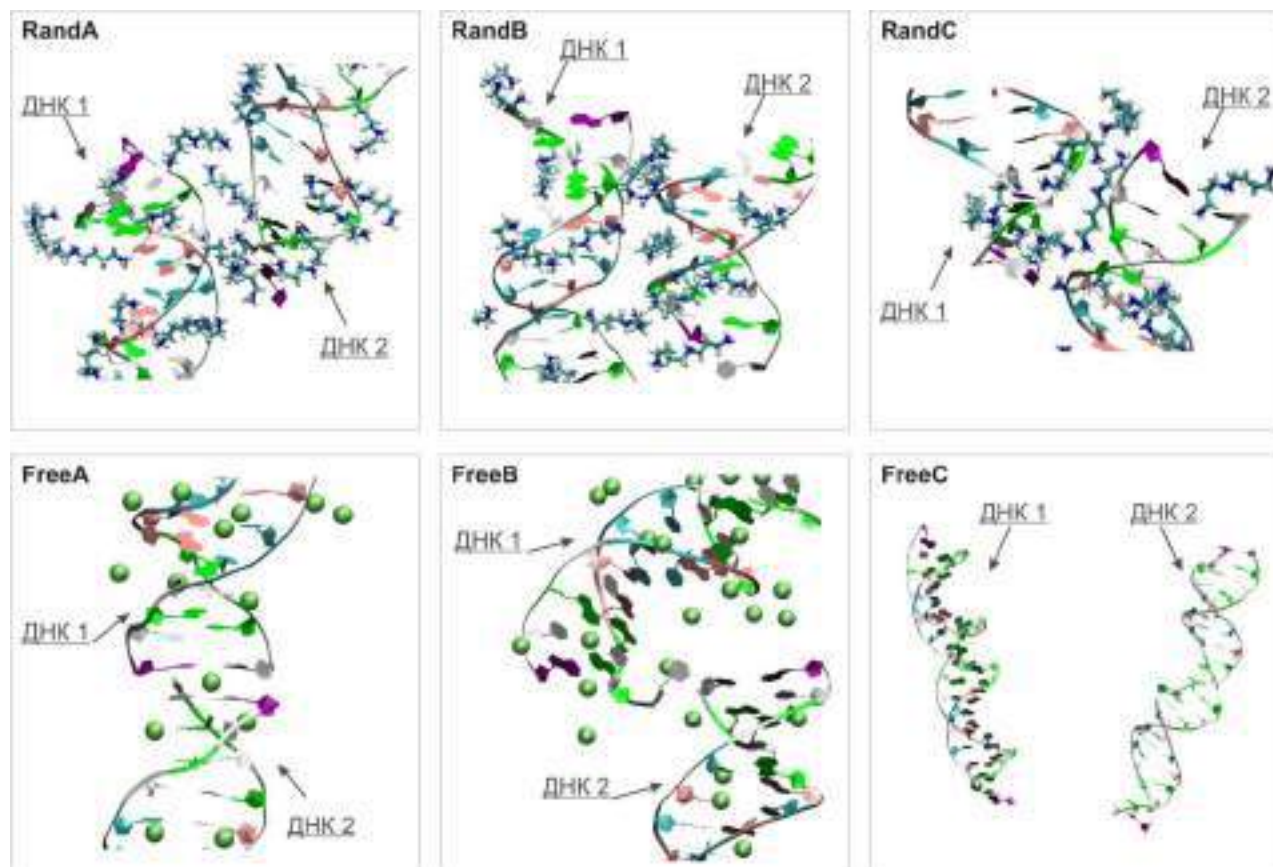


Рис. 7.19. Знімки комплексів олігомерів ДНК у випадку різних систем моделювання для ДНК з поліамінами і без. Рисунок з роботи дисертанта [79].

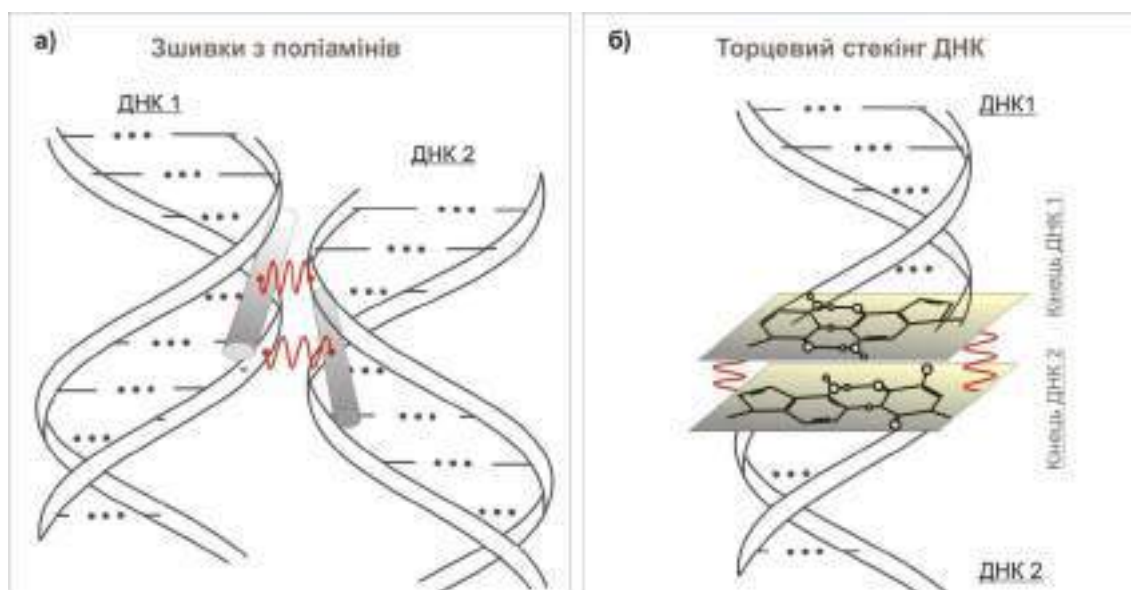


Рис. 7.20. Схеми типів ДНК-ДНК комплексів. а) Опосередкований поліаміном комплекс, де поліаміни координуються фосфатними групами різних ланцюжків ДНК (схематично показано червоними пружинками). б) Торцевий комплекс, що утворюється за рахунок стекінг взаємодії кінцевих нуклеотидів різних олігомерів ДНК (схематично показано червоними пружинками). Рисунок з роботи дисертанта [79].

Утворення таких максимумів не пов'язане з електростатичним екрануванням фосфатних груп, як у випадку систем з поліамінами, а пов'язане з стекінг взаємодіями кінцевих нуклеотидних основ різних макромолекул (Рис. 7.19). Утворення ДНК-ДНК контактів у випадку інших систем без молекул поліамінів (FreeB і FreeC) не спостерігалось.

Таким чином, отримані результати показують, що взаємодії між олігомерами ДНК спостерігалися переважно в системах зі спермідином³⁺, але в деяких випадках контакти ДНК-ДНК були присутні і в системах без поліамінів. Проте слід зазначити, що структура комплексів та механізми їх утворення у системах з поліамінами та без них є різними. У випадку ДНК з поліамінами два олігомери ДНК зв'язуються один з одним завдяки утворенню поліамінових поперечних зшивок між різними макромолекулами (Рис. 7.20а). Центральною частиною поперечних зшивок є молекула спермідину³⁺, яка координується негативно зарядженими фосфатними групами, що належать до остова різних макромолекул. У випадку систем без поліамінів механізм утворення ДНК-ДНК комплексу пов'язаний з утворенням стійкого стекінг-контакту між кінцевими парами нуклеотидів різних макромолекул (Рис. 7.20б). Такі типи ДНК-ДНК контактів, можливо, пов'язані тим, що в представленому моделюванні використовувалися короткі фрагменти ДНК, які, ймовірно, не є релевантними в біологічних системах через суттєву довжину природної ДНК. Однак цей ефект може бути цікавим для технологічних застосувань, де можуть використовуватися короткі фрагменти ДНК. Зокрема, при високих концентраціях полінуклеотидів спостерігали рідкокристалічну фазу коротких фрагментів ДНК, що мають торцеві контакти [377]. Системи, які були розглянуті, дійсно моделюються в умовах, в яких може відбуватися утворення такої рідкокристалічної фази.

7.2.6. Розподіл спермідину³⁺ в міжспіральній області на різних відстанях між ДНК. Для характеристики взаємної орієнтації спіралей ДНК для всіх змодельованих систем було розраховано RDF між атомами Р однієї молекули ДНК відносно до атомів Р іншої молекули ДНК (RDF_{DD}). Для визна-

чення нуклеотидів, що мають найбільш вірогідні міжмолекулярні контакти, було визначено значення RDF_{DD} на відстані 6,4 Å для кожного атома Р кожного фрагменту ДНК. Ці значення будемо називати далі координаційними числами і позначати CN (Рис. 7.21).

Радіальні функції розподілу, представлені на Рис. 7.21, отримані в результаті усереднення RDF_{DD} для двох паралельних спіралей (або ділянок ДНК у випадку нуклеосомної ДНК). Детальні RDF_{DD} для кожної макромолекули ДНК (ДНК1 і ДНК2) показано на Рис. E16 в Додатку E. Перший максимум RDF_{DD} відповідає тісним контактам між паралельними подвійними спіралями. Цей тип взаємодії, детально описаний нижче, включає групу(и) NH_2^+ або NH_3^+ однієї або кількох молекул спермідину³⁺, що з'єднують атоми О фосфатних груп двох подвійних спіралей (контакти О-ННН-О). У випадку системи DD-20Å, де відстань між двома спіралями є найменшою серед змодельованих систем, RDF характеризуються двома різкими піками приблизно на 5 Å і 6 Å (Рис. 7.21a). Широка смуга від 8 Å до 14 Å обумовлена іншими фосфатними групами ланцюгів ДНК; ця смуга не є інформативною для аналізу ДНК-ДНК взаємодії і не розглядається далі.

Радіальні функції розподілу RDF_{DD} для системи DD-25Å мають досить регулярну форму з помітним максимумом близько 5,5 Å і мінімумом приблизно на 6,5 Å (Рис. 7.21б). Як і у випадку системи DD-20Å, перший максимум виникає через опосередковані аміногрупою(ами) ДНК-ДНК контакти типу О-ННН-О. Це означає, що навіть у випадку систем, де молекули ДНК мають обмеження, що було накладено для утримання макромолекул на відстані 25Å між центром вибраних пар основ, наявність спермідину³⁺ в області між двома макромолекулами ДНК викликає притягання між ними, що індукує вигин спіралі для досягнення тісного контакту, опосередкованого поліаміном. Проте інтенсивність першого піку значно зменшена в порівнянні з системою DD-20Å.

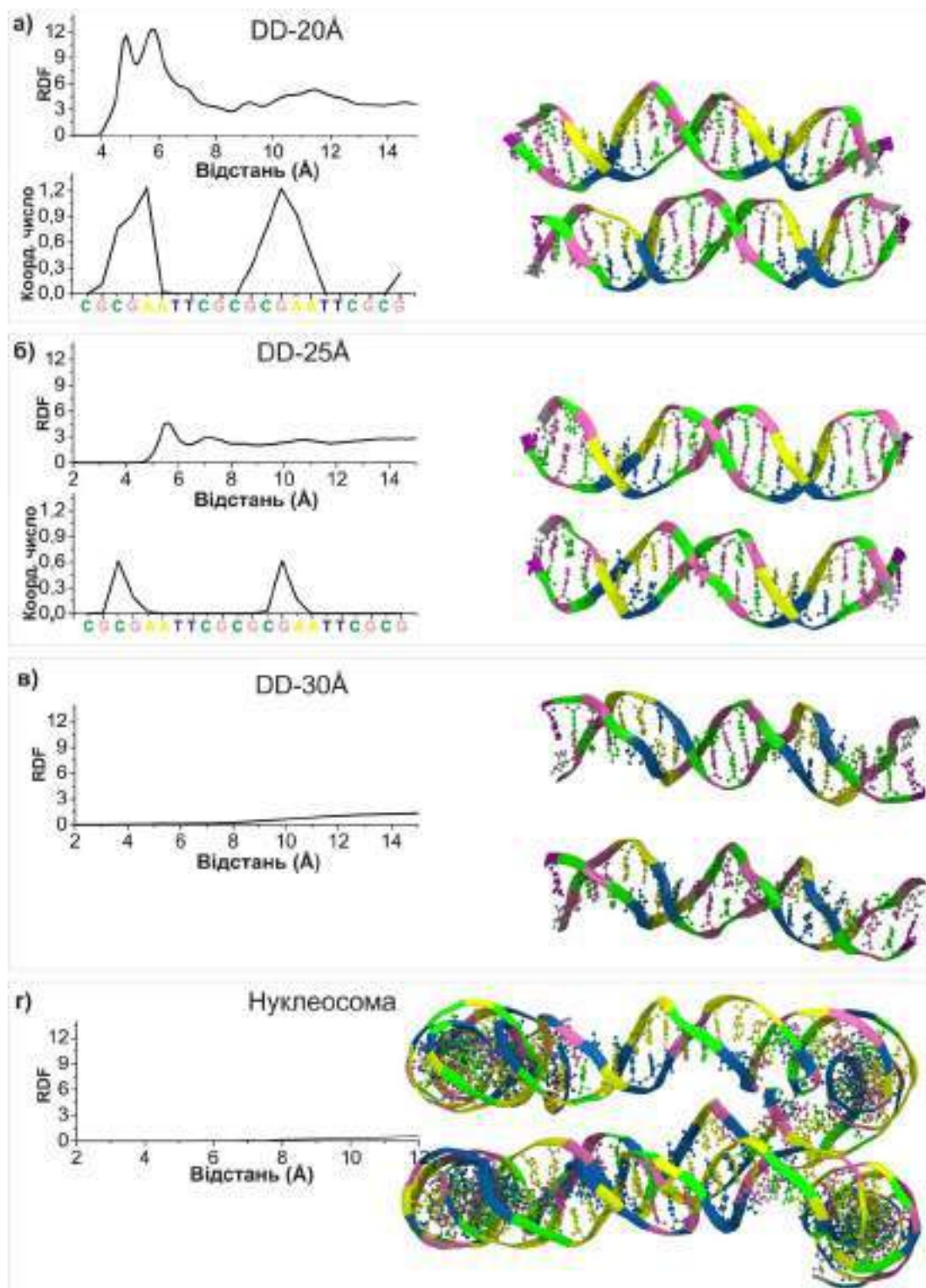


Рис. 7.21. Ліворуч: RDF_{DD} та значення їхніх інтегралів на відстані 6,4 Å. RDF_{DD} розраховані між атомами Р фосфатних груп різних фрагментів подвійних спіралей ДНК для різних систем: DD-20Å (а), DD-25Å (б), DD-30Å (в), нуклеосомна ДНК (г). Праворуч: моментальні знімки кожної системи. Схема кольорів: аденін (А) – жовтий; тимін (Т) – синій; цитозин (С) – зелений; гуанін (G) – рожевий. Спермідин³⁺, вода та іони K⁺ та Cl⁻ не показано для ясності. Рисунок з роботи дисертанта [80].

У випадку системи DD-30Å RDF_{DD} немає помітних максимумів на коротких відстанях, оскільки макромолекули утримуються на занадто великій відстані для утворення ДНК-ДНК контактів, опосередкованих О-HNH-О (Рис. 7.21в). Подібно до того, що спостерігається для системи DD-30Å, RDF_{DD} нуклеосомної ДНК (Рис. 7.21г) характеризуються дуже низькими значеннями на коротких відстанях і поступовим збільшенням зі збільшенням відстані, без будь-якого відповідного максимуму. Важливо відзначити, що атоми фрагмента ДНК нуклеосоми в нашому моделюванні зафіксовано, а його RDF_{DD} описують розподіл, що змодульований експериментальною структурою.

Аби визначити, чи можуть міжспіральні контакти формуватися з однаковою ймовірністю в будь-якому положенні спіралей, або, навпаки, чи є деякі регіони макромолекул переважними для взаємодії, RDF_{DD} були розраховані окремо для кожного нуклеотиду, і були розраховані значення інтегралів на відстані 6,5 Å. Ці значення є координаційним числом (CN). У випадку системи DD-20Å, найвищі CN спостерігаються в областях поблизу областей з А-трактами. Піки CN локалізуються в областях, де мінорні жолоби DNA1 і DNA2 повернуті один до одного, як показано на моментальному знімку (Рис. 7.21а), утворюючи «сендвіч-структуру»: мінорний жолоб – молекула спермідину³⁺ – мінорний жолоб. У системі DD-25Å через більшу відстань між макромолекулами, ДНК не приймають однакову орієнтацію, аби мінорні жолоби були напрямлені один до одного. Це наводить на думку, що «сендвіч-структура» вимагає певної відстані між макромолекулами ДНК. Контакти між двома спіралями відбуваються приблизно в тих же областях, що і для DD-20Å, з набагато меншими величинами координаційних чисел CN.

У системі DD-30Å немає тісних контактів між двома молекулами ДНК. Для систем з нуклеосомною ДНК відстань між паралельними частинами макромолекули (частина 1 і частина 2) знаходиться в діапазоні відстаней між DD-25Å і DD-30Å. Незважаючи на значну відстань між осями подвійної спіралі, наявні конформації, де мінорні жолоби різних фрагментів ДНК повернуті один до одного.

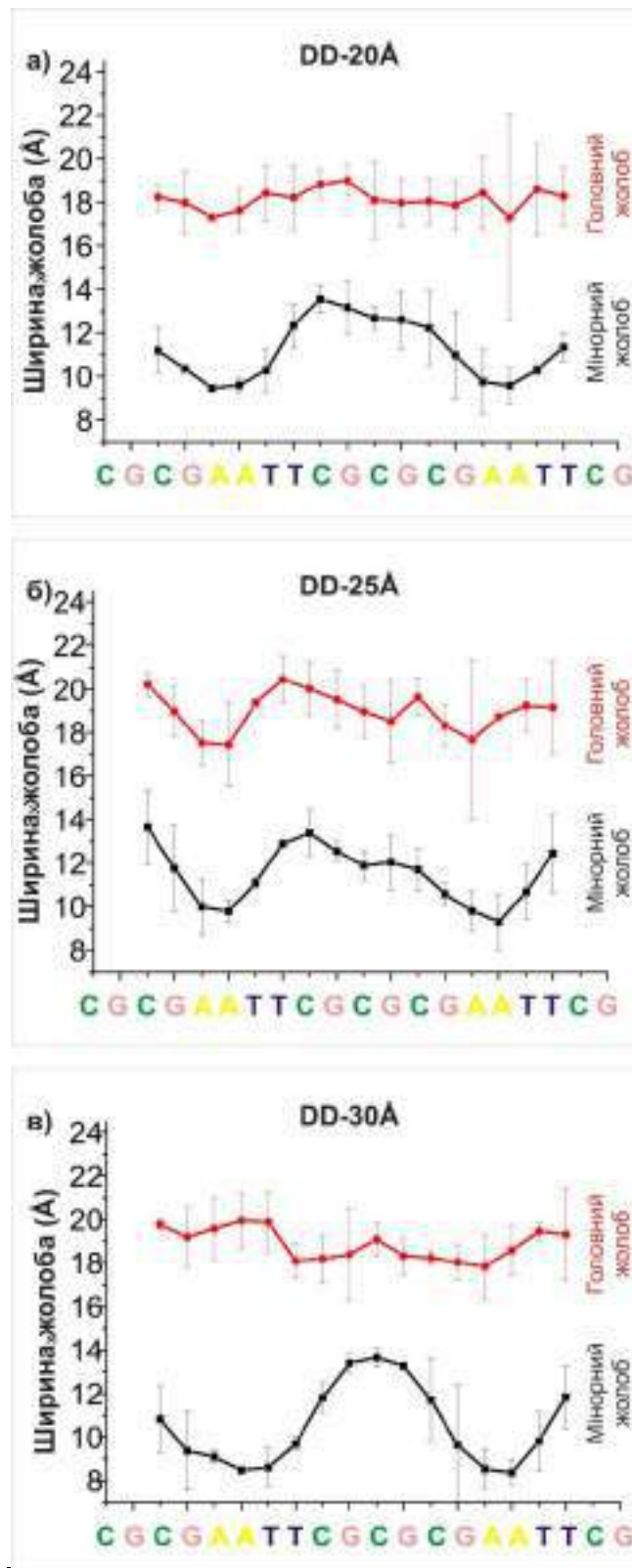


Рис. 7.22 Залежність ширини міnorного і головного жолобів від послідовності нуклеотидів в системах а) DD-20Å, б) DD-25Å, в) DD-30Å. Значення ширин жолобів усереднені за двома фрагментами ДНК. Ширини жолобів макромолекул DNA1 і DNA2 показано в Додатку Е (Рис. Е17) . Рисунок з роботи дисертанта [80].

Слід зазначити, що якщо в системах DD ця конформація з'явилася після того, як молекули поліамінів індукували зближення двох ДНК одна до одної, то нуклеосомна система ДНК приймає цю орієнтацію з кристалографічної структури до додавання спермідину³⁺.

Для аналізу ДНК-ДНК контактів, що індукуються поліамінами в жолобах подвійної спіралі, розглянемо ширини жолобів в залежності від послідовності пар основ. На Рис. 7.22 і 7.23 представлені середні значення ширини мінорного та головного жолобів вздовж подвійних спіралей, і видно, що ширина мінорного жолоба змінюється в діапазоні 8-15 Å, тоді як головного жолоба змінюється в межах 15-22 Å. Відповідні залежності жолобів подвійної спіралі від послідовності пар основ для кожного фрагменту ДНК в комірці моделювання показано в Додатку Е (Рис. Е17). У випадку систем DD-20Å, DD-25Å і DD-30Å найменша ширина мінорного жолоба спостерігається у випадку А-трактів. Така залежність ширини мінорного жолоба від нуклеотидної послідовності добре відома і також спостерігалася раніше для систем ДНК з поліамінами [75,79]. Залежність ширини головного жолоба від нуклеотидної послідовності не так чітко визначена, як у мінорного жолоба.

У випадку нуклеосомної ДНК ширина мінорного жолоба відображає регулярні зміни вздовж подвійної спіралі (Рис. 7.23а). Локальні мінімуми з'являються з періодичністю близько 10 пар основ, і візуальний аналіз вибраної частини конструкції та відповідної ширини мінорного жолоба (Рис. 7.23б) показує, що незначне звуження жолоба спостерігається в областях, що відповідають близькій відстані між паралельними частинами ДНК. Цікаво, що в цих областях мінорні жолоби паралельних сегментів ДНК повернуті один до одного, подібно до того, що спостерігалось для системи DD-20Å в області, що відповідає найкоротшим ДНК-ДНК відстаням.

Слід зазначити, що оскільки в нашому моделюванні структура нуклеосомної ДНК була обмежена її початковою геометрією, ширина жолоба на кожній парі основ не може змінюватися під час моделювання; однак у випадку вільної ДНК деякі флуктуації ширини жолобів обов'язково мають відбуватися, хоча,

ймовірно, з меншою амплітудою, ніж у випадку систем DD-20Å, DD-25Å і DD-30Å (Рис. 7.22), через обмеження, накладені в нуклеосомними білками. Таким чином, ми не очікуємо великих змін у періодичності ширини мінорного жолоба в реальній ДНК нуклеосомі в порівнянні з тим, що показано на Рис. 7.23. Зміна ширини головного жолоба вздовж подвійної спіралі не така регулярна, як для мінорного жолоба, однак проглядається деяка кореляція між мінімумами головного жолоба та максимумами ширини мінорного жолоба (Рис. 7.23а).

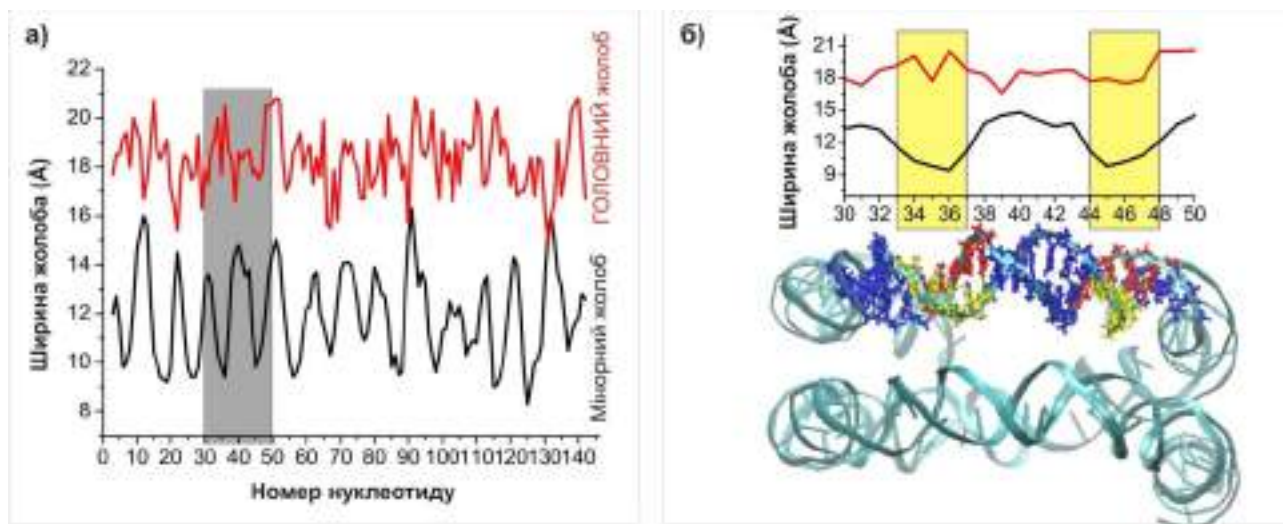


Рис. 7.23 а) Залежність ширини мінорного і головного жолобів нуклеосомної ДНК. б) Детальне зображення залежності, що виділена сірою смугою на Рис. 7.23а; пари основ нуклеосомної ДНК, які включено в розрахунок ширин жолобів показано кольором. Жовті смуги на графіку вказують на ділянку ДНК з найвужчим мінорним жолобом, а відповідні пари основ ДНК виділено жовтим і червоним кольорами. Рисунок з роботи дисертанта [80].

Візуальний аналіз траєкторій моделювання систем DD-20Å, DD-25Å і DD-30Å показав, що всі молекули спермідину³⁺ взаємодіють з поверхнею ДНК, як у просторі між молекулами ДНК, так і в зовнішніх областях. Для визначення вплив відстані між макромолекулами на взаємодію між ДНК і спермідином³⁺, молекули спермідину³⁺ було класифіковано як «захоплені» та «вільні» (Рис. 7.24). Вважалось, що молекула поліаміну є захопленою у просторі між ДНК, якщо відстань від центрального атома N спермідину³⁺ до центру принаймні од-

нієї пари основ (тобто атому N_1 на Рис. 7.12) кожної молекули ДНК менше 15 Å у випадку системи DD-20Å, 19 Å у випадку системи DD-25Å, 23 Å у системи DD-30Å і 22 Å для системи нуклеосомною ДНК. Слід зазначити, що віднесення молекул поліамінів до класу «захоплених» в нашому аналізі не обов'язково означає, що молекули не можуть вийти з області на межі розділу між двома молекулами ДНК.

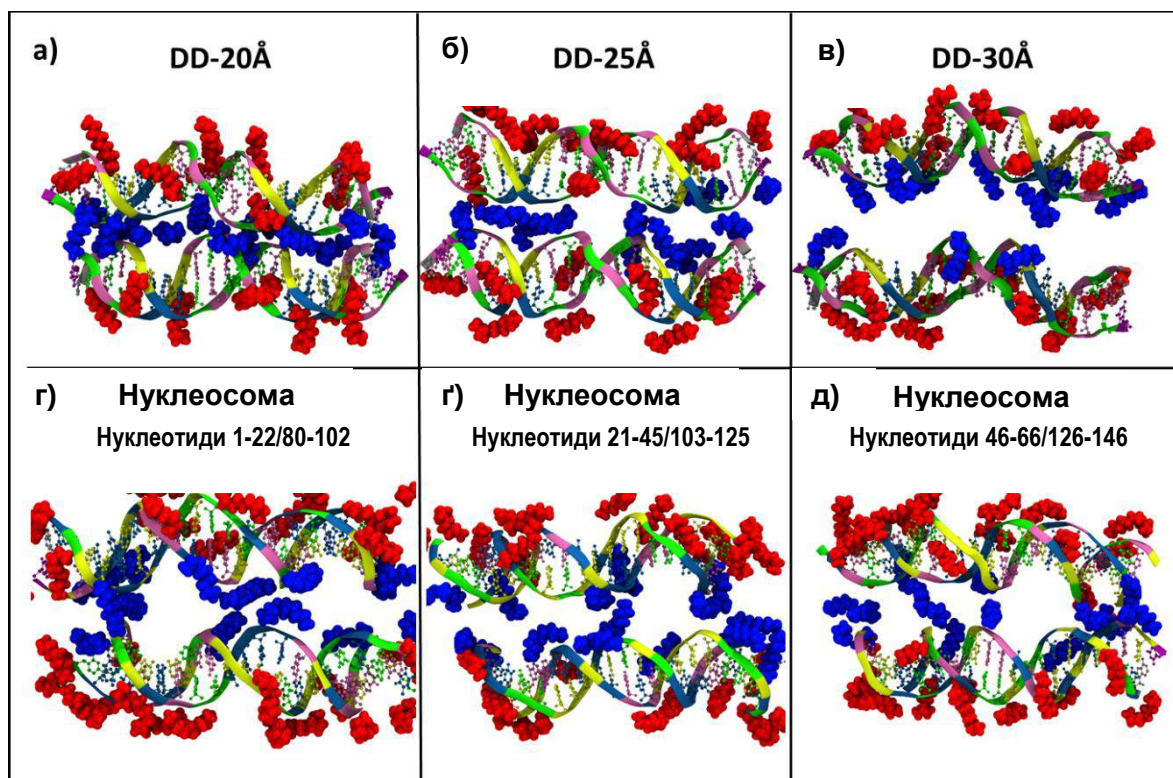


Рис.7.24 Репрезентативні знімки розподілу спермідину³⁺ навколо двох молекул ДНК кожної системи та навколо нуклеосомної ДНК. Воду та іони опущено для наочності. Молекули спермідину³⁺ забарвлюються в синій колір, якщо вони розташовані в просторі між двома молекулами ДНК (захоплені поліаміни), і червоним, якщо вони знаходяться в іншому місці (вільні поліаміни). Для полегшення візуального порівняння ділянку системи нуклеосом, що містить сегменти DNA1 і DNA2, розділили на три частини з довжиною, подібною до систем DD-20Å, DD-25Å, DD-30Å. Рисунок з роботи дисертанта [80].

Для того, аби оцінити вплив в області між подвійними спіралями на взаємодії спермідин³⁺-ДНК, було розраховано в кожній збереженій точці траєкторій моделювання кількість захоплених і вільних поліамінів (Рис. 7.25). Видно, що в

системі DD-20Å кількість захоплених молекул поліамінів досягає плато зі значенням 12-13 після 100 нс. У системі DD-25Å досягається максимум захоплених молекул спермідину³⁺ на 14 в перші 100 нс, після чого спостерігається швидке зменшення, що призводить до коливань між 9-11 молекулами в другій частині моделювання (250 – 500 нс). Такі флуктуації є набагато більшими, ніж у системі DD-20Å, де кількість захоплених молекул майже не змінюється після досягнення плато.

Слід також враховувати, що область між двома фрагментами ДНК збільшує свій об'єм зі збільшенням відстані між спіралями ДНК, і, таким чином, локальна концентрація молекул поліамінів між спіралями значно зменшується. У системі DD-30Å, якщо відстань між двома молекулами ДНК далі збільшується, кількість захоплених молекул спермідину³⁺ коливається ще більше від максимуму 14 на 75 нс до мінімуму 6 на 325 нс. З огляду на те, що об'єм області між двома молекулами ДНК більший, ніж у системі DD-25Å, густина спермідину³⁺ продовжує зменшуватися, а миттєва кількість захоплених молекул набагато варіабельніша, ніж в інших випадках. Зміна кількості захоплених молекул спермідину³⁺ у системі нуклеосомної ДНК дуже нагадує таку, як в системі DD-25Å. Оскільки розмір ДНК у нуклеосомній системі більший, кількість поліамінів була нормалізована так, щоб дозволити порівняти з DD-25Å, розділивши миттєву кількість спермідину³⁺ на 3 (оскільки довжина ДНК кожної з паралельних частин ДНК нуклеосоми втричі більша, ніж в інших системах).

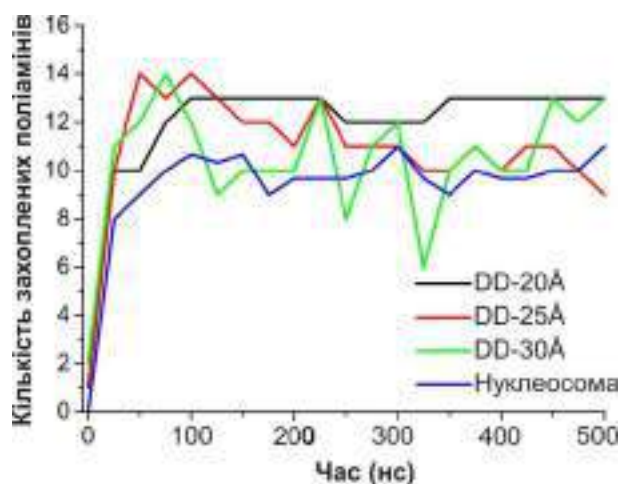


Рис.7.25. Еволюція кількості спермідину³⁺, що знаходиться між паралельними молекулами ДНК (або молекулярними частинами у випадку нуклеосомної ДНК). У випадку нуклеосомної ДНК загальна кількість спермідину³⁺ була нормалізована, щоб відповідати іншим системам. Рисунок з роботи дисертанта [80].

Далі було проаналізовано динаміку спермідину³⁺ у захопленому стані, щоб краще зрозуміти, як відстань між ДНК впливає на цю властивість. З цією метою було перевірено позицію кожного спермідину³⁺, відбираючи конфігурації з інтервалом 25 нс протягом усього моделювання. Результати показали, що для системи DD-20Å, як тільки спермідин³⁺ потрапляє в область між двома спіралями ДНК, він фактично залишається захопленим, тобто рідко виходить з цієї області (Рис. E18 в Додатку E). Фактично, 11 з 13 спермідинів³⁺ залишаються в захопленому стані від $t = 100$ нс, тоді як 15 молекул ніколи не досягають області між ДНК. У системі DD-25Å можна помітити, що 7 до 14 молекул залишаються в захопленому стані, починаючи з $t = 100$ нс до кінця траєкторії моделювання; 13 молекул ніколи не потрапляють в область між ДНК. У випадку DD-30Å, молекули спермідину³⁺ переміщуються з міжспіральної області в зовнішню області протягом усього моделювання і жодна молекула не залишається виключно в захопленому або вільному станах, як було виявлено в системах DD-20Å та DD-25Å. Динаміка спермідину³⁺ у системі з нуклеосомною ДНК подібна до тієї, що в системі DD-25Å: частина молекул спермідину³⁺ залишається в захопленому стані протягом усього моделювання (18 із 100), інші завжди знаходяться зовні (57 із 100), в той час як решта поліамінів перемикається між «захопленим» і вільним станами без фіксації кілька разів протягом усієї симуляції (25 із 100).

Таким чином, на взаємодію спермідину³⁺ з ДНК чітко впливає відстань між молекулами ДНК, при зменшенні відстані між двома негативно зарядженими подвійними спіралями призводить до збільшення концентрації спермідину³⁺ в обмеженій області та зменшення швидкості обміну молекул поліамінів між захопленим і вільним станами.

Щоб кількісно визначити, як впливає на загальний розподіл поліамінів навколо ДНК відстань між молекулами ДНК, було розраховано радіальні функції розподілу між важкими атомами спермідину³⁺ (тобто не воднем) і ДНК для різних ділянок подвійних спіралей ДНК: мінорний жолоб (RDF_{MIN}), головний жолоб (RDF_{MAJ}) і фосфатні групи (RDF_{PH}). RDF, усереднені за усіма основами молекул ДНК, представлені в Додатку E (Рис. E19, E20). Побудовані RDF надають

лише загальну інформацію про розподіл спермідину³⁺ навколо ДНК. Відповідні координаційні числа для відстаней 3,05Å і 3,55Å (CN), розраховані шляхом інтегрування RDF, наведено в Додатку Е (Таблиця Е4). CN зменшуються зі збільшенням відстані між ДНК (від 20 до 25 Å), а потім стають незначними при збільшенні відстані до 30 Å. Відповідні CN для системи нуклеосомної ДНК значно нижчі через нижчу концентрацію спермідину³⁺, що є проявом того, що при побудові систем співвідношення спермідин³⁺/фосфат було взято однаковим для всіх систем.

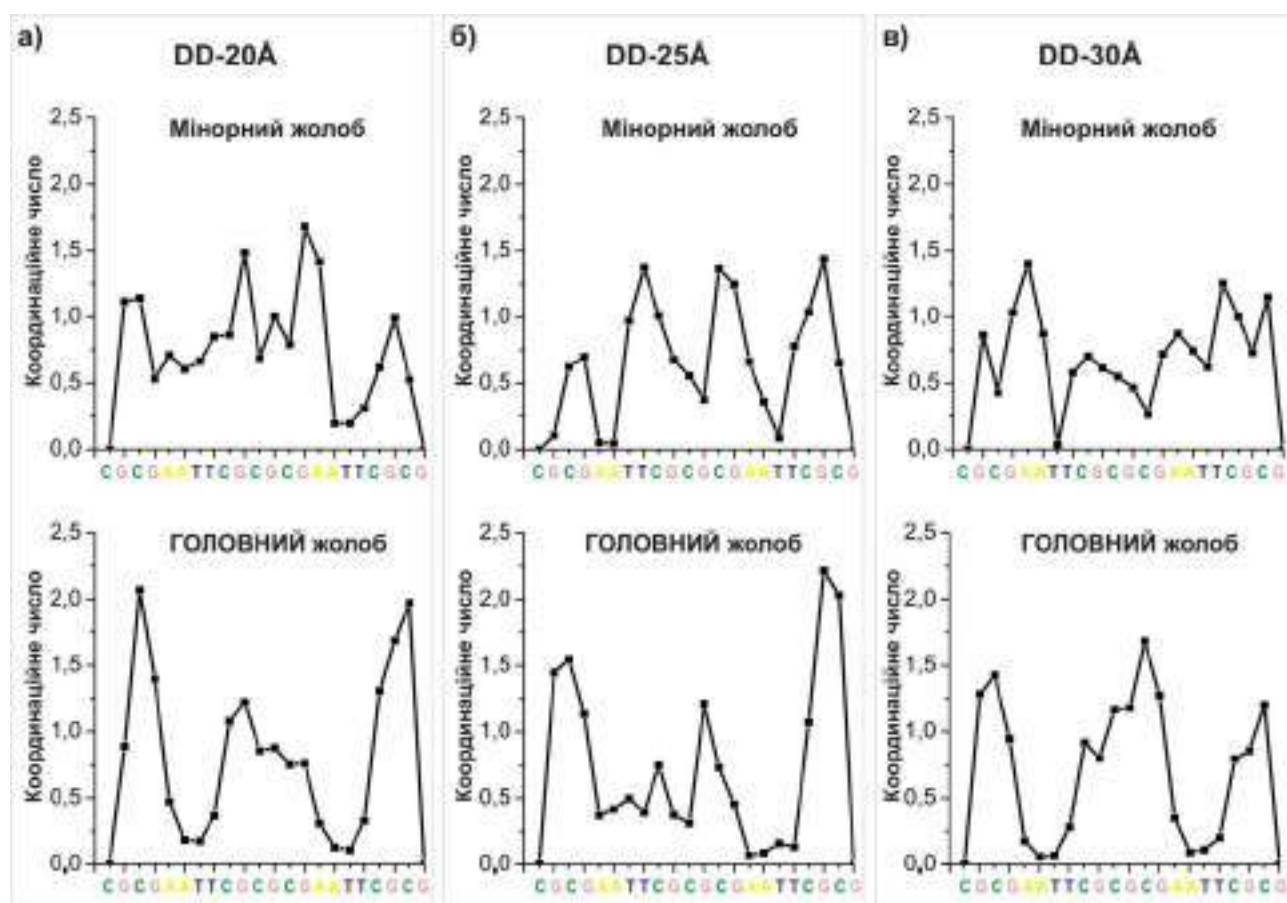


Рис. 7.26. Координаційні числа молекул спермідину³⁺ (розраховані для кожної ДНК на відстані 4.55 Å) в міnorному і головному жолобах систем: а) DD-20Å; б) DD-25Å; в) DD-30Å. Рисунок з роботи дисертанта [80].

Для аналізу специфічності зв'язування поліамінів до послідовності ДНК, розраховували координаційні числа (CN) окремо для кожної пари основ шляхом інтегрування відповідної функції RDF до 4,55 Å. Залежність координаційних чисел від нуклеотидної послідовності, усередненої за двома спіралями ДНК

у системі, показана на Рис. 7.26. Координаційні числа для кожного дуплекса ДНК1 і ДНК2 показано в Додатку Е (Рис. E21).

Тоді як в моделюванні, що представлено в попередніх підрозділах (публікації [75,79]), спостерігалось чітке специфічне зв'язування поліамінів в мінорному жолобі на ділянках А-трактів, в даному моделюванні специфічність зв'язування до послідовності менш помітна (Рис. 7.26а-в). Це може бути пов'язано з кількома факторами: з одного боку, концентрація, використана в цьому дослідженні, вища, що робить специфічність до послідовності менш домінантною; з іншого боку, наявність множинних заряджених ланцюгів ДНК, близьких один до одного в переповненому середовищі, сильно впливає на електростатичний потенціал і, отже, на взаємодії. Крім того, можливо, що знижена рухливість молекули спермідину³⁺ в захопленому стані означає більший час для отримання повної вибірки при побудові радіальних функцій розподілу. У головному жолобі А-тракти є менш сприятливими місцями зв'язування, що також спостерігалось раніше, через метильну групу тиміну, що створює стеричні перешкоди [79,349]. У жолобах нуклеосомної ДНК (Рис. E21 у Додатку Е) є великі ділянки, які не взаємодіють із спермідином³⁺. Це, ймовірно, пов'язано з тим, що в нуклеосомній ДНК атоми не рухаються в цій симуляції, тоді як динамічні структурні перебудови необхідні для того, аби поліаміни увійшли в жолоби і знайти найбільш енергетично вигідні положення.

Проведений візуальний аналіз траєкторій моделювання виявив зміни в детальних взаємодіях захоплених молекул спермідину³⁺. На Рис. 7.27 показано деякі вибрані знімки моделювання молекул спермідину³⁺ у захопленому та вільному станах. Можна побачити, що в системах DD-20Å і DD-25Å незакріплені поліаміни поведуться одним із двох способів: а) вони залишаються в безпосередній близькості від того самого нуклеотиду ДНК протягом майже всієї симуляції, або, б) вони рухатися по поверхні ДНК. У системі DD-30Å всі поліаміни мають розподіл із змішаним станом, тобто жоден спермідин³⁺ не залишається в захопленому або вільному станах протягом усього часу моделювання. У системі DD-20Å захоплений спермідин³⁺ зазвичай залишається в пастці між молеку-

лами ДНК практично без руху. У системі DD-25Å виявлено, що хоча є деякі поліаміни, які залишаються заблокованими, інші молекули спермідину³⁺ можуть переміщуватися від однієї молекули ДНК до іншої і назад, з проміжною «місткоподібною» структурою (див. обговорення нижче). У системі DD-30Å всі поліаміни рухаються або вздовж однієї і тієї ж молекули ДНК, або від однієї молекули ДНК до іншої, утворюючи ті самі «місткоподібні» структури. У системі з нуклеосомною ДНК молекули спермідину³⁺ поводитья так само, як і в системі DD-25Å, при цьому деякі молекули залишаються в «захопленому стані» протягом усього періоду моделювання, а інші молекули рухаються вздовж одного з фрагментів ДНК або від одного фрагмента ДНК до іншого, як приклад молекула спермідину³⁺ праворуч на Рис. 7.27г.

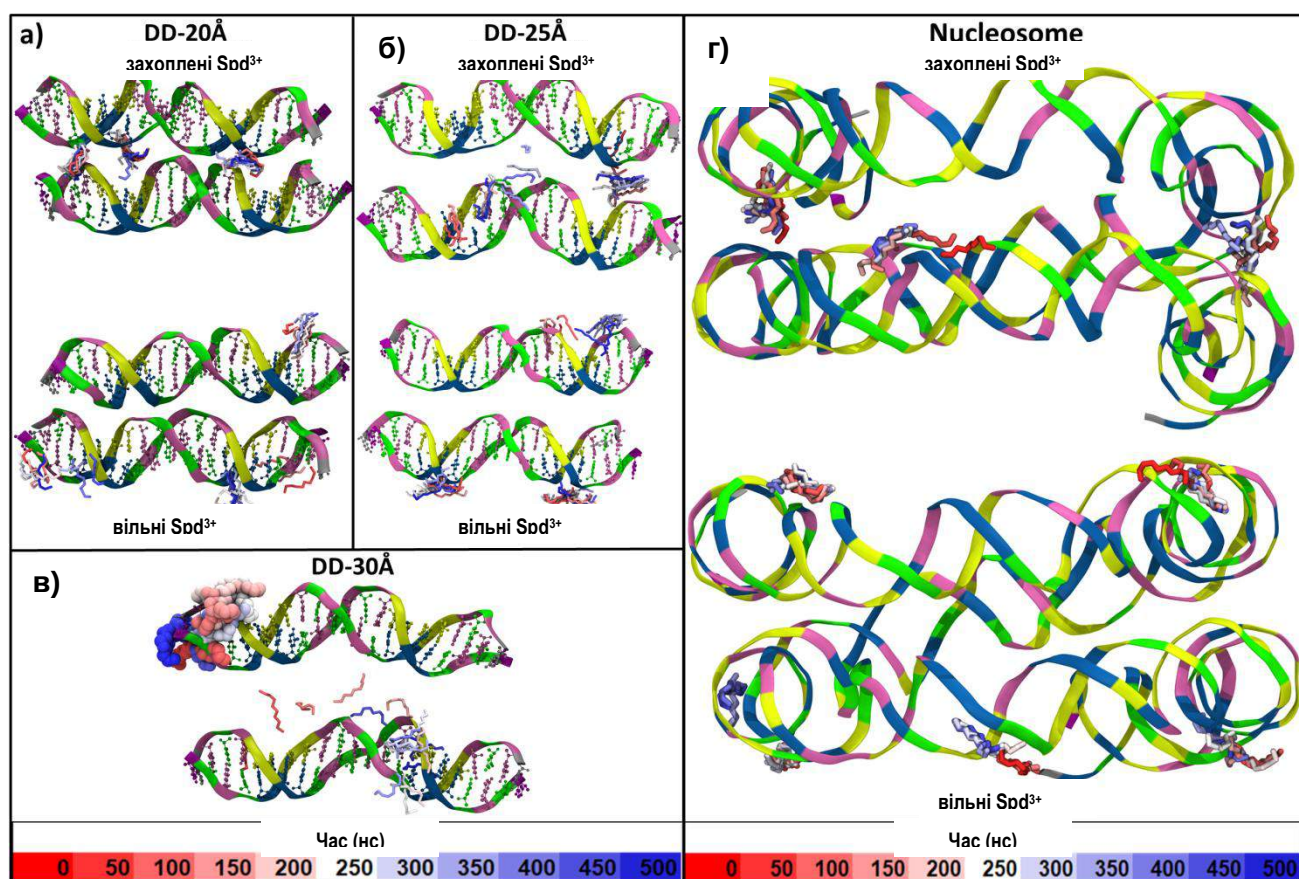


Рис. 7.27. Приклад руху окремого спермідину³⁺ протягом часу моделювання. Для спермідину³⁺ використано представлення без атомів Н. Кожен спермідин³⁺ змінює колір з червоного на білий на синій зі збільшенням часу, і кожна зміна кольору відповідає 50 нс, як показано кольоровою шкалою часу знизу. Рисунок з роботи дисертанта [80].

Як зазначено вище, в системі DD-20Å фосфатні групи з різних молекул ДНК утворюють опосередкований молекулою поліаміну контакт (O-HNH-O). Візуальний огляд траєкторій показав, що декілька мод зв'язування спермідину³⁺ з ДНК роблять можливими тісний контакт між двома спіралями ДНК. На Рисунку 7.28 зображено різні репрезентативні типи взаємодії. Можна побачити, що в точках контакту між ДНК в системі DD-20Å кілька молекул спермідину³⁺ приймають «паралельно-перпендикулярну» (pp) орієнтацію, в якій спермідин³⁺ паралельний остову однієї молекули ДНК і перпендикулярний остову другої молекули ДНК. Молекула спермідину³⁺ в орієнтації pp, яка одночасно взаємодіє з 3 ланцюгами ДНК і 4 фосфатними групами, показана на Рис. E22 в Додатку Е. Ця конформація забезпечує тісні контакти між молекулою ДНК, відповідальною за перший максимум RDF_{DD} і RDF_{PH} , про які йшлося вище. Утворення «паралельно-перпендикулярної» конформації було також спостережено і у випадку вільних фрагментів ДНК (Рис. 7.20). На Рис. E22 в Додатку Е зображено іншу конформацію, в якій спермідин³⁺ приймає вигнуту «С»-подібну форму, утворюючи водневі зв'язки з киснем двох фосфатних груп із різних фрагментів ДНК. Аміногрупи, що координують даний фосфат, часто належать до різних молекул спермідину³⁺, утворюючи складну мережу. Висока локальна концентрація як позитивно, так і негативно заряджених груп пояснює, чому в системі DD-20Å спермідин³⁺, що знаходиться між двома молекулами ДНК, залишається захопленими протягом усього часу (Рис.7.27).

Молекули спермідину³⁺ можуть приймати різні конформації під час взаємодії з ДНК. Обертання навколо 7 торсійних зв'язків цієї маленької молекули призводить до широкого діапазону конформацій, починаючи від лінійної конформації до досить компактної складчастої конформації. Для того, аби оцінити ймовірність різних конформаційних станів спермідину³⁺ і перевірити, чи захоплений стан змінює розподіл між ними, було розраховано відстань між кінцями (EE) для кожної молекули поліаміну в захопленому та вільному станах.

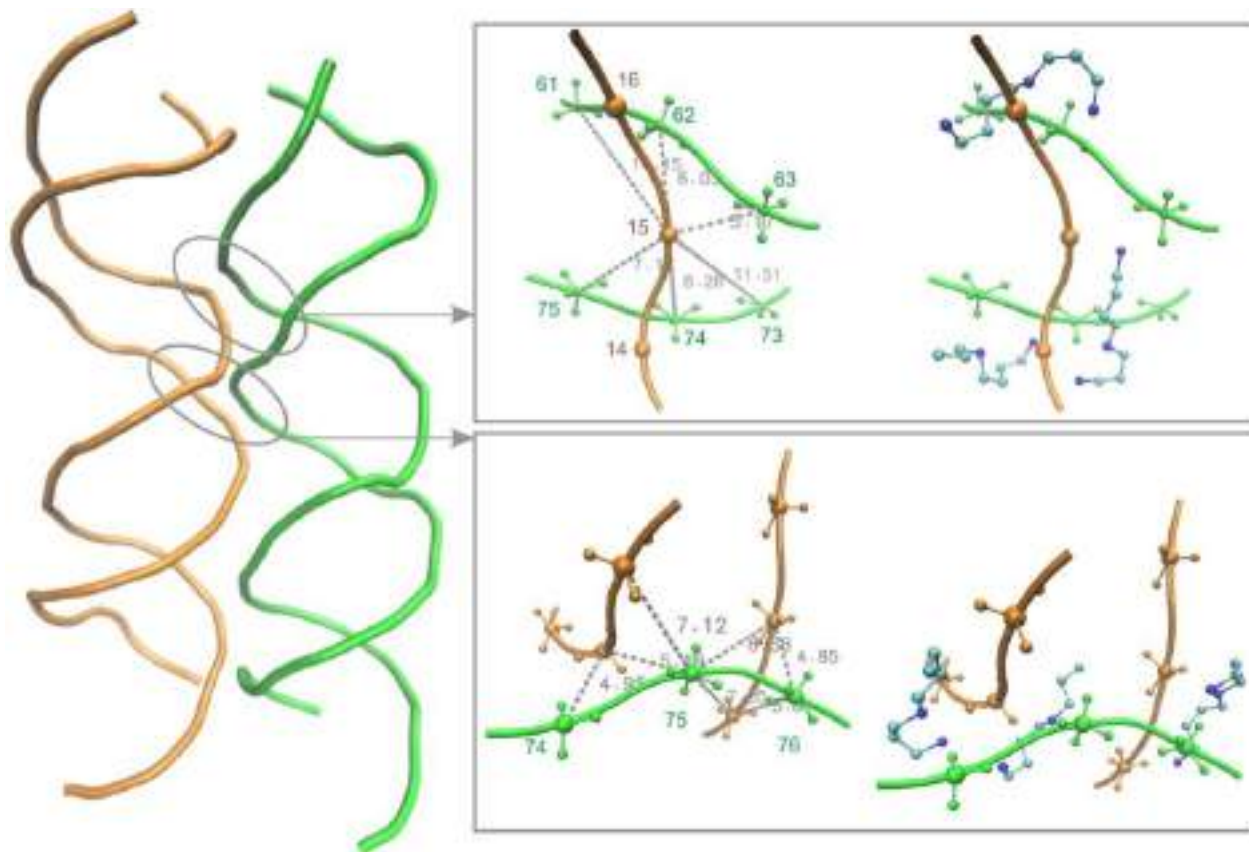


Рис. 7.28. Структура контактів між молекулами ДНК в системі DD-20Å. Відстані між атомами вказано в Å. На вставках: справа - ланцюги остовів різних подвійних спіралей ДНК; зліва – ті самі ланцюги з поліамінами.

Розрахунки відстаней між кінцями молекул поліамінів було виконано на конфігураціях, отриманих шляхом вибірки траєкторій кожні 25 нс, а розподіли ЕЕ представлені у вигляді гістограм в Додатку Е (Рис. Е23). Нижче ми ідентифікуємо складені та витягнуті стани як стани з $EE < 7 \text{ Å}$ та $EE > 9 \text{ Å}$ відповідно. Розглядаючи системи DD-20Å, DD-25Å і DD-30Å видно, що існують лише невеликі відмінності в розподілах ЕЕ незамкнутого спермідину³⁺ серед трьох систем: 4-8% знаходяться в складеному стані і 46-50% у витягнутому стані. Інша картина виявляється при аналізі молекул спермідину³⁺ в захопленому стані: для систем DD-25Å і DD-30Å розподіли ЕЕ подібні до розподілу спермідину³⁺ у «вільному» стані, причому майже 10% перебувають у складеній конформації і 44-48% у подовженій конформації. І навпаки, у випадку системи DD-20Å спостерігається значне збільшення популяції складчастої конформації, що становить 19% від загальної кількості, і зниження до 36% спермідину³⁺ у витягнутій

конформації. Таким чином, ми можемо зробити висновок, що зменшення відстані між молекулами ДНК викликає збільшення згорнутих конформацій молекул поліамінів в «захопленому» стані і зменшення витягнутих конформацій, причому варіації значно більші, коли молекули ДНК знаходяться дуже близько одна до одної.

Розглядаючи систему з нуклеосомної ДНК, можна помітити, що присутня така сама тенденція, що й в інших системах для вільних молекул поліамінів, тоді як у випадку захоплених ймовірність перебувати в складеній конформації є меншою (5%), а в розтягнутій конформації – більшою (56%) порівняно з системами DD. Ці відмінності в порівнянні з іншими системами, швидше за все, пов'язані з обмеженнями, накладеними на атоми ДНК, які запобігають локальній перебудові ДНК, необхідної для встановлення оптимальної взаємодії з компактними формами спермідину³⁺. Цей висновок свідчить про те, що використання обмеження можуть значно вплинути на розподіл між різними конформаційними станами молекул поліамінів.

7.2.7. Розподіл протийонів металів навколо ДНК в системах з спермідином³⁺. Вплив зближення різних макромолекул ДНК на конкуренцію між спермідином³⁺ та іншими протийонами, наприклад K^+ , що знаходяться в навколо подвійної спіралі у біологічних системах [10,378,379] є важливою проблемою, що потребує окремого розгляду. Для аналізу зв'язування протийонів K^+ з ДНК в присутності молекул спермідину³⁺ навколо подвійної спіралі ДНК побудовано радіальні функції розподілу для іонів K^+ і Cl^- відносно атомів в мінорному та головному жолобах, та відносно фосфатних груп остова ДНК (Додаток E, Рис. E24, E25).

Отримані RDF для K^+ показують, що невеликі мобільні протийони все ще присутні в гідратаційній оболонці ДНК разом з спермідином³⁺, але з набагато меншою інтенсивністю. Перший пік RDF, що описує прямий контакт з атомами ДНК, збільшується зі збільшенням відстані між макромолекулами ДНК. Інтенсивність цього піку для різних областей подвійної спіралі знаходиться в такому

порядку: фосфатні групи>головний жолоб>мінорний жолоб. Для оцінки заселеності протийонів у різних областях подвійної спіралі аналізували значення інтегралів RDF на відстані першого мінімуму як функцію послідовності нуклеотидів. Значення інтегралів на цій відстані є першим координаційним числом, що описує середню кількість протийонів на цій відстані. Результати показали, що у випадку систем DD-20, -25 та -30Å деяка кількість K^+ присутня в мінорному жолобі. Протийони мають тенденцію локалізуватися переважно в середній області фрагмента ДНК, однак деякі поодинокі піки також присутні на кінцях. У випадку нуклеосомної ДНК протийони калію здебільшого відсутні в мінорному жолобі; спостерігається деякий пік (флуктуація) на кінці однієї частини ДНК. Координаційні числа протийонів в головному жолобі виявляють тенденцію до локалізації K^+ в середині фрагментів ДНК. Така поведінка може бути пов'язана з тим, що сила електростатичного поля, що виникає біля ДНК, більша в центрі макромолекулярного фрагмента. У випадку нуклеосомної ДНК закономірність нечітка і шумна. В області поблизу фосфатних груп координаційні числа для всіх нуклеотидів відмінні від нуля, що обумовлено тим, що фосфатні групи більш доступні для розчинника і можуть порівняно легко контактувати з іонами калію.

Аналіз розподілу іонів хлору показав, що піки RDF дуже низькі. Значення інтегралів мізерно малі. Враховуючи це, можна зробити висновок, що катіони Cl^- локалізовані в розчині переважно окремо від подвійної спіралі ДНК і не порушують іонно-гідратну оболонку макромолекули.

Таким чином, взаємодія протийонів K^+ з подвійною спіраллю ДНК не блокується повністю спермидином³⁺. Малі рухливі іони все ще присутні в іон-гідратній оболонці макромолекули як всередині (малий та великий жолоби), так і зовні (біля фосфатних груп). Однак кількість K^+ значно нижча, ніж у системі без поліамінів. Конкуренція між калієм і спермидином³⁺ за зв'язування ДНК існує, але поліаміни через їх більший заряд і масу домінують у цьому процесі. Візуальний аналіз показує, що протийони K^+ разом з спермидином³⁺ утворюють загальну впорядковану систему, яка ефективно нейтралізує заряд подвійної спі-

ралі ДНК (Додаток Е, Рис. Е26). У зв'язку з цим взаємодія протийонів K^+ та спермідину³⁺ з ДНК може розглядатися не лише як процес конкуренції за місця зв'язування, а й як побудова взаємоузгодженої впорядкованої структури навколо подвійної спіралі ДНК, подібною до іон-фосфатної ґратки, концепція якої була запропонована в даній роботі.

ПІДСУМКИ РОЗДІЛУ

Проведено молекулярно-динамічне моделювання для ряду систем подвійної спіралі ДНК з поліамінами, аби дослідити переважну взаємодію молекул путресцину²⁺, спермідину³⁺ та сперміну⁴⁺ з ДНК. Встановлено ієрархію часів осідлого життя для розглянутих молекул поліамінів в різних областях ДНК: найдовший час осідлого життя (близько 100 нс) спостерігається в мінорному жолобі, тоді як у головному жолобі поліаміни знаходяться менший час (близько 10 нс), а у випадку взаємодії поліамінів із фосфатними групами ззовні подвійної спіралі їхній час перебування є найкоротшим (близько 1 нс). Стабільність ДНК-поліамінних комплексів збільшується зі збільшенням заряду полікатіонів. Молекули поліамінів переважно локалізуються в жолобі подвійної спіралі з найменшою шириною. У випадку розглянутого фрагмента ДНК мінорний жолоб в області з нуклеотидною послідовністю типу А-тракту є найвужчим, і було виявлено, що поліаміни найдовше перебувають саме у цій області. Для визначення фізичного механізму переважного зв'язування поліамінів було розроблено феноменологічну модель, яка дозволила оцінити енергію системи як функцію локалізації поліаміну. Оцінки показують, що найвужчий жолоб подвійної спіралі енергетично сприятливий у взаємодії з поліамінами. Отримані результати узгоджуються з наявними експериментальними даними та попередніми моделюваннями методом молекулярної динаміки.

Окремо проведено молекулярно-динамічне дослідження для системи, що містить дві макромолекули ДНК з спермідинином³⁺. Розглянуто різні нуклеотидні послідовності дуплексів ДНК, що дозволило вивчити специфічність зв'язування

молекул спермідину³⁺ до послідовності нуклеотидів. Результати показали, що молекули спермідину³⁺ конденсуються на ДНК й інтенсивно взаємодіють з подвійною спіраллю. Поліаміни проникають до мінорного та головного жолобів подвійної спіралі, а також зв'язуються з фосфатними групами ззовні макромолекули. Для розглянутої концентрації поліамінів виявлено, що молекули спермідину³⁺ мають тенденцію розташовуватись ортогонально до спіральної осі в жолобах ДНК. Зв'язування молекул спермідину³⁺ з негативно зарядженими фосфатними групами подвійної спіралі ДНК виявлено як найбільш ймовірний спосіб взаємодії.

У мінорному жолобі подвійної спіралі ДНК заселеність молекулами спермідину³⁺ вище навколо нуклеотидних послідовностей ААТТ і АТАТ, тоді як для тих самих багатих на АТ тракти ділянок у головному жолобі було виявлено, що середня кількість поліамінів є дуже низькою. Отримані результати узгоджуються з результатами попередніх симуляцій, де таке переважне зв'язування в області нуклеотидів ААТТ пояснювалося посиленням електростатичного притягання через звуження мінорного жолоба. Низьку зайнятість поліамінів у головному жолобі в області з нуклеотидною послідовністю АТ можна пояснити наявністю метильної групи тиміну, яка зменшує кількість акцепторних атомів для утворення Н-зв'язків між поліамінами та ДНК. Крім того, метильні групи тиміну діють як стеричні блоки для поліамінів.

На близьких відстанях між подвійними спіралями (<25 Å між осями спіралей) спостерігається збільшення концентрації поліамінів в області між макромолекулами ДНК. Динаміка молекул спермідину³⁺ сильно залежить від відстані, що розділяє різні макромолекули: на дуже короткій відстані (20 Å) спермидин³⁺ в міжспіральній області ефективно застрягає у своїх сайтах зв'язування, а збільшуючи міжспіральну відстань до 25 Å, вони переміщуються від одного місця зв'язування до іншого. Подальше збільшення відстані між спіралями ДНК до 30 Å призводить до подальшого збільшення мобільності спермідину³⁺, таким чином скорочуючи час перебування в міжспіральному просторі.

В областях, де відбуваються ДНК-ДНК контакти, молекули поліаміну, що взаємодіють з ДНК, утворюють поперечні зшивки і мають тенденцію орієнтуватися паралельно фосфатним групам остова подвійної спіралі, які можуть належати до різних макромолекул. Поліаміни переважно локалізуються в мінорних жолобах одного олігомеру ДНК, прикріплених фосфатними групами остова подвійної спіралі, і водночас контактують з фосфатними групами іншої молекули ДНК. Цей тип орієнтації спостерігається також в експериментальній структурі нуклеосомної ДНК. Беручи до уваги, що локалізація молекул спермідину³⁺ у мінорному жолобі є більш імовірною в областях ААТТ та АТАТ, можна припустити, що утворення поліамінних поперечних зшивок може регулюватися послідовністю нуклеотидів. Використовуючи таке контрольоване послідовністю утворення перехресних зв'язків у ДНК-ДНК комплексах, можна сконструювати макромолекулярні агрегати з бажаними властивостями.

Аналіз розподілу протийонів K^+ навколо ДНК показав, що вони разом з спермідинином³⁺ утворюють спільну впорядковану систему, яка ефективно нейтралізує заряд подвійної спіралі. У зв'язку з цим взаємодія протийонів K^+ та спермідину³⁺ з ДНК може розглядатися не лише з точки зору конкуренції за місця зв'язування, а й з точки зору того, що більш модельні металічні йони разом з видовженими молекулярними іонами формують взаємоузгоджену впорядковану структуру навколо подвійної спіралі ДНК. Формування впорядкованої системи протийонів K^+ і спермідину³⁺ навколо подвійної спіралі підтверджує концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК для протийонів змішаного типу.

ВИСНОВКИ

У дисертації досліджено структуру та динаміку впорядкування протийонів металів та молекулярних протийонів навколо подвійної спіралі ДНК. Для досягнення поставленої мети було виконано ряд завдань. Зокрема, розвинуто фізичні моделі для описання коливальних спектрів ДНК з протийонами металів, проведено комп'ютерні симуляції в рамках методу молекулярної динаміки на атомістичному рівні для систем протийонів металів та молекулярних іонів з ДНК у водному розчині та в розчині з пероксидом водню, виконано окремі експерименти, що дають інформацію про структурні та динамічні властивості систем ДНК з протийонами. Одержані результати проведених в дисертації досліджень дають можливість зробити такі висновки.

1. Обґрунтовано концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК, в рамках якої протийони, які нейтралізують негативно заряджені фосфатні групи остова подвійної спіралі, утворюють регулярну структуру, подібну до ґратки іонного типу.

2. Побудовано моделі конформаційних коливань ДНК з протийонами Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Mg^{2+} в різних положеннях відносно фосфатних груп остова макромолекули для випадку правозакрученої та лівозакрученої подвійних спіралей.

3. Розроблено підхід для описання інтенсивностей мод низькочастотних коливань ДНК з протийонами в спектрах комбінаційного розсіювання світла.

4. Показано, що інтенсивна смуга біля 115 см^{-1} , яка експериментально спостерігається в низькочастотному спектрі комбінаційного розсіювання світла *B*-ДНК з важкими протийонами (Rb^+ і Cs^+), обумовлена модами іон-фосфатних коливань. У випадку ДНК з легкими протийонами (Na^+ і K^+) в цій області знаходяться моди розтягу водневих зв'язків та внутрішньонуклеозидних коливань середньої інтенсивності.

5. Визначено нову моду іон-фосфатних коливань *Z*-ДНК, яка знаходиться біля 150 см^{-1} і характеризує коливання протийонів Mg^{2+} відносно фосфатних груп різних тяжів всередині мінорного жолоба подвійної спіралі. Показано, що структура низькочастотного спектру *Z*-ДНК змінюється порівняно зі спектрами

правих подвійних спіралей ДНК, що пов'язано з димерною структурою Z-форми подвійної спіралі.

6. Запропоновано фізичний механізм формування текстур у плівках ДНК із солями LiCl, NaCl, KCl, RbCl та CsCl, що ґрунтується на концепції динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК. Показано, що випаровування розчину призводить до кристалізації іонів солі на макромолекулі ДНК, а здатність солей утворювати кристалічні структури в плівках ДНК знижується в наступному порядку: KCl > NaCl > RbCl > CsCl > LiCl.

7. На основі концепції динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК пояснено ефекти впорядкування протийонів, спостережені в експериментах з електропровідності водних розчинів ДНК. Показано, що при концентраціях доданої солі KCl нижче певного рівня ($\leq 0,4$ моль/л) протийони є менш зв'язаними з ДНК, що призводить до збільшення електропровідності системи, а при підвищенні концентрації KCl протийони конденсуються на ДНК з подальшим формуванням ДНК-сольових комплексів, що зменшує електропровідність системи.

8. Методом молекулярної динаміки для К-ДНК у зовнішньому електричному полі показано, що у випадку паралельної до макромолекули орієнтації електричного поля протийони рухаються вздовж ДНК, затримуючись довше в областях з вузьким мінорним жолобом. Протийони всередині подвійної спіралі мають у шість разів меншу рухливість, ніж у випадку вільного розчину KCl. У випадку електричного поля перпендикулярного до подвійної спіралі при напругах біля 2000 мВ відбувається плавлення ДНК (*field-induced melting*).

9. В рамках розробленої поліелектролітної моделі показано, що кількість одновалентних протийонів, захоплених всередину жолобів подвійної спіралі ДНК, становить $0,3 \pm 0,14$ на одну фосфатну групу, що підтверджується результатами молекулярно-динамічних симуляцій для К-ДНК.

10. Методом молекулярної динаміки для ДНК з протийонами показано, що протийони з позитивним характером гідратації (Na^+ та Mg^{2+}) утворюють переважно опосередковані водою контакти з ДНК, а протийони з негативним характером гідратації (K^+ та Cs^+), проникають крізь гідратну оболонку ДНК вглиб

подвійної спіралі. Динаміка молекул води в гідратній оболонці протийонів залежить від їхньої локалізації навколо подвійної спіралі. Час перебування протийонів у мінорному жолобі набагато більший, ніж у головному жолобі, а у випадку протийонів Cs^+ він може досягати 10 нс. У цьому масштабі часу протийони можуть накопичуватися в мінорному жолобі, утворюючи регулярну структуру вздовж подвійної спіралі.

11. В рамках молекулярно-динамічного дослідження виявлено найбільш імовірні комплекси протийонів Na^+ та молекул пероксиду водню з фосфатними групами подвійної спіралі ДНК. Показано, що комплекси, де молекула пероксиду водню пов'язана з одним з атомів кисню фосфатної групи одним водневим зв'язком, є домінуючими, а комплекси, в яких молекула H_2O_2 пов'язана з фосфатною групою за допомогою двох водневих зв'язків або за допомогою Н-зв'язку та контакту, опосередкованого протийонами, спостерігаються рідко.

12. Методом молекулярної динаміки показано, що молекули природних поліамінів (путресцин²⁺, спермідин³⁺ та спермін⁴⁺), взаємодіючи з ДНК, переважно локалізуються в мінорному жолобі подвійної спіралі з найменшою шириною, що обумовлює їхню специфічність до послідовності пар нуклеотидів типу А-тракту.

13. В рамках молекулярно-динамічного дослідження показано, що при зближенні двох макромолекул ДНК відбувається збільшення концентрації молекул спермідину³⁺ в області між подвійними спіралями, а на дуже короткій відстані формуються міжспіральні зшивки, які з'єднують мінорні жолоби різних макромолекул, стабілізуючи утворені ДНК-ДНК контакти.

Таким чином, проведені дослідження показали, що протийони навколо подвійної спіралі ДНК утворюють впорядковану структуру, яка проявляється в багатьох експериментах і комп'ютерних симуляціях. Для розуміння структурних та динамічних властивостей цього впорядкування в роботі розвинуто концепцію динамічної іон-фосфатної ґратки ДНК. Досліджена в дисертації властивість протийонів впорядковуватися навколо макромолекули ДНК є визначальною для багатьох фізичних механізмів функціонування живої клітини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [1] Ю. П. Благой, В. Л. Галкин, В. Л. Гладченко, С. В. Корнилова, В. А. Сорокин, and А. Г. Шкорбатов, *Металлокомплексы Нуклеиновых Кислот в Растворах* (Наукова думка, Киев, 1991).
- [2] В. Я. Малеев, М. А. Семенов, А. И. Гасан, and В. А. Кашпур, *Физические Свойства Системы ДНК-Вода*, *Биофизика* **38**, 768 (1993).
- [3] Ю. П. Благой, О. Н. Веселков, С. Н. Волков, Д. М. Говорун, М. П. Євстернеєв, Р. О. Жураківський, О. І. Корнеюк, В. Я. Малєєв, М. О. Семенов, В. О. Сорокін, В. М. Харкянєн, Л. М. Христофоров, and А. В. Шестопалова, *Принципи Молекулярної Організації і Структурної Динаміки Біополімерів* (Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків, 2011).
- [4] J. D. Watson and F. H. C. Crick, *Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid*, *Nature* **171**, 737 (1953).
- [5] R. E. Franklin and R. G. Gosling, *The Structure of Sodium Thymonucleate Fibres. I. The Influence of Water Content*, *Acta Crystallogr.* **6**, 673 (1953).
- [6] R. E. Franklin and R. G. Gosling, *The Structure of Sodium Thymonucleate Fibres. II. The Cylindrically Symmetrical Patterson Function*, *Acta Crystallogr.* **6**, 678 (1953).
- [7] V. A. Bloomfield, *DNA Condensation*, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **6**, 334 (1996).
- [8] L. Rouzina and V. A. Bloomfield, *DNA Bending by Small, Mobile Multivalent Cations*, *Biophys. J.* **74**, 3152 (1998).
- [9] K. J. McConnell and D. L. Beveridge, *DNA Structure: What's in Charge?*, *J. Mol. Biol.* (2000).
- [10] F. Mocci and A. Laaksonen, *Insight into Nucleic Acid Counterion Interactions from inside Molecular Dynamics Simulations Is "Worth Its Salt,"* *Soft Matter* **8**, 9268 (2012).
- [11] R. Lavery, J. H. Maddocks, M. Pasi, and K. Zakrzewska, *Analyzing Ion Distributions around DNA*, *Nucleic Acids Res.* **42**, 8138 (2014).
- [12] M. Pasi, J. H. Maddocks, and R. Lavery, *Analyzing Ion Distributions around*

- DNA: Sequence-Dependence of Potassium Ion Distributions from Microsecond Molecular Dynamics*, *Nucleic Acids Res.* **43**, 2412 (2015).
- [13] M. Pasi, K. Zakrzewska, J. H. Maddocks, and R. Lavery, *Analyzing DNA Curvature and Its Impact on the Ionic Environment: Application to Molecular Dynamics Simulations of Minicircles*, *Nucleic Acids Res.* **45**, 4269 (2017).
- [14] Saenger. Wolfram, *Principles of Nucleic Acid Structure* (Springer-Verlag, New York, 1984).
- [15] G. S. Manning, *The Molecular Theory of Polyelectrolyte Solutions with Applications to the Electrostatic Properties of Polynucleotides*, *Q. Rev. Biophys.* **11**, 179 (1978).
- [16] М. . Франк-Каменецкий, В. В. Аншелевич, and А. В. Лукашин, *Полиэлектrolитная Модель ДНК*, *Успехи Физических Наук* **30**, 317 (1987).
- [17] R. Das, T. T. Mills, L. W. Kwok, G. S. Maskel, I. S. Millett, S. Doniach, K. D. Finkelstein, D. Herschlag, and L. Pollack, *Counterion Distribution around DNA Probed by Solution X-Ray Scattering*, *Phys. Rev. Lett.* **90**, 4 (2003).
- [18] K. Andresen, R. Das, H. Y. Park, H. Smith, L. W. Kwok, J. S. Lamb, E. J. Kirkland, D. Herschlag, K. D. Finkelstein, and L. Pollack, *Spatial Distribution of Competing Ions around DNA in Solution*, *Phys. Rev. Lett.* **93**, 1 (2004).
- [19] K. Andresen, X. Qiu, S. A. Pabit, J. S. Lamb, Y. P. Hye, L. W. Kwok, and L. Pollack, *Mono- and Trivalent Ions around DNA: A Small-Angle Scattering Study of Competition and Interactions*, *Biophys. J.* **95**, 287 (2008).
- [20] С. М. Перепелиця, Роль Протионів Лужних Металів у Конформаційній Динаміці Двospіральних Полінуклеотидів, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, 2008.
- [21] J. W. Powell, G. S. Edwards, L. Genzel, F. Kremer, A. Wittlin, W. Kubasek, and W. Peticolas, *Investigation of Far-Infrared Vibrational Modes in Polynucleotides*, *Phys. Rev. A* **35**, 3929 (1987).
- [22] T. Weidlich, M. S. Lindsay, Q. Rui, A. Rupprecht, W. Peticolas, L., and G. A. Thomas, *A Raman Study of Low Frequency Intrahelical Modes in A-, B-, and*

C-DNA, J. Biomol. Struct. Dyn. **8**, 139 (1990).

- [23] T. Weidlich, J. W. Powell, L. Genzel, and A. Rupprecht, *Counterion Effects on the Far-IR Vibrational Spectra of Poly(RI)·poly(RC)*, Biopolymers **30**, 477 (1990).
- [24] T. Weidlich, S. M. Lindsay, W. L. Peticolas, and G. A. Thomas, *Low Frequency Raman Spectra of Z-DNA*, J. Biomol. Struct. Dyn. **7**, 849 (1990).
- [25] Л. А. Булавін, С. Н. Волков, С. Ю. Кутовий, and С. М. Перепелиця, *Спостереження Іон-Фосфатних Коливань ДНК*, Доповіді НАН України **4** (2007).
- [26] G. M. Glibitskiy, *Na-DNA Films with Ions of Metals*, Biophys. Bull. **21**, 29 (2008).
- [27] Г. М. Глибицкий, А. А. Красницкая, and В. И. Гудзенко, *Текстуры Пленок Na-ДНК, Полученных Из Растворов При Различных Величинах Влажности и Температур*, Биофизический Вестник **17**, 89 (2006).
- [28] О. Д. Рошаль, Д. М. Глибицкий, О. Ю. Волянський, and Г. Г. Зегря, *Взаємодія ДНК з Наночастинками Срібла*, Український Фізичний Журнал **57**, 695 (2012).
- [29] D. Boscolo, M. Krämer, M. Durante, M. C. Fuss, and E. Scifoni, *TRAX-CHEM: A Pre-Chemical and Chemical Stage Extension of the Particle Track Structure Code TRAX in Water Targets*, Chem. Phys. Lett. **698**, 11 (2018).
- [30] K. Maruyoshi, T. Demura, T. Sagane, N. Matsumori, T. Oishi, and M. Murata, *Synthesis and Conformation of Deuterated Spermidine for Investigating Weak Interaction with Polyanionic Biomolecules*, Tetrahedron **60**, 5163 (2004).
- [31] K. Maruyoshi, K. Nonaka, T. Sagane, T. Demura, T. Yamaguchi, N. Matsumori, T. Oishi, and M. Murata, *Conformational Change of Spermidine upon Interaction with Adenosine Triphosphate in Aqueous Solution*, Chem. A Eur. J. **15**, 1618 (2009).
- [32] S. Perepelytsya, *Hydration of Counterions Interacting with DNA Double Helix: A Molecular Dynamics Study*, J. Mol. Model. **24**, 171 (2018).
- [33] S. M. Perepelytsya, *Positively and Negatively Hydrated Counterions in*

- Molecular Dynamics Simulations of DNA Double Helix*, Ukr. J. Phys. **65**, 506 (2020).
- [34] С. М. Перепелиця, *Динамічне Впорядкування Іонів Металів Навколо Подвійної Спіралі ДНК*, Вісник НАН України 89 (2014).
- [35] S. Perepelytsya, *Dynamics of Ordered Counterions in the Ion-Hydrate Shell of DNA Double Helix*, in *Conference on Atomistic Simulations of Biomolecules: Towards a Quantitative Understanding of Life Machinery*. March 6 – 10, 2017, The Abdus Salam Center for Theoretical Physics (Trieste, Italy, 2017), p. <https://indico.ictp.it/event/7610/session/4/contri>.
- [36] S. Perepelytsya, *Dynamics of Counterions in the Ion-Hydrate Shell of DNA Double Helix: A Molecular Dynamics Study*, in *Ulam Computer Simulations Workshop. “Challenges & Opportunities in Molecular Simulations”*. 21-24 June 2017, Franko Lviv National University (Lviv, Ukraine, 2017), p. 42.
- [37] S. Perepelytsya, *Hydration of DNA Counterions: A Molecular Dynamics Study*, in *8th International Conference “Physics of Liquid Matter: Modern Problems”*, May 18-22, 2018, Taras Shevchenko National University of Kyiv (Kyiv, Ukraine, 2018), p. 80.
- [38] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Intensities of DNA Ion-Phosphate Modes in the Low-Frequency Raman Spectra*, Eur. Phys. J. E **31**, 201 (2010).
- [39] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Low-Frequency Vibrations of DNA with Counterions in Cross-Stranded Position*, Ukr. J. Phys. **55**, 1182 (2010).
- [40] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Conformational Vibrations of DNA with Counterions in the Low-Frequency Raman Spectra*, AIP Conf. Proc. **1267**, 658 (2010).
- [41] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Vibrations of Ordered Counterions around Left- and Right-Handed DNA Double Helices*, J. Phys. Conf. Ser. **438**, (2013).
- [42] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Conformational Vibrations of Ionic Lattice in DNA: Manifestation in the Low-Frequency Raman Spectra*, J. Mol. Liq. **164**, 113 (2011).

- [43] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Dynamics of Ion-Phosphate Lattice of DNA in Left-Handed Double Helix Form*, Ukr. J. Phys. **58**, 554 (2013).
- [44] С. М. Перепелиця and С. Н. Волков, *Інтенсивності Смуг Низькочастотного Спектру КР ДНК з Легкими Та Важкими Протиіонами*, Біофізичний Вісник **23**, 5 (2009).
- [45] S. Perepelytsya, *Dynamics and Ordering of Counterions in Hydration Shell of DNA Double Helix*, in *Workshop on Water at the Interface between Biology, Chemistry, Physics and Material Sciences. October 5 – 9, 2015, The Abdus Salam Center for Theoretical Physics (Trieste, Italy, 2015)*, p. <https://indico.ictp.it/event/a14247/other-view?vie>.
- [46] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Counterion Vibrations in DNA Low-Frequency Raman Spectra*, in *5th International Conference on Physics of Liquid Matter: Modern Problems. Kyiv, 21-24 May, 2010. Taras Shevchenko National University of Kyiv (Kyiv, Ukraine, 2010)*, p. 239.
- [47] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Conformational Vibrations of Z-DNA*, in *Young Conference “Modern Problems of Theoretical Physics”. 21-23 December, 2011. BITP of NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine, 2011)*, p. 37.
- [48] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Dynamic Ordering of Counterions around DNA Helix*, in *International Conference “Dynamics of Systems on the Nanoscale” DySoN Conference 2012, September 30 – October 4 (St. Petersburg, 2012)*, p. 32.
- [49] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Manifestation of Ion-Phosphate Vibrations in the Low-Frequency Raman Spectra*, in *International Conference “Problems of Theoretical Physics” Dedicated to Alexander S. Davydov’s 100th Birthday. 8-12 October 2012. BITP of NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine, 2012)*, p. 31.
- [50] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Dynamics and Stability of DNA Ion-Phosphate Lattice*, in *6th International Conference “Physics of Liquid Matter Modern Problems”, May 23 – 27, 2014, Taras Shevchenko National University of Kyiv (Kyiv, Ukraine, 2014)*, p. 125.

- [51] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Manifestations of Dynamic Ordering of Counterions around DNA*, in *3rd International Conference “Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects”*. 7-10 October 2013, B. Verkin ILTPE of NASU (Kharkiv, Ukraine, 2013), p. 40.
- [52] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Dynamics and Ordering of DNA Counterions*, in *4th International Conference “Nanobiophysics: Fundamental Aspects and Applications”*, October 1 – 4, 2015, Institut of Physics of the NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine, 2015), p. 21.
- [53] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Low-Frequency Raman Spectra of DNA with Counterions*, in *Conference for the Young Scientists “Modern Problems of Theoretical Physics”*, 24-26 December, 2009. BITP of NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine, 2009), p. 63.
- [54] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Dynamics of DNA Ion-Phosphate Lattice at Nano-Scale*, in *International Conference “Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects”*, Kharkov, Oktober 5 – 8, 2009 (Kharkiv, Ukraine, 2009), p. 40.
- [55] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Vibrations of DNA with Light and Heavy Counterions in Low-Frequency Raman Spectra*, in *7th European Biophysical Congress*, July 11 – 15, 2009, Genoa, Italy. *Eur. Biophys. J.*, 2009, 38, p. S81 (2009), p. <https://doi.org/10.1007/s00249-009-0483-4>.
- [56] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Conformational Vibrations of Ion Lattice in DNA Solution*, in *EMLG-JMLG Annual Meeting 2010. Complex Liquids: Modern Problems in Exploration, Understanding and Application*. Lviv, 5-9 September, 2010. Franko Lviv National University - Institute of Condensed Matter Physics of the NAS of Ukraine (Ukraine, Lviv, 2010), pp. 130–131.
- [57] O. O. Liubysh, A. V. Vlasiuk, and S. M. Perepelytsya, *Structurization of Counterions around DNA Double Helix: A Molecular Dynamics Study*, *Ukr. J. Phys.* **60**, 433 (2015).
- [58] O. O. Liybush, A. V. Vlasiuk, and S. M. Perepelytsya, *Structuring Features of Na , K , and Cs Counterions in DNA Ion-Hydrate Shell: A Molecular Dynamics*

Study, in *4th Young Scientist Conference “Problems of Theoretical Physics”*, November 25 – 27, 2014. BITP of NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine., 2014), pp. 49–50.

- [59] O. O. Liubysh, O.M.Alekseev, S. Y. Tkachov, and S. M. Perepelytsya, *Effect of Ionic Ordering in Conductivity Experiments of DNA Aqueous Solutions*, Ukr. J. Phys. **59**, 480 (2014).
- [60] O. O. Liubysh, O. M. Alekseev, S. Y. Tkachev, and S. M. Perepelytsya, *Ionic Ordering in Conductivity Experiments of DNA Aqueous Solutions*, in *Youth Scientist Conference “Problems of Theoretical Physics”*. Kyiv 24-27 December, 2013. BITP of NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine, 2013), p. 36.
- [61] O. O. Liubysh, O. M. Alekseev, S. Y. Tkachev, and S. M. Perepelytsya, *Effect of Counterion Ordering in Conductivity Experiments of DNA Aqueous Solutions*, in *6th International Conference “Physics of Liquid Matter Modern Problems”*, May 23 – 27, 2014. Taras Shevchenko National University of Kyiv (Kyiv, Ukraine, 2014), p. 150.
- [62] P. I. Kutova and S. M. Perepelytsya, *Electro-Conductivity of DNA Water Solutions with NaCl Excess Salt*, in *Youth Scientist Conference “Problems of Theoretical Physics”*. Kyiv 21-23 December, 2011. BITP of NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine, 2011), p. 94.
- [63] Л. А. Булавін, Д. О. Шамайко, О. М. Алексєєв, and С. М. Перепелиця, *Час Життя Протиіонів Натрію в Іон-Гідратному Шарі Молекули ДНК*, Вісник Київського Національного Університету Імені Тараса Шевченка Серія “Фізико-Математичні Науки” 198 (2008).
- [64] Л. А. Булавін, Г. М. Вербінська, О. А. Загородня, С. М. Перепелиця, О. Г. Вареня, and Т. А. Кравцова, *Визначення Енергії Взаємодії Між Водою Та Молекулами ДНК Методом Випаровування*, Вісник Київського Університету, Серія: Фізико-Математичних Науки 295 (2009).
- [65] Л. А. Булавін, О. А. Загородня, С. М. Перепелиця, and Т. А. Кравцова, *Дослідження Гомогенності Систем Вода - ДНК*, Вісник Київського Національного Університету Імені Тараса Шевченка Серія “Фізико-

Математичні Науки” 249 (2010).

- [66] Л. А. Булавін, О. Г. Вареня, Г. М. Вербінська, О. А. Загородня, and С. М. Перепелиця, *Вивчення Динаміки Випаровування Краплин Рідинних Систем ДНК-Вода*, Вісник Київського Національного Університету Імені Тараса Шевченка. Серія “Фізико-Математичні Науки” 242 (2008).
- [67] S. M. Perepelytsya, G. M. Glibitskiy, and S. N. Volkov, *Texture Formation in DNA Films with Alkali Metal Chlorides*, *Biopolymers* **99**, 508 (2013).
- [68] S. M. Perepelytsya, G. M. Glibitskiy, and S. N. Volkov, *Influence of DNA Conformational Vibrations on the Formation of Anisotropic Film Textures*, in *Youth Scientist Conference “Problems of Theoretical Physics”*. Kyiv 22-24 December, 2010. BITP of NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine, 2010), p. 94.
- [69] S. M. Perepelytsya, G. M. Glibitskiy, and S. N. Volkov, *Possible Mechanism of Formation of Anisotropic Textures in DNA*, in *Planer-Smoluchoeski Soft Matter Workshop on Liquid Crystal Colloids.*, October 5-7, 2011. Franko Lviv National University - Institute of Condensed Matter Physics of the NAS of Ukraine (Lviv, Ukraine, 2011), p. 67.
- [70] S. M. Perepelytsya, G. M. Glibitskiy, and S. N. Volkov, *Texture Formation in DNA Films with Alkali Metal Chlorides*, in *3rd International Conference “Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects”*. 7-10 October 2013, B. Verkin ILTPE of NASU (Kharkov, Ukraine, 2013), p. 71.
- [71] O. O. Zdorevskyi and S. M. Perepelytsya, *Dynamics of K^+ Counterions around DNA Double Helix in the External Electric Field: A Molecular Dynamics Study*, *Eur. Phys. J. E* **43**, 77 (2020).
- [72] O. Zdorevskyi and S. Perepelytsya, *Molecular Dynamics Study of the Interaction of K^+ Counterions with DNA Double Helix in an External Electric Field*, in *13th EBSA Congress, July 24–28, 2021*. *Eur. Biophys. J.*, 2021, V.38, (Vienna, Austria, 2021), p. S160. doi:10.1007/s00249-021-01558-w.
- [73] S. Perepelytsya and O. Zdorevskyi, *Counterion Atmosphere around DNA Double Helix: Trapping of Counterions at the Nanoscale*, *Low Temp. Phys.* **48**, 293 (2022).

- [74] S. Perepelytsya, J. Uličný, and S. N. Volkov, *Molecular Dynamics Study of the Competitive Binding of Hydrogen Peroxide and Water Molecules with DNA Phosphate Groups*, Eur. Biophys. J. **50**, 759 (2021).
- [75] S. Perepelytsya, J. Uličný, A. Laaksonen, and F. Mocci, *Pattern Preferences of DNA Nucleotide Motifs by Polyamines Putrescine²⁺, Spermidine³⁺ and Spermine⁴⁺*, Nucleic Acids Res. **47**, 6084 (2019).
- [76] S. Perepelytsya and J. Uličný, *Specific Binding of Polyamines with DNA Double Helix: A Molecular Dynamics Study*, in 8th International Conference “Physics of Liquid Matter: Modern Problems”, May 18-22, 2018, Taras Shevchenko National University of Kyiv (Kyiv, 2018), p. 92.
- [77] S. Perepelytsya, J. Uličný, A. Laaksonen, and F. Mocci, *Modeling the Structure and Dynamics of DNA with Organic and Inorganic Counterions*, in Final AMMODIT Conference “Mathematics for Life Sciences”. Kyiv, March 18-22, 2019. Institute of Mathematics of NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine, 2019), p. 32.
- [78] S. Perepelytsya, J. Uličný, A. Laaksonen, and F. Mocci, *Modeling Specific Interaction of Polyamines with DNA Double Helix*, in Bogolyubov Kyiv Conference Problems of Theoretical and Mathematical Physics. September 24-26, 2019. BITP of NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine, 2019), p. 64.
- [79] F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, and S. Perepelytsya, *DNA-Polyamine Interactions: Insight from Molecular Dynamics Simulations on the Sequence-Specific Binding of Spermidine³⁺*, in Soft Matter Systems for Biomedical Applications. Springer Proceedings in Physics, Vol 266 (Springer, Cham., 2022), pp. 163–192.
- [80] T. Vasiliu, F. Mocci, A. Laaksonen, L. D. V. Engelbrecht, and S. M. Perepelytsya, *Caging Polycations: Effect of Increasing Concentration on the Modes of Interaction of Spermidine³⁺ With DNA Double Helices*, Front. Chem. **10**, 836994 (2022).
- [81] L. Engelbrecht, F. Mocci, Y. Wang, S. Perepelytsya, T. Vasiliu, and A. Laaksonen, *Molecular Perspective on Solutions and Liquid Mixtures from Modelling and Experiment*, in Soft Matter Systems for Biomedical Applications.

- Springer Proceedings in Physics*, Vol 266 (Springer, Cham., 2022), pp. 53–84.
- [82] F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, and S. Perepelytsya, *Structuring and Orientation of Spermidine³⁺ Molecules Interacting with the DNA Double Helix*, in *Interfaces. International Conference: From New Materials to Life Science – Structure, Interactions, Dynamics and Activity* September 21-25, 2021 (Pula, Sardinia, Italy, 2021), p. 77.
- [83] F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, and S. Perepelytsya, *Modeling the Specific Interaction of Metal and Molecular Counterions with DNA Double Helix*, in *Записки Української Науково-Дослідницької Асоціації: Тези Доповідей Всеукраїнської Конференції Наукових Дослідників 19-25 Вересня 2021* (Львів, 2021), p. 188.
- [84] F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, and S. Perepelytsya, *Mechanisms of Spermidine³⁺ Interactions with the DNA Double Helix at the Nanoscale*, in *7-Th International Conference Naobiophysics: Fundamental and Applied Aspects. October 4-10, 2021, Verkin ILTPE of NAS of Ukraine* (Verkin ILTPE, Kharkiv, Ukraine, 2021), p. 77.
- [85] Л. А. Булавін, О. Ю. Актан, Ю. Ф. Забашта, С. М. Перепелиця, О. С. Свечнікова, and С. П. Сенчуров, *Медична Фізика : Підручник. У 4 т. Т. 2. Експеримент у Медичній Фізиці*, Vol. 2 (Видавничо-поліграфічний центр “Київський університет,” Київ, 2011).
- [86] G. Mendel, *E p h* (1865), Sch. Publ. 3 (1901).
- [87] R. Dahm, *Discovering DNA: Friedrich Miescher and the Early Years of Nucleic Acid Research*, Hum Genet **122**, 565 (2008).
- [88] M. Avery, O.T., MacLeod, C.M. and McCarty, *Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types*, J. Exp. Med. **79**, 137 (1944).
- [89] J. D. Watson, *The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA* (Atheneum Press (US), 1968).
- [90] C. Chargaff, E., Zamenhof, S. and Green, *Composition of Human Desoxypentose Nucleic Acid*, Nature **165**, 756 (1950).

- [91] E. Chargaff, E., Magasanik, B., Doniger, R. and Vischer, *The Nucleotide Composition of Ribonucleic Acids*, J. Am. Chem. Soc. **71**, 1513 (1949).
- [92] E. Schrödinger, *What Is Life? The Physical Aspect of the Living Cell* (Cambridge University Press, United Kingdom (UK), 1948).
- [93] H. R. Wilkins, M.H.F., Stokes, A.R. and Wilson, *Molecular Structure of Nucleic Acids: Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids*, Nature **171**, 738 (1953).
- [94] L. Pauling and R. B. Corey, *A Proposed Structure For The Nucleic Acids*, Proc. Natl. Acad. Sci. **39**, 84 (1953).
- [95] Brenda Maddox, *Rosalind Franklin: The Dark Lady of DNA* (HarperCollins, United Kingdom (UK), 2002).
- [96] G. Malenkov, L. Minchenkova, E. Minyat, a Schyolkina, and V. Ivanov, *The Nature of the & I Transition*, **5**, 38 (1975).
- [97] A. Rich and S. Zhang, *Z-DNA: The Long Road to Biological Function*, Nat. Rev. Genet. **4**, 566 (2003).
- [98] V. Tereshko, C. J. Wilds, G. Minasov, T. P. Prakash, M. A. Maier, A. Howard, Z. Wawrzak, M. Manoharan, and M. Egli, *Detection of Alkali Metal Ions in DNA Crystals Using State-of-the-Art X-Ray Diffraction Experiments*, Nucleic Acids Res. **29**, 1208 (2001).
- [99] V. Tereshko, G. Minasov, and M. Egli, *A “hydrat-Ion” Spine in a B-DNA Minor Groove*, J. Am. Chem. Soc. **121**, 3590 (1999).
- [100] A. Harper, J. A. Brannigan, M. Buck, L. Hewitt, R. J. Lewis, M. H. Moore, and B. Schneider, *Structure of d(TGCGCA)₂ and a Comparison with Other DNA Hexamers*, Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr. **54**, 1273 (1998).
- [101] W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, *VMD: Visual Molecular Dynamics*, J. Mol. Graph. **14**, 33 (1996).
- [102] D. Laage, T. Elsaesser, and J. T. Hynes, *Water Dynamics in the Hydration Shells of Biomolecules*, Chem. Rev. **117**, 10694 (2017).
- [103] T. Weidlich, S. M. Lindsay, and A. Rupprecht, *The Optical Properties of Li- and Na-DNA Films*, **26**, 439 (1987).

- [104]N. Lavalle, S. A. Lee, and A. Rupprecht, *Counterion Effects on the Physical Properties and the A to B Transition of Calf-thymus DNA Films*, *Biopolymers* **30**, 877 (1990).
- [105]P. J. Adams, VanSteenberg, S. A. Lee, and A. Rupprecht, *Optical Properties of CsDNA Films as a Function of Hydration*, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **11**, 1277 (1994).
- [106]H. R. Drew, R. M. Wing, T. Takano, C. Broka, S. Tanaka, K. Itakura, and R. E. Dickerson, *Structure of a B-DNA Dodecamer: Conformation and Dynamics.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **78**, 2179 (1981).
- [107]E. Duboué-Dijon, A. C. Fogarty, J. T. Hynes, and D. Laage, *Dynamical Disorder in the DNA Hydration Shell*, *J. Am. Chem. Soc.* **138**, 7610 (2016).
- [108]D. J. Floisand and S. A. Corcelli, *Computational Study of Phosphate Vibrations as Reporters of DNA Hydration*, *J. Phys. Chem. Lett.* **6**, 4012 (2015).
- [109]M. Heyden and D. J. Tobias, *Spatial Dependence of Protein-Water Collective Hydrogen-Bond Dynamics*, *Phys. Rev. Lett.* **111**, 16 (2013).
- [110]V. P. Denisov, G. Carlström, K. Venu, and B. Halle, *Kinetics of DNA Hydration*, *J. Mol. Biol.* **268**, 118 (1997).
- [111]D. Saha, S. Supekar, and A. Mukherjee, *Distribution of Residence Time of Water around DNA Base Pairs: Governing Factors and the Origin of Heterogeneity*, *J. Phys. Chem. B* **119**, 11371 (2015).
- [112]T. Schlick, *Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide* (Springer US, New York, 2002).
- [113]M. Egli and V. Tereshko, *Lattice- and Sequence-Dependent Binding of Mg²⁺ in the Crystal Structure of a B-DNA Dodecamer*, **884**, 87 (2004).
- [114]J. Duguid, V. A. Bloomfield, J. Benevides, and G. J. Thomas, *Raman Spectroscopy of DNA-Metal Complexes. I. Interactions and Conformational Effects of the Divalent Cations: Mg, Ca, Sr, Ba, Mn, Co, Ni, Cu, Pd, and Cd*, *Biophys. J.* **65**, 1916 (1993).
- [115]J. G. Duguid, V. A. Bloomfield, J. M. Benevides, and G. J. Thomas, *Raman Spectroscopy of DNA-Metal Complexes. II. The Thermal Denaturation of DNA*

- in the Presence of Sr²⁺, Ba²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Mn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, and Cd²⁺*, Biophys. J. **69**, 2623 (1995).
- [116] H. Deng, V. A. Bloomfield, J. M. Benevides, and G. J. Thomas, *Dependence of the Raman Signature of Genomic B-DNA on Nucleotide Base Sequence*, Biopolymers **50**, 656 (1999).
- [117] A. Vologodskii and M. D. Frank-Kamenetskii, *DNA Melting and Energetics of the Double Helix*, Phys. Life Rev. **25**, 1 (2018).
- [118] S. Geggier, A. Kotlyar, and A. Vologodskii, *Temperature Dependence of DNA Persistence Length*, Nucleic Acids Res. **39**, 1419 (2011).
- [119] J. SantaLucia and D. Hicks, *The Thermodynamics of DNA Structural Motifs*, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. **33**, 415 (2004).
- [120] A. V. Sivolob, *Physics of DNA* (Kiev University press, Kiev, 2011).
- [121] X. Qiu, L. W. Kwok, H. Y. Park, J. S. Lamb, K. Andresen, and L. Pollack, *Measuring Inter-DNA Potentials in Solution*, Phys. Rev. Lett. **96**, 1 (2006).
- [122] M. Usula, F. Mocci, F. C. C. Marincola, S. Porcedda, L. Gontrani, and R. Caminiti, *The Structural Organization of N -Methyl-2-Pyrrolidone + Water Mixtures: A Densitometry, x-Ray Diffraction, and Molecular Dynamics Study*, J. Chem. Phys. **140**, 124503 (2014).
- [123] V. P. Denisov and B. Halle, *Sequence-Specific Binding of Counterions to B-DNA*, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **97**, 629 (2000).
- [124] S. Tomić, S. D. Babić, T. Vuletić, S. Krča, D. Ivanković, L. Griparić, and R. Podgornik, *Dielectric Relaxation of DNA Aqueous Solutions*, Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys. **75**, 1 (2007).
- [125] K. Serec, S. D. Babić, R. Podgornik, and S. Tomić, *Effect of Magnesium Ions on the Structure of DNA Thin Films: An Infrared Spectroscopy Study*, Nucleic Acids Res. **44**, 8456 (2016).
- [126] G. M. Glibitskiy, V. V. Jelali, M. O. Semenov, A. D. Roshal, D. M. Glibitskiy, O. Y. Volyanskiy, and G. G. Zegrya, *Interaction of DNA with Silver Nanoparticles*, Ukr. J. Phys. **57**, 695 (2012).
- [127] I. Y. Skuratovskii, L. I. Volkova, K. A. Kapitonova, and V. N. Bartenev,

- Position of the Heavy Ion in the Structure of Crystallographic B-DNA*, Biofizika **24**, 750 (1979).
- [128] V. N. Bartenev, E. I. Golovamov, K. A. Kapitonova, L. I. Volkova, and I. Y. Skuratovskii, *Structure of the B-DNA Cationic Shell as Revealed by an X-Ray Diffraction Study of CsDNA. Sequence-Specific Cationic Stabilization of B Form DNA*, J. Mol. Biol. **169**, 217 (1983).
- [129] C. C. Sines, L. McFail-Isom, S. B. Howerton, D. VanDerveer, and L. D. Williams, *Cations Mediate B-DNA Conformational Heterogeneity*, J. Am. Chem. Soc. **122**, 11048 (2000).
- [130] K. K. Woods, L. McFail-Isom, C. C. Sines, S. B. Howerton, R. K. Stephens, and L. D. Williams, *Monovalent Cations Sequester within the A-Tract Minor Groove of [d(CGCGAATTCGCG)]₂ [4]*, J. Am. Chem. Soc. **122**, 1546 (2000).
- [131] S. B. Howerton, C. C. Sines, D. VanDerveer, and L. D. Williams, *Locating Monovalent Cations in the Grooves of B-DNA*, Biochemistry **40**, 10023 (2001).
- [132] K. K. Woods, T. Maehigashi, S. B. Howerton, C. C. Sines, S. Tannenbaum, and L. D. Williams, *High-Resolution Structure of an Extended A-Tract: [D(CGCAAATTTGCG)]₂*, J. Am. Chem. Soc. **126**, 15330 (2004).
- [133] S. Cruz-León, W. Vanderlinden, P. Müller, T. Forster, G. Staudt, Y.-Y. Lin, J. Lipfert, and N. Schwierz, *Twisting DNA by Salt*, Nucleic Acids Res. **50**, 5726 (2022).
- [134] P. R. Smirnov and V. N. Trostin, *Structures of the Nearest Surroundings of the K⁺, Rb⁺, and Cs⁺ Ions in Aqueous Solutions of Their Salts*, Russ. J. Gen. Chem. **77**, 2101 (2007).
- [135] N. A. Ismailov, *Electro Chemistry of Solutions*, 3rd ed. (Khimia, Moscow, 1976).
- [136] S. M. Perepelytsya, *Positively and Negatively Hydrated Counterions in Molecular Dynamics Simulations of DNA Double Helix*, Ukr. J. Phys. **65**, 510 (2020).
- [137] K. Igarashi and K. Kashiwagi, *Modulation of Cellular Function by Polyamines*, Int. J. Biochem. Cell Biol. **42**, 39 (2010).

- [138]M. M. Patel and T. J. Anchordoquy, *Ability of Spermine to Differentiate between DNA Sequences-Preferential Stabilization of A-Tracts*, Biophys. Chem. **122**, 5 (2006).
- [139]E. W. Gerner and F. L. Meyskens, *Polyamines and Cancer: Old Molecules, New Understanding*, Nat. Rev. Cancer **4**, 781 (2004).
- [140]G. Petri, M. Antonello, and C. Fernando, *Modulation of Learning and Memory by Natural Polyamines* Gustavo, Autophagy **8627**, 1 (2010).
- [141]F. Madeo, T. Eisenberg, F. Pietrocola, and G. Kroemer, *Spermidine in Health and Disease*, Science (80-.). **359**, (2018).
- [142]A. E. Pegg, *Toxicity of Polyamines and Their Metabolic Products*, Chem. Res. Toxicol. **26**, 1782 (2013).
- [143]P. N. Moschou and K. A. Roubelakis-Angelakis, *Polyamines and Programmed Cell Death*, J. Exp. Bot. **65**, 1285 (2014).
- [144]A. Visvanathan, K. Ahmed, L. Even-Faitelson, D. Lleres, D. P. Bazett-Jones, and A. I. Lamond, *Modulation of Higher Order Chromatin Conformation in Mammalian Cell Nuclei Can Be Mediated by Polyamines and Divalent Cations*, PLoS One **8**, (2013).
- [145]B. C. Mounce, M. E. Olsen, M. Vignuzzi, and J. H. Connor, *Polyamines and Their Role in Virus Infection*, Microbiol. Mol. Biol. Rev. **81**, 1 (2017).
- [146]M. R. Firpo and B. C. Mounce, *Diverse Functions of Polyamines in Virus Infection*, Biomolecules **10**, 1 (2020).
- [147]E. Bignon, C. H. Chan, C. Morell, A. Monari, J. L. Ravanat, and E. Dumont, *Molecular Dynamics Insights into Polyamine–DNA Binding Modes: Implications for Cross-Link Selectivity*, Chem. - A Eur. J. **23**, 12845 (2017).
- [148]G. Iacomino, G. Picariello, and L. D’Agostino, *DNA and Nuclear Aggregates of Polyamines*, Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res. **1823**, 1745 (2012).
- [149]N. Korolev, A. P. Lyubartsev, L. Nordenskiöld, and A. Laaksonen, *Spermine: An “Invisible” Component in the Crystals of B-DNA. A Grand Canonical Monte Carlo and Molecular Dynamics Simulation Study*, J. Mol. Biol. **308**, 907 (2001).

- [150]N. Korolev, A. P. Lyubartsev, A. Laaksonen, and L. Nordenskiöld, *A Molecular Dynamics Simulation Study of Polyamine- and Sodium-DNA. Interplay between Polyamine Binding and DNA Structure*, Eur. Biophys. J. **33**, 671 (2004).
- [151]L. C. Gosule and J. A. Schellman, *DNA Condensation with Polyamines. I. Spectroscopic Studies*, J. Mol. Biol. **121**, 311 (1978).
- [152]D. K. Chattoraj, L. C. Gosule, and J. A. Schellman, *DNA Condensation with Polyamines. II. Electron Microscopic Studies*, J. Mol. Biol. **121**, 327 (1978).
- [153]I. Rouzina and V. A. Bloomfield, *Macroion Attraction Due to Electrostatic Correlation between Screening Counterions. 1. Mobile Surface-Adsorbed Ions and Diffuse Ion Cloud*, J. Phys. Chem. **100**, 9977 (1996).
- [154]V. A. Bloomfield, *DNA Condensation by Multivalent Cations*, Biopolymers **44**, 269 (1997).
- [155]W. Meng, R. Timsina, A. Bull, K. Andresen, and X. Qiu, *Additive Modulation of DNA-DNA Interactions by Interstitial Ions*, Biophys. J. **118**, 3019 (2020).
- [156]A. Zinchenko, N. V. Berezhnoy, S. Wang, W. M. Rosencrans, N. Korolev, J. R. C. Van Der Maarel, and L. Nordenskiöld, *Single-Molecule Compaction of Megabase-Long Chromatin Molecules by Multivalent Cations*, Nucleic Acids Res. **46**, 635 (2018).
- [157]A. A. Ouameur and H. A. Tajmir-Riahi, *Structural Analysis of DNA Interactions with Biogenic Polyamines and Cobalt(III)Hexamine Studied by Fourier Transform Infrared and Capillary Electrophoresis*, J. Biol. Chem. **279**, 42041 (2004).
- [158]S. H. Kim, S. H. Lim, A. R. Lee, D. H. Kwon, H. K. Song, J. H. Lee, M. Cho, A. Johner, N. K. Lee, and S. C. Hong, *Unveiling the Pathway to Z-DNA in the Protein-Induced B-Z Transition*, Nucleic Acids Res. **46**, 4129 (2018).
- [159]C. Y. Lee, G. C. Su, W. Y. Huang, M. Y. Ko, H. Y. Yeh, G. D. Chang, S. J. Lin, and P. Chi, *Promotion of Homology-Directed DNA Repair by Polyamines*, Nat. Commun. **10**, 1 (2019).
- [160]F. Oosawa, *Polyelectrolytes* (Marcel Dekker. Inc., New York, 1971).
- [161]X. Qiu, K. Andresen, J. S. Lamb, L. W. Kwok, and L. Pollack, *Abrupt*

- Transition from a Free, Repulsive to a Condensed, Attractive DNA Phase, Induced by Multivalent Polyamine Cations*, Phys. Rev. Lett. **101**, 3 (2008).
- [162] A. A. Kornyshev, D. J. Lee, S. Leikin, and A. Wynveen, *Structure and Interactions of Biological Helices*, Rev. Mod. Phys. **79**, 943 (2007).
- [163] R. M. Fuoss, A. Katchalsky, and S. Lifson, *The Potential of an Infinite Rod-Like Molecule and the Distribution of the Counter Ions*, Proc. Natl. Acad. Sci. **37**, 579 (1951).
- [164] B. O'Shaughnessy and Q. Yang, *Manning-Oosawa Counterion Condensation*, Phys. Rev. Lett. **94**, 1 (2005).
- [165] E. Trizac and G. Téllez, *Onsager-Manning-Oosawa Condensation Phenomenon and the Effect of Salt*, Phys. Rev. Lett. **96**, 1 (2006).
- [166] J. S. McCaskill and E. D. Fackerell, *Painlevé Solution of the Poisson-Boltzmann Equation for a Cylindrical Polyelectrolyte in Excess Salt Solution*, J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2 Mol. Chem. Phys. **84**, 161 (1988).
- [167] J. C. Phillips, R. Braun, W. Wang, J. Gumbart, E. Tajkhorshid, E. Villa, C. Chipot, R. D. Skeel, L. Kalé, and K. Schulten, *Scalable Molecular Dynamics with NAMD*, J. Comput. Chem. **26**, 1781 (2005).
- [168] M. J. Abraham, T. Murtola, R. Schulz, S. Páll, J. C. Smith, B. Hess, and E. Lindahl, *GROMACS: High Performance Molecular Simulations through Multi-Level Parallelism from Laptops to Supercomputers*, SoftwareX **1–2**, 19 (2015).
- [169] A. P. Lyubartsev and A. Laaksonen, *M. DynaMix - a Scalable Portable Parallel MD Simulation Package for Arbitrary Molecular Mixtures*, Comput. Phys. Commun. **128**, 565 (2000).
- [170] A. Laaksonen, A. Lyubartsev, and F. Mocci, *M.DynaMix Studies of Solvation, Solubility and Permeability*, in *Molecular Dynamics - Studies of Synthetic and Biological Macromolecules*, edited by P. L. Wang (Intech, 2012), pp. 85–103.
- [171] D. A. Case, T. E. Cheatham III, T. Darden, H. Gohlke, R. Luo, K. M. Merz Jr., J. A. Onufriev, C. Simmerling, B. Wang, and R. J. Woods, *The Amber Biomolecular Simulation Programs*, Comput. Chem. **26**, 1668 (2005).
- [172] B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan,

- and M. Karplus, *{CHARMM}: A Program for Macromolecular Energy, Minimization, and Dynamics Calculations*, J. Comp. Chem. **4**, 187 (1983).
- [173] B. R. Brooks, C. L. Brooks III, A. D. Mackerell, L. Nilsson, R. J. Petrella, B. Roux, Y. Won, G. Archontis, C. Bartels, S. Boresch, A. Caflisch, L. Caves, Q. Cui, A. R. Dinner, M. Feig, S. Fischer, J. Gao, M. Hodoscek, K. Kuczera, W. Im, T. Lazaridis, J. Ma, V. Ovchinnikov, E. Paci, R. W. Pastor, C. B. Post, J. Z. Pu, M. Schaefer, B. Tidor, R. M. Venable, H. L. Woodcock, X. Wu, W. Yang, D. M. York, and M. Karplus, *CHARMM: The Biomolecular Simulation Program*, J. Comp. Chem. **30**, 1545 (2009).
- [174] A. D. MacKerell, D. Bashford, M. Bellott, R. L. Dunbrack, J. D. Evanseck, M. J. Field, S. Fischer, J. Gao, H. Guo, S. Ha, D. Joseph-McCarthy, L. Kuchnir, K. Kuczera, F. T. K. Lau, C. Mattos, S. Michnick, T. Ngo, D. T. Nguyen, B. Prodhom, W. E. Reiher, B. Roux, M. Schlenkrich, J. C. Smith, R. Stote, J. Straub, M. Watanabe, J. Wiórkiewicz-Kuczera, D. Yin, and M. Karplus, *All-Atom Empirical Potential for Molecular Modeling and Dynamics Studies of Proteins*, J. Phys. Chem. B **102**, 3586 (1998).
- [175] G. Corongiu and E. Clementi, *Simulations of the Solvent Structure for Macromolecules. I. Solvation of B-DNA Double Helix at $T = 300$ K*, Biopolymers **20**, 551 (1981).
- [176] G. L. Seibel, U. C. Singh, and P. A. Kollman, *A Molecular Dynamics Simulation of Double-Helical B-DNA Including Counterions and Water*, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. (1985).
- [177] E. Clementi, G. Corongiu, J. H. Detrich, H. Kahnmohammadbaigi, S. Chin, L. Domingo, A. Laaksonen, and N. L. Nguyen, *Parallelism in Computational Chemistry: Applications in Quantum and Statistical Mechanics*, Phys. B+C **131**, 74 (1985).
- [178] W. F. Van Gunsteren, H. J. C. Berendsen, R. G. Geurtsen, and H. R. J. Zwinderman, *A Molecular Dynamics Computer Simulation of an Eight-base-pair DNA Fragment in Aqueous Solution: Comparison with Experimental Two-dimensional NMR Data*, Ann. N. Y. Acad. Sci. **482**, 287

(1986).

- [179] M. Nilges, G. M. Clore, A. M. Gronenborn, A. T. Brunger, M. Karplus, and L. Nilsson, *Refinement of the Solution Structure of the DNA Hexamer 5'd(GCATGC)2 combined Use of Nuclear Magnetic Resonance and Restrained Molecular Dynamics*, *Biochemistry* **26**, 3718 (1987).
- [180] A. Laaksonen, L. G. Nilsson, B. Jönsson, and O. Teleman, *Molecular Dynamics Simulation of Double Helix Z-DNA in Solution*, *Chem. Phys.* (1989).
- [181] T. E. Cheatham, J. L. Miller, T. Fox, T. A. Darden, and P. A. Kollman, *Molecular Dynamics Simulations on Solvated Biomolecular Systems: The Particle Mesh Ewald Method Leads to Stable Trajectories of DNA, RNA, and Proteins*, *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 4193 (1995).
- [182] C. Maffeo, J. Yoo, J. Comer, D. B. Wells, B. Luan, and A. Aksimentiev, *Close Encounters with DNA*, *J Phys Condens Matter* **26**, 413101 (2014).
- [183] M. A. Young, B. Jayaram, and D. L. Beveridge, *Intrusion of Counterions into the Spine of Hydration in the Minor Groove of B-DNA: Fractional Occupancy of Electronegative Pockets*, *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 59 (1997).
- [184] A. D. MacKerell, *Influence of Magnesium Ions on Duplex DNA Structural, Dynamic, and Solvation Properties*, *J. Phys. Chem. B* **101**, 646 (1997).
- [185] A. P. Lyubartsev and A. Laaksonen, *Molecular Dynamics Simulations of DNA in Solution with Different Counter-Ions*, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **16**, 579 (1998).
- [186] P. Várnai and K. Zakrzewska, *DNA and Its Counterions: A Molecular Dynamics Study*, *Nucleic Acids Res.* **32**, 4269 (2004).
- [187] K. M. Knee, S. B. Dixit, C. E. Aitken, S. Ponomarev, D. L. Beveridge, and I. Mukerji, *Spectroscopic and Molecular Dynamics Evidence for a Sequential Mechanism for the A-to-B Transition in DNA*, *Biophys. J.* **95**, 257 (2008).
- [188] M. Rueda, E. Cubero, C. A. Laughton, and M. Orozco, *Exploring the Counterion Atmosphere around DNA: What Can Be Learned from Molecular Dynamics Simulations?*, *Biophys. J.* **87**, 800 (2004).
- [189] F. Mocci and G. Saba, *Molecular Dynamics Simulations of A · T-Rich Oligomers: Sequence-Specific Binding of Na⁺ in the Minor Groove of B-DNA*,

- Biopolymers **68**, 471 (2003).
- [190] J. Yoo and A. Aksimentiev, *Improved Parametrization of Li⁺, Na⁺, K⁺, and Mg²⁺ Ions for All-Atom Molecular Dynamics Simulations of Nucleic Acid Systems*, J. Phys. Chem. Lett. **3**, 45 (2012).
- [191] P. D. Dans, L. Danilane, I. Ivani, T. Drsata, F. Lankas, A. Hospital, J. Walther, R. I. Pujagut, F. Battistini, J. L. Gelpi, R. Lavery, and M. Orozco, *Long-Timescale Dynamics of the Drew-Dickerson Dodecamer*, Nucleic Acids Res. **44**, 4052 (2016).
- [192] A. Atzori, S. Liggi, A. Laaksonen, M. Porcu, A. P. Lyubartsev, G. Saba, and F. Mocci, *Base Sequence Specificity of Counterion Binding to DNA: What Can MD Simulations Tell Us?*, Can. J. Chem. **94**, 1181 (2016).
- [193] M. Pasi, J. H. Maddocks, D. Beveridge, T. C. Bishop, D. A. Case, T. Cheatham, P. D. Dans, B. Jayaram, F. Lankas, C. Laughton, J. Mitchell, R. Osman, M. Orozco, A. Pérez, D. Petkevičiute, N. Spackova, J. Sponer, K. Zakrzewska, and R. Lavery, *MABC: A Systematic Microsecond Molecular Dynamics Study of Tetranucleotide Sequence Effects in B-DNA*, Nucleic Acids Res. **42**, 12272 (2014).
- [194] R. E. Franklin and R. G. Gosling, *Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate*, Nature **171**, 740 (1953).
- [195] R. E. Franklin and R. G. Gosling, *Evidence for 2-Chain Helix in Crystalline Structure in Sodium Deoxyribonucleate*, Nature **172**, 156 (1953).
- [196] S. Y. Ponornarev, K. M. Thayer, and D. L. Beveridge, *Ion Motions in Molecular Dynamics Simulations on DNA*, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **101**, 14771 (2004).
- [197] С. Н. Волков and А. М. Косевич, *О Конформационных Колебаниях ДНК*, Молекулярная Биология **21**, 797 (1987).
- [198] С. Н. Волков, А. М. Косевич, and Г. Е. Вайреб, *Теоретическое Изучение Низкочастотных Колебаний Макромолекулы ДНК*, Биополимеры и Клетка **5**, 32 (1989).
- [199] S. N. Volkov and A. M. Kosevich, *Theory of Low-Frequency Vibrations in*

DNA Macromolecules, J. Biomolec. Struct. Dyn. **8**, 1069 (1991).

[200]С. Н. Волков, *Конформационная Зависимость Низкочастотных Колебаний Макромолекулы ДНК*, Биополимеры и Клетка **7**, 40 (1991).

[201]L. Young, V. V. Prabhu, and E. W. Prohofsky, *Calculation of Far-Infrared Absorption in Polymer DNA*, Phys. Rev. A **39**, 3173 (1989).

[202]S. D. M. Garcia A.E., *Harmonic Vibrations and Thermodynamic Stability of a DNA Oligomer in Monovalent Salt Solution*, Proc. Natl. Acad. Sci. **86**, 3160 (1989).

[203]S. Cocco and R. Monasson, *Theoretical Study of Collective Modes in DNA at Ambient Temperature*, J. Chem. Phys. **112**, 10017 (2000).

[204]C. Kittel, *Introduction to Solid State Physics* (John Wiley and Son, New York, 1954).

[205]C. Demarco, S. M. Lindsay, M. Pokorny, and P. J., *Interhelical Effects on the Low-Frequency Modes and Phase Transitions of Li-and Na-DNA*, Biopolymes **24**, 2035 (1985).

[206]H. Urabe, M. Kato, Y. Tominaga, and K. Kajiwara, *Counterion Dependence of Water of Hydration in DNA Gel*, J. Chem. Phys. **92**, 768 (1990).

[207]T. Weidlich, S. M. Lindsay, S. A. Lee, N. J. Tao, G. D. Lewen, W. L. Peticolas, G. A. Thomas, and A. Rupprecht, *Low-Frequency Raman Spectra of DNA: A Comparison between Two Oligonucleotide Crystals and Highly Crystalline Films of Calf Thymus DNA*, J. Phys. Chem. **92**, 3315 (1988).

[208]O. P. Lamba, A. H.-J. Wang, and G. J. Thomas Jr., *Low-Frequency Dynamics and Raman Scattering of Crystals, of B-, A-, and Z-DNA, and Fibers of C-DNA*, Biopolymers **28**, 667 (1989).

[209]T. Weidlich, S. M. Lindsay, Q. Rui, A. Rupprecht, W. L. Peticolas, and G. A. Thomas, *Raman Study of Low Frequency Interhelical Modes in A-, B-, and C-DNA*, J. Biomolec. Struct. Dyn. **8**, 139 (1990).

[210]H. Urabe, K. Kato, and Y. Tominaga, *Counterion Dependence of Water of Hydration in DNA Gel*, J. Chem. Phys. **92**, 768 (1990).

[211]A. Wittlin, L. Genzel, F. Kremer, S. Häsel, A. Poglitsch, and A. Rupprecht,

- Far-Infrared Spectroscopy on Oriented Films of Dry Hydrated DNA*, Phys. Rev. A **34**, 493 (1986).
- [212] Y. Tominaga, M. Shida, K. Kubota, H. Urabe, Y. Nishimura, and T. M., *Coupled Dynamics between DNA Double Helix and Hydrated Water by Low Frequency Raman Spectroscopy*, J. Chem. Phys. **83**, 5972 (1985).
- [213] T. Weidlich, S. M. Lindsay, and R. A., *Counterion Effects on the Structure and Dynamics of Solid DNA*, Phys. Rev. Lett. **61**, 1674 (1988).
- [214] L. Genzel and T. P. Martin, *Infrared Absorption by Surface Phonons and Surface Plasmons in Small Crystals*, Surf. Sci. **34**, 33 (1973).
- [215] N. Lavalle, S. A. Lee, and L. S. Fox, *Lattice-Dynamical Model of Crystalline DNA: Intermolecular Bonds and the A to B Transition*, Phys. Rev. A **43**, 3126 (1991).
- [216] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Counterion Vibrations in the DNA Low-Frequency Spectra*, Eur. Phys. J. E **24**, 261 (2007).
- [217] Л. А. Булавін, С. Н. Волков, С. Ю. Кутовий, and С. М. Перепелиця, *Спостереження Іон-Фосфатних Коливань Макромолекули ДНК*, Доповіді Національної Академії Наук України **69** (2007).
- [218] В. И. Полтев and Н. В. Шулюпина, *Моделирование Взаимодействия в Комплементарных Парах Азотистых Оснований Нуклеиновых Кислот с Помощью Атом-Атомных Потенциальных Функций*, Молекулярная Биология **18**, 1549 (1984).
- [219] Ю. П. Лысов, В. Б. Журкин, Л. Ю. Тычинская, and В. А. Флорентьев, *Восемь Типов Стекинг-Взаимодействий в Динуклеотидах. Конформационные Расчеты ApA, ApC, CpA, CpC, GpC*, Молекулярная Биология **13**, 1161 (1979).
- [220] S. Arnott and D. W. . Hukins, *Optimised Parameters for A DNA and B DNA*, Biochem. Biophysics Res. Commun. **47**, 1504 (1972).
- [221] H. Urabe and Y. Tominaga, *Low Frequency Raman Spectra of DNA*, J. Phys. Soc. Japan **50**, 3543 (1981).
- [222] V. I. Ivanov, L. E. Minchenkova, A. K. Schyolkina, and A. I. Poletayev,

Different Conformations of Double-Stranded Nucleic Acid in Solution as Revealed by Circular Dichroism, Biopolymers **12**, 89 (1973).

[223] S. M. Perepelytsya and S. N. Volkov, *Ion-Phosphate Mode in the DNA Low-Frequency Spectra*, Ukr. J. Phys. **49**, 1072 (2004).

[224] S. M. Perepelytsya, *Role of Alkali Metal Counterions in the Conformational Dynamics of Double Helical Polynucleotides*, 2008.

[225] T. Chatake, I. Tanaka, H. Umino, S. Arai, and N. Niimura, *The Hydration Structure of a Z-DNA Hexameric Duplex Determined by a Neutron Diffraction Technique*, Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr. **61**, 1088 (2005).

[226] T. Weidlich, S. M. Lindsay, W. L. Peticolas, and G. A. Thomas, *Low Frequency Raman Spectra of Z-DNA*, J. Biomol. Struct. Dyn. **7**, 849 (1990).

[227] R. V Gessner, C. A. Frederick, G. J. Quigley, A. Rich, and A. H. J. Wang, *The Molecular Structure of the Left-Handed Z-DNA Double Helix at 1.0-Å Atomic Resolution*, J. Biol. Chem. **264**, 7921 (1989).

[228] B. Schneider, M. Kabeláč, and P. Hobza, *Geometry of the Phosphate Group and Its Interactions with Metal Cations in Crystals and Ab Initio Calculations*, J. Am. Chem. Soc. **118**, 12207 (1996).

[229] Н. А. Измайлов, *Электрохимия Растворов* (Химия, Москва, 1976).

[230] B. E. Hingerty, R. H. Ritchie, T. L. Ferrell, and J. E. Turner, *Dielectric Effects in Biopolymers: The Theory of Ionic Saturation Revisited*, Biopolymers **24**, 427 (1985).

[231] J. Ramstein and R. Lavery, *Energetic Coupling between DNA Bending and Base Pair Opening*, Proc. Natl. Acad. Sci. **85**, 7231 (1988).

[232] A. K. Mazur and L. Jernigan, *Distance-Dependent Dielectric Constants and Their Application to Double Helical DNA*, Biopolymers **31**, 1615 (1991).

[233] D. W. Snoke and M. Cardona, *A Bond Polarizability Model for the C60 Raman Spectrum*, Solid State Commun. **87**, 121 (1993).

[234] E. C. Dykeman and O. F. Sankey, *Low Frequency Mechanical Modes of Viral Capsids: An Atomistic Approach*, Phys. Rev. Lett. **100**, 1 (2008).

[235] E. C. Dykeman, D. Benson, K. T. Tsen, and O. F. Sankey, *Simulations of*

- Impulsive Laser Scattering of Biological Protein Assemblies: Application to M13 Bacteriophage*, Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys. **80**, 1 (2009).
- [236] E. C. Dykeman, O. F. Sankey, and K. T. Tsen, *Raman Intensity and Spectra Predictions for Cylindrical Viruses*, Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys. **76**, 1 (2007).
- [237] K. T. Tsen, E. C. Dykeman, O. F. Sankey, N. T. Lin, S. W. D. Tsen, and J. G. Kiang, *Observation of the Low Frequency Vibrational Modes of Bacteriophage M13 in Water by Raman Spectroscopy*, Virol. J. **3**, 1 (2006).
- [238] E. C. Dykeman and O. F. Sankey, *Atomistic Modeling of the Low-Frequency Mechanical Modes and Raman Spectra of Icosahedral Virus Capsids*, Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys. **81**, 1 (2010).
- [239] E. C. Dykeman and R. Twarock, *All-Atom Normal-Mode Analysis Reveals an RNA-Induced Allostery in a Bacteriophage Coat Protein*, Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys. **81**, 1 (2010).
- [240] М. В. Волькенштейн, М. А. Ельяшевич, and С. Б.И., *Колебания Молекул. Т.2: Электрооптика Колебаний Молекул* (Государственное издательство технико-теоретической литературы, Москва-Ленинград, 1949).
- [241] А. М. Федорченко, *Теоретична Фізика. Механіка* (Вища школа, Київ, 1971).
- [242] L. Silberstein, *L. Molecular Refractivity and Atomic Interaction . II* , London, Edinburgh, Dublin Philos. Mag. J. Sci. **33**, 521 (1917).
- [243] H. Rozenberg, D. Rabinovich, F. Frolov, R. S. Hegde, and Z. Shakked, *Structural Code for DNA Recognition Revealed in Crystal Structures of Papillomavirus E2-DNA Targets*, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **95**, 15194 (1998).
- [244] А. Н. Верещагин, *Поляризуемость Молекул* (Наука, Москва, 1980).
- [245] D. Hamelberg, L. McFail-Isom, L. D. Williams, and W. David Wilson, *Flexible Structure of DNA: Ion Dependence of Minor-Groove Structure and Dynamics*, J. Am. Chem. Soc. **122**, 10513 (2000).

- [246] D. Hamelberg, L. D. Williams, and W. D. Wilson, *Influence of the Dynamic Positions of Cations on the Structure of the DNA Minor Groove: Sequence-Dependent Effects*, J. Am. Chem. Soc. **123**, 7745 (2001).
- [247] D. Hamelberg, L. D. Williams, and W. D. Wilson, *Effect of a Neutralized Phosphate Backbone on the Minor Groove of B-DNA: Molecular Dynamics Simulation Studies*, Nucleic Acids Res. **30**, 3615 (2002).
- [248] В. Є. Погорелов, *Вступ в Теорію Комбінаційного Розсіяння Світла* (2006).
- [249] G. E. Walrafen, *Raman Spectral Studies of Water Structure*, J. Chem. Phys. **40**, 3249 (1964).
- [250] W. G. E., *Raman Spectrum of Water: Transverse and Longitudinal Acoustic Modes below. Apprxeq. 300 Cm-1 and Optic Modes above. Apprxeq. 300 Cm-1*, J. Phys. Chem. **94**, 2237 (1990).
- [251] S. M. Bubon, T.L., Perepelytsya, *Low-Frequency Vibrations of Water Molecules in DNA Minor Groove*, Eur. Phys. J. E **44**, 84 (2021).
- [252] A. Estévez-Torres and D. Baigl, *DNA Compaction: Fundamentals and Applications*, Soft Matter **7**, 6746 (2011).
- [253] J. Olesiak, K. Matczyszyn, H. Mojzisova, M. Zlelinski, D. Chauvat, and J. Zyss, *Liquid Crystalline Phases in DNA and Dye-Doped DNA Solutions Analysed by Polarized Linear and Nonlinear Microscopy and Differential Scanning Calorimetry*, Mater. Sci. Pol. **27**, 813 (2009).
- [254] B. Sclavi, W. L. Peticolas, and J. W. Powell, *Fractal-like Patterns in DNA Films, B Form at 0% Relative Humidity, and Antiheteronomous DNA: An Ir Study*, Biopolymers **34**, 1105 (1994).
- [255] C. H. Mayeres, S. A. Lee, D. A. Pinnick, B. J. Carter, and J. Kim, *A Study of Na-DNA Films Containing NaCl via Scanning Electron and Tunneling Microscopies*, Biopolymers **36**, 669 (1995).
- [256] S. Hormeño, F. Moreno-Herrero, B. Ibarra, J. L. Carrascosa, J. M. Valpuesta, and J. R. Arias-Gonzalez, *Condensation Prevails over B-A Transition in the Structure of DNA at Low Humidity*, Biophys. J. **100**, 2006 (2011).
- [257] E. Allahyarov, G. Gompper, and H. Löwen, *DNA Condensation and*

- Redissolution: Interaction between Overcharged DNA Molecules*, J. Phys. Condens. Matter **17**, 1827 (2005).
- [258] E. Allahyarov, G. Gompper, and H. Löwen, *Attraction between DNA Molecules Mediated by Multivalent Ions*, Phys. Rev. E - Stat. Physics, Plasmas, Fluids, Relat. Interdiscip. Top. **69**, 13 (2004).
- [259] E. Allahyarov, H. Löwen, and G. Gompper, *Adsorption of Monovalent and Multivalent Cations and Anions on DNA Molecules*, Phys. Rev. E **68**, 061903 (2003).
- [260] B. Luan and A. Aksimentiev, *DNA Attraction in Monovalent and Divalent Electrolytes*, J. Am. Chem. Soc. **130**, 15754 (2008).
- [261] А. Ю. Гросберг and А. Р. Хохлов, *Статистическая Физика Макромолекул* (Nauka, Москва, 1989).
- [262] B. Porsch, L. Richard, J. Horský, Č. Koňák, and K. Ulbrich, *Molecular Weight and Polydispersity of Calf-Thymus DNA: Static Light-Scattering and Size-Exclusion Chromatography with Dual Detection*, Biomacromolecules **10**, 3148 (2009).
- [263] Б. П. Никольский, *Справочник Химика. Том 2. Основные Свойства Неорганических и Органических Соединений* (Химия, Москва, 1964).
- [264] I. A. Kuznetsov and N. V. Apolonnik, *The Equivalent Conductivity of Aqueous Salt-free Solutions of DNA: Influence of Univalent Counterions*, Biopolymers **20**, 2083 (1981).
- [265] И. А. Кузнецов, Н. В. Аполонник, and И. С. Шкловер, *Полиэлектролитные Свойства ДНК: Энергия Активации Электропроводности и Кондуктометрические Кривые Плавления Концентрированных Бессолевых Растворов*, Биополимеры и Клетка **3**, 72 (1987).
- [266] О. М. Алексєєв, Л. А. Булавін, and Д. О. Шамайко, *Динаміка Протиіонів Na^+ в Іонно Гідратному Шарі Молекули ДНК*, **1**, 45 (2009).
- [267] D. Truzzolillo, F. Bordi, C. Cametti, and S. Sennato, *Counterion Condensation of Differently Flexible Polyelectrolytes in Aqueous Solutions in the Dilute and*

Semidilute Regime, Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys. **79**, 1 (2009).

- [268] J. I. Sheu and E. Y. Sheu, *Characterization of DNA Degradation Using Direct Current Conductivity and Dynamic Dielectric Relaxation Techniques*, AAPS PharmSciTech **7**, 1 (2006).
- [269] Y. S. Liu, P. P. Banada, S. Bhattacharya, A. K. Bhunia, and R. Bashir, *Electrical Characterization of DNA Molecules in Solution Using Impedance Measurements*, Appl. Phys. Lett. **92**, 13 (2008).
- [270] M. Bastos, V. Castro, G. Mrevlishvili, and J. Teixeira, *Hydration of Ds-DNA and Ss-DNA by Neutron Quasielastic Scattering*, Biophys. J. **86**, 3822 (2004).
- [271] S. Manning, *A Limiting Law for the Conductance of the Rode Model of a Salt-Free Polyelectrolyte Solution*, J. Phys. Chem. **79**, 262 (1975).
- [272] G. S. Manning, *Limiting Laws and Counterion Condensation in Polyelectrolyte Solutions. 7. Electrophoretic Mobility and Conductance*, J. Phys. Chem. **85**, 1506 (1981).
- [273] A. V. Dobrynin and M. Rubinstein, *Theory of Polyelectrolytes in Solutions and at Surfaces*, Prog. Polym. Sci. **30**, 1049 (2005).
- [274] S. Sen, D. Andreatta, S. Y. Ponornarev, D. L. Beveridge, and M. A. Berg, *Dynamics of Water and Ions near DNA: Comparison of Simulation to Time-Resolved Stokes-Shift Experiments*, J. Am. Chem. Soc. **131**, 1724 (2009).
- [275] S. Perepelytsya and S. Volkov, *Intensities of the Raman Bands in the Low-Frequency Spectra of DNA with Light and Heavy Counterions*, Biophys. Bull. **23**, 5 (2009).
- [276] K. Tanaka and Y. Okahata, *A DNA-Lipid Complex in Organic Media and Formation of an Aligned Cast Film*, J Am Chem Soc **118**, 10679 (1996).
- [277] Т. Эрдеи-Груз, *Явление Переноса в Водных Растворах* (Мир, Москва, 1974).
- [278] J. Comer and A. Aksimentiev, *Predicting the DNA Sequence Dependence of Nanopore Ion Current Using Atomic-Resolution Brownian Dynamics*, J. Phys. Chem. C **116**, 3376 (2012).

- [279]D. B. Wells, S. Bhattacharya, R. Carr, C. Maffeo, A. Ho, J. Comer, and A. Aksimentiev, *Optimization of the Molecular Dynamics Method for Simulations of DNA and Ion Transport through Biological Nanopores*, *Methods Mol. Biol.* **870**, 165 (2012).
- [280]E. Rigo, Z. Dong, J. H. Park, E. Kennedy, M. Hokmabadi, L. Almonte-Garcia, L. Ding, N. Aluru, and G. Timp, *Measurements of the Size and Correlations between Ions Using an Electrolytic Point Contact*, *Nat. Commun.* **10**, 1 (2019).
- [281]R. M. Zadegan and M. L. Norton, *Structural DNA Nanotechnology: From Design to Applications*, *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 7149 (2012).
- [282]C.-Y. Li, E. A. Hemmig, J. Kong, J. Yoo, S. Hernández-Ainsa, U. F. Keyser, and A. Aksimentiev, *Ionic Conductivity, Structural Deformation, and Programmable Anisotropy of DNA Origami in Electric Field*, *ACS Nano* **9**, 1420 (2015).
- [283]M. Belkin and A. Aksimentiev, *Molecular Dynamics Simulation of DNA Capture and Transport in Heated Nanopores*, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **8**, 12599 (2016).
- [284]N. Foloppe and A. D. MacKerell, *All-Atom Empirical Force Field for Nucleic Acids: I. Parameter Optimization Based on Small Molecule and Condensed Phase Macromolecular Target Data*, *J. Comput. Chem.* **21**, 86 (2000).
- [285]A. D. MacKerell and N. K. Banavali, *All-Atom Empirical Force Field for Nucleic Acids: II. Application to Molecular Dynamics Simulations of DNA and RNA in Solution*, *J. Comput. Chem.* **21**, 105 (2000).
- [286]X. J. Lu and W. K. Olson, *3DNA: A Software Package for the Analysis, Rebuilding and Visualization of Three-Dimensional Nucleic Acid Structures*, *Nucleic Acids Res.* **31**, 5108 (2003).
- [287]R. Kumar and H. Grubmüller, *Do-X3dna: A Tool to Analyze Structural Fluctuations of DsDNA or DsRNA from Molecular Dynamics Simulations*, *Bioinformatics* **31**, 2583 (2015).
- [288]B. Hess, H. Bekker, H. J. C. Berendsen, and J. G. E. M. Fraaije, *LINCS: A Linear Constraint Solver for Molecular Simulations*, *J. Comput. Chem.* **18**,

1463 (1997).

- [289] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, and M. L. Klein, *Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water*, J. Chem. Phys. **79**, 926 (1983).
- [290] D. Beglov and B. Roux, *Finite Representation of an Infinite Bulk System: Solvent Boundary Potential for Computer Simulations*, J. Chem. Phys. **100**, 9050 (1994).
- [291] T. Darden, D. York, and L. Pedersen, *Particle Mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ Method for Ewald Sums in Large Systems*, J. Chem. Phys. **98**, 10089 (1993).
- [292] M. Rueda, E. Cubero, C. A. Laughton, and M. Orozco, *Exploring the Counterion Atmosphere around DNA: What Can Be Learned from Molecular Dynamics Simulations?*, Biophys. J. **87**, 800 (2004).
- [293] D. Pörschke, *Threshold Effects Observed in Conformation Changes Induced by Electric Fields*, Biopolymers **15**, 1917 (1976).
- [294] D. Ho, W. Hetrick, N. Le, A. Chin, and R. M. West, *Electric Field-Induced DNA Melting with Detection by Square Wave Voltammetry*, J. Electrochem. Soc. **166**, B236 (2019).
- [295] P. Vanýsek, *Ionic Conductivity and Diffusion at Infinite Dilution*, CRC Handb. Chem. Phys. **96**, 5 (1996).
- [296] G. S. Manning, *The Contribution of Transient Counterion Imbalances to DNA Bending Fluctuations*, Biophys. J. **90**, 3208 (2006).
- [297] G. S. Manning, *The Persistence Length of DNA Is Reached from the Persistence Length of Its Null Isomer through an Internal Electrostatic Stretching Force*, Biophys. J. **91**, 3607 (2006).
- [298] K. Nadassy, I. Tomás-Oliveira, I. Alberts, J. Janin, and S. J. Wodak, *Standard Atomic Volumes in Double-Stranded DNA and Packing in Protein-DNA Interfaces*, Nucleic Acids Res. **29**, 3362 (2001).
- [299] H. Berendsen, J. Grigera, and T. Straatsma, *The Missing Term in Effective Pair Potentials*, J. Phys. Chem. **91**, 6269 (1987).
- [300] J. P. Ryckaert, G. Ciccotti, and H. J. C. Berendsen, *Numerical Integration of the*

- Cartesian Equations of Motion of a System with Constraints: Molecular Dynamics of n-Alkanes*, J. Comput. Phys. **32**, 327 (1977).
- [301] W. Jorgensen and C. Swenson, *Optimized Intermolecular Potential Functions for Amides and Peptides. Structure and Properties of Liquid Amides*, J. Am. Chem. Soc. **107**, 569 (1985).
- [302] B. G. Levine, J. E. Stone, and A. Kohlmeyer, *Fast Analysis of Molecular Dynamics Trajectories with Graphics Processing Units-Radial Distribution Function Histogramming*, J. Comput. Phys. **230**, 3556 (2011).
- [303] И. Р. ЮХНОВСКИЙ and М. Ф. ГОЛОВКО, *Статистическая Теория Классических Равновесных Систем* (Наукова думка, Киев, 1980).
- [304] J. Mähler and I. Persson, *A Study of the Hydration of the Alkali Metal Ions in Aqueous Solution*, Inorg. Chem. **51**, 425 (2012).
- [305] M. Feig and B. M. Pettitt, *Sodium and Chlorine Ions as Part of the DNA Solvation Shell*, Biophys. J. **77**, 1769 (1999).
- [306] G. Minasov, V. Tereshko, and M. Egli, *Atomic-Resolution Crystal Structures of B-DNA Reveal Specific Influences of Divalent Metal Ions on Conformation and Packing*, J. Mol. Biol. **291**, 83 (1999).
- [307] M. Pekka and N. Lennart, *Structure and Dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E Water Models at 298 K*, J. Phys. Chem. A **105**, 9954 (2001).
- [308] S. Koneshan, J. C. Rasaiah, R. M. Lynden-Bell, and S. H. Lee, *Solvent Structure, Dynamics, and Ion Mobility in Aqueous Solutions at 25 °C*, J. Phys. Chem. B **102**, 4193 (1998).
- [309] Л. Д. Ландау and Е. М. Лифшиц, *Теоретическая Физика: Т. 1. Механика*, 4th ed. (Наука, Москва, 1988).
- [310] A. V. Gubskaya and P. G. Kusalik, *The Total Molecular Dipole Moment for Liquid Water*, J. Chem. Phys. **117**, 5290 (2002).
- [311] V. N. Byakov, V. G. Petukhov, A. M. Sukhanovskaya, and V. G. Firsov, *Behavior of Solvation Shell Molecules in an Alternating Electric Field*, 1985.
- [312] S. Y. Liem, P. L. A. Popelier, and M. Leslie, *Simulation of Liquid Water Using a High-Rank Quantum Topological Electrostatic Potential*, Int J Quantum

Chem **99**, 685 (2004).

- [313] P. G. Kusalik and I. M. Svishchev, *The Spatial Structure in Liquid Water*, Science (80-.). **265**, 1219 (1994).
- [314] M.-L. Tan, J. T. Fischer, A. Chandra, B. R. Brooks, and T. Ichiye, *A Temperature of Maximum Density in Soft Sticky Dipole Water*, Chem. Phys. Lett. **376**, 646 (2003).
- [315] K. Kiyohara, K. E. Gubbins, and A. Z. Panagiotopoulos, *Phase Coexistence Properties of Polarizable Water Models.*, Mol. Phys. **94**, 803 (1998).
- [316] B. Halliwell, M. V. Clement, and L. H. Long, *Hydrogen Peroxide in the Human Body*, FEBS Lett. **486**, 10 (2000).
- [317] M. Malinouski, Y. Zhou, V. V. Belousov, D. L. Hatfield, and V. N. Gladyshev, *Hydrogen Peroxide Probes Directed to Different Cellular Compartments*, PLoS One **6**, (2011).
- [318] A. Brown and H. Suit, *The Centenary of the Discovery of the Bragg Peak*, Radiother. Oncol. **73**, 265 (2004).
- [319] M. S. Kreipl, W. Friedland, and H. G. Paretzke, *Time- and Space-Resolved Monte Carlo Study of Water Radiolysis for Photon, Electron and Ion Irradiation*, Radiat. Environ. Biophys. **48**, 11 (2009).
- [320] A. V. Solov'yov, E. Surdutovich, E. Scifoni, I. Mishustin, and W. Greiner, *Physics of Ion Beam Cancer Therapy: A Multiscale Approach*, Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys. **79**, 1 (2009).
- [321] P. De Vera, I. Abril, R. Garcia-Molina, and A. V. Solov'yov, *Ionization of Biomolecular Targets by Ion Impact: Input Data for Radiobiological Applications*, J. Phys. Conf. Ser. **438**, (2013).
- [322] E. Surdutovich, A. V. Yakubovich, and A. V. Solov'Yov, *Biodamage via Shock Waves Initiated by Irradiation with Ions*, Sci. Rep. **3**, 1 (2013).
- [323] D. V. Piatnytskyi, O. O. Zdorevskyi, S. M. Perepelytsya, and S. N. Volkov, *Understanding the Mechanism of DNA Deactivation in Ion Therapy of Cancer Cells: Hydrogen Peroxide Action*, Eur. Phys. J. D **69**, (2015).
- [324] D. V. Piatnytskyi, O. O. Zdorevsky, S. M. Perepelytsya, and S. N. Volkov,

- Formation of Complexes of Hydrogen Peroxide Molecules with DNA*, Ukr. J. Phys. **61**, 219 (2016).
- [325] D. V. Piatnytskyi and S. N. Volkov, *Complexes of Hydrogen Peroxide and Dna Phosphate Group in Quantum Chemical Calculations*, Biophys. Bull. **39**, 5 (2018).
- [326] O. O. Zdorevskyi, D. V. Piatnytskyi, and S. N. Volkov, *On a Possibility of the Blocking of DNA Specific Recognition Sites by Hydrogen Peroxide Molecules during Ion Beam Therapy*, Reports Natl. Acad. Sci. Ukr. **6**, 82 (2019).
- [327] M. Praprotnik and D. Janežič, *Molecular Dynamics Integration and Molecular Vibrational Theory. II. Simulation of Nonlinear Molecules*, J. Chem. Phys. **122**, (2005).
- [328] M. G. Campo and J. R. Grigera, *Classical Molecular-Dynamics Simulation of the Hydroxyl Radical in Water*, J. Chem. Phys. **123**, (2005).
- [329] M. T. C. Martins-Costa and M. F. Ruiz-López, *Molecular Dynamics of Hydrogen Peroxide in Liquid Water Using a Combined Quantum/Classical Force Field*, Chem. Phys. **332**, 341 (2007).
- [330] P. de Vera, E. Surdutovich, N. J. Mason, F. J. Currell, and A. V. Solov'yov, *Simulation of the Ion-Induced Shock Waves Effects on the Transport of Chemically Reactive Species in Ion Tracks*, Eur. Phys. J. D **72**, (2018).
- [331] P. A. Giguère, *The Infra-Red Spectrum of Hydrogen Peroxide*, J. Chem. Phys. **18**, 88 (1950).
- [332] P. A. Giguère and C. Chapados, *The Far Infrared Spectra of H₂O₂ and D₂O₂ in the Solid States*, Spectrochim. Acta **22**, 1131 (1966).
- [333] P. A. Giguère and H. Chen, *Hydrogen Bonding in Hydrogen Peroxide and Water. A Raman Study of the Liquid State*, J. Raman Spectrosc. **15**, 199 (1984).
- [334] G. B. Sushko, I. A. Solov'yov, A. V. Verkhovtsev, and S. N. Volkov, *Studying Chemical Reactions in Biological Systems with MBN Explorer: Implementation of Molecular Mechanics with Dynamical Topology*, Eur. Phys. J. D **79**, 12 (2016).
- [335] A. V. Yakubovich, I. A. Solov'yov, and A. V. Solov'yov, *Molecular Dynamics*

Simulations of Bio-Nano Systems with MBN Explorer, Phys. Procedia **40**, 93 (2013).

- [336] E. A. Orabi and A. M. English, *Simple Additive Potential Model for Simulating Hydrogen Peroxide in Chemical and Biological Systems*, J. Chem. Theory Comput. **14**, 2808 (2018).
- [337] P. D. Dans, L. Danilāne, I. Ivani, T. Dršata, F. Lankaš, A. Hospital, J. Walther, R. I. Pujagut, F. Battistini, J. L. Gelpí, R. Lavery, and M. Orozco, *Long-Timescale Dynamics of the Drew-Dickerson Dodecamer*, Nucleic Acids Res. **44**, 4052 (2016).
- [338] H. Guo and D. R. Salahub, *Cooperative Hydrogen Bonding and Enzyme Catalysis*, Angew. Chemie - Int. Ed. **37**, 2985 (1998).
- [339] K. Hart, N. Foloppe, C. M. Baker, E. J. Denning, L. Nilsson, and A. D. MacKerell, *Optimization of the CHARMM Additive Force Field for DNA: Improved Treatment of the BI/BII Conformational Equilibrium*, J. Chem. Theory Comput. **8**, 348 (2012).
- [340] V. I. Bruskov, *The Recognition of Nucleic Acid Bases by Amino Acids and Peptides with the Aid of Hydrogen Bonds*, Mol. Biol. (Mosk). **9**, 245 (1975).
- [341] N. C. Seeman, J. M. Rosenberg, and A. Rich, *Sequence-Specific Recognition of Double Helical Nucleic Acids by Proteins*, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **73**, 804 (1976).
- [342] N. Korolev, A. P. Lyubartsev, A. Laaksonen, and L. Nordenskiöld, *On the Competition between Water, Sodium Ions, and Spermine in Binding to DNA: A Molecular Dynamics Computer Simulation Study*, Biophys. J. **82**, 2860 (2002).
- [343] N. Korolev, A. P. Lyubartsev, A. Laaksonen, and L. Nordenskiöld, *A Molecular Dynamics Simulation Study of Oriented DNA with Polyamine and Sodium Counterions: Diffusion and Averaged Binding of Water and Cations*, Nucleic Acids Res. **31**, 5971 (2003).
- [344] W. H. Braunlin, T. J. Strick, and M. T. Record Jr., *Equilibrium Dialysis Studies of Polyamine Binding to DNA*, Biopolymers **21**, 1301 (1982).
- [345] B. G. Feuerstein, L. D. Williams, H. S. Basu, and L. J. Marton, *Implications*

- and Concepts of Polyamine-Nucleic Acid Interactions*, J. Cell. Biochem. **46**, 37 (1991).
- [346] H. Deng, V. A. Bloomfield, J. M. Benevides, and G. J. Thomas Jr, *Structural Basis of Polyamine–DNA Recognition: Spermidine and Spermine Interactions with Genomic B-DNAs of Different GC Content Probed by Raman Spectroscopy*, Nucleic Acids Res. **28**, 3379 (2000).
- [347] D. R. Burton, S. Forsen, and P. Reimarsson, *The Interaction of Polyamines with DNA: A ^{23}Na NMR Study*, Nucleic Acids Res. **9**, 1219 (1981).
- [348] A. Kabir and G. Suresh Kumar, *Binding of the Biogenic Polyamines to Deoxyribonucleic Acids of Varying Base Composition: Base Specificity and the Associated Energetics of the Interaction*, PLoS One **8**, e70510 (2013).
- [349] J. Yoo, H. Kim, A. Aksimentiev, and T. Ha, *Direct Evidence for Sequence-Dependent Attraction between Double-Stranded DNA Controlled by Methylation*, Nat. Commun. **7**, 1 (2016).
- [350] K. Zakrzewska and B. Pullman, *Spermine–Nucleic Acid Interactions: A Theoretical Study*, Biopolymers **25**, 375 (1986).
- [351] S. Lindemose, P. E. Nielsen, and N. E. Møllegaard, *Polyamines Preferentially Interact with Bent Adenine Tracts in Double-Stranded DNA*, Nucleic Acids Res. **33**, 1790 (2005).
- [352] J. Yoo and A. Aksimentiev, *The Structure and Intermolecular Forces of DNA Condensates*, Nucleic Acids Res. **44**, 2036 (2016).
- [353] A. M. Katz, I. S. Tolokh, S. A. Pabit, N. Baker, A. V. Onufriev, and L. Pollack, *Spermine Condenses DNA, but Not RNA Duplexes*, Biophys. J. **112**, 22 (2017).
- [354] L. van Dam, N. Korolev, and L. Nordenskiöld, *Polyamine-Nucleic Acid Interactions and the Effects on Structure in Oriented DNA Fibers*, Nucleic Acids Res. **30**, 419 (2002).
- [355] W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, *VMD - Visual Molecular Dynamics*, J. Mol. Graph. **14**, 33 (1996).
- [356] N. Korolev, A. P. Lyubartsev, A. Laaksonen, and L. Nordenskiöld, *Molecular Dynamics Simulation Study of Oriented Polyamine- and Na-DNA: Sequence*

Specific Interactions and Effects on DNA Structure, Biopolymers **73**, 542 (2004).

- [357] B. Luan and A. Aksimentiev, *Electric and Electrophoretic Inversion of the DNA Charge in Multivalent Electrolytes*, Soft Matter **6**, 243 (2010).
- [358] K. R. Fox, *Wrapping of Genomic PolydA.PolydT Tracts around Nucleosome Core Particles*, Nucleic Acids Res. **20**, 1235 (1992).
- [359] D. Baigl and K. Yoshikawa, *Dielectric Control of Counterion-Induced Single-Chain Folding Transition of DNA*, Biophys. J. **88**, 3486 (2005).
- [360] A. Kanemura, Y. Yoshikawa, W. Fukuda, K. Tsumoto, T. Kenmotsu, and K. Yoshikawa, *Opposite Effect of Polyamines on in Vitro Gene Expression: Enhancement at Low Concentrations but Inhibition at High Concentrations*, PLoS One **13**, 1 (2018).
- [361] T. Kitagawa, T. Nishio, Y. Yoshikawa, N. Umezawa, T. Higuchi, C. Y. Shew, T. Kenmotsu, and K. Yoshikawa, *Effects of Structural Isomers of Spermine on the Higher-Order Structure of Dna and Gene Expression*, Int. J. Mol. Sci. **22**, 1 (2021).
- [362] C. B. Post and B. H. Zimm, *Internal Condensation of a Single DNA Molecule*, Biopolymers **18**, 1487 (1979).
- [363] A. A. Kornyshev and S. Leikin, *Electrostatic Zipper Motif for DNA Aggregation*, Phys. Rev. Lett. **82**, 4138 (1999).
- [364] Y. Tsunaka, N. Kajimura, S. Tate, and K. Morikawa, *Alteration of the Nucleosomal DNA Path in the Crystal Structure of a Human Nucleosome Core Particle*, **33**, 3424 (2005).
- [365] D. A. Case, I. Y. Ben-Shalom, S. R. Brozell, D. S. Cerutti, T. E. I. Cheatham, V. W. D. Cruzeiro, T. A. Darden, R. E. Duke, D. Ghoreishi, M. K. Gilson, H. Gohlke, A. W. Goetz, D. Greene, R. Harris, N. Homeyer, Y. Huang, S. Izadi, A. Kovalenko, T. Kurtzman, T. S. Lee, S. LeGrand, P. Li, C. Lin, J. Liu, T. Luchko, R. Luo, D. J. Mermelstein, K. M. Merz, Y. Miao, G. Monard, C. Nguyen, H. Nguyen, I. Omelyan, A. Onufriev, F. Pan, R. Qi, D. R. Roe, A. Roitberg, C. Sagui, S. Schott-Verdugo, J. Shen, C. L. Simmerling, J. Smith, R.

- S.- Ferrer, J. Swails, R. C. Walker, J. Wang, H. Wei, R. M. Wolf, X. Wu, L. Xiao, D. M. York, and P. A. Kollman, *AMBER 2018, University of California, San Francisco*.
- [366] *Avogadro: An Open-Source Molecular Builder and Visualization Tool. Version 1.2.*
- [367] M. D. Hanwell, D. E. Curtis, D. C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek, and G. R. Hutchison, *Avogadro: An Advanced Semantic Chemical Editor, Visualization, and Analysis Platform*, *J. Cheminform.* **4**, 17 (2012).
- [368] I. Ivani, P. D. Dans, A. Noy, A. Pérez, I. Faustino, A. Hospital, J. Walther, P. Andrio, R. Goñi, A. Balaceanu, G. Portella, F. Battistini, J. L. Gelpí, C. González, M. Vendruscolo, C. A. Laughton, S. A. Harris, D. A. Case, and M. Orozco, *Parmbsc1: A Refined Force Field for DNA Simulations*, *Nat. Methods* **13**, 55 (2016).
- [369] J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, and D. A. Case, *Development and Testing of a General Amber Force Field*, *J. Comput. Chem.* **25**, 1157 (2004).
- [370] I. S. Joung and T. E. Cheatham, *Determination of Alkali and Halide Monovalent Ion Parameters for Use in Explicitly Solvated Biomolecular Simulations*, *J. Phys. Chem. B* **112**, 9020 (2008).
- [371] S. Nosé, *A Molecular Dynamics Method for Simulations in the Canonical Ensemble*, *Mol. Phys.* **52**, 255 (1984).
- [372] W. G. Hoover, *Canonical Dynamics: Equilibrium Phase-Space Distributions.*, *Phys. Rev. A* **31**, 1695 (1985).
- [373] M. Parrinello and A. Rahman, *Polymorphic Transitions in Single Crystals: A New Molecular Dynamics Method*, *J. Appl. Phys.* **52**, 7182 (1981).
- [374] G. L. Olsen, E. A. Louie, G. P. Drobny, and S. T. Sigurdsson, *Determination of DNA Minor Groove Width in Distamycin-DNA Complexes by Solid-State NMR*, *Nucleic Acids Res.* **31**, 5084 (2003).
- [375] M. A. El Hassan and C. R. Calladine, *Two Distinct Modes of Protein-Induced Bending in DNA*, *J. Mol. Biol.* **282**, 331 (1998).

- [376] W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure* (Springer-Verlag, New York, 1984).
- [377] M. Nakata, G. Zanchetta, B. D. Chapman, C. D. Jones, J. O. Cross, R. Pindak, T. Bellini, and N. A. Clark, *End-to-End Stacking and Liquid Crystal Condensation of 6-to 20-Base Pair DNA Duplexes*, *Science* (80-.). **318**, 1276 (2007).
- [378] P. Auffinger and E. Westhof, *Water and Ion Binding around RNA and DNA (C,G) Oligomers*, *J. Mol. Biol.* **300**, 1113 (2000).
- [379] P. Auffinger and E. Westhof, *Water and Ion Binding around r(UpA)₁₂ and d(TpA)₁₂ Oligomers - Comparison with RNA and DNA (CpG)₁₂ Duplexes*, *J. Mol. Biol.* **305**, 1057 (2001).
- [380] О. Кочерга and Є. Мейнарович, *Англійсько-Українсько-Англійського Словника Наукової Мови (Фізика Та Споріднені Науки) . Частина I Англійсько-Українська* (Нова книга, Вінниця, 2010).

ДОДАТОК А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

A1. Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати

Публікації у виданнях, які входять до наукометричної бази даних SCOPUS та/або переліку МОН України входять

1. T. Vasiliu, F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, and **S. Perepelytsya**, *Caging polycations: Effect of increasing confinement on the modes of interaction of spermidine³⁺ with DNA double helices*, *Frontiers in Chemistry*, **10**, 836994 (2022). <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.836994> (Q1)
2. **S.M. Perepelytsya** and O.O. Zdorevskyi, *Counterion atmosphere around DNA double helix: trapping of counterions at the nanoscale*, *Low Temperature Physics*, **48**, No. 4, pp. 293-300 (2022). <https://doi.org/10.1063/10.0009733> (Q3)
3. **S. Perepelytsya**, J. Uličný, and S. N. Volkov, *Molecular dynamics study of the competitive binding of hydrogen peroxide and water molecules with DNA phosphate groups*, *European Biophysics Journal*, **50**, 759-770 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00249-021-01522-8> (Q3)
4. **S.M. Perepelytsya**, *Positively and negatively hydrated counterions in molecular dynamics simulations of DNA double helix*, *Ukrainian Journal of Physics*, **65**, No. 6, 510-520 (2020). <https://doi.org/10.15407/ujpe65.6.510> (Q4)
5. O.O. Zdorevskyi and **S.M. Perepelytsya**, *Dynamics of K⁺ counterions around DNA double helix in the external electric field: A molecular dynamics study*, *European Physical Journal E*, **43**, 77 (2020). <https://doi.org/10.1140/epje/i2020-12000-0> (Q2)
6. **S. Perepelytsya**, J. Uličný, A. Laaksonen, and F. Mocci, *Pattern preferences of DNA nucleotide motifs by polyamines putrescine²⁺, spermidine³⁺ and*

- spermine⁴⁺, Nucleic Acids Research, **47**, 6084-6097 (2019).
<https://doi.org/10.1093/nar/gkz434> (Q1)
7. **S. Perepelytsya**, *Hydration of counterions interacting with DNA double helix: A molecular dynamics study*, Journal of Molecular Modeling **24**, 171 (2018).
<https://doi.org/10.1007/s00894-018-3704-x> (Q3)
 8. O.O. Liubysh, A.V. Vlasiuk, and **S.M. Perepelytsya**, *Structurization of counterions around DNA double helix: A molecular dynamics study*, Ukrainian Journal of Physics, **60**, 433-442 (2015).
<https://doi.org/10.15407/ujpe60.05.0433> (Q4)
 9. O.O. Liubysh, O.M. Alekseev, S.Y. Tkachov, and **S.M. Perepelytsya**, *Effect of ionic ordering in conductivity experiments of DNA aqueous solutions*, Ukrainian Journal of Physics, **59**, 480-488 (2014).
<https://doi.org/10.15407/ujpe59.05.0479> (Q4)
 10. **S.M. Perepelytsya**, G.M. Glibitskiy, and S.N. Volkov, *Texture formation in DNA films with alkali metal chlorides*, Biopolymers, **99**, 508-516 (2013).
<https://doi.org/10.1002/bip.22209> (Q1)
 11. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Vibrations of ordered counterions around left- and right-handed DNA double helices*, Journal of Physics: Conference Series, **438**, 012013 (2013). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/438/1/012013>
 12. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Dynamics of ion-phosphate lattice of DNA in left-handed double helix form*, Ukrainian Journal of Physics **58**, 554-561 (2013). <https://doi.org/10.15407/ujpe58.06.0554> (Q4)
 13. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Conformational vibrations of ionic lattice in DNA: Manifestation in the low-frequency Raman spectra*, Journal of Molecular Liquids, **164**, 113-119 (2011).
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2011.04.015> (Q2)
 14. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Low-frequency vibrations of DNA with counterions in cross-stranded position*, Ukrainian Journal of Physics **55**, 1182-1188 (2010). (Q4) <http://archive.ujp.bitp.kiev.ua/files/journals/55/11/551104p.pdf>

15. **S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Intensities of DNA ion-phosphate modes in the low-frequency Raman spectra*, European Physics Journal E **31**, 201 (2010). <https://doi.org/10.1140/epje/i2010-10566-6> (Q1)
16. **С.М. Перепелиця**, С.Н. Волков, *Інтенсивності смуг низькочастотного спектру КР ДНК з легкими та важкими протиіонами*, Біофізичний Вісник **23**, 5-19 (2009). <https://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk/article/view/4267>
17. Л.А. Булавін, Г.М. Вербінська, О.А. Загородня, **С.М. Перепелиця**, О.Г. Вареня, Т.А. Кравцова, *Визначення енергії взаємодії між водою та молекулами ДНК методом випаровування*, Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія «Фізико-математичні науки» №3, 295-298 (2009).
http://www.library.univ.Kiev.ua/ukr/host/10.23.10.100/db/ftp/visnyk/fiz_mat_3_2009.pdf
18. Л.А. Булавін, Д.О. Шамайко, О.М. Алексєєв, **С.М. Перепелиця**, *Час життя протиіонів натрію в іон-гідратному шарі молекули ДНК*, Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія «Фізико-математичні науки», №2, 198-203 (2008).
http://www.library.univ.Kiev.ua/ukr/host/10.23.10.100/db/ftp/visnyk/fiz_mat_2_2008.pdf
19. Л.А. Булавін, О.А. Загородня, **С.М. Перепелиця**, Т.А. Кравцова, *Дослідження гомогенності систем вода - ДНК*, Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія «Фізико-математичні науки» №3, 249-250 (2010).
http://www.library.univ.Kiev.ua/ukr/host/10.23.10.100/db/ftp/visnyk/fiz_mat_3_2010.pdf
20. Л.А. Булавін, О.Г. Вареня, Г.М. Вербінська, О.А. Загородня, **С.М. Перепелиця**, *Вивчення динаміки випаровування краплин рідинних систем ДНК-вода*, Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія «Фізико-математичні науки» №3, 242-244 (2009).
http://www.library.univ.Kiev.ua/ukr/host/10.23.10.100/db/ftp/visnyk/fiz_mat_4_2008.pdf
21. L. Engelbrecht, F. Mocci, Y. Wang, and **S.M. Perepelytsya**, T. Vasiliu, A. Laaksonen, *Molecular perspective on solutions and liquid mixtures from modelling and experiment. In: Soft Matter Systems for Biomedical*

Applications. Springer Proceedings in Physics, Vol 266. (Springer, Cham., 2022), pp. 55–84. https://doi.org/10.1007/978-3-030-80924-9_3 .

- 22.F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, and **S. Perepelytsya**, *DNA-polyamine interactions: Insight from molecular dynamics simulations on the sequence-specific binding of spermidine³⁺*, in *Soft Matter Systems for Biomedical Applications. Springer Proceedings in Physics*, Vol 266 (Springer, Cham., 2022), pp. 163–192. https://doi.org/10.1007/978-3-030-80924-9_6

A2. Додаткові публікації за темою дисертації

- 23.**С.М. Перепелиця**, *Динамічне впорядкування іонів металів навколо подвійної спіралі ДНК*, Вісник НАН України №1, с. 89-95 (2014). http://nbuv.gov.ua/UJRN/vnanu_2014_1_11
- 24.Л.А. Булавін, О.Ю. Актан, Ю.Ф. Забашта, **С.М. Перепелиця**, О.С. Свечнікова, С. П. Сенчуров, *Медична Фізика : Підручник. У 4 т. Т. 2. Експеримент у Медичній Фізиці, Vol. 2* (Видавничо-поліграфічний центр “Київський університет,” Київ, 2011). 312 с.

A3. Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

- 25.**S.M. Perepelytsya** and S.N. Volkov, *Conformational vibrations of DNA with counterions in the low frequency Raman spectra*, AIP Conference Proceedings 1267, 658-659 (2010); <https://doi.org/10.1063/1.3482735> (2 p)
- 26.F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, **S. Perepelytsya**, *Mechanisms of spermidine³⁺ interactions with the DNA double helix at the nanoscale*. 7-th International Conference Naobiophysics: Fundamental and

Applied Aspects. October 4-10, 2021, Verkin ILTPE of NASU, Kharkiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 77. **(Oral)**

27. F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, **S. Perepelytsya**, *Structural organization of spermidine³⁺ molecules around the DNA double helix at the DNA-DNA interface*. International Conference on Interfaces. September 21-25, 2021, Santa Margherita di PULA (CA), Sardinia, Italy. Book of Abstracts – P. 119. **(Poster)**
28. F. Mocci, A. Laaksonen, L. Engelbrecht, T. Vasiliu, **S. Perepelytsya**, *Modeling the specific interaction of metal and molecular counterions with DNA double helix*. Записки Української науково-дослідницької асоціації: тези доповідей Всеукраїнської конференції наукових дослідників. Львів, 19-25 вересня 2021. – Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2021. – 188 с.. 19-25 вересня 2021. Львів, Україна. С. 179. **(Oral)**
29. O. Zdorevskyi, **S. Perepelytsya**, *Molecular dynamics study of the interaction of K⁺ counterions with DNA double helix in an external electric field*, 13th EBSA congress, July 24–28, 2021, Vienna, Austria. Eur. Biophys. J., 2021, V.38, p. S160. <https://doi.org/10.1007/s00249-021-01558-w> **(Poster)**
30. **S. Perepelytsya**, J. Uličný, A. Laaksonen, F. Mocci, *Modeling the structure and dynamics of DNA with organic and inorganic counterions*. Final AMMO-DIT Conference “Mathematics for Life Sciences”. March 18-22, 2019. Institute of Mathematics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts – P. 32 **(Oral invited)**
31. **S. Perepelytsya**, J. Uličný, A. Laaksonen, F. Mocci, *Modeling specific interaction of polyamines with DNA double helix*, Bogolyubov Kyiv Conference Problems of Theoretical and Mathematical Physics. September 24-26, 2019. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts – P. 64 **(Oral)**
32. **S.M. Perepelytsya**, J. Uličný, *Specific binding of polyamines with DNA double helix: a molecular dynamics study*, 8th International Conference “Physics of

- liquid matter: Modern problems”, May 18-22, 2018, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts – P. 92. (**Poster**)
33. **S.M. Perepelytsya**, *Hydration of DNA counterions: a molecular dynamics study*, 8th International Conference “Physics of liquid matter: Modern problems”, May 18-22, 2018, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts – P. 80. (**Oral**)
34. **S.M. Perepelytsya**, *Dynamics of ordered counterions in the ion-hydrate shell of DNA double helix*, Conference on Atomistic Simulations of Biomolecules: towards a Quantitative Understanding of Life Machinery. March 6 – 10, 2017, The Abdus Salam Center for Theoretical Physics, Trieste, Italy. <https://indico.ictp.it/event/7610/session/4/contribution/3/> (**Oral invited**)
35. **S.M. Perepelytsya**, *Dynamics of counterions in the ion-hydrate shell of DNA double helix: a molecular dynamics study*, Ulam Computer Simulations Workshop. “Challenges & Opportunities in Molecular Simulations”. 21-24 June 2017, Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine. Book of abstracts – P.42. (**Oral**)
36. **S.M. Perepelytsya**, *Dynamics and ordering of counterions in hydration shell of DNA double helix*, Workshop on Water at the Interface between Biology, Chemistry, Physics and Material Sciences. October 5 – 9, 2015, The Abdus Salam Center for Theoretical Physics, Trieste, Italy. <https://indico.ictp.it/event/a14247/other-view?view=ictptimetable> (**Poster**)
37. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Dynamics and ordering of DNA counterions*, 4th International Conference “Nanobiophysics: fundamental aspects and applications”, October 1 – 4, 2015, Institut of Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts – P. 21. (**Oral**)
38. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Dynamics and stability of DNA ion-phosphate lattice*, 6th International Conference “Physics of Liquid Matter Modern Problems”, May 23 – 27, 2014, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts, P. 125. (**Oral**)

39. O.O. Liybush, A.N. Alekseev, S.Yu. Tkachov, **S.M. Perepelytsya**, *Effect of counterion ordering in conductivity experiments of DNA aqueous solutions*, 6th International Conference “Physics of Liquid Matter Modern Problems”, May 23 – 27, 2014. Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts. – P. 150. **(Poster)**
40. O.O. Liybush, A.V. Vlasiuk, **S.M. Perepelytsya**, *Structuring features of Na⁺, K⁺, and Cs⁺ counterions in DNA ion-hydrate shell: a molecular dynamics study*, 4th Young Scientist Conference “Problems of Theoretical Physics”, November 25 – 27, 2014. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 49-50. **(Poster)**
41. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Manifestations of dynamic ordering of counterions around DNA*, 3rd International Conference “Nanobiophysics: fundamental and applied aspects”. October 7-10, 2013, B. Verkin ILTPE of NASU, Kharkiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 40. **(Oral)**
42. **S.M. Perepelytsya**, G.M. Glibitskiy, S.N. Volkov, *Texture formation in DNA films with alkali metal chlorides*, 3rd International Conference “Nanobiophysics: fundamental and applied aspects”. October 7-10, 2013, B. Verkin ILTPE of NASU, Kharkiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 71 **(Poster)**
43. O.O. Liubysh, O.M. Alekseev, S.Yu. Tkachev, **S.M. Perepelytsya**, *Ionic ordering in conductivity experiments of DNA aqueous solutions*, Youth Scientist Conference “Problems of theoretical physics”. Kyiv 24-27 December, 2013. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 36 **(Oral)**
44. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Manifestation of ion-phosphate vibrations in the low-frequency Raman spectra*, International Conference “Problems of Theoretical Physics” dedicated to Alexander S. Davydov's 100th birthday. October 8-12, 2012. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 31 **(Oral)**
45. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Dynamic ordering of counterions around DNA helix*, International Conference “Dynamics of Systems on the Nanoscale”

DySoN Conference 2012, September 30 – October 4, St. Petersburg. Book of Abstracts – P. 32. (**Oral**)

46. **S.M. Perepelytsya**, G.M. Glibitskiy, S.N. Volkov, *Possible mechanism of formation of anisotropic textures in DNA*. Planer-Smoluchowski Soft Matter Workshop on Liquid Crystal Colloids., October 5-7, 2011. Franko Lviv National University - Institute of Condensed Matter Physics of the NAS of Ukraine, Lviv, Ukraine. Book of abstracts – P. 67 (**Oral**)
47. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Conformational vibrations of Z-DNA*, Young Conference “Modern problems of theoretical physics”. December 21-23, 2011. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 37. (**Oral**)
48. **P.I. Kutova** and **S.M. Perepelytsya**, *Electro-conductivity of DNA water solutions with NaCl excess salt*, Youth Scientist Conference “Problems of theoretical physics”. December 21-23, 2011. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 94 (**Poster**)
49. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Counterion vibrations in DNA low-frequency Raman spectra*, 5th International conference on Physics of liquid matter: Modern problems. Kyiv, 21-24 May, 2010. Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. Book of abstracts. – P. 239. (**Oral**)
50. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Conformational vibrations of ion lattice in DNA solution*. EMLG-JMLG Annual Meeting 2010. Complex liquids: Modern problems in exploration, understanding and application. Lviv, September 5-9, 2010. Franko Lviv National University - Institute of Condensed Matter Physics of the NAS of Ukraine, Lviv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 130-131. (**Poster**)
51. **S.M. Perepelytsya**, G.M. Glibitskii, S.N. Volkov, *Influence of DNA conformational vibrations on the formation of anisotropic film textures*, Youth Scientist Conference “Problems of theoretical physics”. December 22-24, 2010. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 94 (**Poster**)

52. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Dynamics of DNA ion-phosphate lattice at nano-scale*, International Conference “Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects”, Kharkiv, October 5 – 8, 2009. Book of Abstracts. – P. 40 **(Oral)**
53. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Vibrations of DNA with light and heavy counterions in low-frequency Raman spectra*, 7th European Biophysical Congress, July 11 – 15, 2009, Genoa, Italy. Eur. Biophys. J., 2009, **38**, p. S81. <https://doi.org/10.1007/s00249-009-0483-4> **(Poster)**
54. **S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Low-frequency Raman spectra of DNA with counterions*, Conference for the Young Scientists “Modern Problems of Theoretical Physics”, 24-26 December, 2009. Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine. Book of Abstracts – P. 63 **(Poster)**

A4. Статті в електронних архівах (препринти)

55. **S. Perepelytsya**, O. Zdorevskyi, *Counterion atmosphere around DNA double helix: trapping of counterions at the nanoscale*, arXiv:2201.05606 [qphysics.bio-phy] (2022)
56. **S.M. Perepelytsya**, J. Uličný, S. N. Volkov, *Molecular dynamics study of the competitive binding of hydrogen peroxide and water molecules with the DNA phosphate groups*, arXiv:2010.15967 [q-bio.BM] (2020)
57. **S. Perepelytsya**, Positively and negatively hydrated counterions in molecular dynamics simulations of DNA double helix, arXiv:2004.11882 [q-bio.BM] (2020)
58. O.O. Liubysh, A.V. Vlasiuk, **S.M. Perepelytsya**, *Structuring of counterions around dna double helix: a molecular dynamics study*, arXiv:1912.11870 [q-bio.BM] (2015)

- 59.O.O. Liubysh, O.M. Alekseev, S.Yu. Tkachov, **S.M. Perepelytsya**, *Effect of ionic ordering in conductivity experiments of DNA aqueous solutions*, arXiv:1401.0606 [q-bio.BM] (2014)
- 60.**S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Dynamics of ion-phosphate lattice of DNA in left-handed double helix form*, arXiv:1304.8009 [q-bio.BM] (2013)
- 61.**S.M. Perepelytsya**, S.N. Volkov, *Intensities of the Raman bands in the low-frequency spectra of DNA with light and heavy counterions*, arXiv:1007.0374 [q-bio.BM] (2010)

ДОДАТОК Б

ЧАСТОТИ ТА АМПЛІТУДИ КОНФОРМАЦІЙНИХ КОЛИВАНЬ ДНК З ПРОТИЙОНАМИ

Таблиця Б1. Частоти конформаційних коливань молекули ДНК у *B*- та *A*-формах подвійної спіралі та у висушеної стані з протийонами лужних металів (cm^{-1}).

Мода		ω_{ion}^{+}	ω_{ion}^{-}	ω_H^{+}	ω_S^{-}	ω_{H+S}^{+}	ω_B^{+}	ω_B^{-}
Na^{+}	<i>B</i> -ДНК	181	181	110	79	58	14	16
	<i>A</i> -ДНК	183	183	64	56	34	18	20
	Суха-ДНК	174	174	64	56	34	18	20
K^{+}	<i>B</i> -ДНК	147	146	108	76	56	14	15
	<i>A</i> -ДНК	148	148	63	55	33	17	18
	Суха ДНК	141	141	63	54	33	17	18
Rb^{+}	<i>B</i> -ДНК	113	109	99	66	49	12	13
	<i>A</i> -ДНК	109	108	60	50	30	15	16
	Суха ДНК	105	105	60	50	30	15	16
Cs^{+}	<i>B</i> -ДНК	110	103	94	60	44	11	13
	<i>A</i> -ДНК	100	100	59	47	28	13	15
	Суха ДНК	96	96	59	47	28	13	15

Таблиця Б2. Частоти та амплітуди конформаційних коливань Z-ДНК з протійонами K^+ зовні подвійної спіралі для випадку димерів з іонами магнію в мінорному жолобі. Значення частот наведено в $см^{-1}$; значення амплітуд в пм (у випадку кутів в градусах).

Координа-	Симетричні коливання							Асиметричні коливання						
	Ion	H		S		B		Ion		H		S	B	
	ω_{Ion1}	ω_{H1}	ω_{H3}	ω_{S2}	ω_{S3}	ω_{B2}	ω_{B4}	ω_{Ion2}	ω_{Ion3}	ω_{H2}	ω_{H4}	ω_{S1}	ω_{B1}	ω_{B3}
	146	110	96	43	39	20	11	146	152	106	59	44	25	11
X_{21}	3	0	1	-8	10	-23	-11	3	-1	0	-1	-11	-10	22
X_{12}	3	0	1	-8	10	-23	-11	-3	1	0	1	11	10	-22
X_{11}	0	-4	-7	-4	-2	-3	0	1	3	0	6	3	10	21
X_{22}	0	-4	-7	-4	-2	-3	0	-1	-3	0	-6	-3	-10	-21
ρ_{21}	-2	1	-2	12	-8	-7	0	-2	0	2	-2	13	-9	1
ρ_{12}	-2	1	-2	12	-8	-7	0	2	0	-2	2	-13	9	-1
ρ_{11}	0	6	3	-5	-8	-1	0	0	-3	-4	-11	1	3	1
ρ_{22}	0	6	3	-5	-8	-1	0	0	3	4	11	-1	-3	-1
θ_{21}	-0,3	0,2	-0,3	0,7	-0,3	3,0	-2,6	-0,3	0,1	0,3	-0,2	0,8	1,6	-4,6
θ_{12}	-0,3	0,2	-0,3	0,7	-0,3	3,0	-2,6	0,3	-0,1	-0,3	0,2	-0,8	-1,6	4,6
θ_{11}	0	0,5	0,3	0,4	0,9	0,6	4,5	0	0,3	-0,3	-0,1	-0,1	-1,8	-5,1
θ_{22}	0	0,5	0,3	0,4	0,9	0,6	4,5	0	-0,3	0,3	0,1	0,1	1,8	5,1
ξ_1	-11	0	1	-1	1	0	0	-11	2	0	0	-2	0	0
ξ_2	-11	0	1	-1	1	0	0	-11	-2	0	0	2	0	0
X_a	--	--	--	--	--	--	--	1,2	6	2	-8	4	-11	-22
δ_1	0	1	-5	0	2	0	0	0	0	-8	2	1	-1	0
δ_2	0	1	-5	0	2	0	0	0	0	8	2	-1	1	0

Таблиця Б3. Частоти та амплітуди конформаційних коливань Z-ДНК з протийонами Rb^+ зовні подвійної спіралі для випадку димерів з іонами магнію в мінорному жолобі. Значення частот наведено в cm^{-1} ; значення амплітуд в пм (у випадку кутів в градусах).

Координата	Симетричні коливання							Асиметричні коливання						
	Ion		H		S		B		Ion		H		S	B
	ω_{Ion1}	ω_{H1}	ω_{H3}	ω_{S2}	ω_{S3}	ω_{B2}	ω_{B4}	ω_{Ion2}	ω_{Ion3}	ω_{H2}	ω_{H4}	ω_{S1}	ω_{B1}	ω_{B3}
	105	110	95	42	36	18	11	103	152	107	59	40	25	11
X_{21}	5	1	-2	-3	1	-23	-12	5	0	-3	0	-9	-6	6
X_{12}	5	1	-2	-3	1	-23	-12	-5	0	3	0	9	6	-6
X_{11}	-2	4	-6	-4	-1	-3	0	0	3	0	6	4	7	5
X_{22}	-2	4	-6	-4	-1	-3	0	0	-3	0	-6	-4	-7	-5
ρ_{21}	-4	1	-1	9	-11	-6	0	-2	0	3	-2	14	5	0
ρ_{12}	-4	1	-1	9	-11	-6	0	2	0	-3	2	-14	-5	0
ρ_{11}	0	6	3	-8	-6	-8	0	-2	-3	-3	-11	1	0	0
ρ_{22}	0	6	3	-8	-6	-8	0	2	3	3	11	-1	0	0
θ_{21}	-0,5	0,1	-0,1	0,5	-0,2	3,2	2,5	-0,3	0	0,4	-0,3	0,5	1,0	-1,2
θ_{12}	-0,5	0,1	-0,1	0,5	-0,2	3,2	2,5	0,3	0	-0,4	0,3	-0,5	-1,0	1,2
θ_{11}	0	0,5	0,3	0,6	0,8	0,4	4,5	-0,2	-0,3	-0,3	-0,1	0	-1,1	-1,4
θ_{22}	0	0,5	0,3	0,6	0,8	0,4	4,5	0,2	0,3	0,3	0,1	0	1,1	1,4
ξ_1	-11	-2	5	1	3	-2	0	-10	0	5	0	-3	-1	0
ξ_2	-11	-2	5	1	3	-2	0	10	0	-5	0	3	1	0
X_a	--	--	--	--	--	-	--	0	6	2	-8	-4	-7	-5
δ_1	-3	6	-5	1	2	0	0	-4	0	-7	2	0	-1	0
δ_2	-3	6	-5	1	2	0	0	4	0	7	-2	0	1	0

Таблиця Б4. Частоти та амплітуди конформаційних коливань Z-ДНК з протійонами Cs^+ зовні подвійної спіралі для випадку димерів з іонами магнію в мінорному жолобі. Значення частот наведено в см^{-1} ; значення амплітуд в пм (у випадку кутів в градусах).

Координа-	Симетричні коливання							Асиметричні коливання						
	Ion	H		S		B		Ion		H		S	B	
	ω_{Ion1}	ω_{H1}	ω_{H3}	ω_{S2}	ω_{S3}	ω_{B2}	ω_{B4}	ω_{Ion2}	ω_{Ion3}	ω_{H2}	ω_{H4}	ω_{S1}	ω_{B1}	ω_{B3}
	100	110	92	42	35	17	11	96	152	107	59	37	24	10
X_{21}	5	0	-5	-2	7	-23	-13	7	0	-1	0	7	-9	20
X_{12}	5	0	-5	-2	7	-23	-13	-7	0	1	0	-7	9	-20
X_{11}	-4	-4	-5	-5	-1	-3	-3	0	3	0	6	-4	13	18
X_{22}	-4	-4	-5	-5	-1	-3	-3	0	-3	0	-6	4	-13	-18
ρ_{21}	-4	1	2	8	-13	-5	0	-4	0	3	-2	-14	-7	1
ρ_{12}	-4	1	2	8	-13	-5	0	4	0	-3	2	14	7	-1
ρ_{11}	-2	6	3	-8	-5	0	0	-7	-3	-4	0	0	3	0
ρ_{22}	-2	6	3	-8	-5	0	0	7	3	4	0	0	-3	0
θ_{21}	-0.6	0,2	0,2	0,4	0	3,3	-2,3	-0,5	0	0,4	-0,3	-0,3	1,5	-4,6
θ_{12}	-0.6	0,2	0,2	0,4	0	3,3	-2,3	0,5	0	-0,4	0,3	0,3	-1,5	4,6
θ_{11}	0,2	0,6	0,2	0,6	0,8	0,2	4,5	-0,1	0	-0,4	-0,1	-0,1	-2,0	-5,0
θ_{22}	0,2	0,6	0,2	0,6	0,8	0,2	4,5	0,1	0	0,4	0,1	0,1	2,0	5,0
ξ_1	-8	-1	8	-1	3,3	-2	-1	-11	0	1,7	0	4	-2	1
ξ_2	-8	1	8	-1	3,3	-2	-1	11	0	-1,7	0	-4	2	-1
X_a	--	--	--	--	--	--	--	1	6	-1,7	-8	4	-14	-18
δ_1	-4	6	-4	1	2	0	0	-2	0	-8	2	-1	-1	0
δ_2	-4	6	-4	1	2	0	0	2	0	8	-2	1	1	0

ДОДАТОК В

ДЕЯКІ ДЕТАЛІ МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ДНК З ПРОТИЙОНАМИ У ЗОВНІШНЬОМУ ЕЛЕКТРИЧНОМУ ПОЛІ

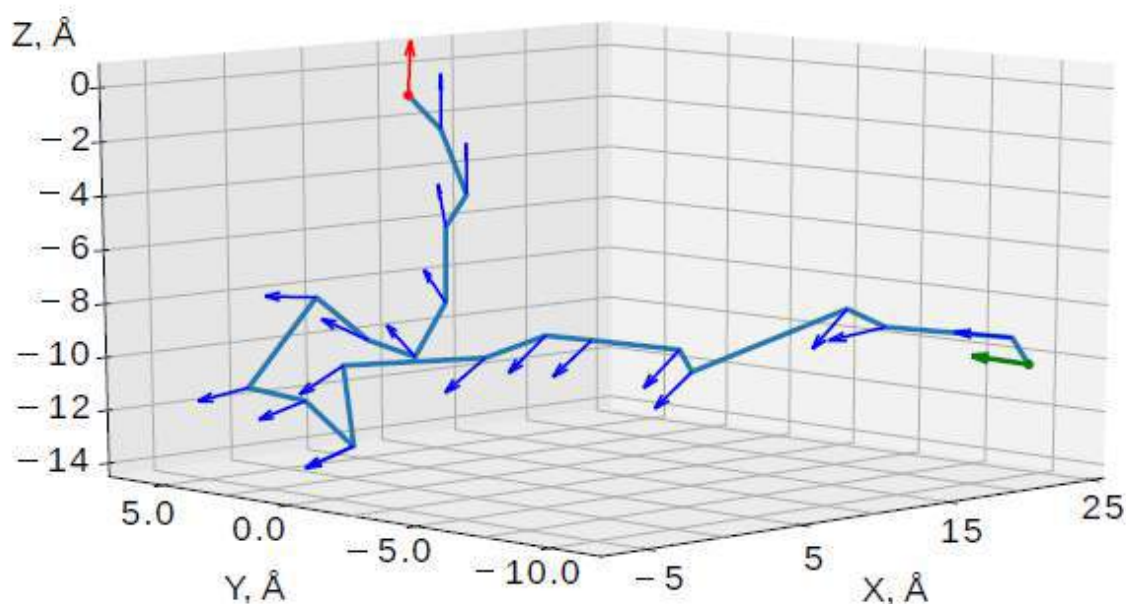


Рис.В1. Траєкторія центру мас фрагменту ДНК під час моделювання протягом 20 нс без гармонійних обмежень на кінцях макромолекули. Стрілки показують просторову орієнтацію спіральної осі вздовж цього шляху. Червоний і зелений вектори відповідають вказаному напрямку на початку і наприкінці траєкторії симуляції. Рисунок з роботи дисертанта [71].

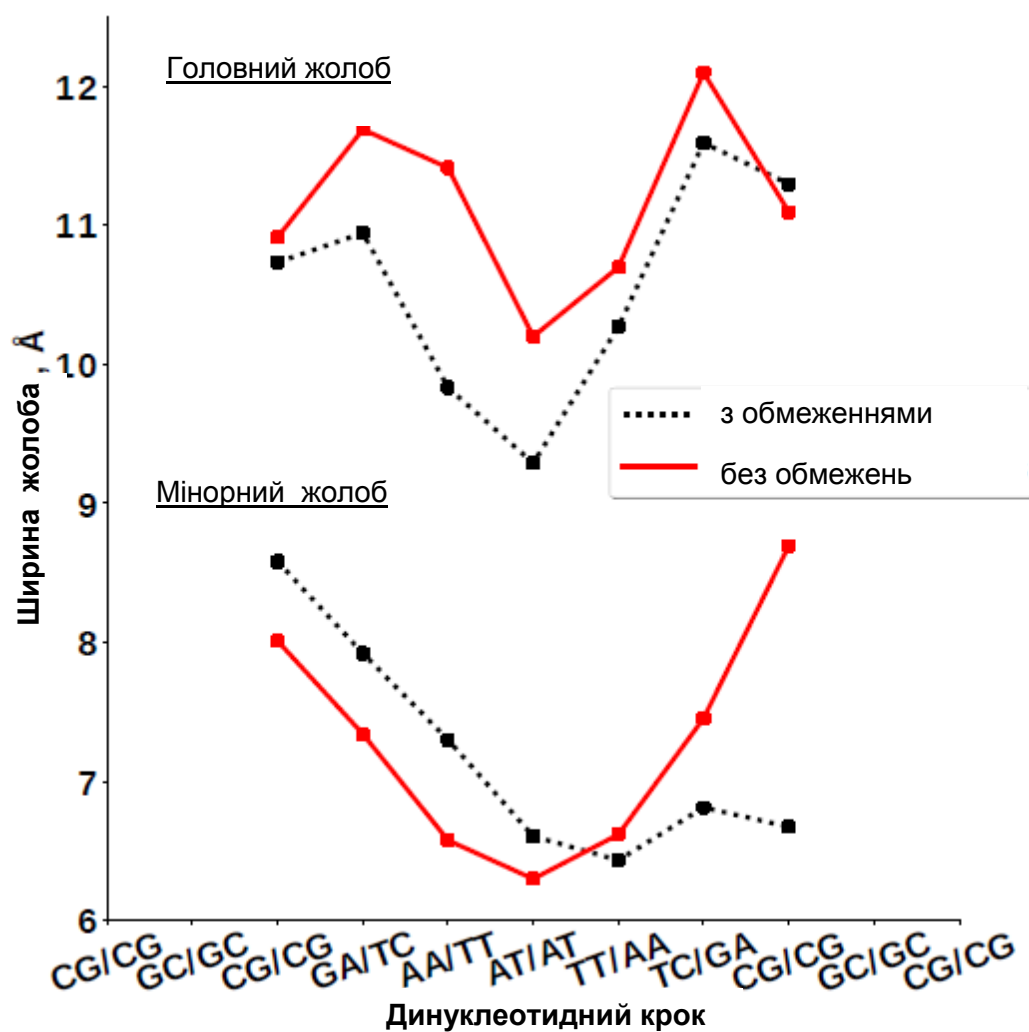


Рис.В2. Ширина головного (верхні лінії) та мінорного (нижні лінії) жолобів подвійної спіралі ДНК на динуклеотидних кроках. Чорні й червоні лінії на графіку позначають залежності для випадків фрагменту подвійної спіралі ДНК з закріпленими і вільними кінцевими парами нуклеотидів, відповідно. Рисунок з роботи дисертанта [71].

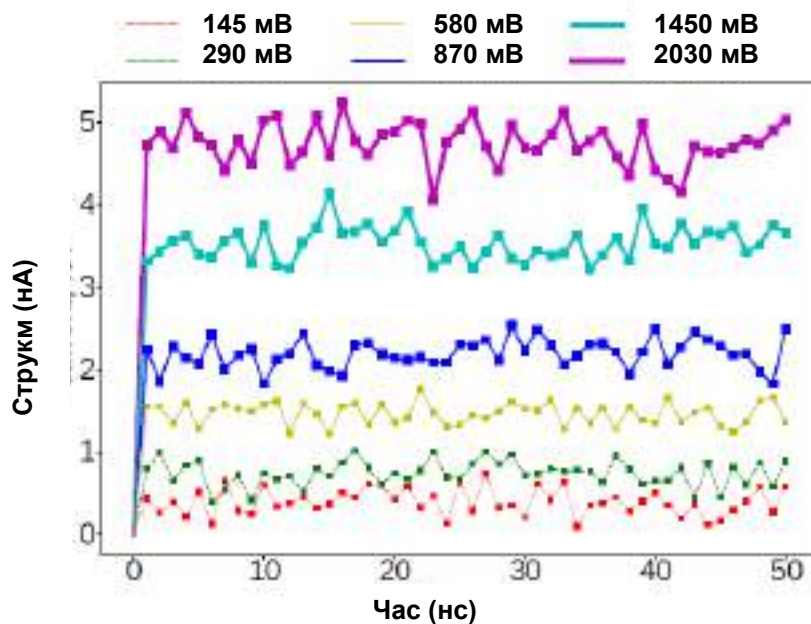


Рис.В3. Залежність іонного струму для різних значень зовнішнього електричного поля. Кожна точка усереднювалася за 1 нс моделювання для уникнення флуктуацій великої амплітуди. Рисунок з роботи дисертанта [71].

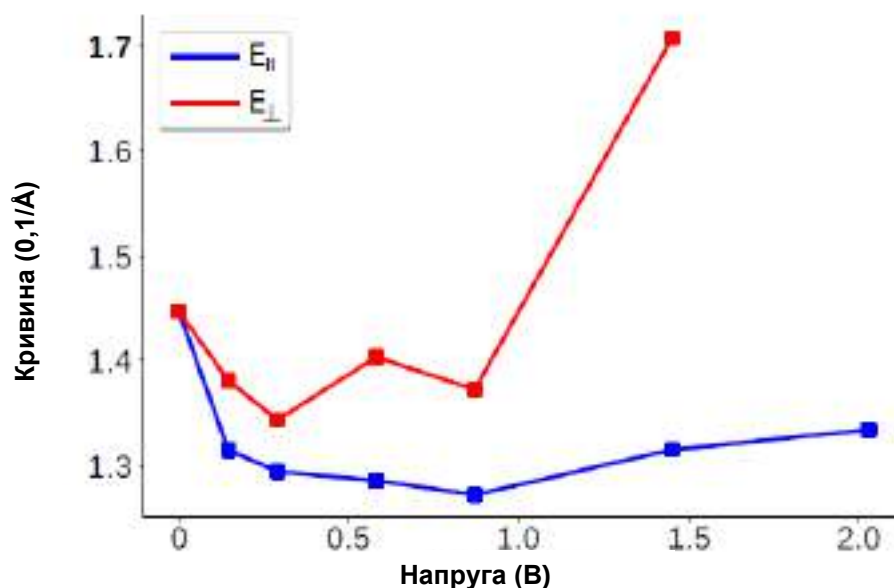


Рис.В4. Повна кривина спіральної осі фрагмента ДНК при паралельній (синя лінія) та перпендикулярній (червона лінія) орієнтаціях зовнішнього електричного поля. Кожна точка усереднюється протягом останніх 10 нс моделювання. Повна кривина розраховується за допомогою інструментів аналізу `do_x3dna` [287] шляхом інтерполяції локальних векторів `bp-step` сплайном 2-го порядку. Рисунок з роботи дисертанта [71].

ДОДАТОК Г

ДЕЯКІ ДЕТАЛІ МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМ ДНК З ПРОТИЙОНАМИ Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+}

Г1. Структура та динаміка іон-гідратного шару ДНК з Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+}

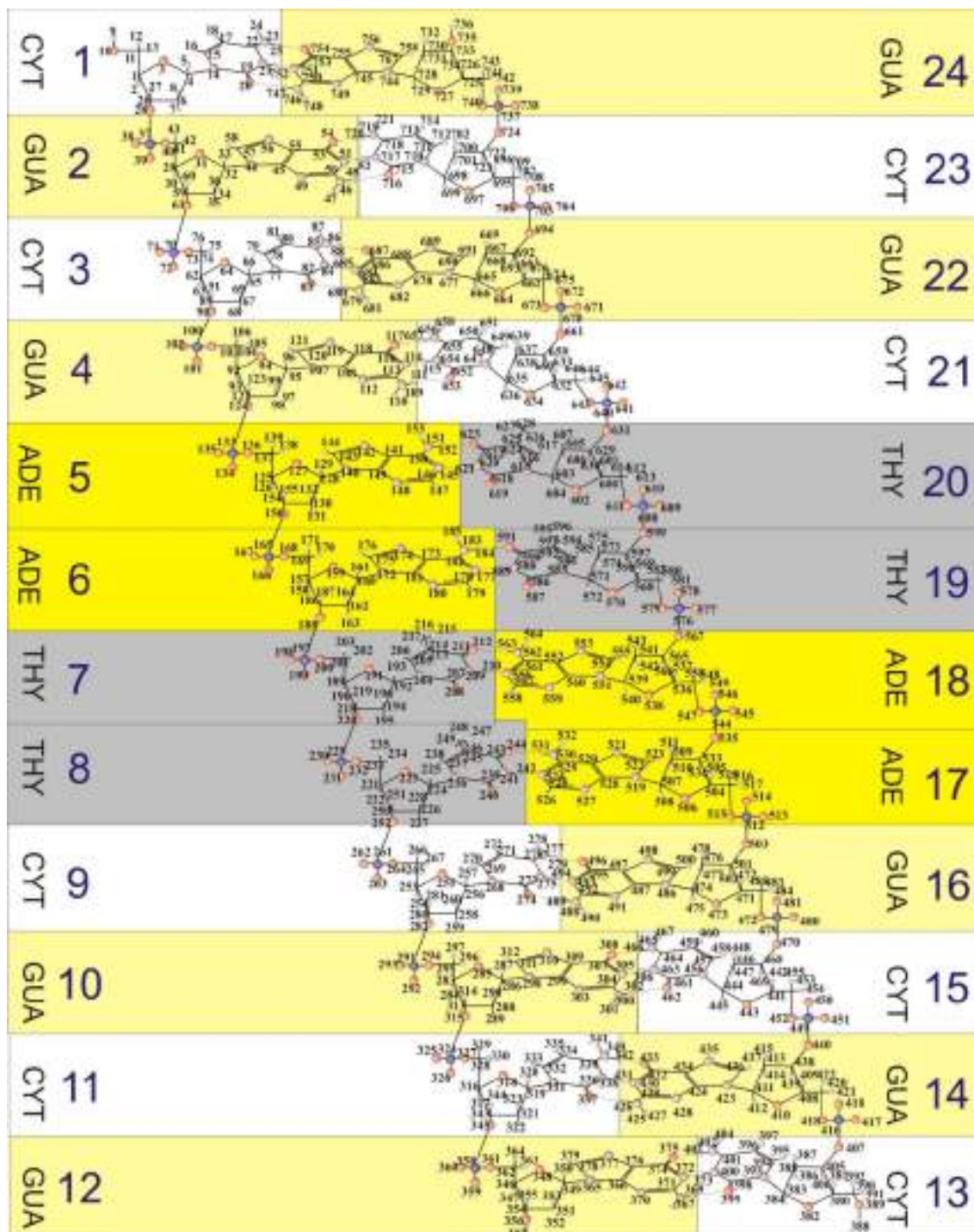


Рис. Г1. Номери нуклеотидів та номери атомів відповідно до структури в системі d(CGCGAATTCGCG), що моделювалася.

Таблиця Г1. Протокол симуляції деякої системи Mt-ДНК. k – обмежуючий коефіцієнт (ккал/моль $\text{\AA}^2$); r – температурний інкремент для врівноваження ($^{\circ}\text{K}/\text{крок}$); T - температура ($^{\circ}\text{K}$).

Етап No	Процедура	ДНК	Вода	Йони	Кількість кроків
1	Мінімізація	Фіксовано	Фіксовано: кисень	Фіксовано	2000
2	Мінімізація	Фіксовано	Вільно	Фіксовано	2000
3	Нагрів: $T=300$	Фіксовано	Вільно	Фіксовано	15000 ($r=0.02$)
4	Врівноваження: NPT ансамбль	Фіксовано	Вільно	Фіксовано	50000
5	Нагрів: $T=300$	Фіксовано	Вільно	Обмежено ($k=5$)	15000 ($r=0.02$)
6	Врівноваження: NPT ансамбль	Фіксовано	Вільно	Обмежено ($k=5$)	100000
7	Мінімізація	Обмежено ($k=5$)	Вільно	Вільно	2000
8	Нагрів: $T=300$	Обмежено ($k=5$)	Вільно	Вільно	15000 ($r=0.02$)
9	Врівноваження: NPT ансамбль	Обмежено ($k=5$)	Вільно	Вільно	500000
10	Врівноваження: NPT ансамбль	Обмежено кінцеві пари нуклеотидів ($k=5$)	Вільно	Вільно	500000
11	Врівноваження: NVT ансамбль	Обмежено кінцеві пари нуклеотидів ($k=5$)	Вільно	Вільно	10^8

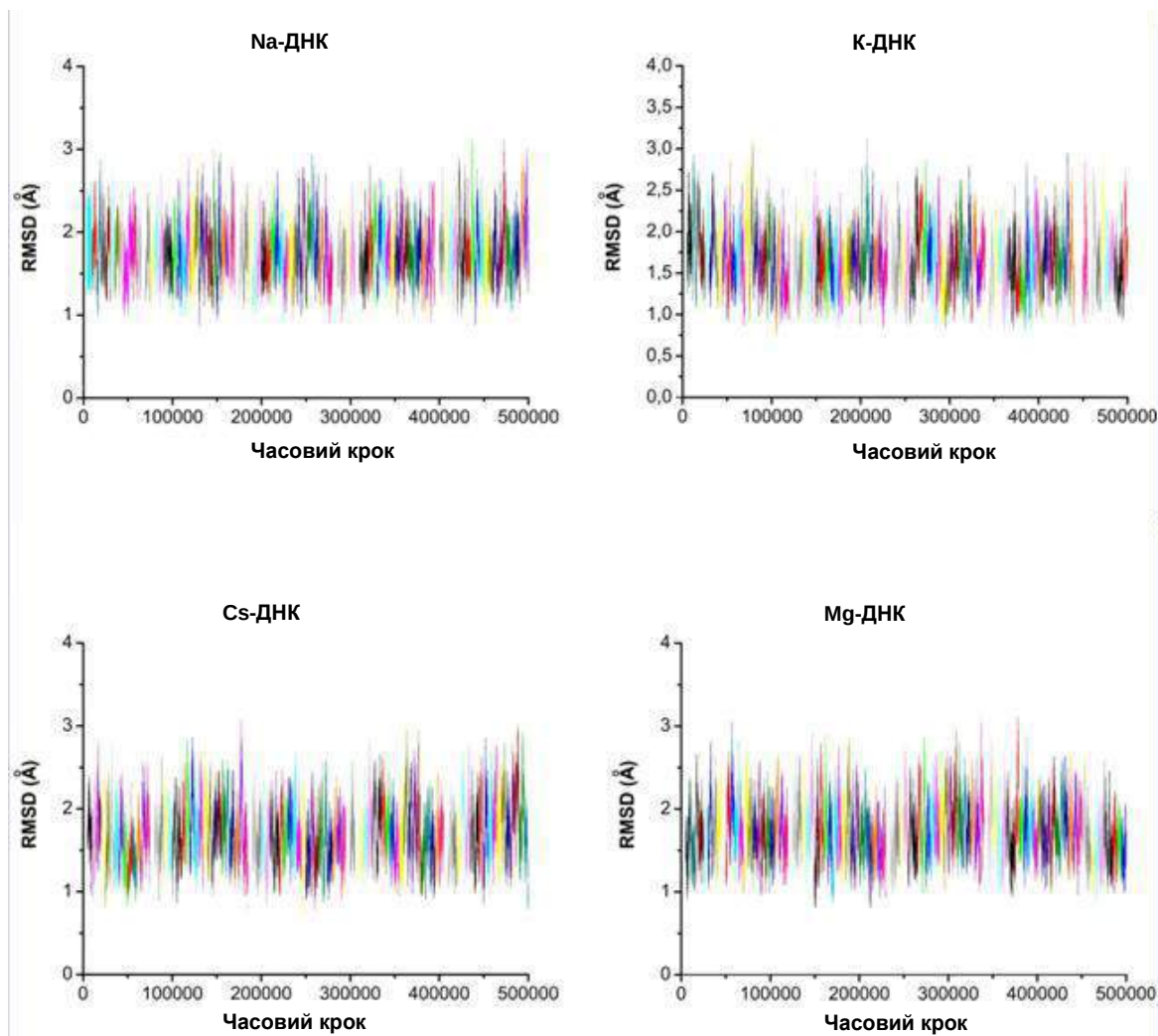


Рис. Г2 Середньоквадратичні відхилення (RMSD) атомів ДНК у Na-, K-, Cs- та Mg-системах ДНК. Різні кольори відповідають різним нуnoseкундам траєкторії моделювання. Рисунок з роботи дисертанта [37].

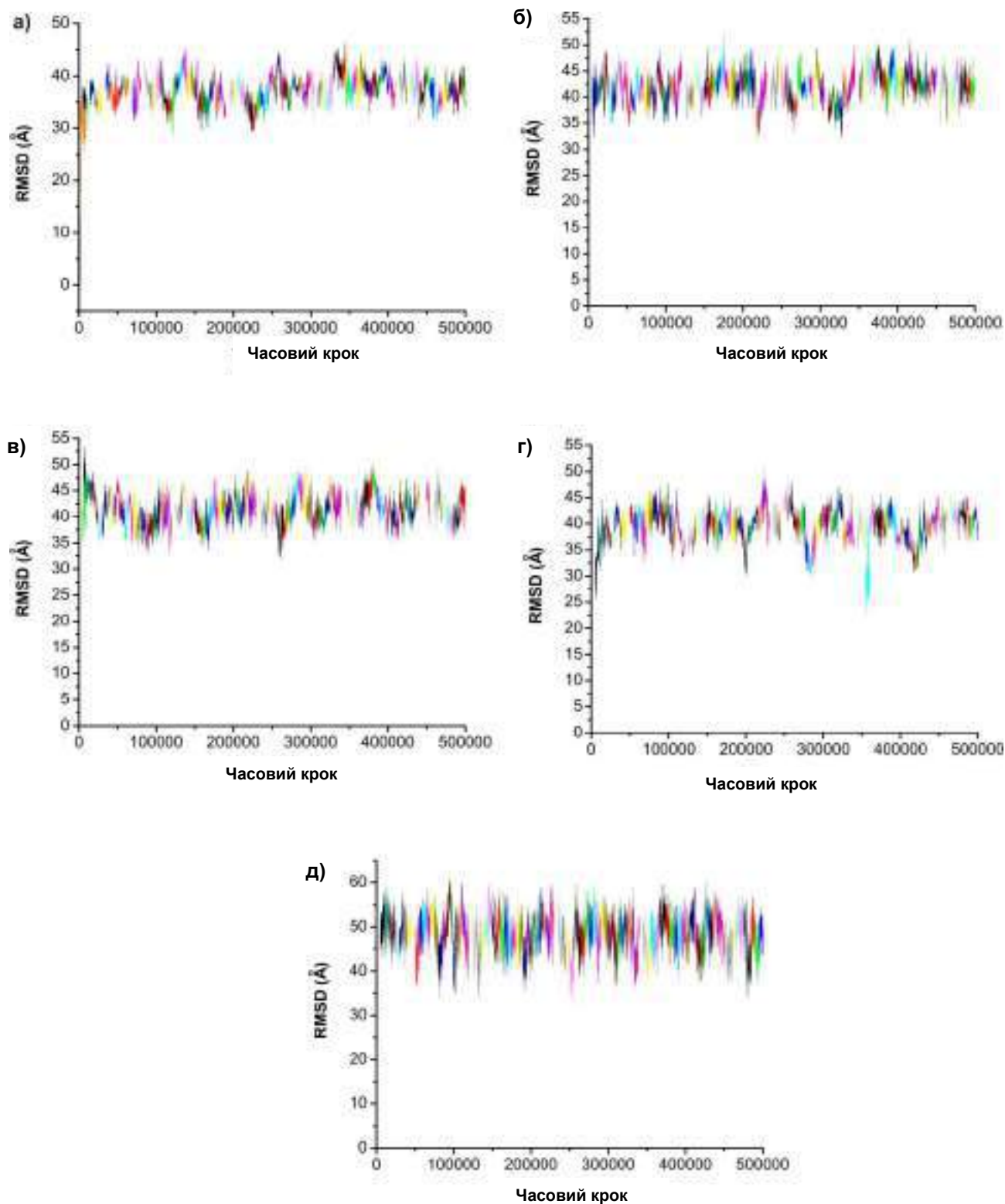


Рис. ГЗ Середньоквадратичне відхилення іонів: Na^+ (а), K^+ (б), Cs^+ (в), Mg^{2+} (г), Cl^- (д). Різні кольори відповідають різним нуnoseкундам траєкторії моделювання. Рисунок з роботи дисертанта [37].

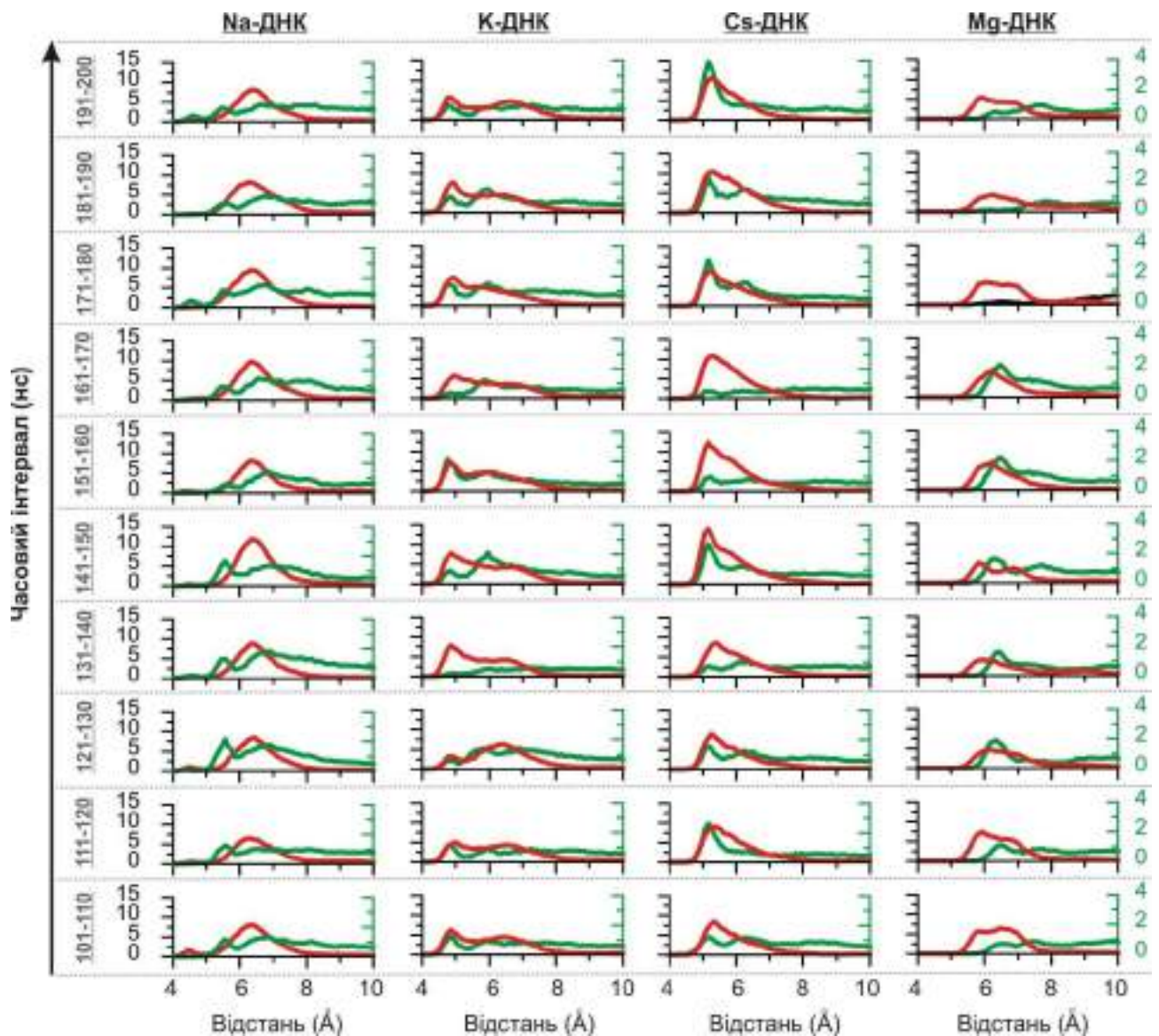


Рис. Г4 RDF для внутрішніх областей подвійної спіралі усереднені за усіма парами основ для випадку різних часових інтервалів траєкторії моделювання (наведено зліва). Пари основ на кінцях фрагменту ДНК не враховувалася. Червона лінія – це m-RDF (мінорний жолоб, mI), зелена лінія – j-RDF (головний жолоб, jI). Рисунок з роботи дисертанта [37].

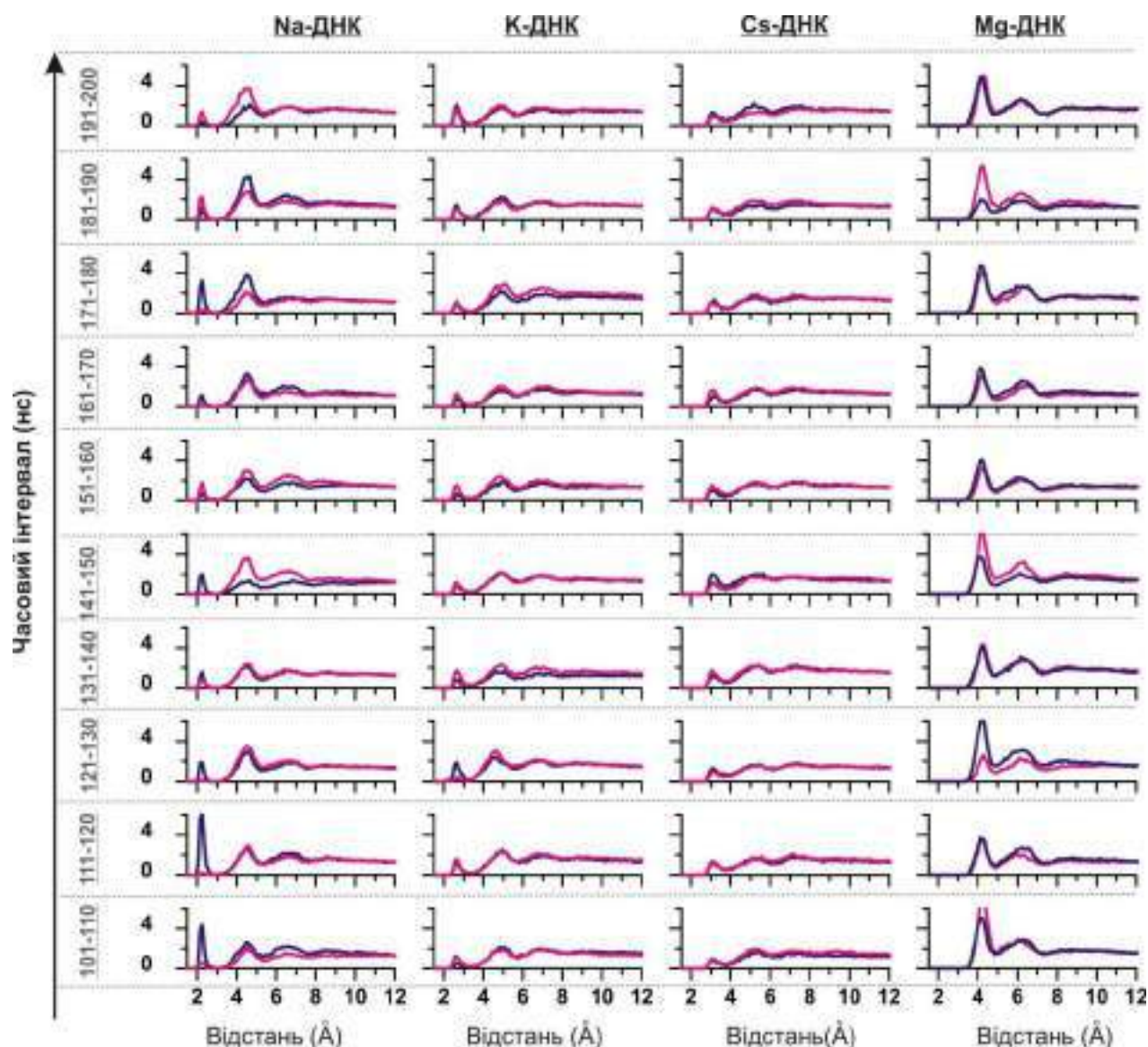


Рис. Г5 RDF протийонів відносно фосфатних груп остова подвійної спіралі, усереднені за парами основ на кожні 10 нс часових інтервалів траєкторії моделювання (наведено зліва). Фосфатні групи пар основ на кінцях фрагмента ДНК не враховувалися. Фіолетові та темно-чорні лінії є pH A-RDF та pH B-RDF відповідно. Рисунок з роботи дисертанта [37].

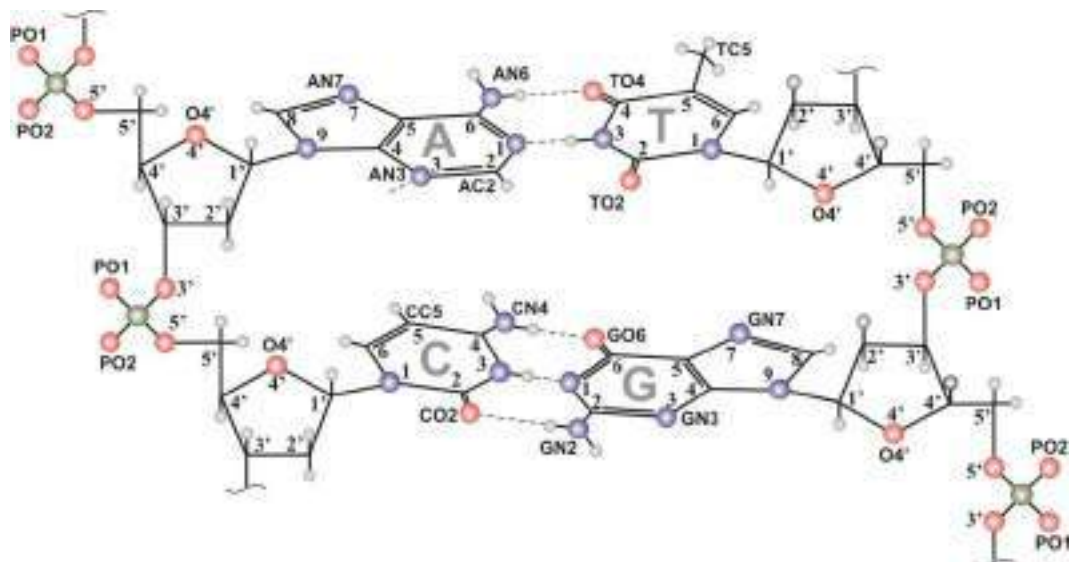


Рис. Г6. Позначення атомів, відносно яких розраховувалися часи осідлого життя для молекул води та протийонів. Рисунок з роботи дисертанта [37].

Таблиця Г2. Часи осідлого життя протийонів (τ_{Na} , τ_K , τ_{Cs} , τ_{Mg}) біля атомів подвійної спіралі (пс). В назвах атомів перша літера позначає назву нуклеотиду, а друга літера назву атома в нуклеотиді згідно з позначеннями на Рис. Г6. Атоми кисню фосфатних груп та дезоксирибози позначені як O1(2)P та O4' відповідно.

Na-ДНК

І-тяж (II- тяж)	Атоми основ в головному жолобі (Na-ДНК)							
	GN7	GO6	AN7	AN6	CN4	CC5	TO4	TC5
C(G)	0 (22)	0 (15)	0 (0)	0 (0)	10 (0)	18 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	226 (0)	48 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (8)	0 (6)	0 (0)	0 (0)
A(T)	0 (0)	0 (0)	169 (0)	39 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (11)	0 (16)
A(T)	0 (0)	0 (0)	210 (0)	37 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (25)	0 (28)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (69)	0 (33)	0 (0)	0 (0)	17 (0)	28 (0)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (337)	0 (49)	0 (0)	0 (0)	7 (0)	18 (0)
C(G)	0 (83)	0 (25)	0 (0)	0 (0)	10 (0)	14 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	103 (0)	56 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (21)	0 (15)	0 (0)	0 (0)

	Атоми основ мінорному жолобі (Na-ДНК)						Атоми остова (Na-ДНК)		
	GN3	GN2	AN3	AC2	CO2	TO2	O1P	O2P	O4'
C(G)					35		250	128	
	0 (8)	0 (26)	0 (0)	0 (0)	(0)	0 (0)	(90)	(60)	9 (51)
G(C)					0		294	154	88
	44(0)	49 (0)	0 (0)	0 (0)	(97)	0 (0)	(92)	(125)	(119)
A(T)			57			0	142	140	28
	0 (0)	0 (0)	(0)	46 (0)	0 (0)	(67)	(57)	(163)	(36)
A(T)			86			0	180	142	76
	0 (0)	0 (0)	(0)	32 (0)	0 (0)	(79)	(161)	(91)	(122)
T(A)			0	0		78	149	145	134
	0 (0)	0 (0)	(172)	(117)	0 (0)	(0)	(93)	(98)	(85)
T(A)			0			131	256	160	39
	0 (0)	0 (0)	(35)	0 (19)	0 (0)	(0)	(87)	(86)	(100)
C(G)					131		195	202	140
	0 (0)	0 (50)	0 (0)	0 (0)	(0)	0 (0)	(183)	(109)	(35)
G(C)	16						120	186	
	(23)	24 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (6)	0 (0)	(132)	(231)	88 (6)

Таблиця Г2. (продовження)

К-ДНК

І-тяж (ІІ- тяж)	Атоми основ в головному жолобі (К-ДНК)							
	GN7	GO6	AN7	AN6	CN4	CC5	TO4	TC5
C(G)	0 (90)	0 (117)	0 (0)	0 (0)	32 (0)	18 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	196 (0)	90 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (10)	0 (17)	0 (67)	0 (0)
A(T)	0 (0)	0 (0)	195 (0)	37 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (67)	0 (8)
A(T)	0 (0)	0 (0)	111 (0)	26 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (34)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (109)	0 (23)	0 (0)	0 (0)	44 (0)	22 (0)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (190)	0 (39)	0 (0)	0 (0)	62 (0)	10 (0)
C(G)	0 (161)	0 (130)	0 (0)	0 (0)	6 (0)	17 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	94 (0)	104 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (28)	0 (19)	0 (0)	0 (0)

	Атоми основ в мінорному жолобі (К-ДНК)						Атоми остова (К-ДНК)		
	GN3	GN2	AN3	AC2	CO2	TO2	O1P	O2P	O4'
C(G)		0			65		78	55	47
	0 (57)	(47)	0 (0)	0 (0)	(0)	0 (0)	(65)	(48)	(128)
G(C)		70			0		67	49	76
	61 (0)	(0)	0 (0)	0 (0)	(168)	0 (0)	(65)	(64)	(275)
A(T)			126			0	78	60	53
	0 (0)	0 (0)	(0)	78 (0)	0 (0)	(232)	(60)	(88)	(325)
A(T)			390	306		0	57	101	153
	0 (0)	0 (0)	(0)	(0)	0 (0)	(541)	(73)	(76)	(564)
T(A)			0	0		491	52	94	363
	0 (0)	0 (0)	(637)	(407)	0 (0)	(0)	(63)	(68)	(590)
T(A)			0	0		653	36	83	320
	0 (0)	0 (0)	(483)	(231)	0 (0)	(0)	(78)	(72)	(153)
C(G)	0	0			415		52	62	597
	(260)	(116)	0 (0)	0 (0)	(0)	0 (0)	(67)	(62)	(385)
G(C)	316	134			0		65	82	534
	(0)	(0)	0 (0)	0 (0)	(277)	0 (0)	(122)	(67)	(46)

Таблиця Г2. (продовження)

Cs-ДНК

І-тяж (II- тяж)	Атоми основ в головному жолобі (Cs- ДНК)							
	GN7	GO6	AN7	AN6	CN4	CC5	TO4	TC5
C(G)	0 (157)	0 (265)	0 (0)	0 (0)	136 (0)	142 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	342 (0)	260 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (97)	0 (112)	0 (0)	0 (0)
A(T)	0 (0)	0 (0)	204 (0)	58 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (203)	0 (12)
A(T)	0 (0)	0 (0)	150 (0)	19 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (140)	0 (32)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (132)	0 (19)	0 (0)	0 (0)	175 (0)	26 (0)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (160)	0 (38)	0 (0)	0 (0)	238 (0)	10 (0)
C(G)	0 (313)	0 (261)	0 (0)	0 (0)	72 (0)	83 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	161 (0)	362 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (120)	0 (81)	0 (0)	0 (0)

	Атоми основ в мінорному жолобі (Cs- ДНК)						Атоми остова (Cs- ДНК)		
	GN3	GN2	AN3	AC2	CO2	TO2	O1P	O2P	O4'
C(G)	0 (298)	0 (462)	0 (0)	0 (0)	222 (0)	0 (0)	83 (97)	99 (95)	95 (533)
G(C)	133 (0)	403 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (635)	0 (0)	109 (99)	81 (102)	293 (737)
A(T)			829	783		0	102	84	135
	0 (0)	0 (0)	(0)	(0)	0 (0)	(1166)	(90)	(94)	(857)
A(T)			698	659		0	81	94	899
	0 (0)	0 (0)	(0)	(0)	0 (0)	(998)	(88)	(128)	(684)
T(A)			0	0		666	82	118	528
	0 (0)	0 (0)	(956)	(897)	0 (0)	(0)	(95)	(96)	(1104)
T(A)			0	0		1225	78	99	413
	0 (0)	0 (0)	(904)	(867)	0 (0)	(0)	(114)	(76)	(655)
C(G)		0							
	0 (838)	(1190)	0 (0)	0 (0)	1199 (0)	0 (0)	102 (92)	168 (93)	1008 (885)
G(C)	869 (0)	875 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (521)	0 (0)	74 (89)	88 (111)	1569 (112)

Таблиця Г2. (продовження)

Mg- ДНК

І-тяж (II- тяж)	Атоми основ в головному жолобі (Mg- ДНК)							
	GN7	GO6	AN7	AN6	CN4	CC5	TO4	TC5
C(G)	0 (91)	0 (44)	0 (0)	0 (0)	14 (0)	53 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	251 (0)	172 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (11)	0 (25)	0 (0)	0 (0)
A(T)	0 (0)	0 (0)	219 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (119)	0 (0)
A(T)	0 (0)	0 (0)	45 (0)	3 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (42)	0 (0)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	37 (0)	4 (0)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (184)	0 (3)	0 (0)	0 (0)	139 (0)	4 (0)
C(G)	0 (585)	0 (382)	0 (0)	0 (0)	52 (0)	41 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	234 (0)	257 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (70)	0 (94)	0 (0)	0 (0)

	Атоми основ в міночному жолобі (Mg- ДНК)						Атоми остова (Mg- ДНК)		
	GN3	GN2	AN3	AC2	CO2	TO2	O1P	O2P	O4'
C(G)	0 (125)	0 (69)	0 (0)	0 (0)	20 (0)	0 (0)	368 (299)	235 (243)	10 (356)
G(C)	42 (0)	60 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (571)	0 (0)	283 (329)	293 (270)	76 (699)
A(T)			428	162		0	510	264	113
A(T)	0 (0)	0 (0)	(0)	(0)	0 (0)	(1241)	(303)	(385)	(829)
			976	322			251	208	660
	0 (0)	0 (0)	(0)	(0)	0 (0)	0 (265)	(280)	(218)	(271)
T(A)			0	0			235	204	416
	0 (0)	0 (0)	(885)	(172)	0 (0)	256 (0)	(250)	(297)	(1250)
T(A)			0	0			171	317	275
	0 (0)	0 (0)	(554)	(319)	0 (0)	903 (0)	(563)	(251)	(171)
C(G)	0 (54)	0 (330)	0 (0)	0 (0)	1631 (0)	0 (0)	250 (472)	317 (283)	1388 (155)
G(C)	97 (0)	37 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (130)	0 (0)	280 (358)	234 (299)	1090 (69)

Таблиця Г3. Часи осідлого життя молекул води (τ_w) поблизу атомів подвійної спіралі (пс). В назвах атомів перша літера позначає назву нуклеотиду, а друга літера назву атома в нуклеотиді згідно з позначеннями на Рис. Г6. Атоми кисню фосфатних груп та дезоксирибози позначені як O1(2)P та O4' відповідно.

Na-ДНК

І-тяж (II- тяж)	Атоми основ в головному жолобі (Na-ДНК)							
	GN7	GO6	AN7	AN6	CN4	CC5	TO4	TC5
C(G)	0 (31)	0 (28)	0 (0)	0 (0)	29 (0)	29 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	48 (0)	25 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (21)	0 (34)	0 (0)	0 (0)
A(T)	0 (0)	0 (0)	44 (0)	31 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (10)	0 (29)
A(T)	0 (0)	0 (0)	36 (0)	27 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (18)	0 (30)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (22)	0 (34)	0 (0)	0 (0)	28 (0)	28 (0)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (46)	0 (22)	0 (0)	0 (0)	26 (0)	18 (0)
C(G)	0 (39)	0 (27)	0 (0)	0 (0)	22 (0)	30 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	36 (0)	28 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (27)	0 (29)	0 (0)	0 (0)

	Атоми основ в мінорному жолобі (Na-ДНК)					Атоми остова (Na- ДНК)			
	GN3	GN2	AN3	AC2	CO2	TO2	O1P	O2P	O4'
C(G)	0 (33)	0 (67)	0 (0)	0 (0)	34 (0)	0 (0)	35 (26)	21 (19)	23 (45)
G(C)	45(0)	75 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (62)	0 (0)	34 (34)	22 (23)	41 (31)
A(T)	0 (0)	0 (0)	34 (0)	30 (0)	0 (0)	0 (61)	36 (40)	25 (24)	39 (43)
A(T)	0 (0)	0 (0)	51 (0)	49 (0)	0 (0)	0 (56)	39 (42)	27 (22)	32 (37)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (42)	0 (47)	0 (0)	58 (0)	39 (52)	25 (22)	26 (57)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (58)	0 (60)	0 (0)	74 (0)	35 (35)	21 (24)	41 (46)
C(G)	0 (40)	0 (104)	0 (0)	0 (0)	71 (0)	0 (0)	36 (37)	23 (24)	47 (56)
G(C)	36 (0)	79 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (22)	0 (0)	32 (32)	24 (23)	64 (20)

Таблиця ГЗ. (продовження)

К-ДНК

І-тяж (II- тяж)	Атоми основ в головному жолобі (К- ДНК)							
	GN7	GO6	AN7	AN6	CN4	CC5	TO4	TC5
C(G)	0 (32)	0 (25)	0 (0)	0 (0)	29 (0)	26 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	35 (0)	21 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (22)	0 (30)	0 (12)	0 (0)
A(T)	0 (0)	0 (0)	30 (0)	25 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (13)	0 (24)
A(T)	0 (0)	0 (0)	23 (0)	24 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (29)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (18)	0 (22)	0 (0)	0 (0)	19 (0)	28 (0)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (30)	0 (23)	0 (0)	0 (0)	13 (0)	25 (0)
C(G)	0 (36)	0 (22)	0 (0)	0 (0)	21 (0)	30 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	35 (0)	32 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (27)	0 (27)	0 (0)	0 (0)

	Атоми основ в мінорному жолобі (К- ДНК)						Атоми остова (К- ДНК)		
	GN3	GN2	AN3	AC2	CO2	TO2	O1P	O2P	O4'
C(G)		0			26		30	19	18
	0 (25)	(46)	0 (0)	0 (0)	(0)	0 (0)	(28)	(20)	(39)
G(C)		55			0		35	22	30
	34 (0)	(0)	0 (0)	0 (0)	(46)	0 (0)	(33)	(21)	(23)
A(T)							33	20	26
	0 (0)	0 (0)	28 (0)	29 (0)	0 (0)	0 (48)	(34)	(26)	(29)
A(T)							29	22	29
	0 (0)	0 (0)	45 (0)	28 (0)	0 (0)	0 (54)	(46)	(21)	(16)
T(A)							39	21	16
	0 (0)	0 (0)	0 (50)	0 (31)	0 (0)	47 (0)	(40)	(24)	(29)
T(A)							38	19	35
	0 (0)	0 (0)	0 (48)	0 (41)	0 (0)	62 (0)	(35)	(20)	(38)
C(G)		0			44		35	15	28
	0 (37)	(83)	0 (0)	0 (0)	(0)	0 (0)	(27)	(25)	(56)
G(C)		82			0		34	22	40
	32 (0)	(0)	0 (0)	0 (0)	(36)	0 (0)	(28)	(21)	(24)

Таблиця ГЗ. (продовження)

Cs-ДНК

І-тяж (II- тяж)	Атоми основ в головному жолобі (Cs- ДНК)							
	GN7	GO6	AN7	AN6	CN4	CC5	TO4	TC5
C(G)	0 (33)	0 (27)	0 (0)	0 (0)	31 (0)	26 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	32 (0)	22 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (22)	0 (30)	0 (0)	0 (0)
A(T)	0 (0)	0 (0)	30 (0)	26 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (15)	0 (23)
A(T)	0 (0)	0 (0)	26 (0)	23 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (19)	0 (28)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (25)	0 (24)	0 (0)	0 (0)	19 (0)	24 (0)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (30)	0 (27)	0 (0)	0 (0)	10 (0)	26 (0)
C(G)	0 (34)	0 (24)	0 (0)	0 (0)	23 (0)	24 (0)	0 (0)	0 (0)
G(C)	30 (0)	29 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (30)	0 (23)	0 (0)	0 (0)

	Атоми основ в мінорному жолобі (Cs- ДНК)						Атоми остова (Cs- ДНК)		
	GN3	GN2	AN3	AC2	CO2	TO2	O1P	O2P	O4'
C(G)							30	20	
	0 (27)	0 (48)	0 (0)	0 (0)	34 (0)	0 (0)	(36)	(24)	15 (28)
G(C)							37	23	
	30 (0)	48 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (34)	0 (0)	(37)	(22)	39 (25)
A(T)							35	23	
	0 (0)	0 (0)	23 (0)	19 (0)	0 (0)	0 (46)	(35)	(23)	27 (31)
A(T)							33	24	
	0 (0)	0 (0)	38 (0)	28 (0)	0 (0)	0 (59)	(32)	(22)	30 (18)
T(A)							36	20	
	0 (0)	0 (0)	0 (39)	0 (25)	0 (0)	47 (0)	(42)	(24)	18 (27)
T(A)							36	22	
	0 (0)	0 (0)	0 (38)	0 (20)	0 (0)	57 (0)	(29)	(23)	28 (30)
C(G)							34	22	
	0 (39)	0 (83)	0 (0)	0 (0)	46 (0)	0 (0)	(34)	(22)	32 (42)
G(C)							31	20	
	38 (0)	64 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (28)	0 (0)	(39)	(21)	31 (21)

Таблиця ГЗ. (продовження)

Mg-ДНК									
І-тяж (II- тяж)	Атоми основ в головному жолобі (Mg- ДНК)								
	GN7	GO6	AN7	AN6	CN4	CC5	TO4	TC5	
C(G)	0 (37)	0 (24)	0 (0)	0 (0)	32 (0)	30 (0)	0 (0)	0 (0)	
G(C)	31 (0)	24 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (26)	0 (32)	0 (0)	0 (0)	
A(T)	0 (0)	0 (0)	30 (0)	27 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (12)	0 (35)	
A(T)	0 (0)	0 (0)	26 (0)	27 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (23)	0 (34)	
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (19)	0 (22)	0 (0)	0 (0)	22 (0)	33 (0)	
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (32)	0 (33)	0 (0)	0 (0)	17 (0)	26 (0)	
C(G)	0 (51)	0 (28)	0 (0)	0 (0)	16 (0)	25 (0)	0 (0)	0 (0)	
G(C)	35 (0)	35 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (26)	0 (36)	0 (0)	0 (0)	
	Атоми основ в міnorному жолобі (Mg- ДНК)						Атоми остова (Mg- ДНК)		
	GN3	GN2	AN3	AC2	CO2	TO2	O1P	O2P	O4'
C(G)	0 (38)	0 (49)	0 (0)	0 (0)	31 (0)	0 (0)	40 (38)	22 (23)	19 (36)
G(C)	27 (0)	59 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (46)	0 (0)	37 (41)	26 (25)	37 (77)
A(T)			43 (0)	38 (0)	0 (0)	0 (104)	32 (36)	26 (26)	34 (56)
A(T)	0 (0)	0 (0)	80 (0)	80 (0)	0 (0)	0 (78)	39 (45)	30 (25)	37 (42)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (58)	0 (36)	0 (0)	59 (0)	38 (46)	22 (26)	41 (81)
T(A)	0 (0)	0 (0)	0 (109)	0 (82)	0 (0)	114 (0)	43 (35)	25 (28)	43 (57)
C(G)	0 (51)	0 (116)	0 (0)	0 (0)	142 (0)	0 (0)	31 (40)	21 (24)	99 (49)
G(C)	35 (0)	97 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (28)	0 (0)	28 (37)	24 (23)	92 (25)

Г2. Деякі результати дослідження характеру гідратації протийонів, що взаємодіють з подвійною спіраллю ДНК

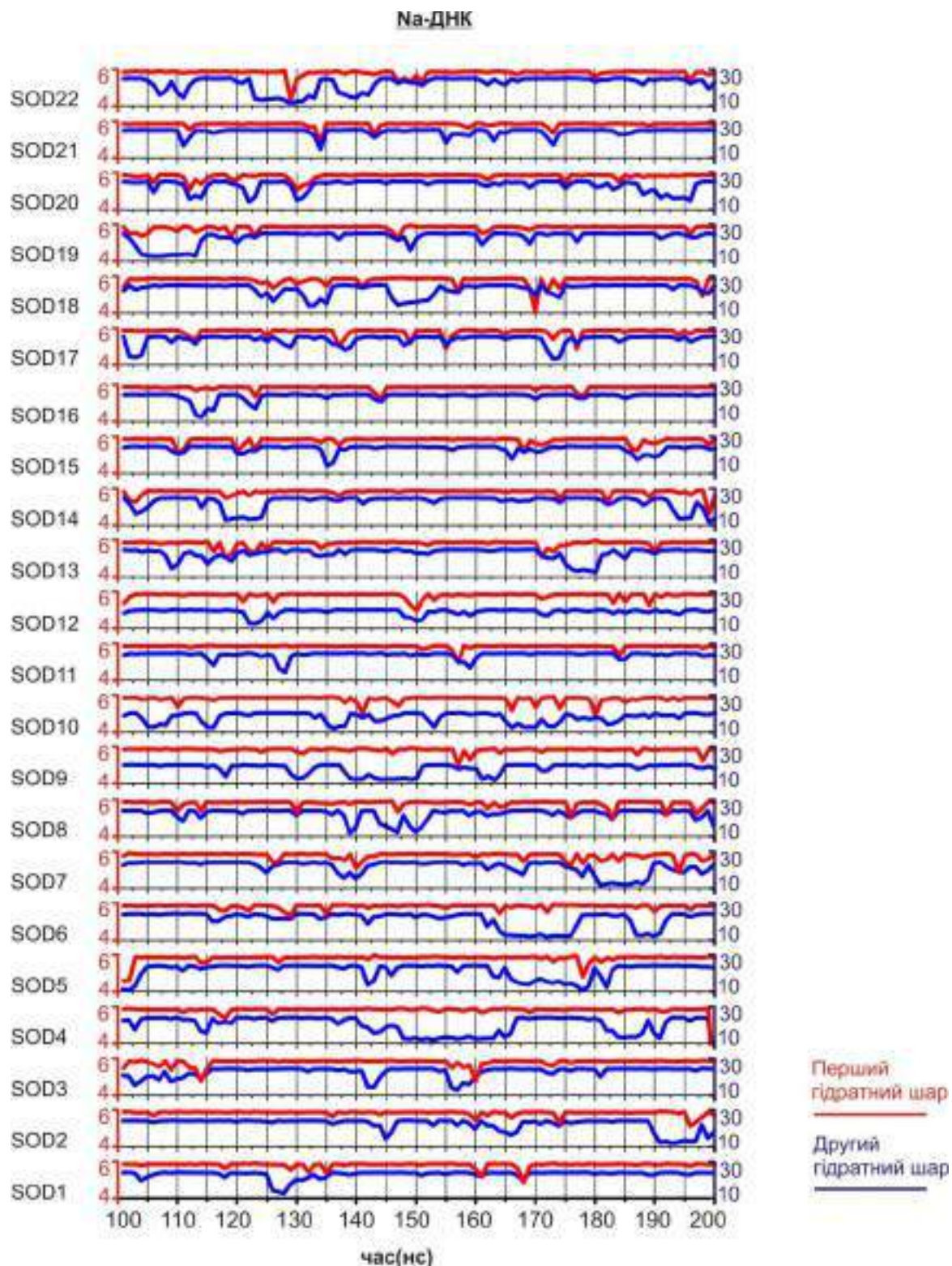


Рис. Г7 Залежність кількості молекул води (координаційне число) в першій (червона лінія) та другій (синя лінія) гідратних оболонках кожного протийону системи Na-ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [37].

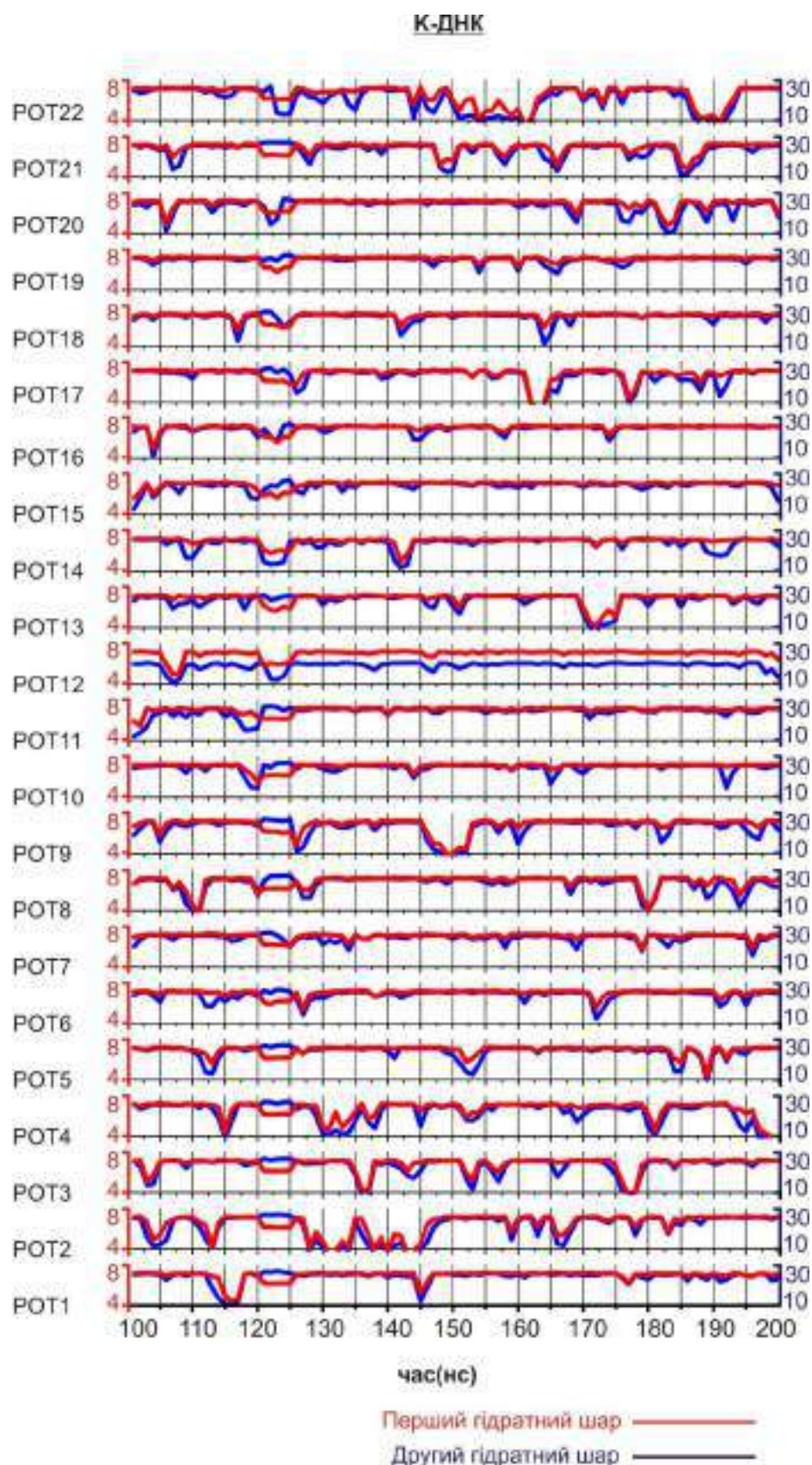


Рис. Г8 Залежність кількості молекул води (координаційне число) в першій (червона лінія) та другій (синя лінія) гідратних оболонках кожного протийону системи К-ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [37].

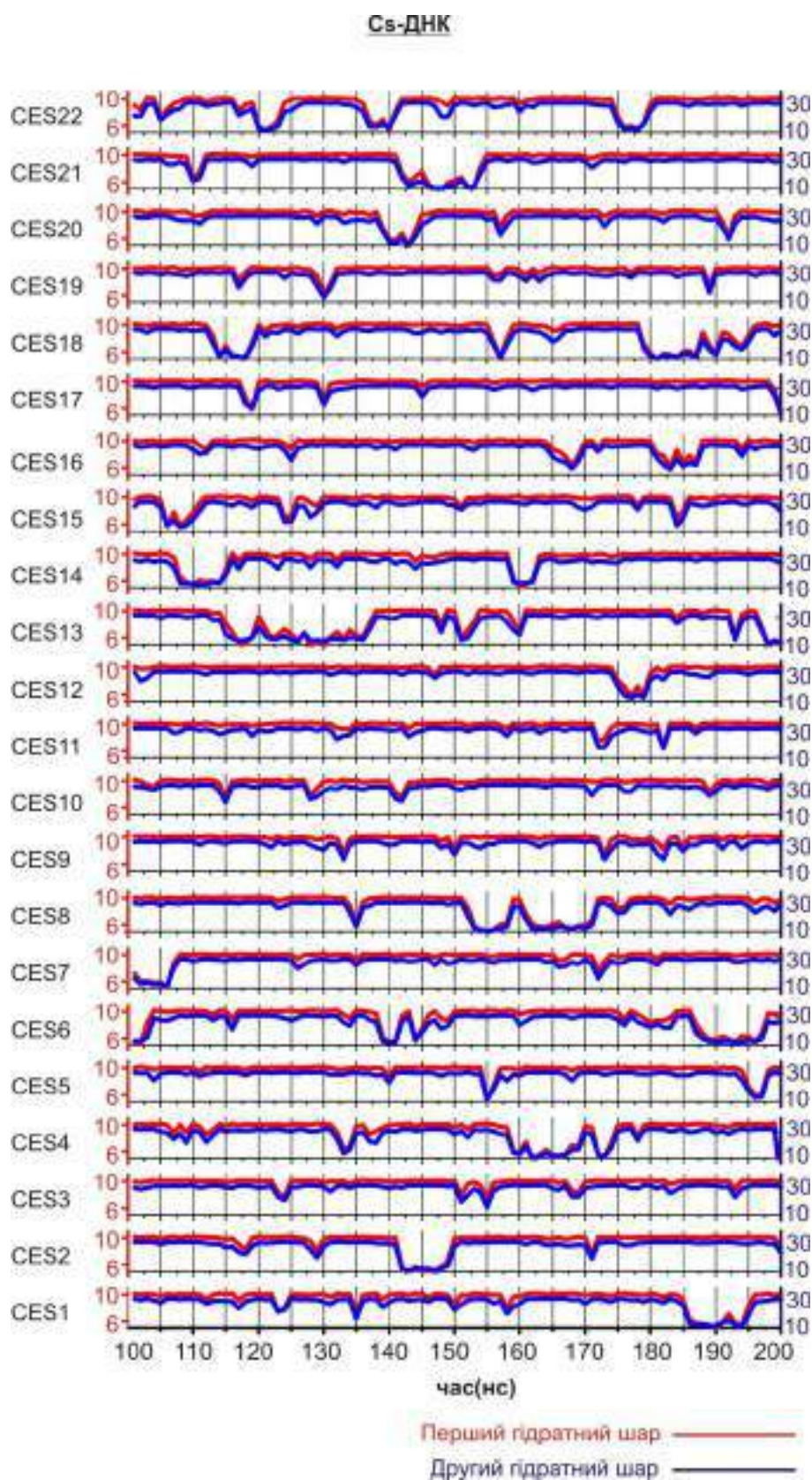


Рис. Г9 Залежність кількості молекул води (координаційне число) в першій (червона лінія) та другій (синя лінія) гідратних оболонках кожного проти-йону системи Cs-ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [37].

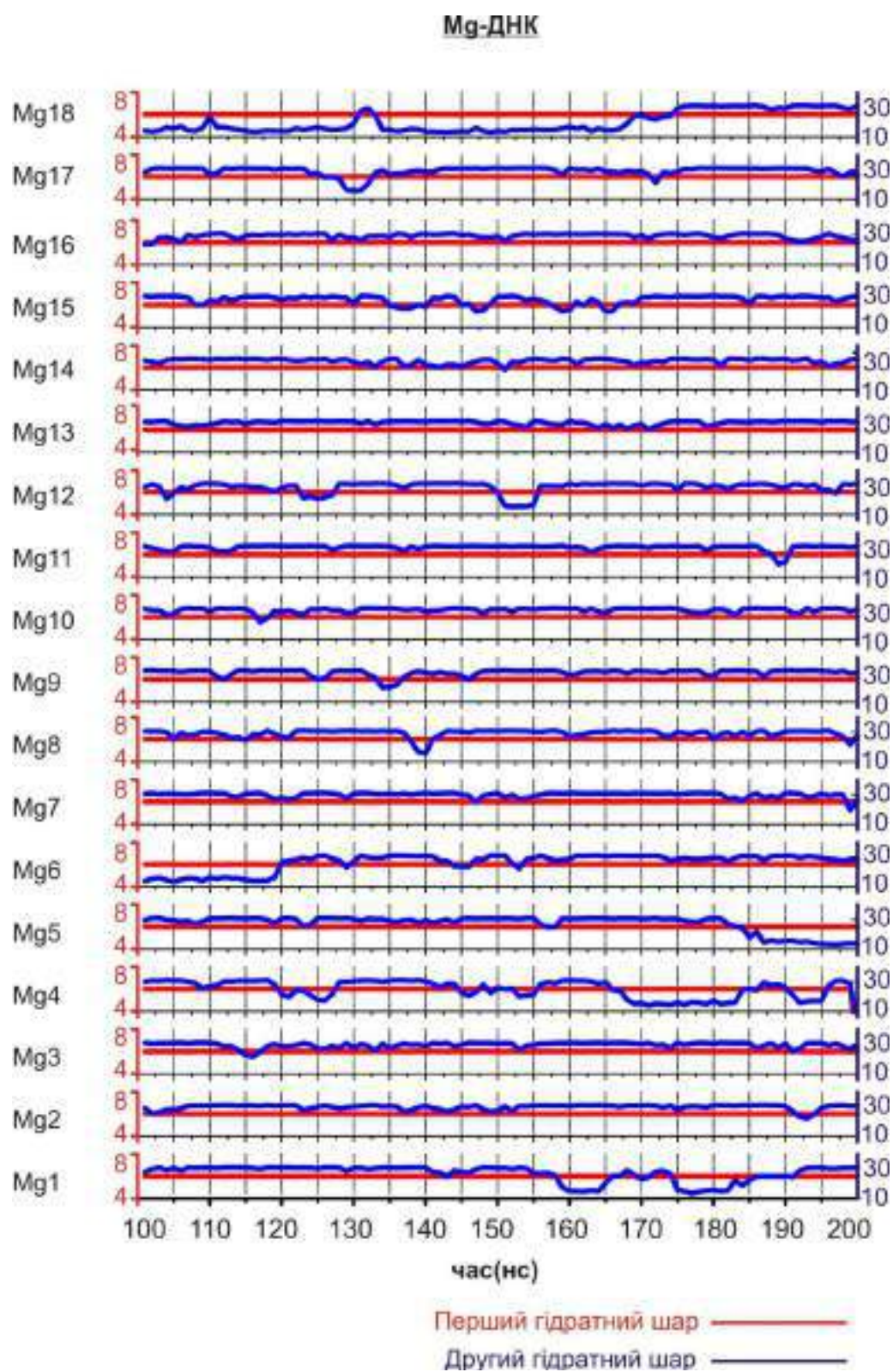


Рис. Г10 Залежність кількості молекул води (координаційне число) в першій (червона лінія) та другій (синя лінія) гідратних оболонках кожного протйону системи Mg -ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [37].

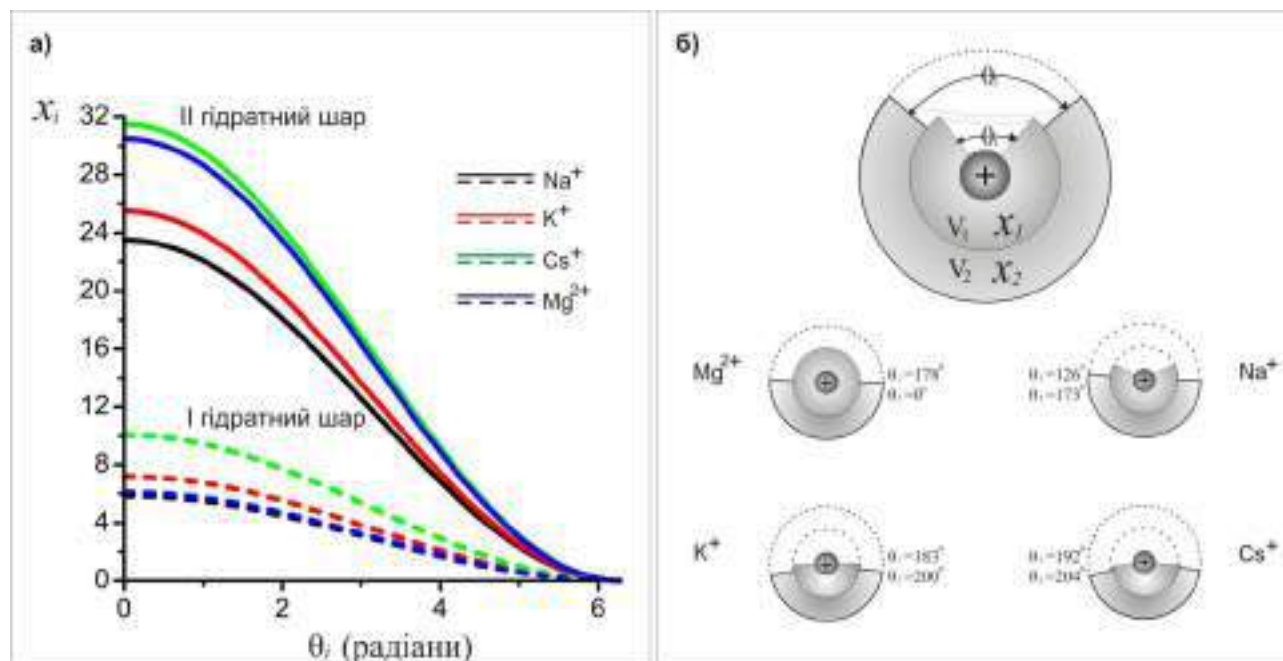


Рис. Г11 Взаємозв'язок координаційних чисел протийону з тілесним кутом сферичного сектора. а) Залежність кількості молекул води, що залишилися в першій і другій гідратних оболонках, від тілесного кута сферичного сектора, що відповідає об'єму, який вивільняється в гідратній оболонці. б) Схематичні зображення протийонів з гідратаційними оболонками відповідно до введеної геометричної моделі. Для кожного протийона показано вивільнений об'єм у випадку максимальної дегідратації. Рисунок з роботи дисертанта [37].

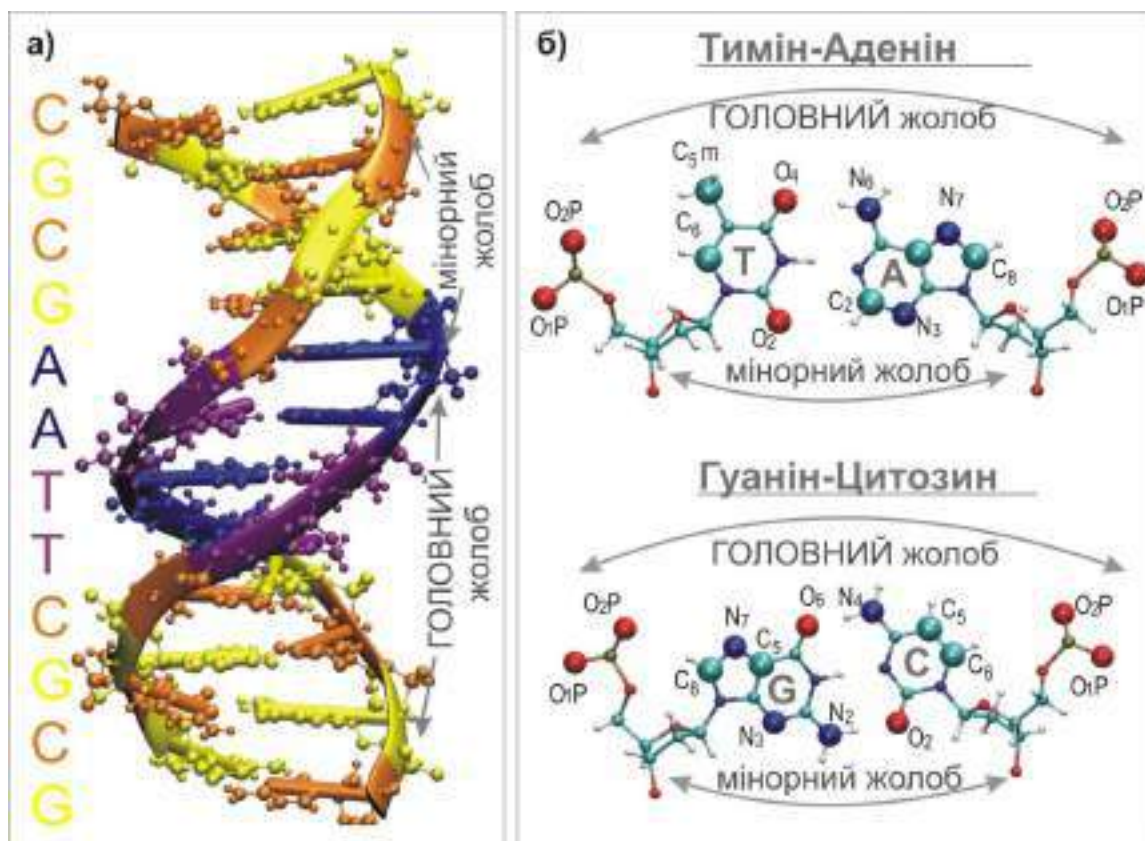


Рис. Г12. а) Структура додекамера Дрю-Дікерсона d(CGCGAATTCGCG) [106]. Позначені мінорний та головний жолоби. Схема кольорів нуклеотидів: цитозин (С, оранжевий), гуанін (G, жовтий), аденін (А, синій), тимін (Т, фіолетовий). б) Пари нуклеотидів тимін-аденін і гуанін-цитозин та референтні атоми, показані у вигляді збільшених сфер з назвами атомів, які використовувалися як референтні точки для побудови радіальних функцій розподілу. Рисунок з роботи дисертанта [136].

Таблиця Г4. Референтні атоми макромолекул ДНК для побудови радіальних функцій розподілу.

Область ДНК	Аденін (А)	Гуанін (G)	Тимін (Т)	Цитозин (С)
Мінорний жолоб	N ₃ , C ₂	N ₃ , N ₂	O ₂	O ₂
Головний жолоб	N ₆ , C ₅ , N ₇ , C ₈	O ₆ , C ₅ , N ₇ , C ₈	O ₄ , C _{5m} , C ₆	N ₄ , C ₅ , C ₆
Фосфатні групи	PO ₁ , PO ₂	PO ₁ , PO ₂	PO ₁ , PO ₂	PO ₁ , PO ₂

ДОДАТОК Д

ДЕТАЛІ МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ Na^+ З ДНК У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ З H_2O_2

Д1. Деталі моделювання ДНК з протийонами Na^+ і пероксидом водню

Д1.1. Склад змодельованих систем. Молекулярно-динамічне моделювання було проведено для п'яти різних систем: ДНК0, ДНК03, ДНК35, WP03 і WP35. Системи ДНК0, ДНК03 і ДНК35 містили макромолекулу ДНК у водному розчині з концентрацією пероксиду водню 0,3 М і 3,5 М відповідно. Системи WP03 і WP35 складалися з водного розчину без ДНК, але з пероксидом водню концентрації 0,3 і 3,5 М відповідно. Склад системи наведено в таблиці Д1.

Таблиця Д1. Склад змодельованих систем.

Назва системи	Кількість атомів	ДНК (так/ні)	H_2O (кількість)	H_2O_2 (кількість)	Na^+ (кількість)	Cl^- (кількість)
DNA0	17916	так	5536	0	40	0
DNA03	17499	так	5349	36	40	0
DNA35	14169	так	3711	432	40	0
WP03	18044	ні	5940	36	40	40
WP35	14647	ні	4273	432	40	40

Д1.2. Протокол моделювання. Моделювання проведено за допомогою програмного пакету NAMD [1]. Протокол моделювання для систем з ДНК (DNA0, DNA03 і DNA35) аналогічний [2]. Моделювання було розпочато з мінімізації системи з фіксованими важкими атомами (дозволялося рухатися лише атомам водню). Потім система була мінімізована за фіксованої ДНК, атомів пероксиду водню та іонів. Після мінімізації водну складову розчинника нагрівали до температури 300 К і врівноважували протягом 25 пс. Часовий крок був при-

йнятий рівним 0,5 фс. Потім систему з фіксованою ДНК та атомами пероксиду водню та обмеженими іонами нагрівали до температури 300 К, а потім врівнювали з обмеженими іонами (25 пс), а потім з вільними іонами (25 пс). Після цього систему мінімізували з фіксованими атомами ДНК, а потім її нагрівали до 300 К з наступним урівноваженням з обмеженими (250 пс) і вільними (250 пс) атомами пероксиду водню. В процесі «приготування» розчину розпочато розморожування атомів ДНК: систему мінімізували. Далі систему нагрівали до 300 К з наступним врівноваженням з обмеженими атомами ДНК (250 пс), потім з обмеженими кінцями фрагмента ДНК (250 пс), і, нарешті, з усіма атомами без будь-яких обмежень (3,75 нс). Моделювання до цього етапу було виконано як в NPT ансамблі з постійним тиском 101325 Па. На стадії симуляції траєкторії для аналізу система моделювалася при постійному об'ємі та температурі (NVT ансамбль) з часовим кроком 2 фс. Траєкторія моделювання записувалася через кожні 100 кроків. Для кожної системи (DNA0, DNA03 і DNA35) отримано траєкторію моделювання 200 нс (траєкторія 1), а для системи DNA35 – дві додаткові траєкторії моделювання: траєкторія 2 (200 нс) і траєкторія 3 (500 нс).

У випадку систем без ДНК (WP03 і WP35) протокол моделювання дещо відрізнявся. Після кроків мінімізації та нагрівання до температури 300 К (кроки 1, 2, 3 у таблиці Д1) системи були врівноважені протягом $3 \cdot 10^6$ кроків із кроком часу 2 фс без будь-яких обмежень. Опція гнучкої комірки (*flexible cell*) була вимкнена. Довжина траєкторії в NPT ансамблі становить 6 нс, а потім моделювання було переведено на NVT ансамбль. На стадії симуляції траєкторії для аналізу система моделювалася при постійному об'ємі та температурі (NVT ансамбль) з кроком часу 2 фс протягом 200 нс. Для кожної системи (WP03 і WP35) була отримана траєкторія моделювання 200 нс (траєкторія 1).

Таблиця Д2. Протокол моделювання систем ДНК з молекулами пероксиду водню. k – коефіцієнт утримання (ккал/моль $\text{\AA}^2$); r – приріст температури для врівноваження (К/крок); T – температура (К).

Крок	Процедура	ДНК	H ₂ O ₂	H ₂ O ₂	Na ⁺	Step (фс)	Кількість кроків
1	Мінімізація	Фіксовано	Фіксовано	Фіксовано О	Фіксовано	-	2000
2	Мінімізація	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Фіксовано	-	2000
3	Нагрів: T=300 К	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Фіксовано	1	15000 (r=0,02)
4	Врівноваження: NPT ансамбль	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Фіксовано	1	100000
5	Нагрів: T=300 К	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Обмежений k=5	1	15000 (r=0,02)
6	Врівноваження: NPT ансамбль	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Обмежений k=5	1	100000
7	Врівноваження: NPT ансамбль	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Вільний	1	100000
8	Мінімізація	Фіксовано	Вільний	Вільний	Вільний	-	2000
9	Нагрів: T=300 К	Фіксовано	Обмежений k=5	Вільний	Вільний	1	30000 (r=0,02)
10	Врівноваження: NPT ансамбль	Фіксовано	Обмежений k=5	Вільний	Вільний	1	100000
11	Врівноваження: NPT ансамбль	Фіксовано	Вільний	Вільний	Вільний	1	100000
12	Мінімізація	Фіксовано	Вільний	Вільний	Вільний	-	2000
13	Нагрів: T=300 К	Обмежений k=5	Вільний	Вільний	Вільний	1	30000 (r=0,02)
14	Врівноваження: NPT ансамбль	Обмежений k=5	Вільний	Вільний	Вільний	1	500000
15	Врівноваження: NPT ансамбль	Вільний	Вільний	Вільний	Вільний	1	500000
16	Врівноваження: NVT ансамбль	Вільний	Вільний	Вільний	Вільний	2	Траєкт.1: 1*10 ⁸ , Траєкт.2: 1*10 ⁸ , Траєкт.3: 2.5*10 ⁸

Д2. Аналіз збіжності траєкторій моделювання

Д2.1. Аналіз середньоквадратичних відхилень (RMSD). Для перевірки збіжності змодельованих траєкторій було розраховано RMSD атомів ДНК. Формула для розрахунку RMSD може бути записана у вигляді:

$$RMSD(t) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N [\vec{r}_n(t) - \vec{r}_n(0)]^2}, \quad (Д1)$$

де $\vec{r}_n(t)$ – положення атома n в момент часу t ; N – кількість атомів у обраній молекулярній підсистемі. У цій роботі розраховано RMSD для всіх виділених атомів ДНК (Рис. Д1). Аналіз отриманих траєкторій моделювання проведено за допомогою програмного комплексу VMD [3].

Розраховані RMSD показали, що в структурі ДНК подвійна спіраль стабільна вздовж усіх траєкторій моделювання. Середньоквадратичні відхилення досягають плато під час моделювання в NPT ансамблі, а в NVT ансамблі RMSD коливаються відносно середніх значень. Середні значення RMSD для випадку кожної траєкторії моделювання кожної системи показано на Рис. Д1. Порівняння RMSD, отриманих для тієї ж системи (DNA35), але для різних траєкторій моделювання, показало, що характер залежності RMSD від часу однаковий (Рис. Д1в). Зокрема, збільшення довжини траєкторії до 500 нс (траєкторія 3) не змінює характер залежності RMSD від часу (Рис. Д1в, траєкторія 3). Таким чином, аналіз RMSD показав, що для врівноваження подвійної спіралі ДНК достатньо інтервалу часу 100 нс.

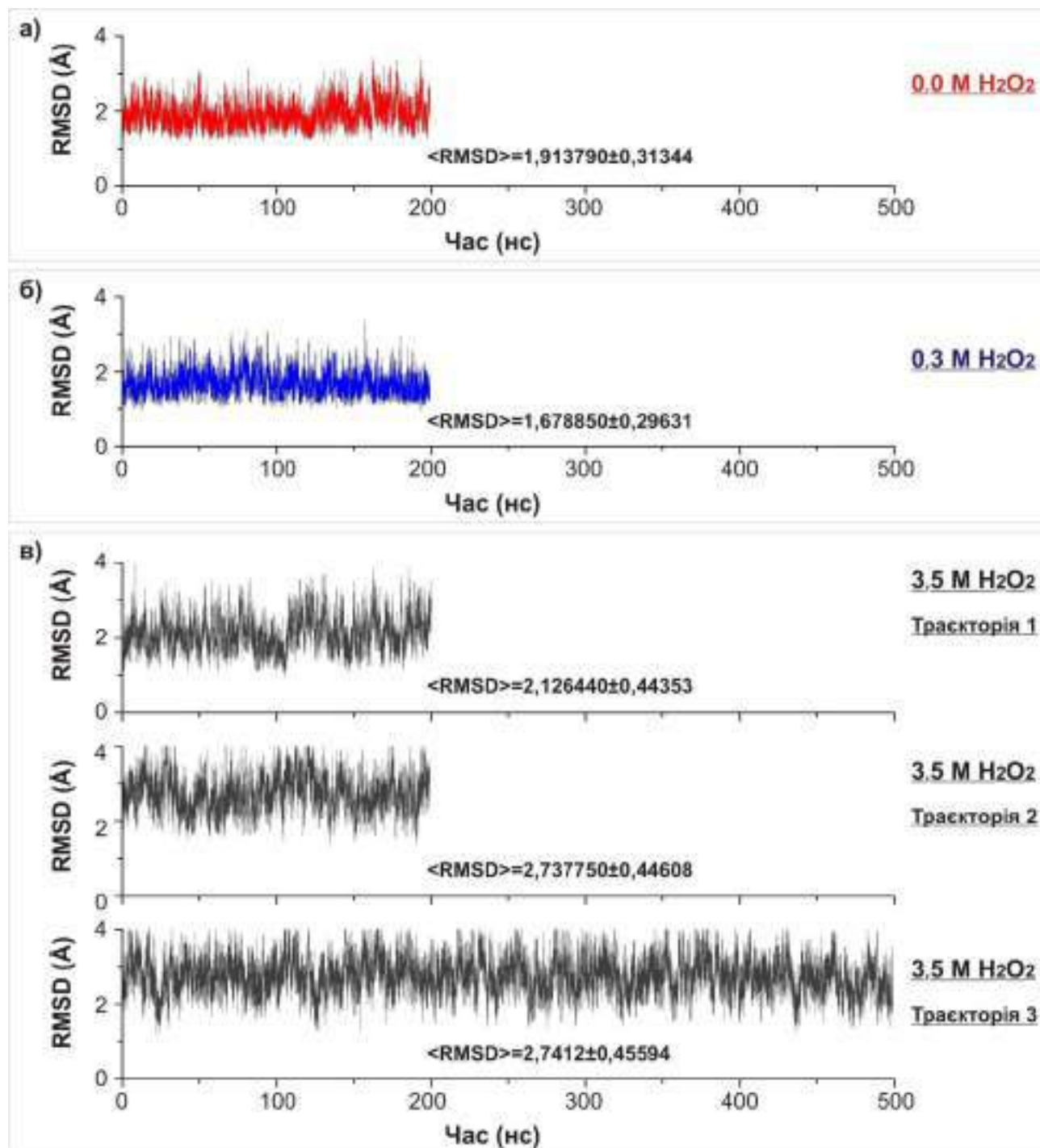


Рис. Д1. Середньоквадратичні відхилення (RMSD) для атомів макромолекули ДНК. а) RMSD для ДНК у розчині без H_2O_2 (система ДНК0). б) RMSD для ДНК в розчині з 0,3 М H_2O_2 (система ДНК03). в) RMSD для ДНК у розчині з 3,5 М H_2O_2 (система ДНК35); показано випадки траєкторії 1 (довжиною 200 нс), траєкторії 2 (довжиною 200 нс) та траєкторії 3 (довжиною 500 нс). Рисунок з роботи дисертанта [74].

Д2.2. Аналіз карт об'ємної густини (VDM). Для якісного аналізу однорідності систем розраховано карти масової густини (карти об'ємної густини, VDM). VDM різних підсистем змодельованих систем (DNA0, DNA03, DNA35, WP03, WP35) побудовано за допомогою плагіна VolMap, який реалізовано в програмному комплексі VMD [3]. Як методичний посібник для побудови VDM використано підручник А. Аксіментьєва та М. Сотомайора [4]. Розрахунки карт густини маси виконано шляхом усереднення за усіма фреймами траєкторії моделювання за інтервал часу 100 нс. Роздільна здатність сітки становила 0,5 Å. В результаті розраховано VDM для інтервалів часу 1-100 нс і 101-200 нс для систем DNA0, DNA03, WP03 і WP35. У випадку системи DNA35 побудовано VDM для інтервалів часу 1-100 нс, 101-200 нс, 201-300 нс, 301-400 нс та 401-500 нс траєкторії 3. Таким чином, були створені карти об'ємної густини окремо для атомів кисню води, атомів кисню пероксиду водню, іонів натрію та атомів ДНК.

Аналіз отриманих карт об'ємної густини виконано для різних зрізів, ортогональних до осі XYZ блоку моделювання. Візуальне дослідження VDM компонентів розчину та ДНК проводили безперервно в кожному напрямку. Оскільки подвійна спіраль ДНК у наших моделюючих системах є нескінченною, найбільш репрезентативними є зрізи ортогонально осі Z (спірально вісь ДНК). Тому як приклади для кожної системи моделювання показано зрізи VDM, ортогональні до подвійної спіралі ДНК і що проходять через середину комірки моделювання (Рис. Д2, Д3, Д4, Д5, Д6). Шкали кольорів для VDM були створені плагіном [5] програми VMD [3]. Побудована шкала показує густину ρ в одиницях а.о.м./Å³, що може бути перераховано в молярну концентрацію (моль/л) за формулою: $\rho_{molar} = \frac{\rho}{MN_A} 10^{27}$, де N_A - число Авогадро і M – маса елемента в атомних одиницях маси, густина якого описується зокрема VDM.

Результати аналізу показали, що у випадку систем з ДНК (DNA35, DNA03, DNA0) підсистеми води, пероксиду водню та протийонів не є однорідними (Рис. Д2, Д3, Д4). Густина підсистем розчину регулюється макромолекулою ДНК, що присутня в блоку моделювання. Протийони конденсуються на ДНК,

що спостерігається за збільшенням значень густини біля ДНК. Густина пероксиду водню також трохи вище в області навколо подвійної спіралі. На більших відстанях від ДНК схема забарвлення наближається до систем без ДНК (Рис. Д5, Д6). Густина води, пероксиду водню та протийонів у випадку систем DNA35, DNA03 та DNA0 відтворюється після перших 100 нс траєкторії моделювання. Проте забарвлення карти об'ємної масової густини завжди є більш рівномірним у випадку системи з меншою концентрацією H_2O_2 .

У випадку систем без ДНК карти масової густини характеризуються рівномірним розподілом молекул води в комірці моделювання, починаючи з першого інтервалу часу 1-100 нс (Рис. Д5, Д6). У випадку системи WP03 з низькою концентрацією пероксиду водню (Рис. Д6) VDM води характеризується рівномірно синім кольором. Щільність молекул води в цьому випадку становить близько $0,4 \text{ а.о.м./\AA}^3$, що трохи нижче стандартного значення густини води $0,4 \text{ а.о.м./\AA}^3$ [4] через наявність пероксиду водню та іонів у комірці моделювання. У випадку системи WP35 з високою концентрацією пероксиду водню (рис. Д5) карта об'ємної масової густини води не є такою однорідною, як у випадку системи WP03. VDM для протийонів і пероксиду водню якісно не змінюється з часом (рис. Д5, Д6).

Таким чином, порівняння отриманих карт об'ємної густини показало, що велика кількість молекул пероксиду водню в комірці моделювання перешкоджає врівноваженню системи, а зі збільшенням концентрації пероксиду водню час врівноваженню необхідно збільшувати. Макромолекула ДНК, присутня в комірці моделювання, додатково ускладнює змішування пероксиду водню з водою. Проте через 100 нс відбувається змішування компонентів розчину, і системи стають однорідними. Тому в даній роботі інтервал часу 100 нс вважається достатнім для досягнення достатньої рівноваги систем.

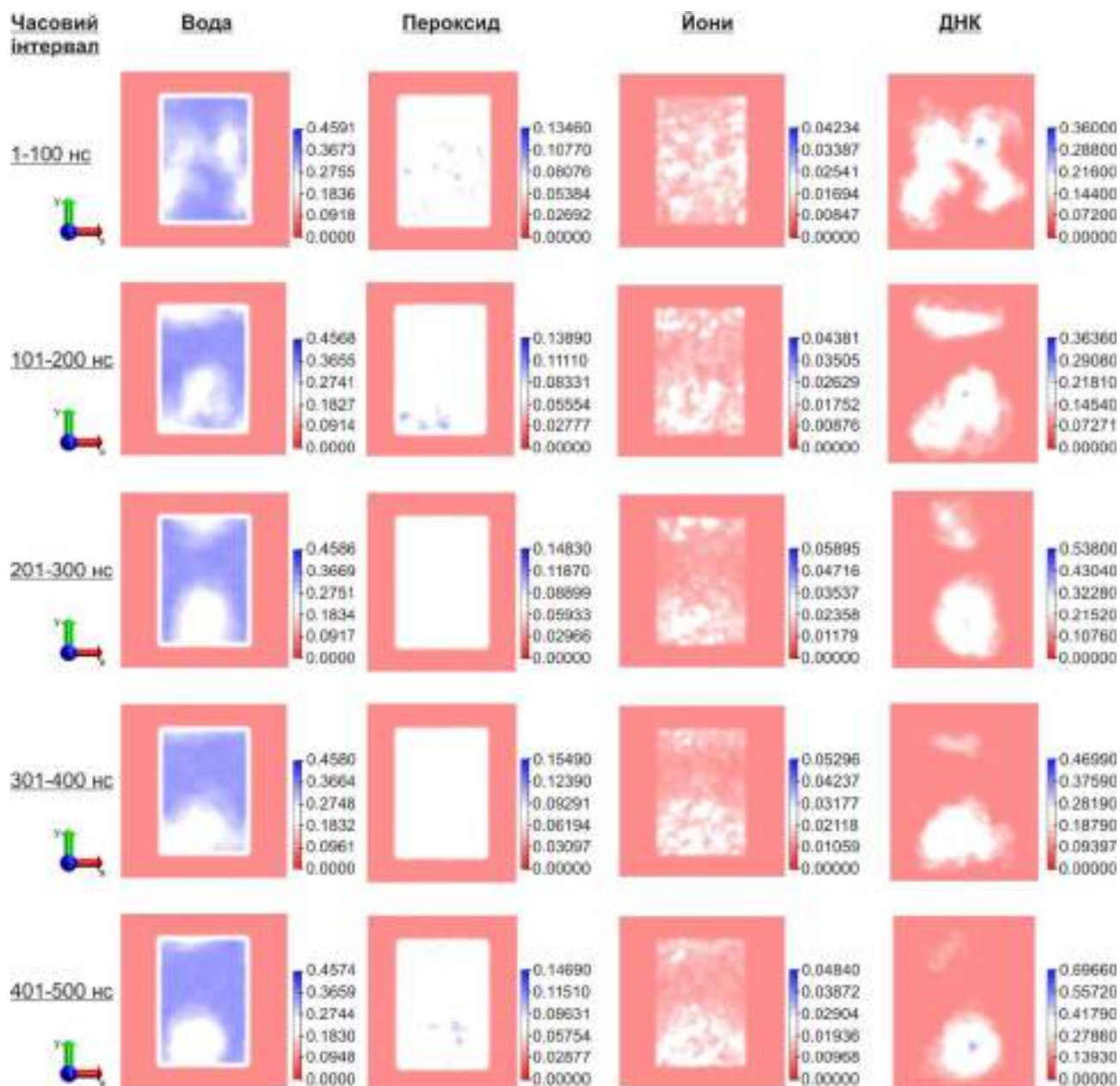


Рис. Д2. Карті об'ємної густини для системи ДНК з пероксидом водню з концентрацією 3,5М (система DNA35). Зрізи ортогональні до подвійної спіралі ДНК і проходять через середину комірки моделювання. Карті були отримані шляхом усереднення за 100 наносекунд траєкторії моделювання: від 1 нс до 100 нс, 101 нс до 200 нс, 201 нс до 300 нс, від 301 нс до 400 нс, 401 нс до 500 нс. Шкала кольорів описує густину в одиницях а.о.м./Å³. Рисунок з роботи дисертанта [74].

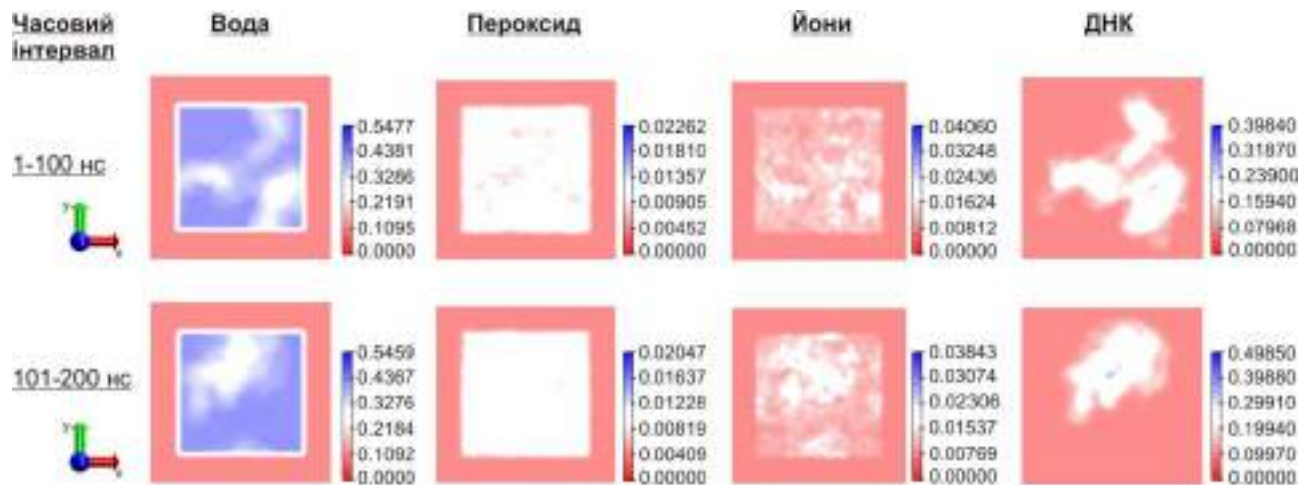


Рис. Д3. Карти об'ємної густини для системи ДНК з пероксидом водню з концентрацією 0,3М (система DNA03). Зрізи ортогональні до подвійної спіралі ДНК і проходять через середину комірки моделювання. Карти були отримані шляхом усереднення за десять наносекунд траєкторії моделювання: від 1 нс до 100 нс, 101 нс до 200 нс. Шкала кольорів описує густину в одиницях а.о.м./Å³.

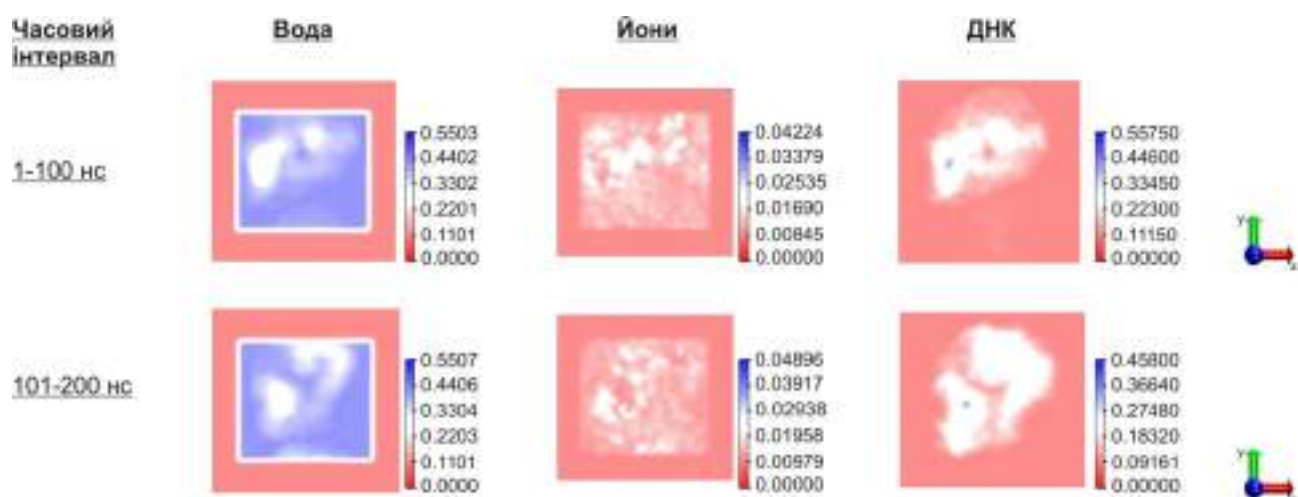


Рис. Д4. Карти об'ємної густини для системи ДНК без пероксиду водню (система DNA0), отриманих усередненням за десять наносекунд траєкторії моделювання: від 1 до 100 нс і від 101 нс до 200 нс. Зрізи ортогональні до подвійної спіралі ДНК і проходять через середину комірки моделювання. Поверхні проходять через центр комірки. Шкала кольорів описує густину в одиницях а.о.м./Å³. Рисунок з роботи дисертанта [74].

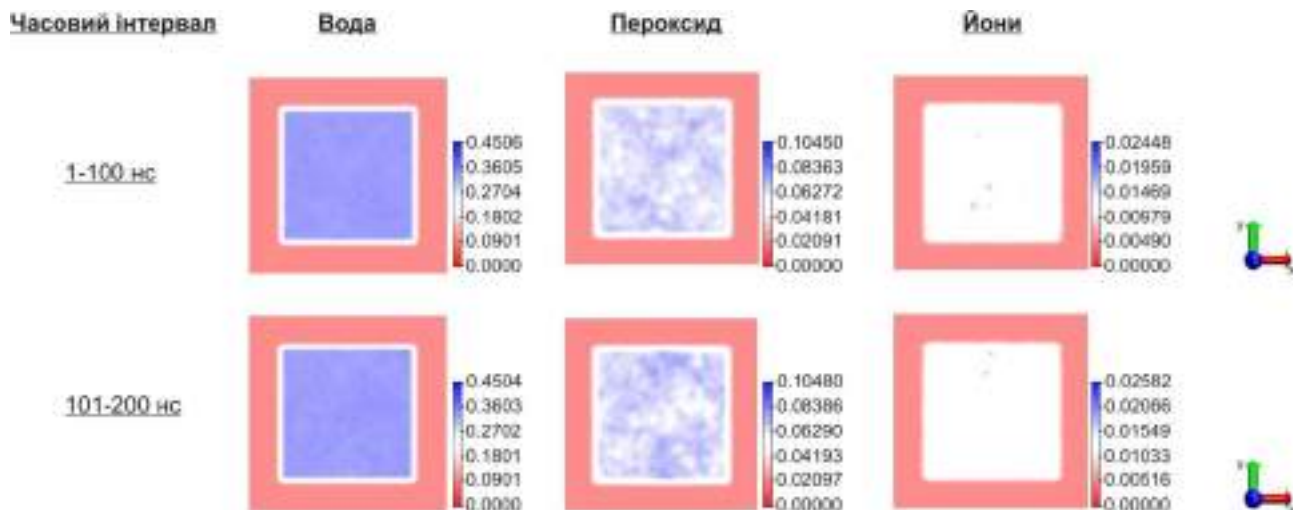


Рис. Д5. Карті об'ємної густини для водного розчину з NaCl і пероксидом водню з концентрацією 3,5М (система WP35), отримані усередненням за десять наносекунд траєкторії моделювання: від 1 до 100 нс та від 101 нс до 200 нс. Зрізи проходять через середину комірки моделювання. Шкала кольорів описує густину в одиницях а.о.м./Å³. Рисунок з роботи дисертанта [74].

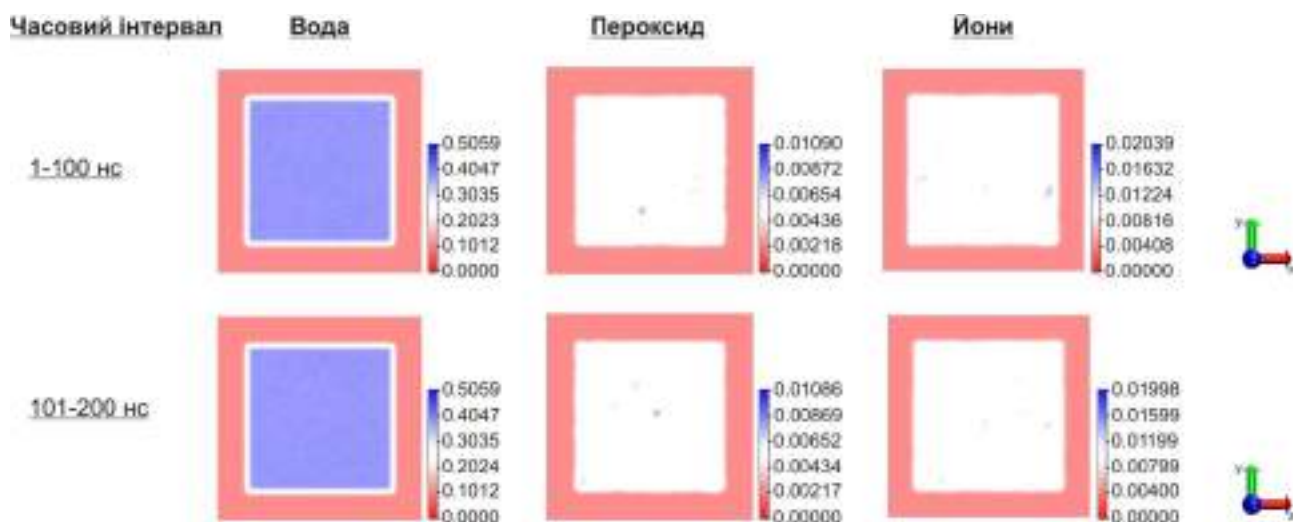


Рис. Д6. Карті об'ємної густини для водного розчину з NaCl та пероксидом водню з концентрацією 0,3М (система WP03), отримані усередненням за десять наносекунд траєкторії моделювання: від 1 до 100 нс та від 101 нс до 200 нс. Зрізи проходять через середину комірки моделювання. Шкала кольорів описує густину в одиницях а.о.м./Å³. Рисунок з роботи дисертанта [74].

Д3. Радіальні функції розподілу систем DNA35, DNA03 і DNA0

Радіальні функції розподілу розраховувалися за допомогою плагіна [6], реалізованого у VMD [3]. Нагадаємо формулу для розрахунку радіальних функцій розподілу $g(r)$:

$$g(r) = \lim_{\Delta r \rightarrow 0} \frac{p(r)}{4\pi r^2 \Delta r N_p / V}, \quad (\text{Д2})$$

де $p(r)$ – середня кількість пар атомів, знайдених на відстані в межах $(r, r + \Delta r)$, N_p – кількість пар вибраних атомів, для яких будуються функції радіального розподілу, V – загальний об'єм системи, Δr – товщина зрізу сфери, яку в наших розрахунках прийняли рівною 0,1 Å. Кількість частинок у зрізі сфери між відстанями r_1 і r_2 визначається прямим інтегруванням функції $g(r)$:

$$n_{12} = \int_{r_1}^{r_2} \rho r^2 g(r) dr, \quad (\text{Д3})$$

$\rho = N_p / V$ – густина атомних пар у системі. Розраховані радіальні функції розподілу компонентів розчину (H_2O , H_2O_2 , Na^+) відносно атомів кисню O_1 і O_2 фосфатних груп подвійної спіралі ДНК для інтервалів часу 100 нс у випадку кожної траєкторії моделювання кожної змодельованої системи (DNA35, DNA03 та DNA0).

Д3.1. Радіальні функції розподілу для системи DNA35. Радіальні функції розподілу у випадку системи DNA35 для атомів кисню молекул H_2O_2 та H_2O та протиіонів Na^+ показано на рисунках Д7, Д8 та Д9 відповідно.

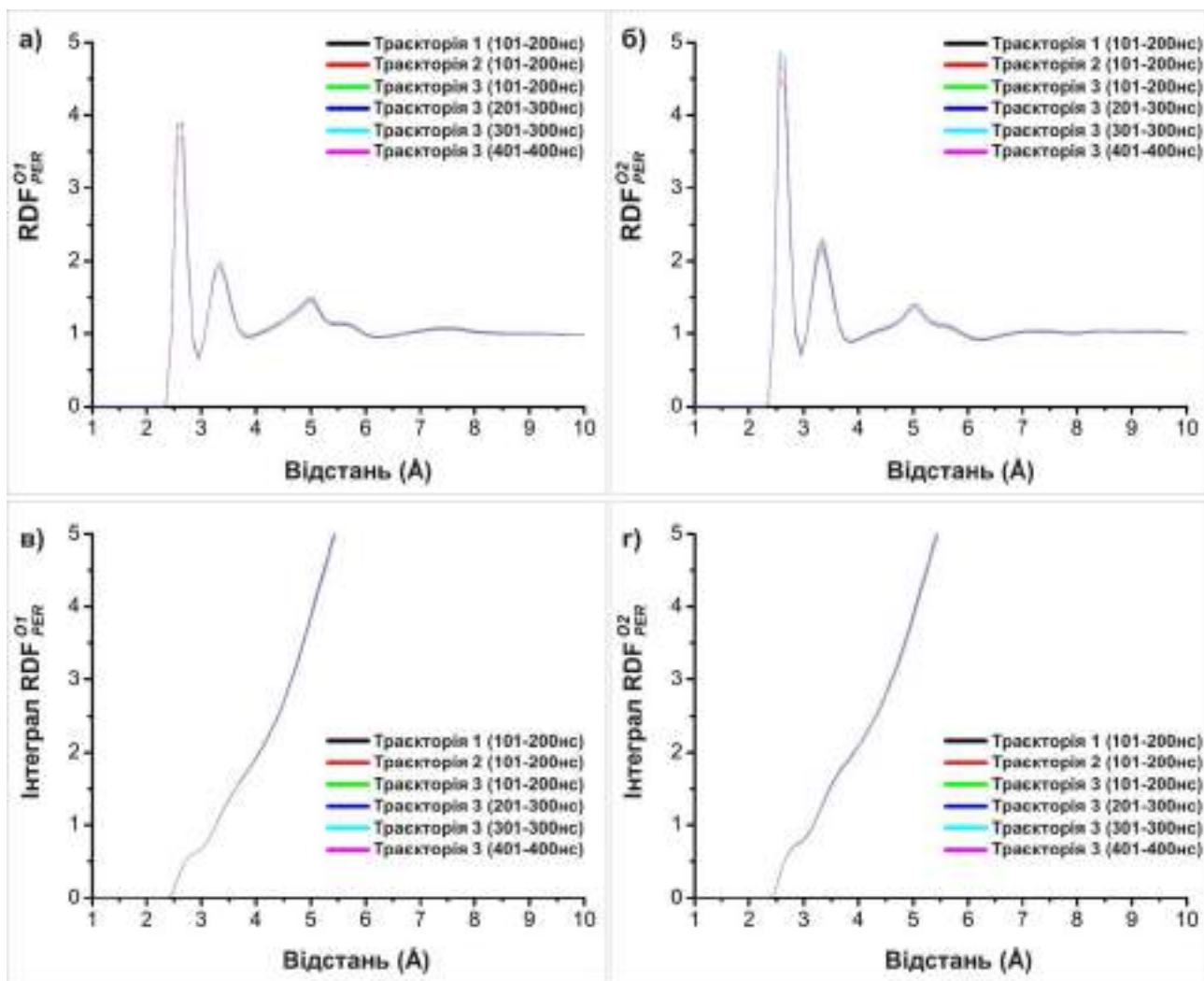


Рис. Д7. Радіальні функції розподілу та їхні інтеграли для атомів кисню молекул пероксиду водню відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп подвійної спіралі для різних траєкторій системи DNA35 (3,5 М H_2O_2). а) RDF для атомів кисню молекул пероксиду водню відносно атомів кисню O_1 фосфатних груп ДНК ($RDF_{PER}^{O_1}$). б) RDF для атомів кисню молекул пероксиду водню відносно атомів кисню O_2 фосфатних груп ДНК ($RDF_{PER}^{O_2}$). в) Інтеграли RDF для атомів кисню молекул пероксиду водню відносно атомів кисню O_1 фосфатних груп ДНК. г) Інтеграли RDF для атомів кисню молекул пероксиду водню відносно атомів кисню O_2 фосфатних груп ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [74].

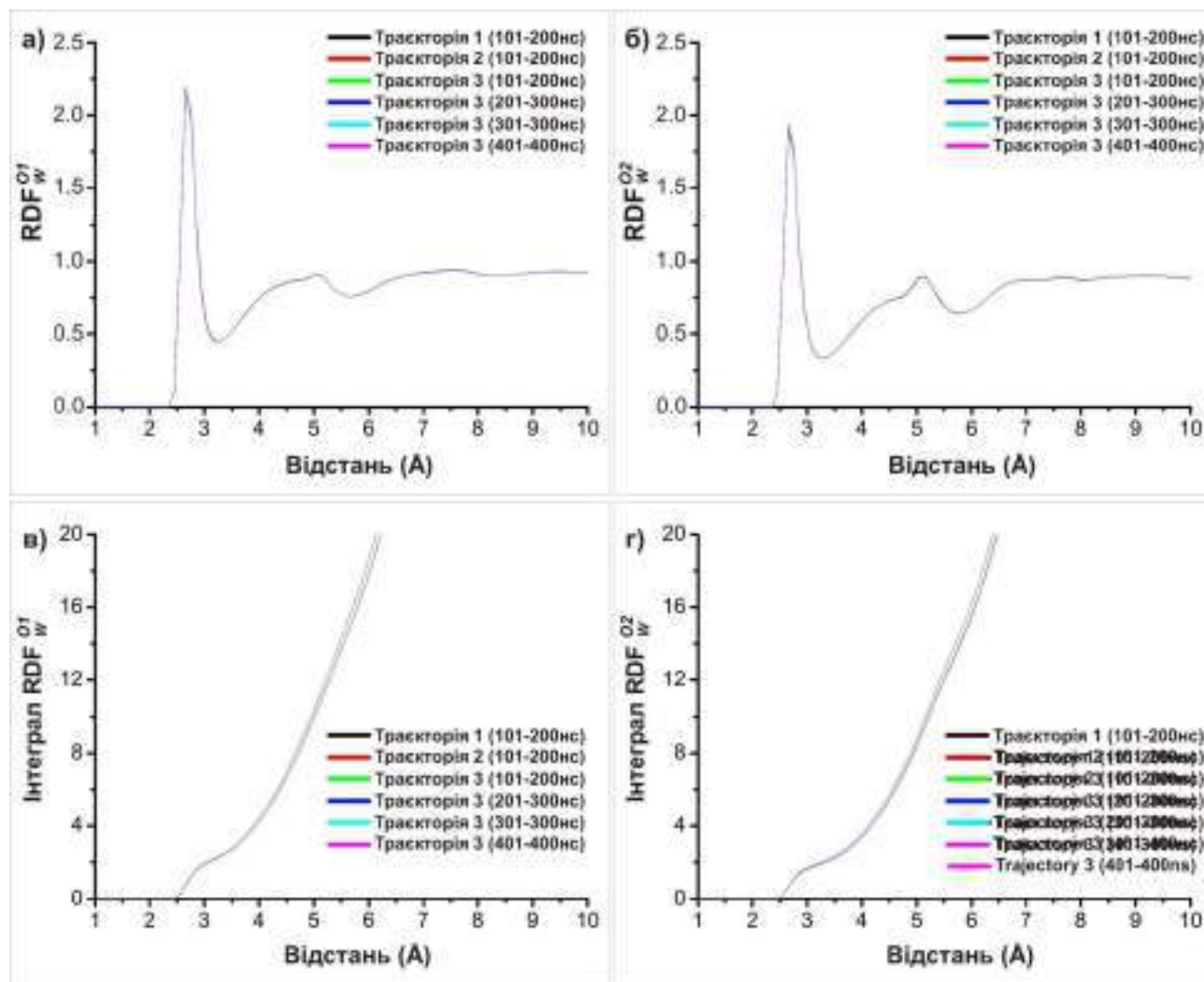


Рис. Д8. Радіальні функції розподілу та їхні інтеграли для атомів кисню молекул води відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп подвійної спіралі для різних траєкторій системи DNA35 (3,5 М H_2O_2). а) RDF для атомів кисню молекул води відносно атомів кисню O_1 фосфатних груп ДНК ($RDF_W^{O_1}$). б) RDF для атомів кисню молекул води відносно атомів кисню O_2 фосфатних груп ДНК ($RDF_W^{O_2}$). в) Інтеграли RDF для атомів кисню молекул води відносно атомів кисню O_1 фосфатних груп ДНК. г) Інтеграли RDF для атомів кисню молекул води відносно атомів кисню O_2 фосфатних груп ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [74].

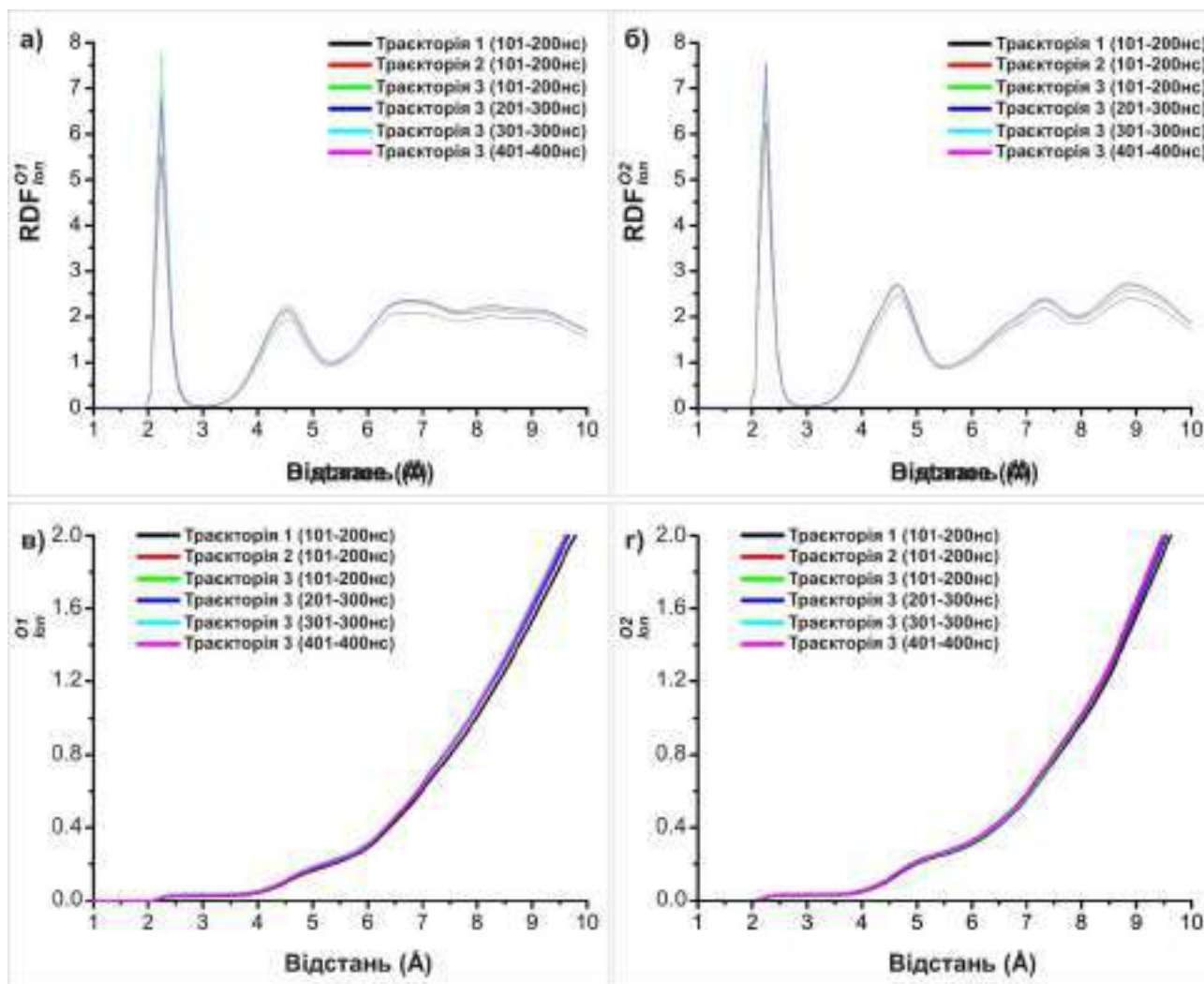


Рис. Д9. Радіальні функції розподілу та їхні інтеграли для протиіонів Na^+ відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп подвійної спіралі для різних траєкторій системи DNA35 (3,5 М H_2O_2). а) RDF для протиіонів Na^+ відносно атомів кисню O^1 фосфатних груп ДНК ($\text{RDF}_{\text{IonO}1}$). б) RDF для протиіонів Na^+ відносно атомів кисню O^2 фосфатних груп ДНК ($\text{RDF}_{\text{IonO}2}$). в) Інтеграли RDF для протиіонів Na^+ відносно атомів кисню O_1 фосфатних груп ДНК. г) Інтеграли RDF для протиіонів Na^+ відносно атомів кисню O_2 фосфатних груп ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [74].

Аналіз отриманих радіальних функцій розподілу показав, що у випадку RDF для атомів кисню пероксиду водню та молекул води ($\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}1}$, $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O}2}$, $\text{RDF}_{\text{W}}^{\text{O}1}$, $\text{RDF}_{\text{W}}^{\text{O}2}$) різниця між різними лініями на графіку майже непомітна. У випадку RDF для протиіонів Na^+ ($\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O}1}$, $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O}2}$) різниця між різними лініями не є істотною. Таким чином, поведінка RDF, розрахована для різних інтервалів часу різних траєкторій, підтверджує збіжність траєкторії моделювання.

Д3.2. Радіальні функції розподілу для системи DNA03. Радіальні функції розподілу у випадку системи DNA03 для атомів кисню молекул H_2O та RDF для протиіонів Na^+ показано на рисунку Д1, Д10.

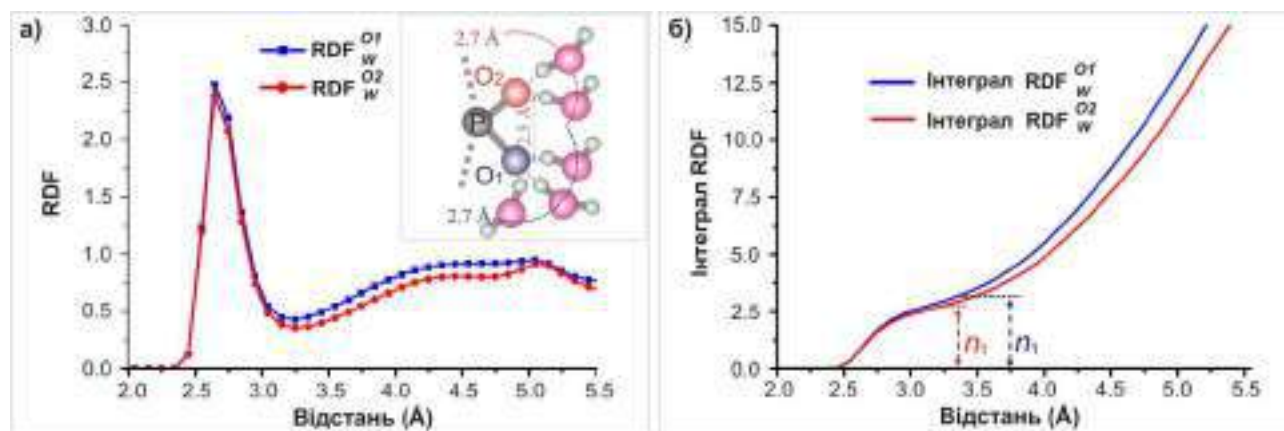


Рис. Д10. RDF та їхні інтеграли для атомів кисню молекул води відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп подвійної спіралі для системи DNA03 (0,3 М H_2O_2). а) RDF для атомів кисню молекул води відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп ДНК ($RDF_{W^{O1}}$, $RDF_{W^{O2}}$). б) Інтеграли RDF для атомів кисню молекул води відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [74].

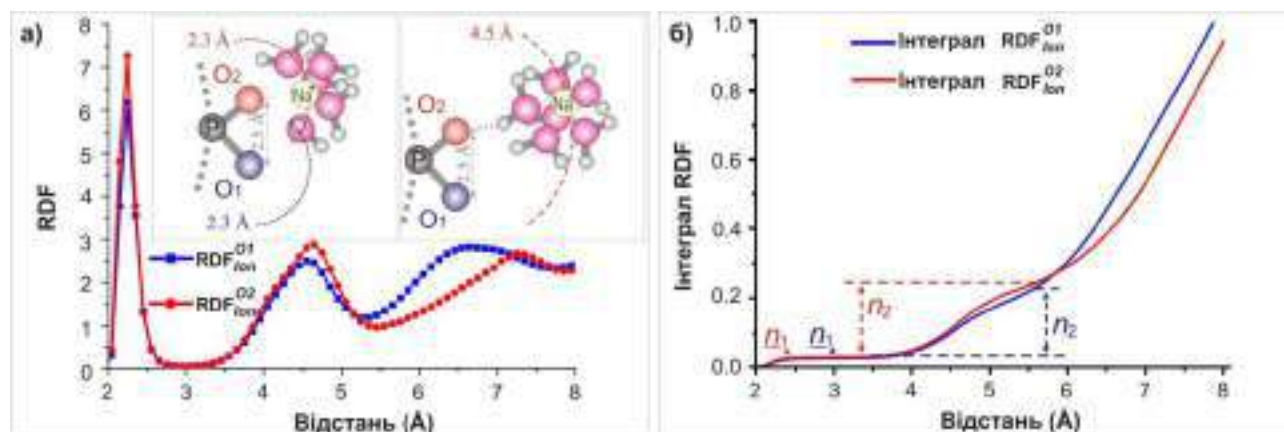


Рис. Д11. RDF та їхні інтеграли для протиіонів Na^+ відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп подвійної спіралі для системи DNA03 (0,3 М H_2O_2). а) RDF протийонів Na^+ відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп ДНК ($RDF_{Ion^{O1}}$, $RDF_{Ion^{O2}}$). б) Інтеграли протийонів Na^+ RDFs відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [74].

Д3.3. Радіальні функції розподілу для системи DNA0. Радіальні функції розподілу для атомів кисню молекул води у випадку системи DNA0 показано на Рис. Д13а. RDF для протионів Na^+ показані на малюнку Д13б. Характер отриманих RDF такий самий, як і у випадку RDF для систем DNA35 та ДНК03. Спостерігається збільшення значень інтегралів RDF для атомів кисню молекул H_2O , що пов'язано з відсутністю молекул пероксиду водню в системі DNA0.

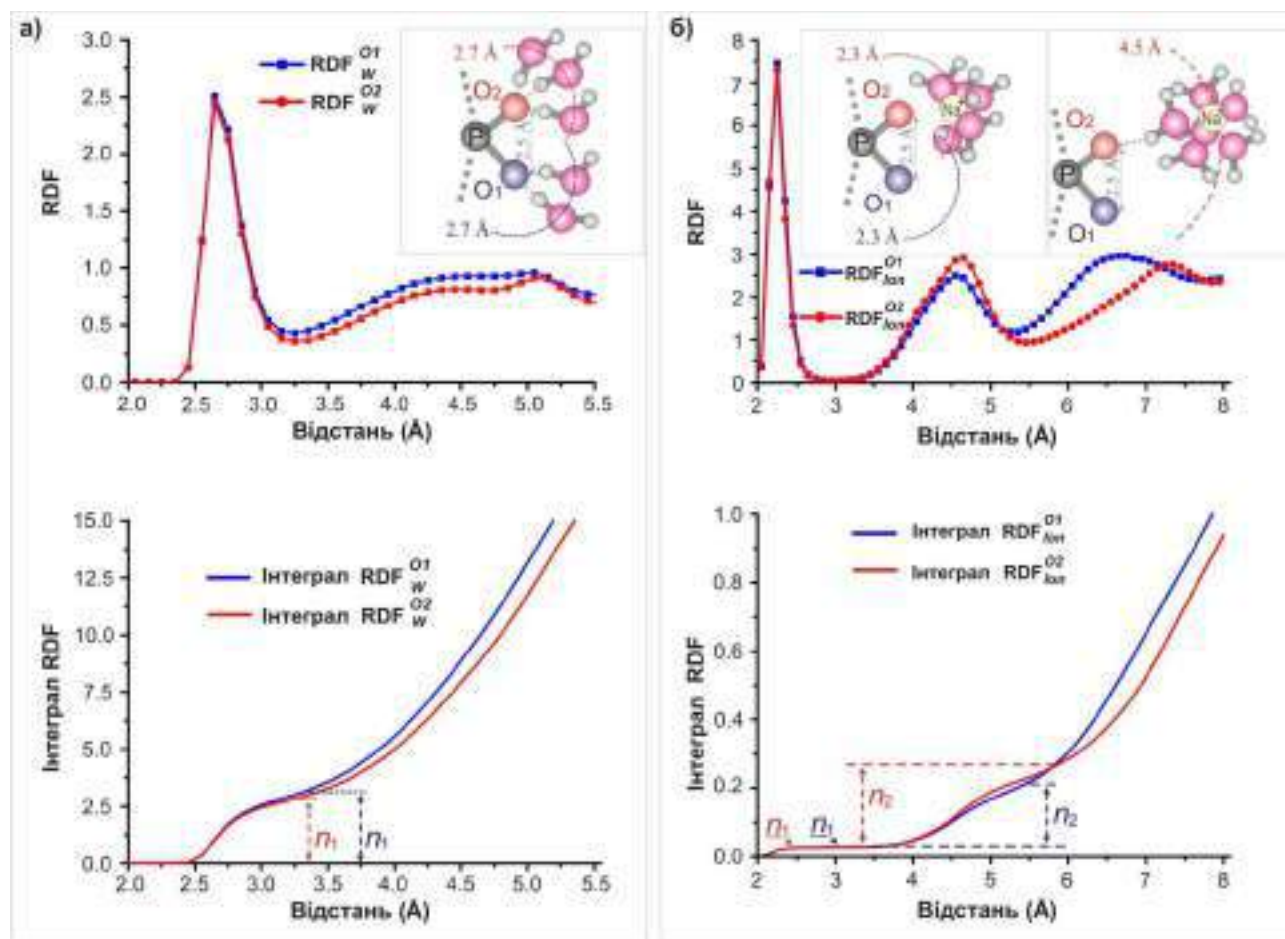


Рис. Д12. Радіальні функції розподілу та їхні інтеграли для атомів кисню молекул води та протионів Na^+ відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп подвійної спіралі для різних траєкторій системи DNA0 (0 М H_2O_2). а) Радіальні функції розподілу атомів кисню молекул води відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп ДНК ($\text{RDF}_w^{\text{O}_1}$ та $\text{RDF}_w^{\text{O}_2}$) угорі та їхні інтеграли унизу. б) Радіальні функції розподілу протионів Na^+ відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп ДНК ($\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O}_1}$ та $\text{RDF}_{\text{Ion}}^{\text{O}_2}$) угорі та їхні інтеграли знизу. Рисунок з роботи дисертанта [74].

Д4. Радіальні функції розподілу для аналізу комплексів H_2O_2 з PO_4^- остова подвійної спіралі ДНК

Аналіз розподілу молекул пероксиду водню навколо фосфатних груп проведено за допомогою радіальних функцій розподілу, де розглянуто особливі умови накладені на положення атомів. При побудові $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1-O2}}$ і $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2-O1}}$ були використані наступні умови: враховуються лише ті атоми кисню, які в структурі молекули H_2O_2 мають один з атомів кисню в межах 3 Å нереферентного атома групи PO_4^- . Радіальна функція розподілу $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1-O2}}$ була побудована відносно атома O_1 групи PO_4^- (референтний атом) лише для тих атомів кисню, які належать до молекул H_2O_2 , які мають один із двох атомів кисню, локалізованих в межах 3 Å від атома O_2 фосфатної групи (нереферентний атом). Радіальна функція розподілу $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2-O1}}$ була побудована відносно атома O_2 групи PO_4^- (референтного атома) лише для тих атомів кисню, які належать до молекул H_2O_2 , які мають один із двох атомів кисню, локалізованих в межах 3 Å від атома O_1 фосфатної групи (нереферентний атом). Отримані RDF такого типу для системи DNA35 показані на Рис. Д13, а для системної DNA03 – на Рис. Д14.

При побудові $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1-NaO2}}$ і $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2-NaO1}}$ були використані наступні умови для атомів: враховуються лише ті атоми кисню, які входять до складу молекул H_2O_2 , що мають один з атомів кисню, локалізований в межах 3 Å від протийону Na^+ , який зв'язаний з нереферентним атомом групи PO_4^- остова ДНК. Протийон береться до уваги, якщо він знаходиться в межах 3 Å від атома кисню фосфатної групи. Таким чином, було розраховано дві радіальні функції розподілу такого роду $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1-NaO2}}$ і $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2-NaO1}}$. Радіальна функція розподілу $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O1-NaO2}}$ була побудована відносно атома O_1 фосфатної групи (еталонного атома) лише для тих атомів кисню в молекулах H_2O_2 , які мають один з двох атомів кисню, локалізованих в межах 3 Å від іона Na^+ , який приєднаний до нереферентного атома O_2 групи PO_4^- . Радіальна функція розподілу $\text{RDF}_{\text{PER}}^{\text{O2-NaO1}}$ була побудована відносно атома O_2 фосфатної групи (референтного атома) лише для тих атомів кисню в молекулах H_2O_2 , які мають один із двох атомів кисню, лока-

лізованих в межах 3 Å від іона Na^+ , який приєднаний до неререферентного атома O_1 групи PO_4^- . Отримані RDF такого типу для системи DNA35 показані на рисунку Д15, а для системи DNA03 – на рисунку Д16.

При розрахунках радіальних функцій розподілу з накладеними умовами об'єм локалізації виділених частинок значно менший за об'єм системи (V), що пов'язано з накладеними обмеженнями. В результаті нормалізація радіальної функції розподілу ($4\pi r^2 \Delta r N_p / V$), яка присутня у формулі (Д2), повинна відрізнятися від нормування у випадку радіального розподілу, розрахованого для всієї системи без будь-яких умов для положень вибраних атомів. Тому при аналізі комплексоутворення також були враховані радіальні функції розподілу без нормування. Ненормована функція радіального розподілу описує кількість частинок на відстані r у сферичному зрізі товщиною Δr (функція $p(r)$ у формулі (Д3)). Отримані ненормовані функції радіального розподілу із сформульованими вище умовами для системи DNA35 показані на рисунках Д13г, Д13д, Д14г, Д14д, а для системи DNA03 – на рисунку Д15б, Д16б.

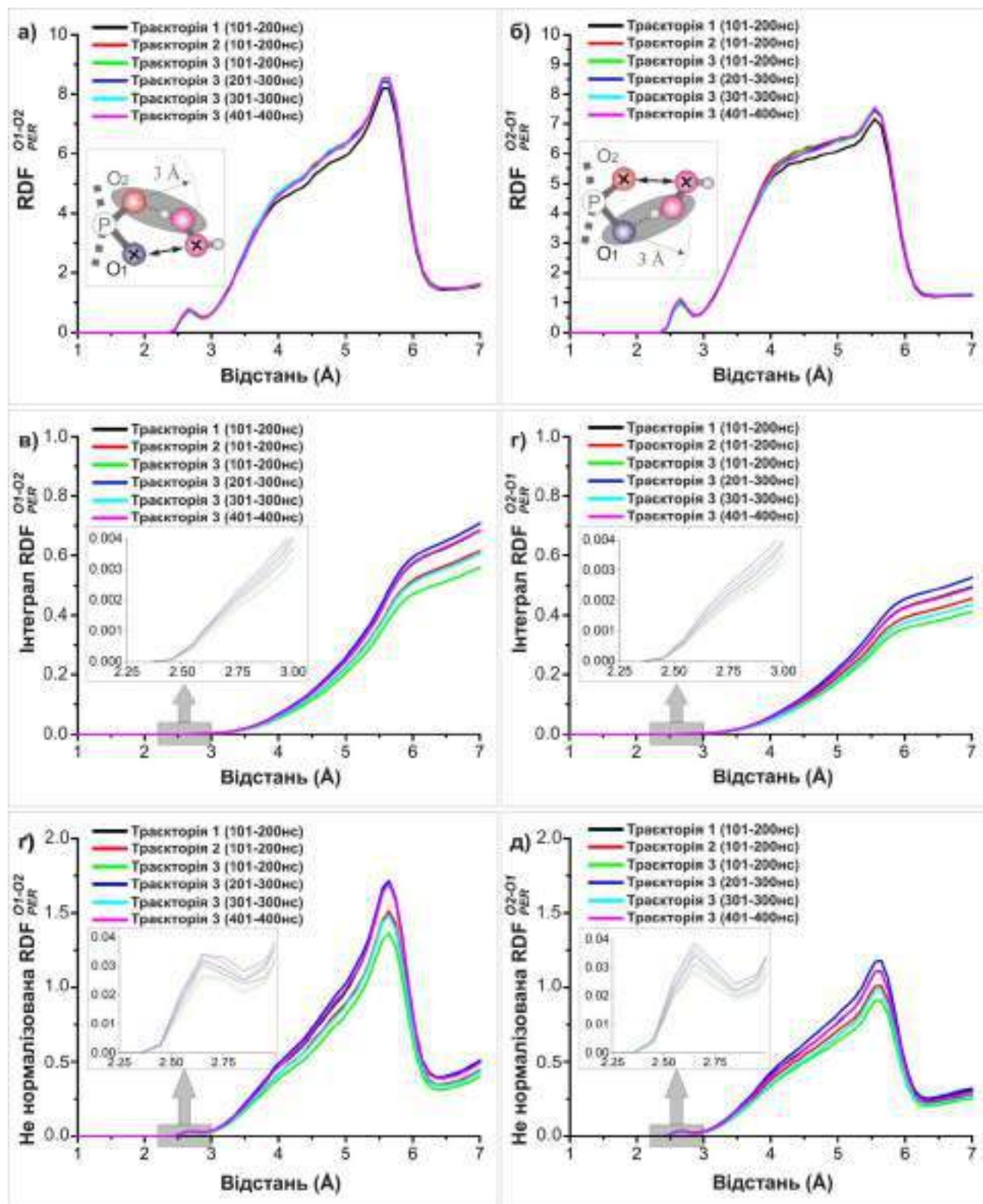


Рис. Д13. RDF атомів кисню молекул пероксиду водню відносно атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп подвійної спіралі для різних траєкторій системи DNA35 (3,5 М H_2O_2). Схеми, що описують накладені умови, використані при розрахунках RDF (показано на вставках рисунків (а) і (б)). а) RDF^{O1-O2}_{PER} ; б) RDF^{O2-O1}_{PER} ; в) Інтеграли RDF^{O1-O2}_{PER} . г) Інтеграли RDF^{O2-O1}_{PER} . г) Ненормована RDF^{O1-O2}_{PER} . д) Ненормована RDF^{O2-O1}_{PER} . Рисунок з роботи дисертанта [74].

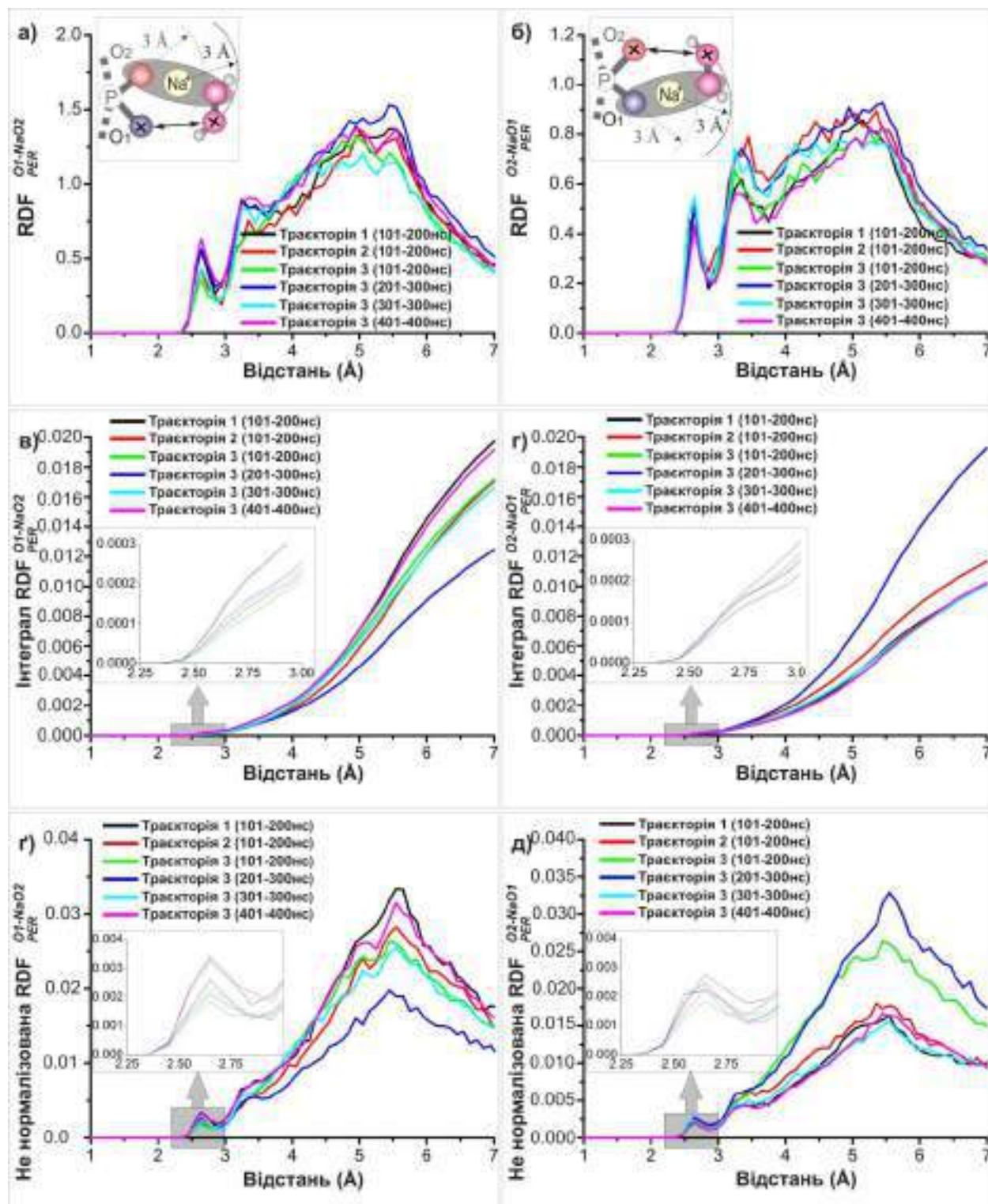


Рис. Д14. Радіальні функції розподілу атомів кисню молекул пероксиду водню та протиіонів відносно атомів кисню O₁ та O₂ фосфатних груп подвійної спіралі для різних траєкторій системи DNA35 (3,5 М Н₂O₂). Схеми, що описують умови, використані при розрахунках RDF, показані на вставках малюнків (а) і (б). а) $RDF^{O1-NaO2}_{PER}$. б) $RDF^{O2-NaO1}_{PER}$. в) Інтеграли $RDF^{O1-NaO2}_{PER}$. г) Інтеграл $RDF^{O2-NaO1}_{PER}$. г) Ненормована $RDF^{O1-NaO2}_{PER}$. д) Ненормована $RDF^{O2-NaO1}_{PER}$. Рисунок з роботи дисертанта [74].

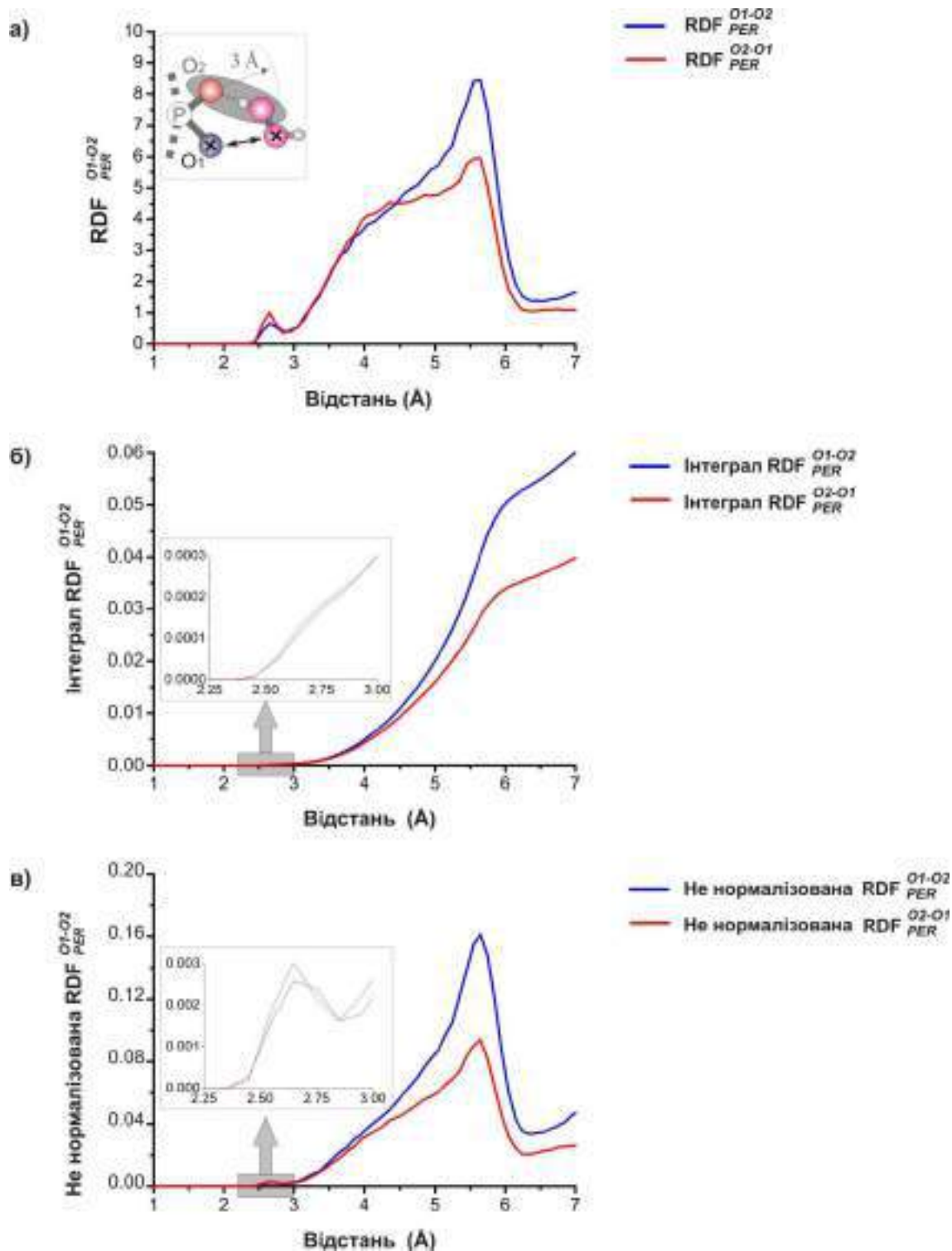


Рис. Д15. Радіальні функції розподілу атомів кисню молекул пероксиду водню по відношенню до атомів кисню O_1 та O_2 фосфатних груп подвійної спіралі для різних траєкторій системи DNA03 (0,3 М H_2O_2). Схеми, що описують умови, використані при розрахунках RDF, показані на вставках малюнків (а) і (б). а) RDF_{O1-O2}^{O1-O2} і RDF_{O2-O1}^{O2-O1} . б) Інтеграли від RDF_{O1-O2}^{O1-O2} і RDF_{O2-O1}^{O2-O1} . в) Ненормовані RDF_{O1-O2}^{O1-O2} і RDF_{O2-O1}^{O2-O1} . Рисунок з роботи дисертанта [74].

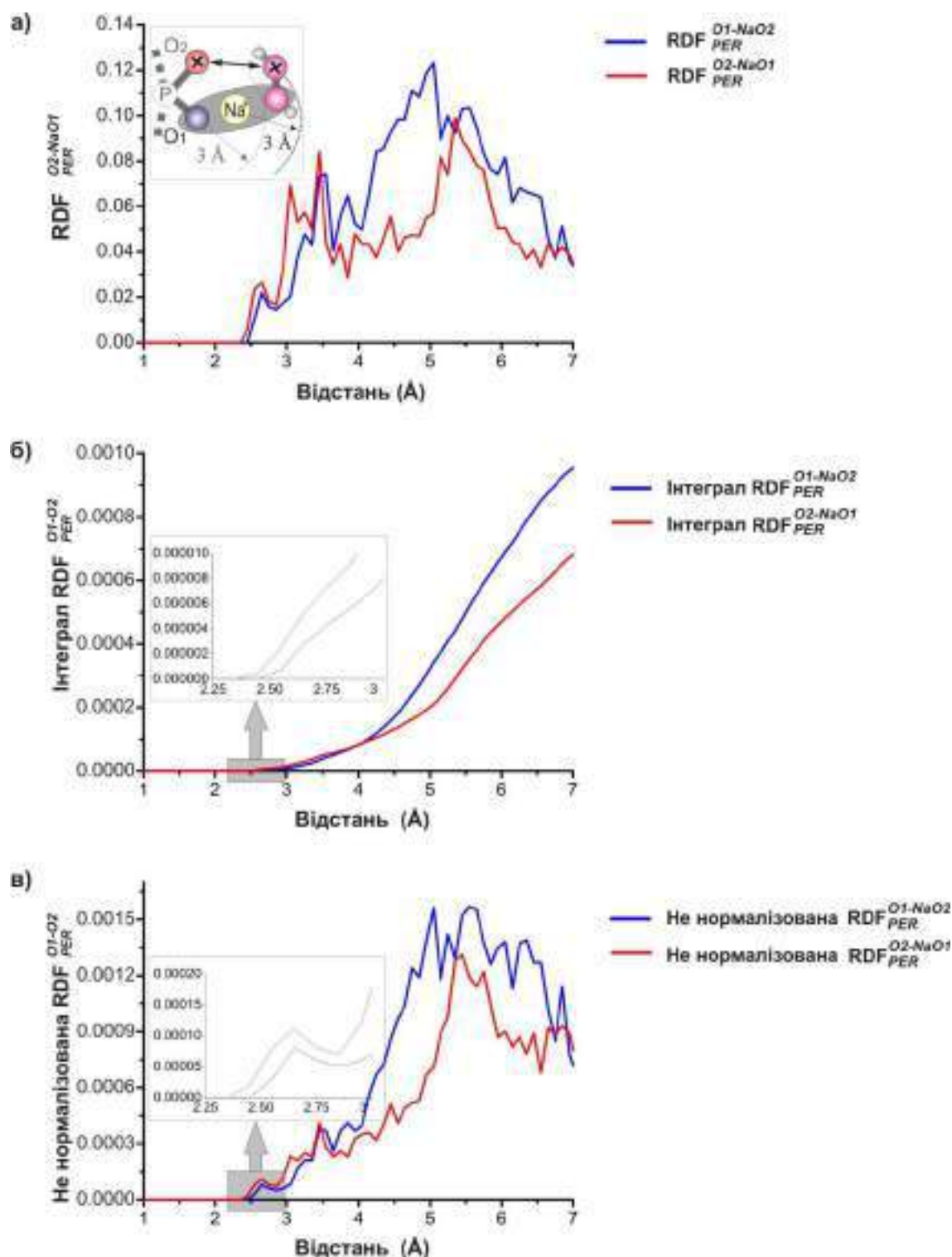


Рис. Д16. Радіальні функції розподілу атомів кисню молекул пероксиду водню та протиіонів відносно атомів кисню O1 та O2 фосфатних груп подвійної спіралі для різних траєкторій системи ДНК03 (0,3 М H_2O_2). Схеми, що описують умови, використані при розрахунках RDF, показані на вставках малюнків (а) і (б). а) $RDF^{O1-NaO2}_{PER}$ і $RDF^{O2-NaO1}_{PER}$ (б) Інтеграли $RDF^{O1-NaO2}_{PER}$ і $RDF^{O2-NaO1}_{PER}$. (в) Ненормовані $RDF^{O1-NaO2}_{PER}$ і $RDF^{O2-NaO1}_{PER}$. Рисунок з роботи дисертанта [74].

Д.5. Посилання на літературу, використану при аналізі даних

- [1]Phillips,J.C., Braun,R., Wang,W., Gumbart,J., Tajkhorshid,E., Villa,E., Chipot,C., Skeel,R.D., Kalé,L. and Schulten,K. (2005) Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of Computational Chemistry*, **26**, 1781–1802.
- [2]Perepelytsya,S., Uličný,J., Laaksonen,A. and Mocci,F. (2019) Pattern preferences of DNA nucleotide motifs by polyamines putrescine²⁺, spermidine³⁺ and spermine⁴⁺. *Nucleic Acids Research*, **47**, 6084–6097.
- [3]Humphrey,W., Dalke,A. and Schulten,K. (1996) VMD: visual molecular dynamics. *J Mol Graph*, **14**, 33–38, 27–28.
- [4]Aksimentiev,A., Sotomayor,M. (2006) Electrostatic maps and ion conduction. <http://bionano.physics.illinois.edu/tutorials/electrostatic-maps-and-ion-conduction>
- [5]Liang,W. Wright,D. Stone,J. Kohlmeyer,A. Color Scale Bar Plugin, Version 1.3. <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/plugins/colourscalebar/>
- [6]Levine,B.G., Stone,J.E. and Kohlmeyer,A. (2011) Fast analysis of molecular dynamics trajectories with graphics processing units—Radial distribution function histogramming. *Journal of Computational Physics*, **230**, 3556–3569.

ДОДАТОК Е

ДЕТАЛІ МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ПОЛІАМІНІВ З ПОДВІЙНОЮ СПІРАЛЛЮ ДНК

Е1. Деталі молекулярно-динамічного дослідження взаємодії поліамінів путресцину²⁺, спермідину³⁺ і сперміну⁴⁺ з нескінченною подвійною спіраллю ДНК

Е1.1. Параметри систем та протокол моделювання. Моделювання було розпочато з мінімізації системи з фіксованими важкими атомами. Потім систему мінімізували з фіксованими атомами ДНК, атомами поліамінів та протийонами. Після мінімізації водний компонент розчинника нагрівали до температури 300 К і врівноважували. Потім систему з фіксованими атомами ДНК і поліамінів, а також з обмеженими іонами нагрівали до температури 300 К, а потім врівноважували (спочатку з обмеженими, а потім вільними іонами). Після цього систему мінімізували з фіксованими атомами ДНК і стриманими атомами поліаміну, потім нагрівали до температури 300 К і врівноважували (спочатку зі стриманими, а потім з вільними атомами). Потім атомам ДНК дозволяли рухатися з деякими обмеженнями і проводили мінімізацію з наступним нагріванням до температури 300 К. Потім систему врівноважували (спочатку зі стриманими, а потім з вільними атомами ДНК). Моделювання на цих етапах проводили при постійному тиску (101,325 кПа). На стадії симуляції системи моделювали за сталого об'єму та сталої температури (NVT ансамбль) протягом 1000 нс.

Таблиця Е1. Параметри змодельованих систем ДНК з поліамінами.

Назва системи	Молекула поліаміну	Кількість молекул поліамінів	Кількість молекул води	Кількість протийонів (Na ⁺)	Розмір комірки (L _x L _y L _z)
Put-DNA	Put ²⁺	4	5485	32	47 56 72
Spd-DNA	Spd ³⁺	3	5481	31	52 51 72
Spm-DNA	Spm ⁴⁺	2	5487	32	53 49 71

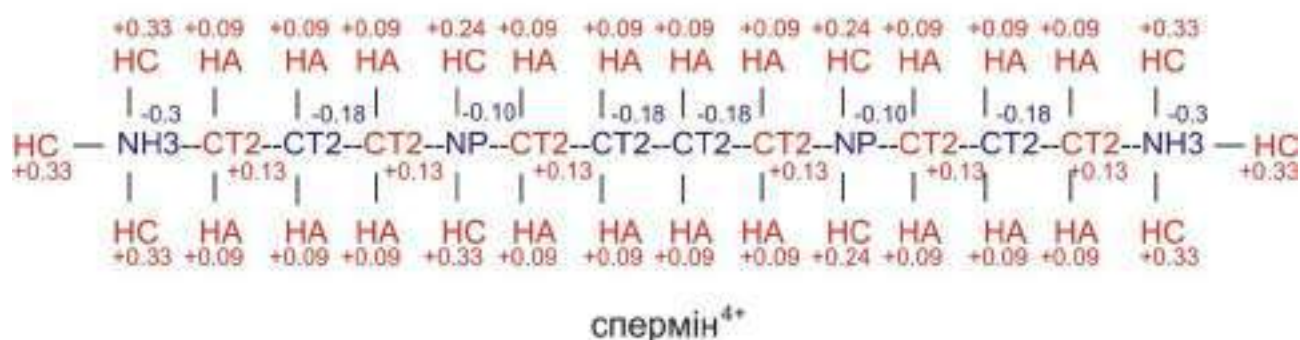


Рис. Е1. Атоми молекул поліамінів відповідно до схеми силового поля CHARMM22. Значення зарядів показано біля атомів. Атоми з позитивним і негативним частковими зарядами позначено червоним і синім кольорами відповідно. Рисунок з роботи дисертанта [75].

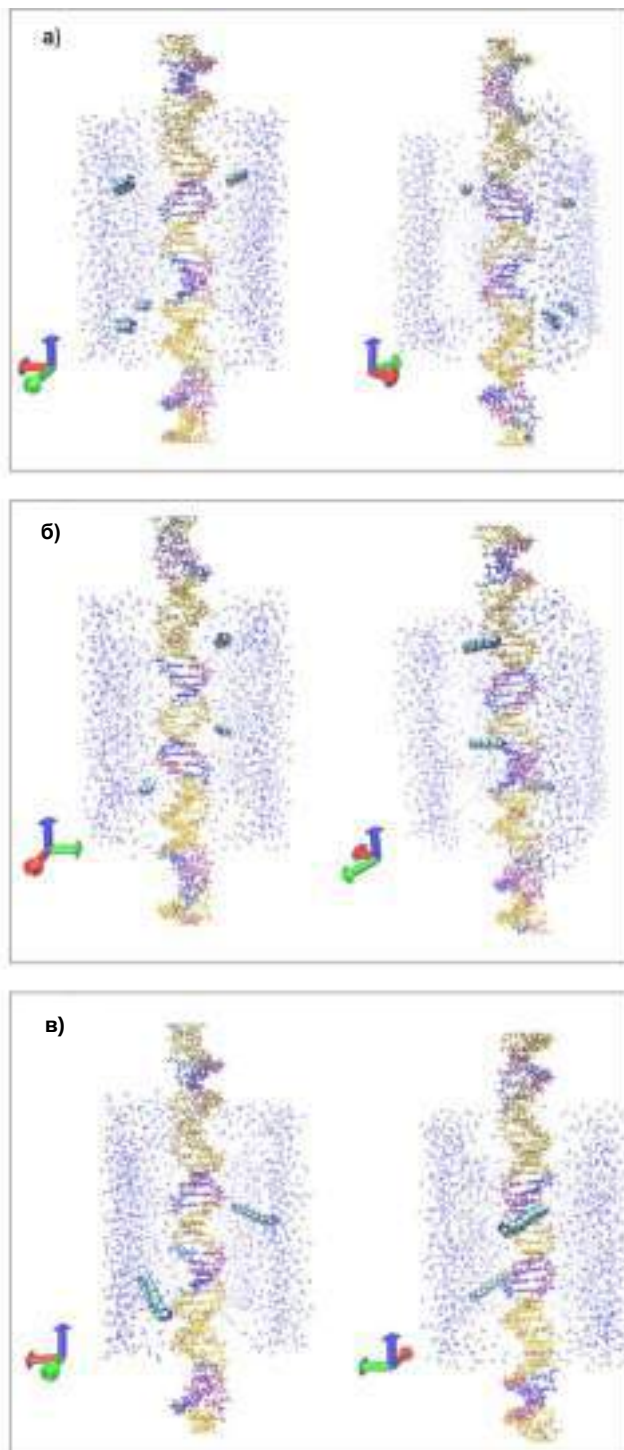


Рис. E2. Різні репрезентації змодельованих систем в початковому стані. а) ДНК з путресцином²⁺. б) ДНК з спермідином⁴⁺. в) ДНК з сперміном⁴⁺. Рисунок з роботи дисертанта [75].

Таблиця Е2. Протокол моделювання ДНК-поліамінних систем. k – коефіцієнт обмеження (ккал/моль $\text{\AA}^2$); γ температурний інкремент д (K/step); T - температура (K).

№	Процедура	ДНК	Поліамін	Вода	Іони	Крок (фс)	Кількість кроків
1	Мінімізація	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Фіксовано	-	2000
2	Мінімізація	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Фіксовано	-	2000
3	Нагрів	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Фіксовано	1	15000 ($r=0,02$)
4	Врівноваження: NPT ансамбль	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Фіксовано	1	100000
5	Нагрів: $T=300$	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Обмежено ($k=5$)	1	15000 ($r=0,02$)
6	Врівноваження: NPT ансамбль	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Обмежено ($k=5$)	1	100000
7	Врівноваження	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Вільний	1	100000
8	Мінімізація	Фіксовано	Фіксовано	Вільний	Вільний	-	2000
9	Нагрів: $T=300$	Фіксовано	Обмежено ($k=5$)	Вільний	Вільний	1	30000 ($r=0,02$)
10	Врівноваження: NPT ансамбль	Фіксовано	Обмежено ($k=5$)	Вільний	Вільний	1	100000
11	Врівноваження: NPT ensemble	Фіксовано	Вільний	Вільний	Вільний	1	100000
12	Мінімізація	Вільний	Вільний	Вільний	Вільний	-	2000
13	Нагрів: $T=300$	Обмежено ($k=5$)	Вільний	Вільний	Вільний	1	30000 ($r=0,02$)
14	Врівноваження: NPT ансамбль	Обмежено ($k=5$)	Вільний	Вільний	Вільний	1	500000
15	Equilibration: NPT ансамбль	Free	Вільний	Вільний	Вільний	1	500000
16	Врівноваження: NVT ансамбль	Free	Вільний	Вільний	Вільний	2	$5 \cdot 10^8$

Е1.2. Результати симуляції для ДНК з путресцином²⁺, спермідин³⁺, сперміном⁴⁺ з використанням силового поля CHARMM27

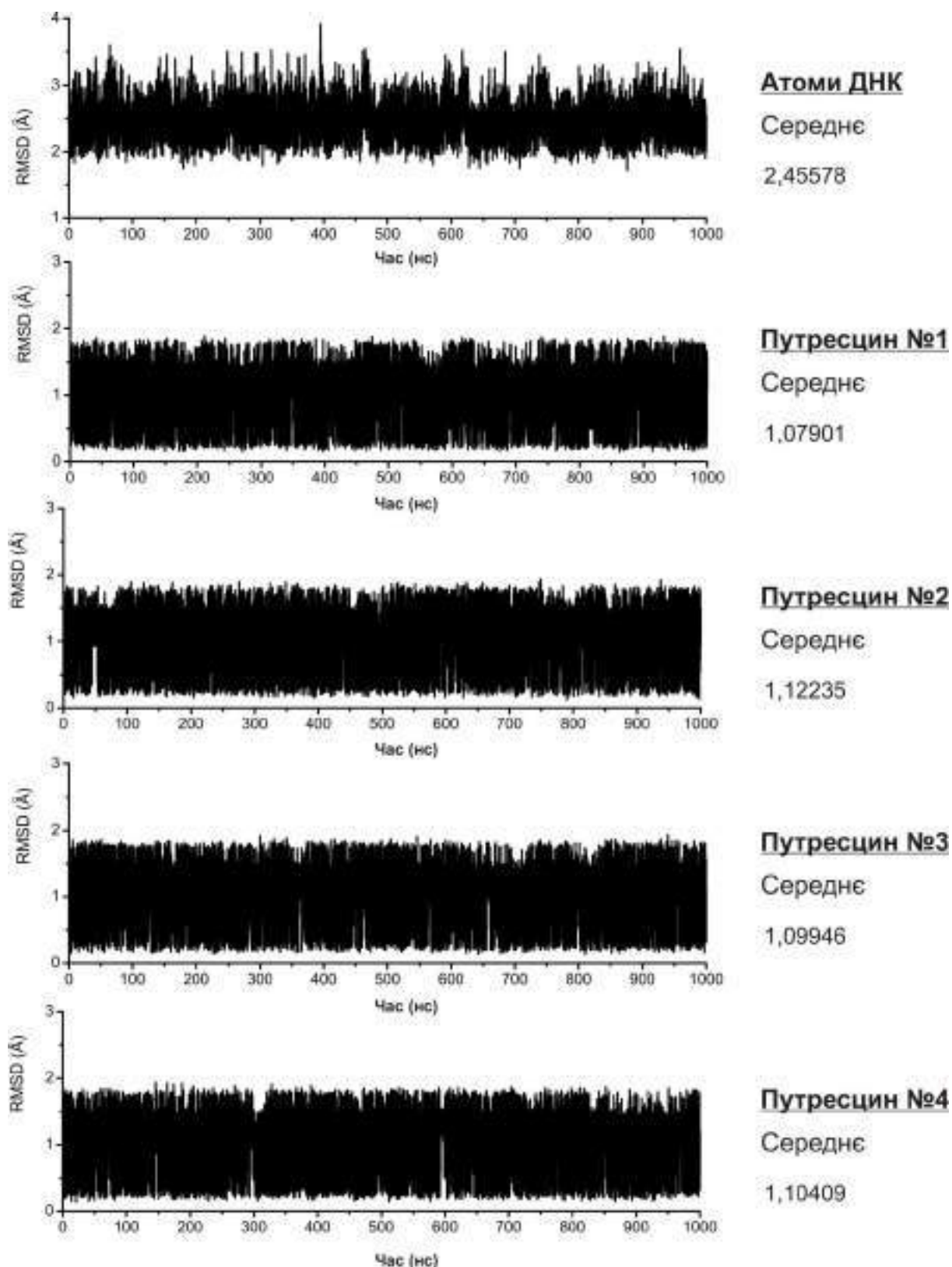
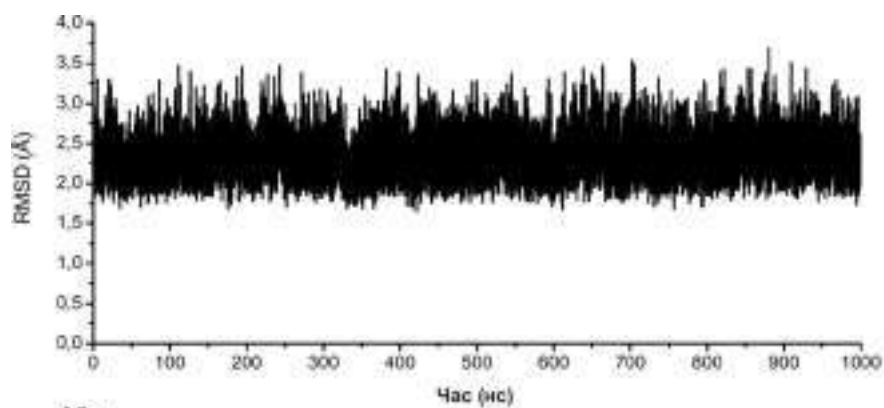


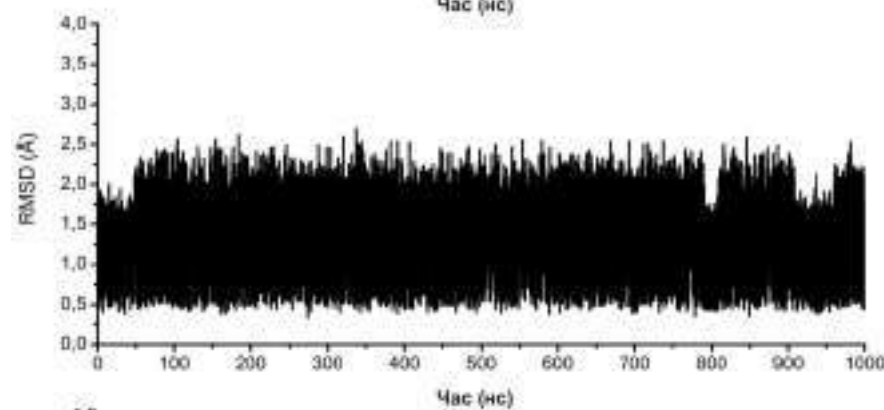
Рис. Е3. Середньоквадратичні відхилення (RMSD) ДНК з молекулами путресцину²⁺. Силове поле CHARMM27. Рисунок з роботи дисертанта [75].



Атоми ДНК

Середнє

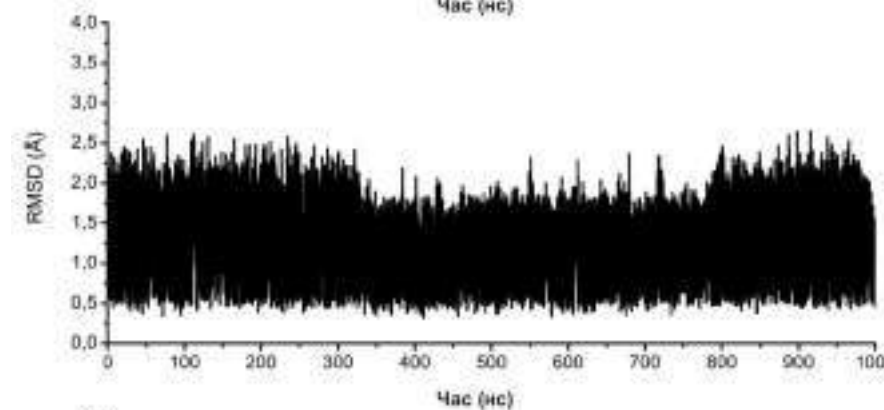
2,35346



Спермідни №1

Середнє

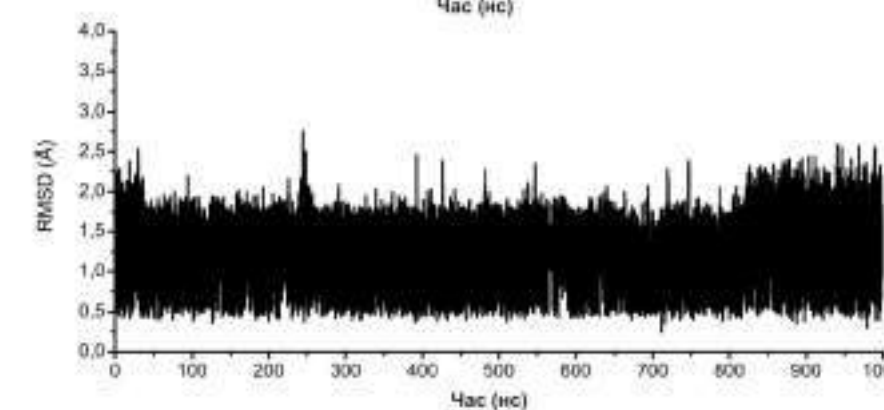
1,36342



Спермідни №2

Середнє

1,28299



Спермідни №3

Середнє

1,23415

Рис. Е4. Середньоквадратичні відхилення (RMSD) ДНК з молекулами спермідину³⁺. Силова поле CHARMM27. Рисунок з роботи дисертанта [75].

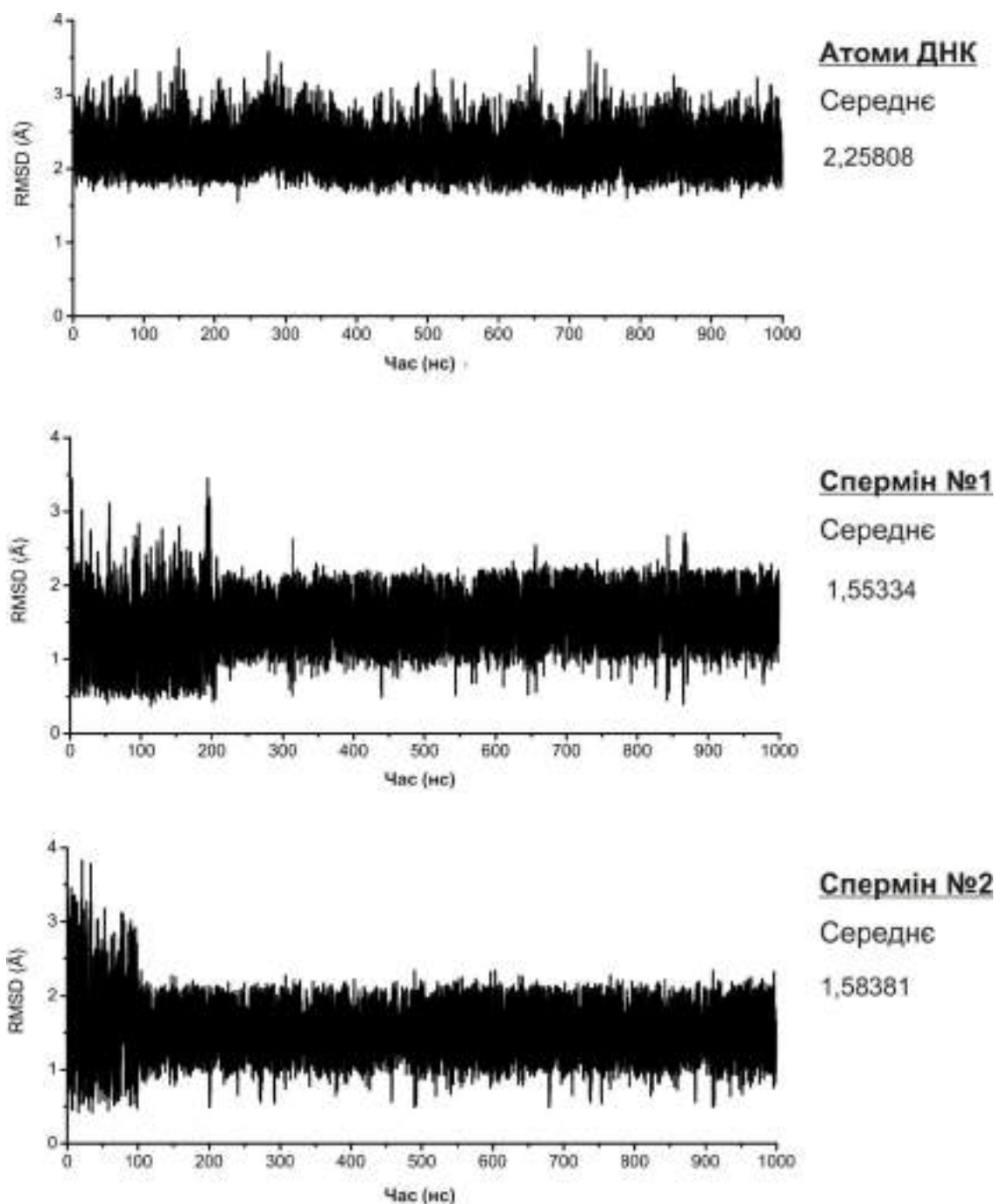


Рис. Е5. Середньоквадратичні відхилення (RMSD) ДНК з молекулами сперміну⁴⁺. Силова поле CHARMM27. Рисунок з роботи дисертанта [75].

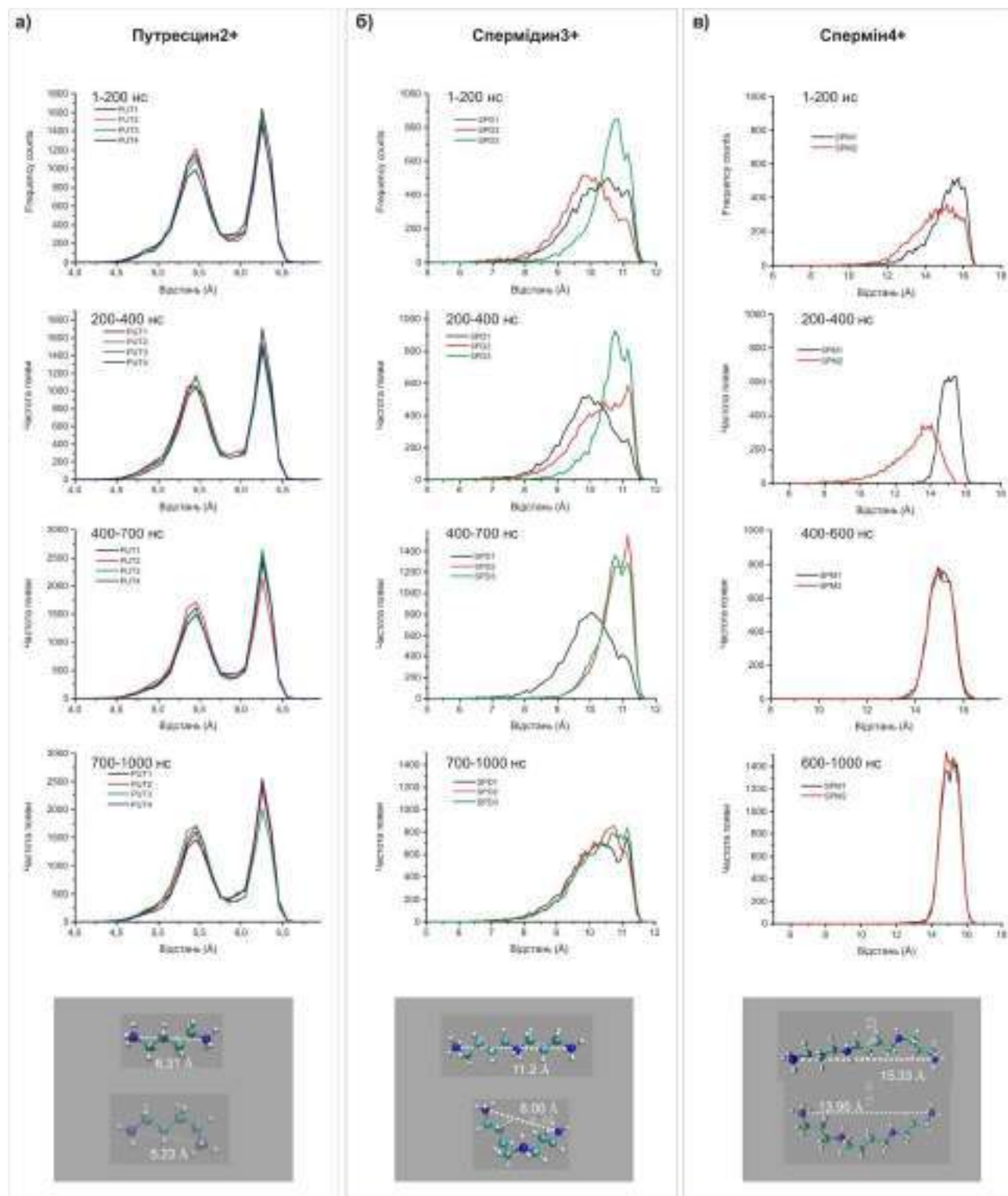


Рис. Е6. Розподіл відстаней між кінцями молекул поліаміну для путресцину (а), спермідину (б) і сперміну (в). Криві розподілу відповідають кожній молекулі поліаміну в системі. Унизу показані знімки молекул у характерних станах. Силова поле CHARMM27. Рисунок з роботи дисертанта [75].

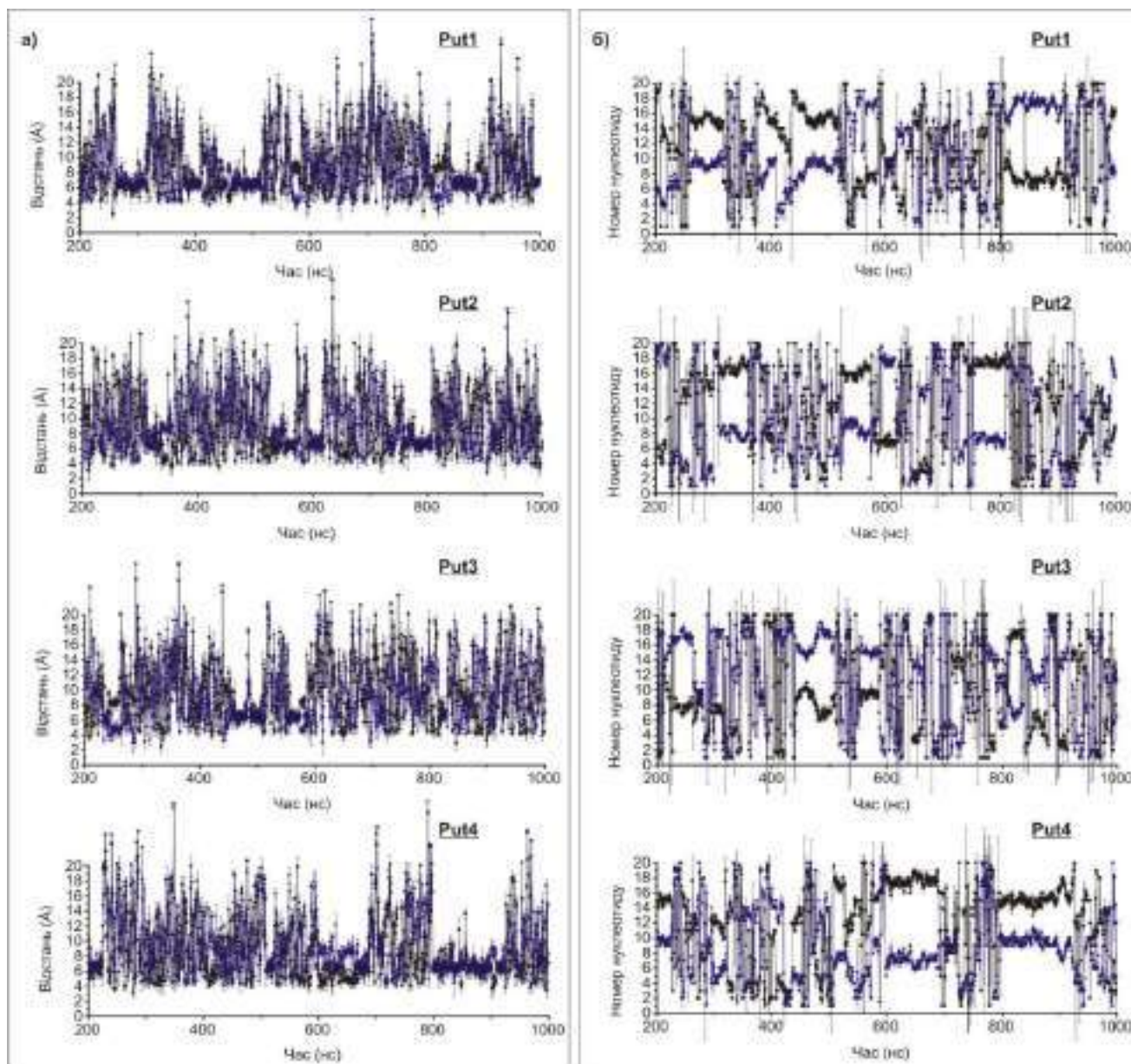


Рис. Е7. Локалізація молекул поліамінів відносно фосфатних груп подвійної спіралі в системі PutDNA. а) Часова залежність середньої відстані від молекули поліаміну до фосфатних груп подвійної спіралі (чорна лінія – ланцюг1 ДНК; синя лінія – ланцюг2 ДНК). Відстань усереднювалася за усіма атомами поліамінів на кожній наносекунді траєкторії моделювання. б) Часова залежність номера фосфатної групи, найближчої до молекули поліаміну (чорна лінія – ланцюг1; синя лінія – ланцюг2). Значення числа фосфатних груп усереднювали за усіма атомами поліамінів на кожній наносекунді траєкторії моделювання. Силове поле CHARMM27. Рисунок з роботи дисертанта [75].

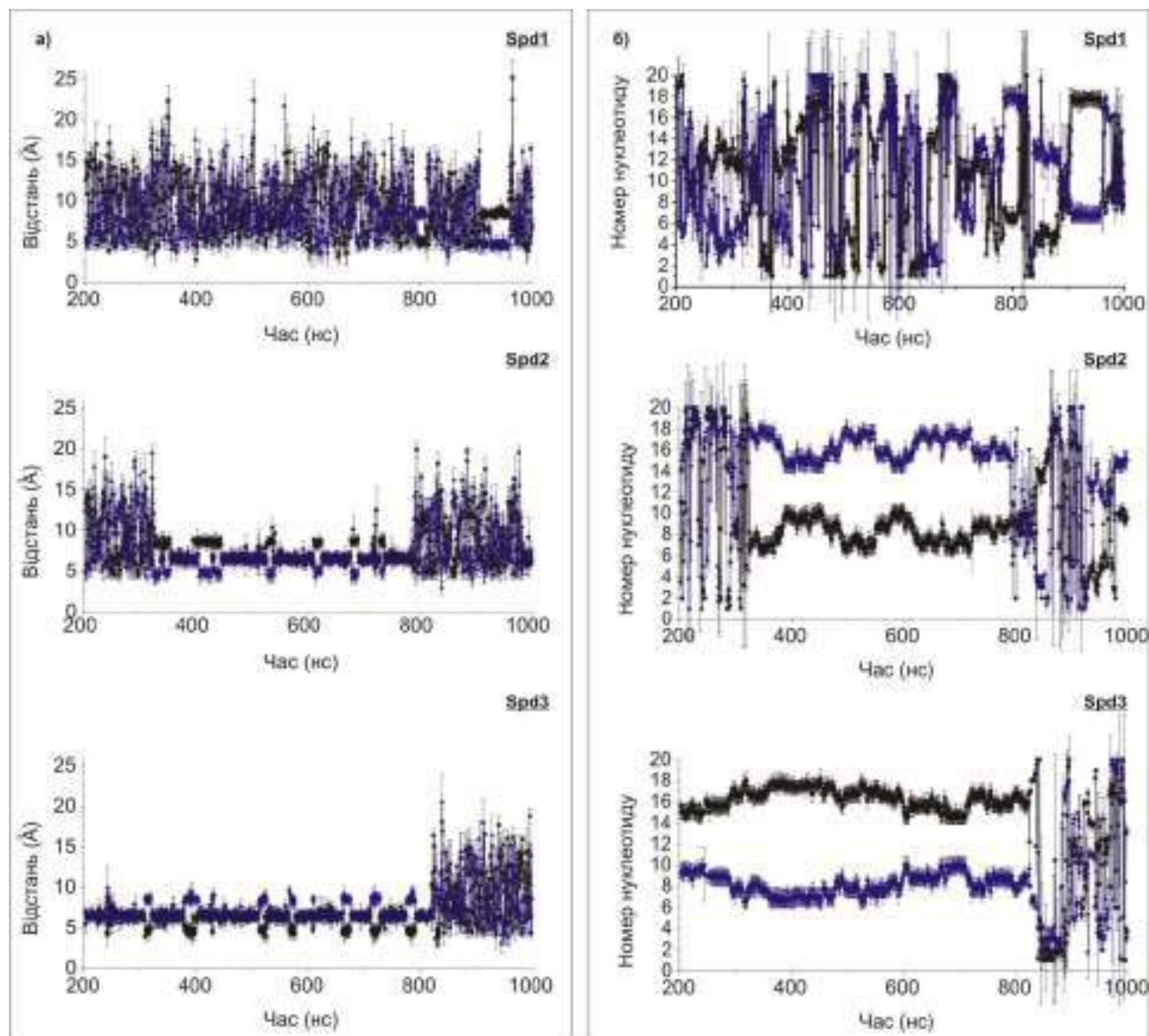


Рис. Е8. Локалізація молекул поліамінів відносно фосфатних груп подвійної спіралі в системі SpdDNA. а) Часова залежність середньої відстані від молекули поліаміну до фосфатної групи подвійної спіралі (чорна лінія – ланцюг1 ДНК; синя лінія – ланцюг2 ДНК). Відстань усереднювалася за усіма атомами поліамінів на кожній наносекунді траєкторії моделювання. б) Часова залежність номера фосфатної групи, найближчої до молекули поліаміну (чорна лінія – ланцюг1; синя лінія – ланцюг2). Значення числа фосфатних груп усереднювали за усіма атомами поліамінів на кожній наносекунді траєкторії моделювання. Силова поле CHARMM27. Рисунок з роботи дисертанта [75].

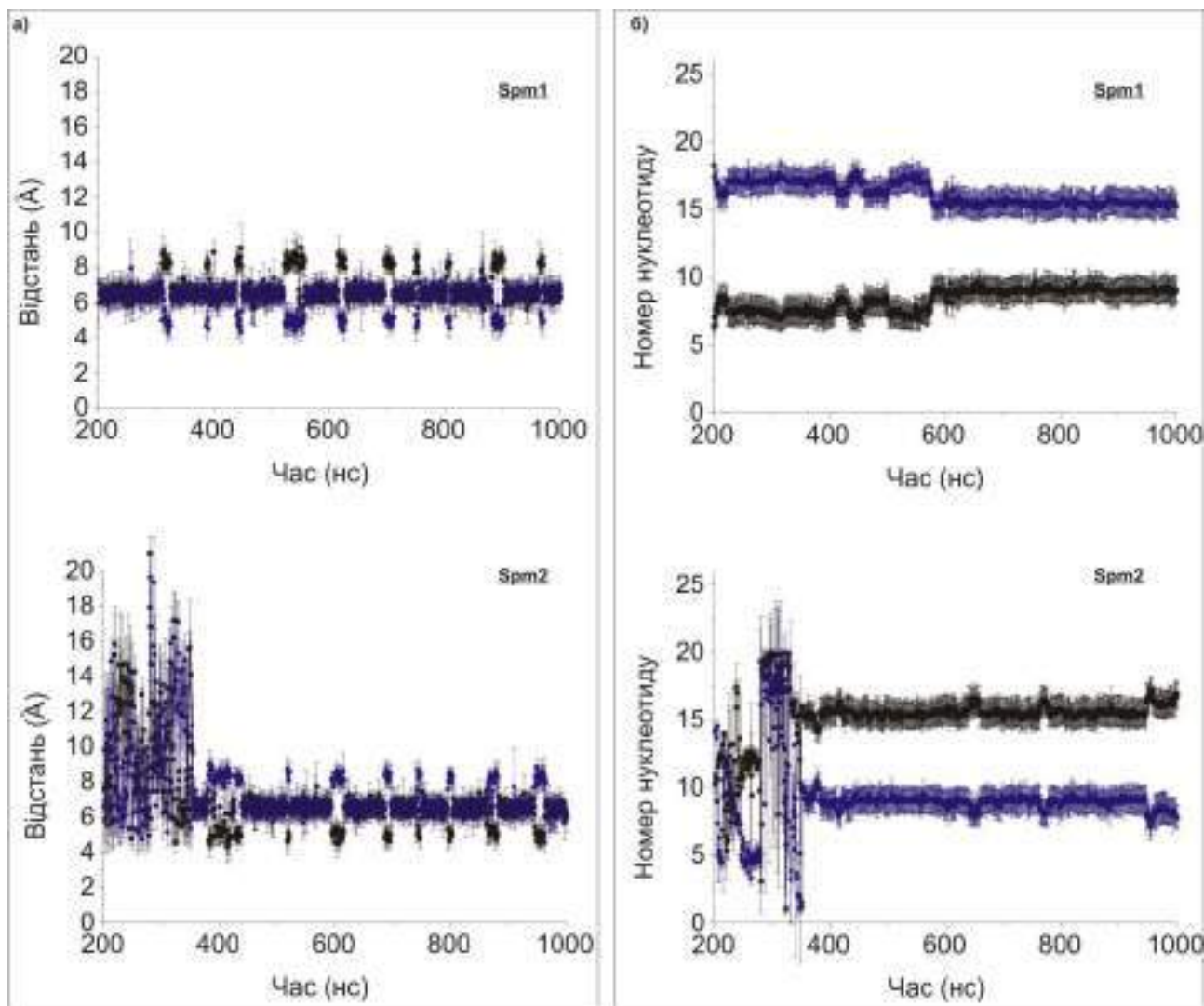


Рис. Е9. Локалізація молекул поліаміну щодо фосфатних груп подвійної спіралі в системі SpdDNA. а) Часова залежність середньої відстані від молекули поліаміну до фосфатної групи подвійної спіралі (чорна лінія – ланцюг1 ДНК; синя лінія – ланцюг2 ДНК). Відстань усереднювалася за усіма атомами поліаміну на кожній наносекунді траєкторії моделювання. б) Часова залежність номера фосфатної групи, найближчої до молекули поліаміну (чорна лінія – ланцюг1; синя лінія – ланцюг2). Значення числа фосфатних груп усереднювали за усіма атомами поліаміну на кожній наносекунді траєкторії моделювання. Силове поле CHARMM27. Рисунок з роботи дисертанта [75].

Е1.3. Результати симуляції для ДНК з спермідин³⁺ з використанням силового поля CHARMM36

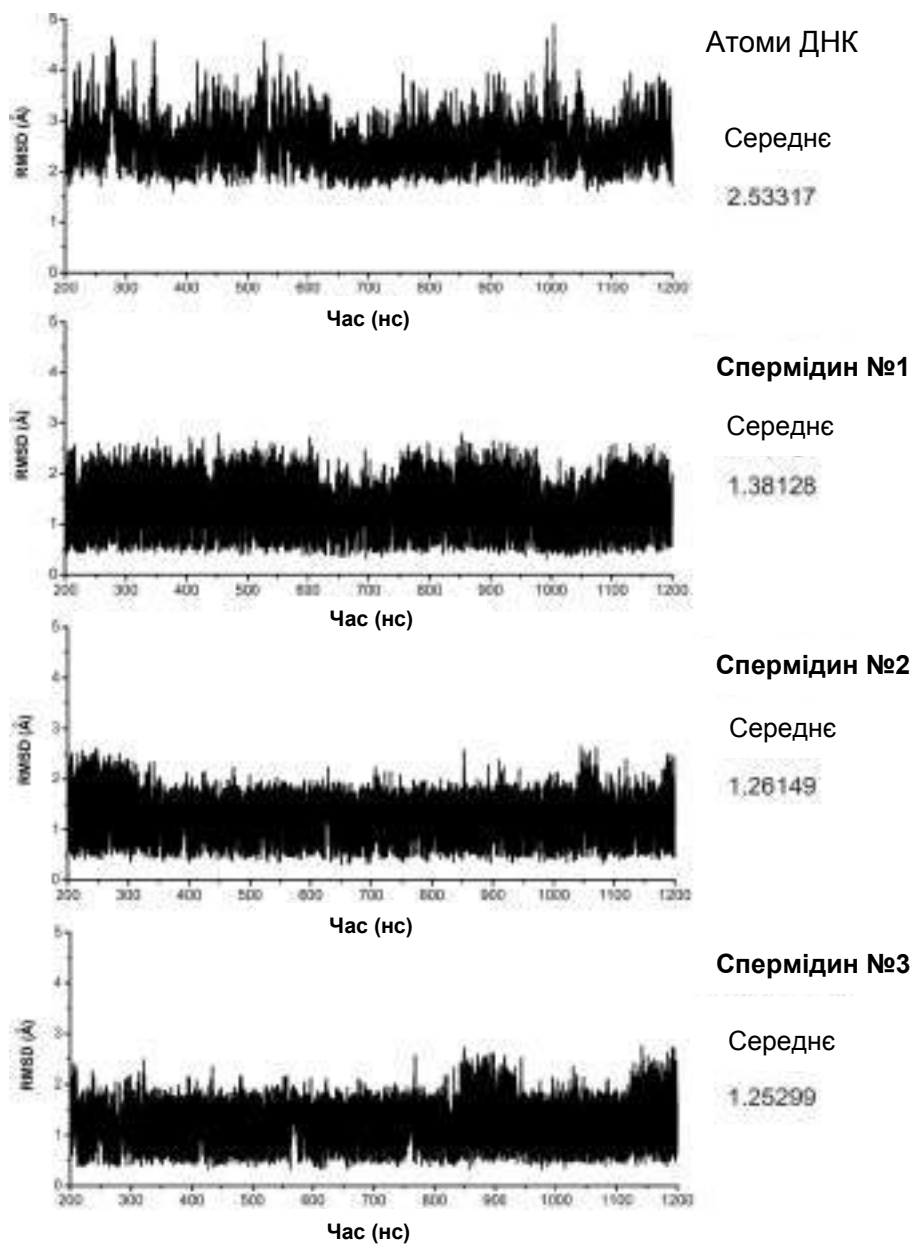


Рис. Е10. Середньоквадратичні відхилення (RMSD) для ДНК з молекулами спермідину³⁺. Силове поле CHARMM36. Рисунок з роботи дисертанта [75].

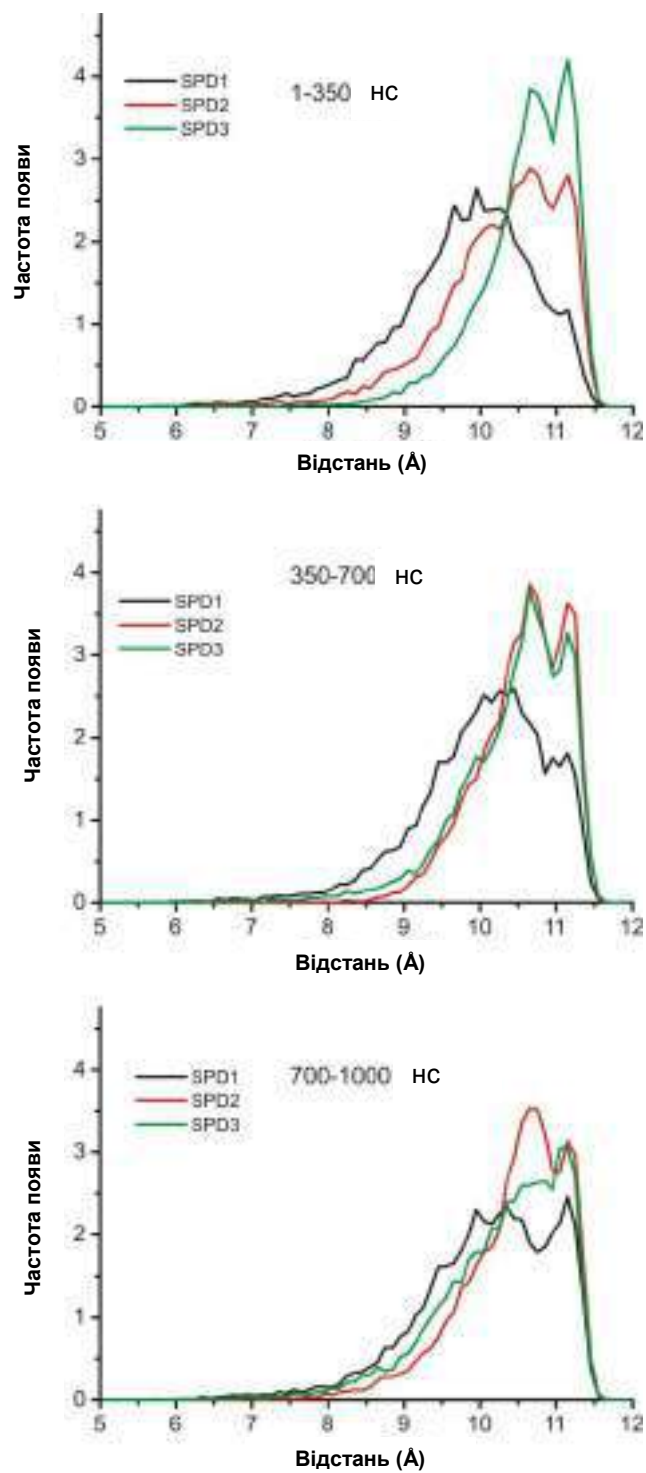


Рис. E11. Розподіл відстаней між кінцями молекул спермідину³⁺ для різних часових вікон траєкторії моделювання. Силова поле CHARMM36. Рисунок з роботи дисертанта [75].

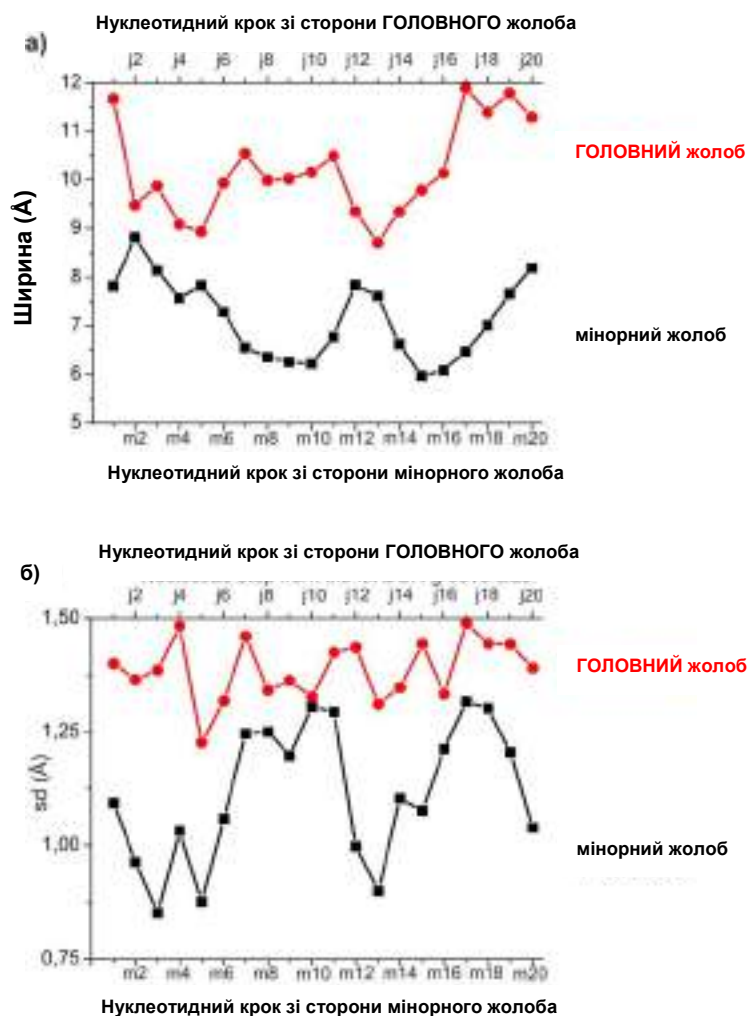


Рис. E12. Залежності середньої ширини (а) та стандартних відхилень (sd) (б) мінорного та головного жолобів від кроку нуклеотиду у випадку ДНК зі спермідіном³⁺. Для визначення розміру ширини жолобів ван дер ваальсові радіуси фосфатів (5,8 Å) віднімалися від значень відстаней між фосфатними групами. Нумерація нуклеотидних кроків з боку мінорного та головного жолобів наведена згідно з Рис. 7.1. Силове поле CHARMM36. Рисунок з роботи дисертанта [75].

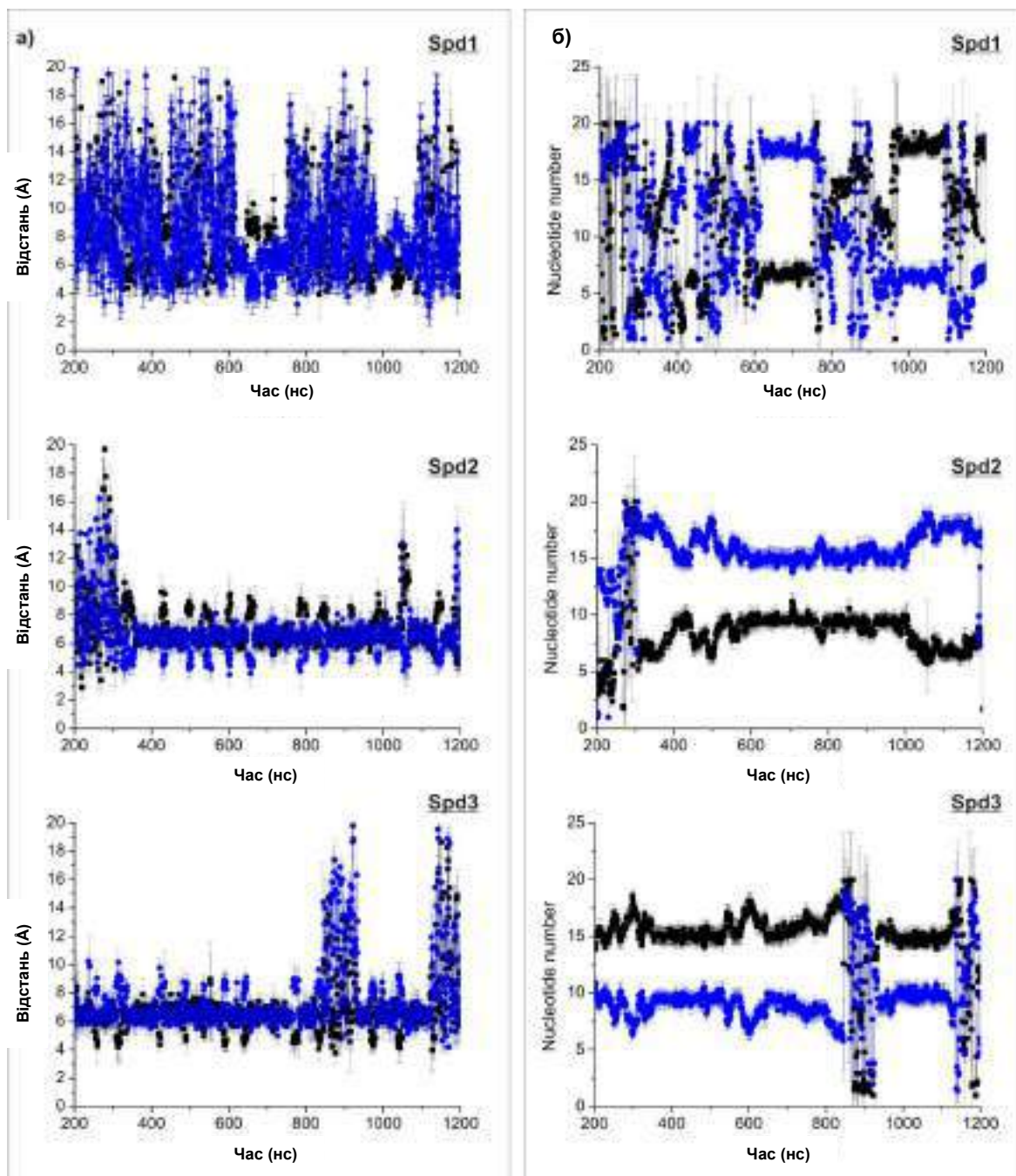


Рис. E13. Локалізація молекул поліамінів відносно фосфатних груп подвійної спіралі в системі ДНК із спермідином³⁺. а) Часова залежність середньої відстані від молекули поліаміну до фосфатної групи подвійної спіралі (чорна лінія – ланцюг1 ДНК; синя лінія – ланцюг2 ДНК). Відстань усереднювалася за усіма атомами поліаміну на кожній наносекунді траєкторії моделювання. б) Часова залежність номера фосфатної групи, найближчої до молекули поліаміну (чорна лінія – ланцюг1; синя лінія – ланцюг2). Значення числа фосфатних груп усереднювали за усіма атомами поліаміну на кожній наносекунді траєкторії моделювання. Силова поле CHARMM36. Рисунок з роботи дисертанта [75].

Таблиця ЕЗ. Час перебування молекул спермідину в різних областях навколо подвійної спіралі ДНК: τ_{tot} , τ_{max} , and τ_{mean} – загальний, максимальний та середній час перебування локалізації (у наносекундах). Позначення областей навколо макромолекули ДНК: mI – в області мінорного жолоба, jI – в області головного жолоба, Ph – області остова, wX – зовнішньої області (Рис. 7.1а). Силове поле CHARMM36.

Поліамін	Локалізація молекули поліаміну навколо подвійної спіралі ДНК											
	mI-область			jI- область			Ph- область			wX- область		
	τ_{tot}	τ_{max}	τ_{mean}	τ_{tot}	τ_{max}	τ_{mean}	τ_{tot}	τ_{max}	τ_{mean}	τ_{tot}	τ_{max}	τ_{mean}
Spd1	277,2	44,8	2,4	87,8	3,0	0,1	28,2	0,6	0,0	606,8	22,2	1,6
Spd2	711,8	65,0	17,1	15,0	2,8	0,0	20,2	0,4	0,0	253,0	19,8	1,0
Spd3	744,6	67,4	17,0	19,8	5,6	0,0	16,0	0,4	0,0	219,6	13,0	0,6
Середнє	577,9	59,1	12,2	40,9	3,8	0,0	21,5	0,5	0,0	359,8	18,3	1,1

Е2. Молекулярно-динамічне дослідження систем з двома подвійними спіралями ДНК в розчині з спермідином³⁺

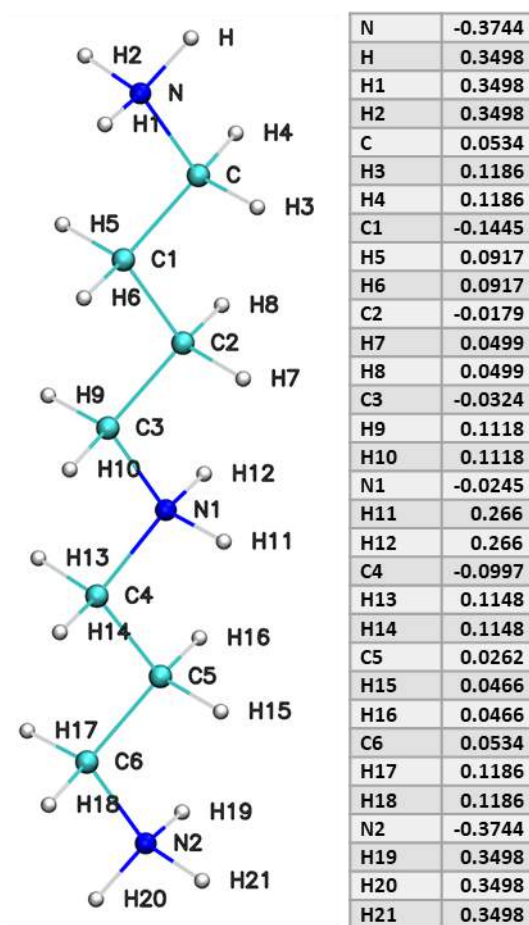


Рис. Е14. Нумерація атомів та заряди на атомах молекули спермідину³⁺ в симуляціях систем з двома молекулами ДНК в елементарній комірці. Рисунок з роботи дисертанта [80].

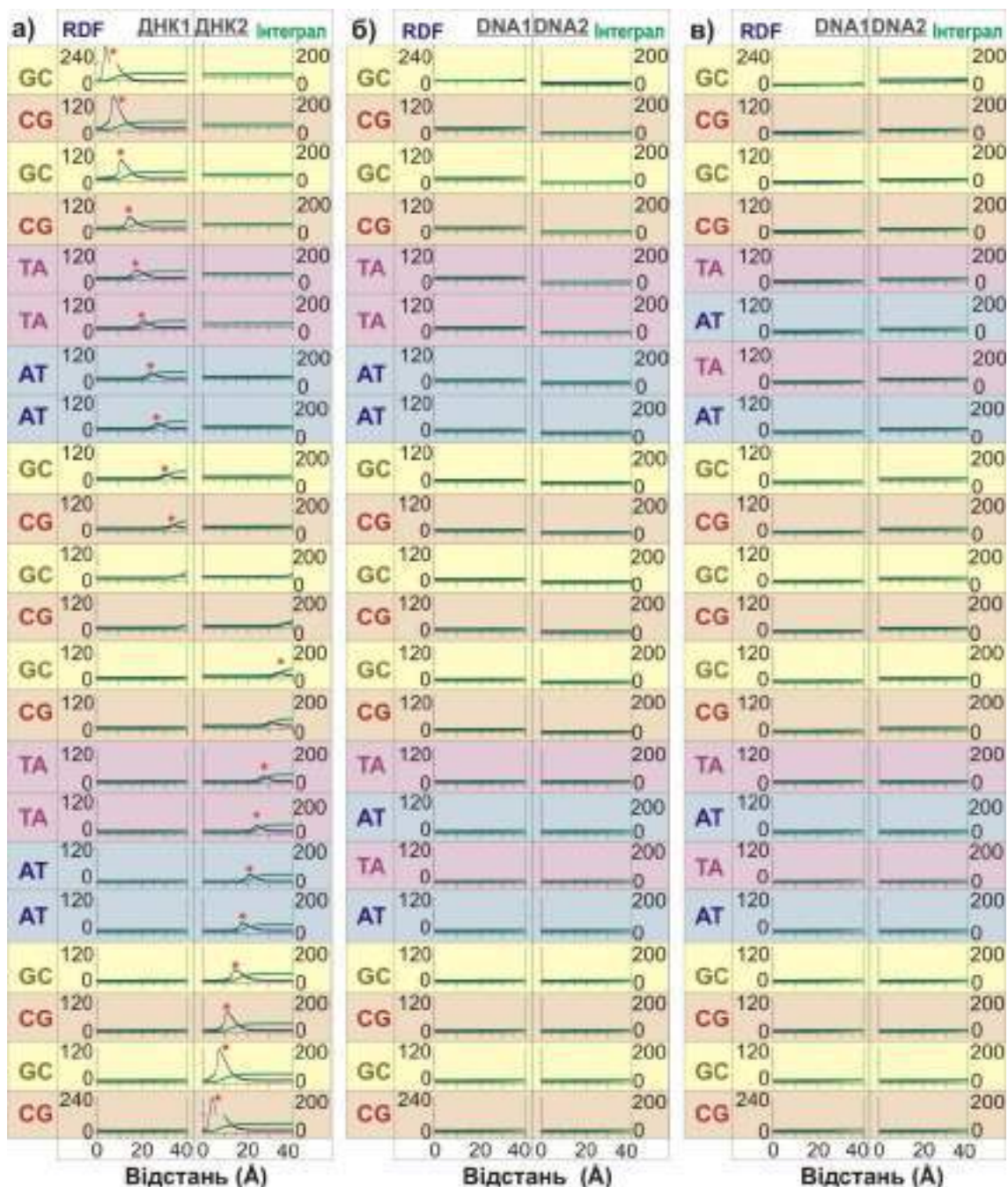


Рис. Е.15. Радіальні функції розподілу та їх інтеграли для кінцевих пар нуклеотидів одного олігомеру ДНК відносно кожної пари нуклеотидів іншого олігомеру ДНК. Системи моделювання: а) FreeA – ДНК з нуклеотидною послідовністю CGCGAATTCGCGCGAATTCGCG; б) FreeB – ДНК з нуклеотидною послідовністю CGCGATATCGCGCGAATTCGCG; в) FreeC – ДНК з нуклеотидною послідовністю CGCGATATCGCGCGATATCGCG. RDF та їх інтеграли показані синіми та зеленими лініями на подвійній діаграмі для кожної пари нуклеотидів. Послідовність пар нуклеотидів показана зліва різними кольорами. Червоними зірочками позначені максимуми RDF, які відповідають ДНК-ДНК контактам. Рисунок з роботи дисертанта [79]..

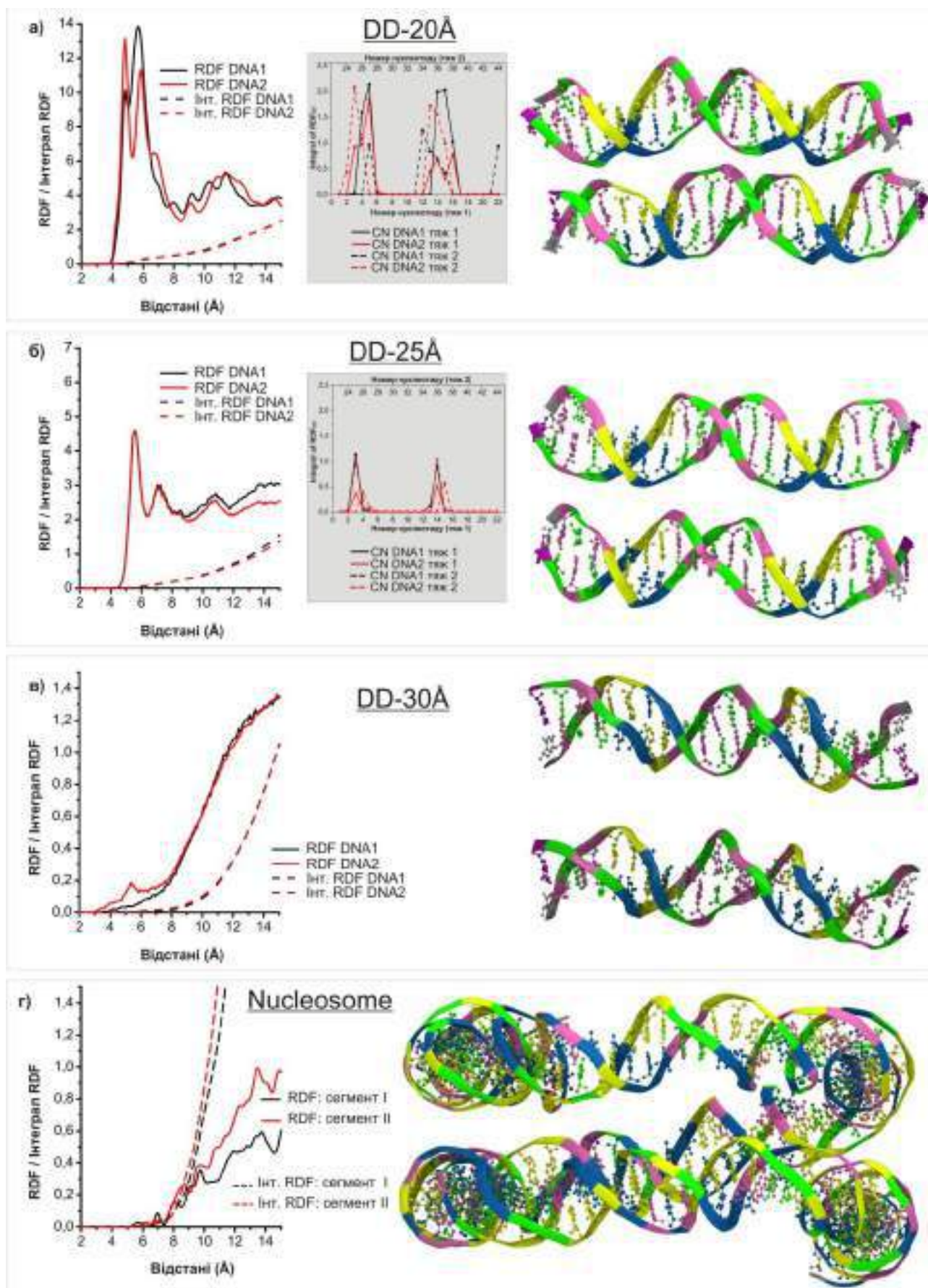


Рис. E16. (Підпис на наступні сторінці)

Підпис до Рис. Е16. Ліворуч: RDF_{DD} та їхні значення інтегралів на відстані 6,4 Å. RDF_{DD} розраховані між атомами Р фосфатних груп різних фрагментів подвійних спіралей ДНК для різних систем: DD-20Å (а), DD-25Å (б), DD-30Å (в), нуклеосомна ДНК (г). Праворуч: моментальні знімки кожної системи представлені в правій частині відповідного RDF. Схема забарвлення: аденін (А) – жовтий; тимін (Т) – синій; цитозин (С) – зелений; гуанін (Г) – рожевий. Spd^{3+} , вода та іони K^+ та Cl^- були опущені для ясності. Рисунок з роботи дисертанта [80].

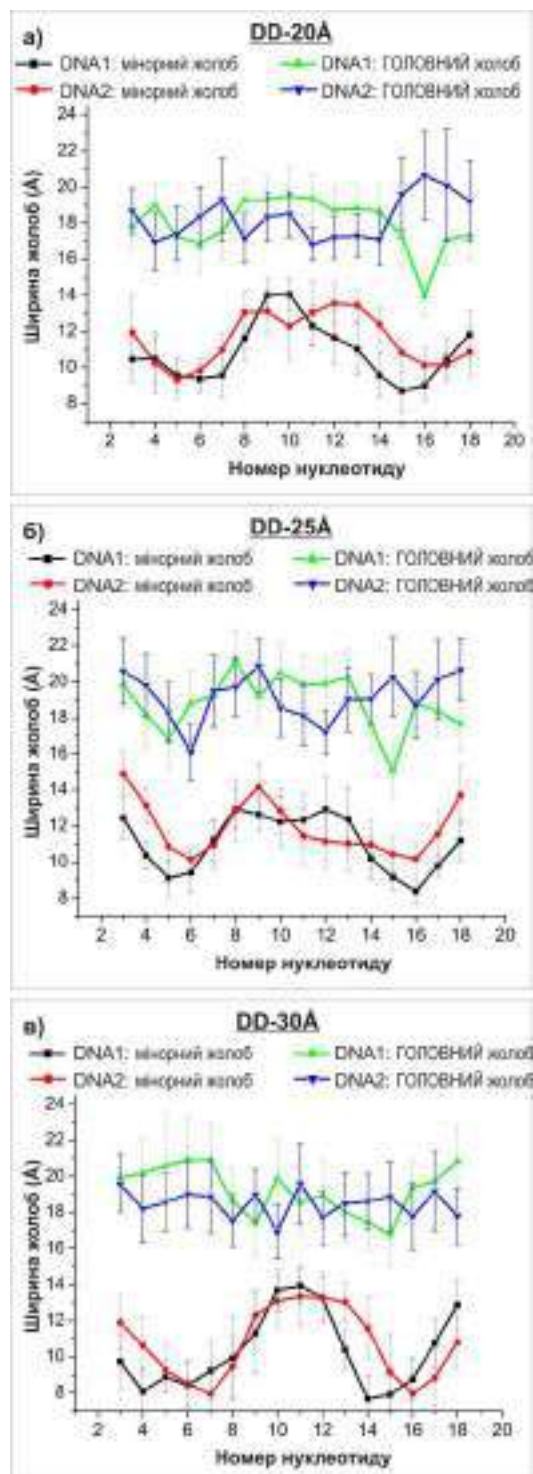


Рис. Е17. Залежність ширини мінорного і головного жолобів від послідовності нуклеотидів в системах а) DD-20Å, б) DD-25Å, в) DD-30Å. Окремо показано значення для різних макромолекул ДНК (DNA1 та DNA2). Рисунок з роботи дисертанта [80].



Рис. E18. Еволюція руху кожної молекули спермідину³⁺ відносно захопленого і вільного станів. Молекули спермідину³⁺ пронумеровані від 1 до 30 для систем DD і від 1 до 100 для нуклеосомної системи, а синій відповідає позиції в клітці. Рисунок з роботи дисертанта [80].

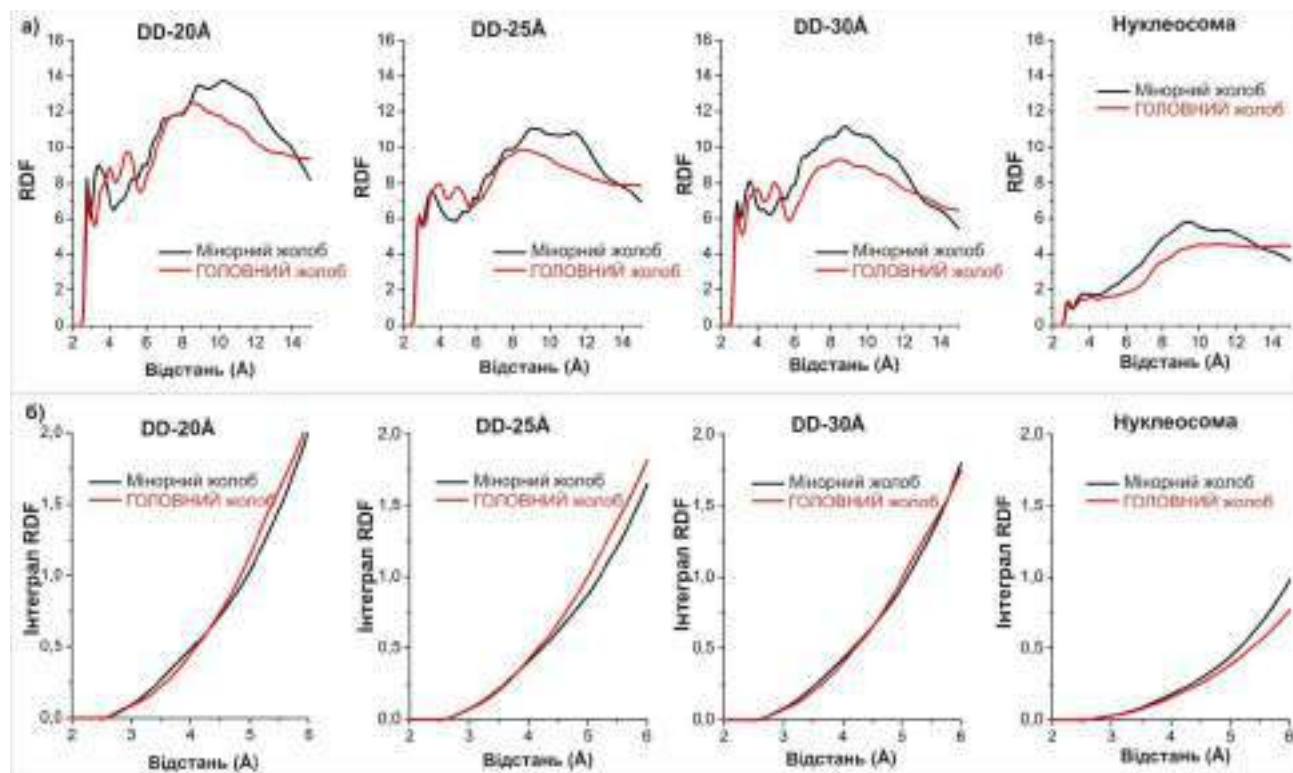


Рис. E19. а) RDF_{MIN} і RDF_{MAJ} б) інтеграли RDF для всіх важких атомів спермідину³⁺ відносно вибраних атомів мінорного та головного жолобів для систем DD-20Å, DD-25Å, DD-30Å і нуклеосомної ДНК. RDF та їх інтеграли були усереднені за DNA1 та DNA2. RDF_{MIN} і RDF_{MAJ} характеризуються двома локальними максимумами на близьких відстанях (нижче $\sim 4,5$ Å) і широкою звислою смугою від ~ 6 до 14 Å. Перші максимуми обумовлені тим, що спермідин³⁺ безпосередньо контактує з ДНК. Координаційні числа, зазначені в Таблиці E1, зменшуються зі збільшенням відстані між молекулами ДНК з 20 до 25 Å. Відповідні координаційні числа для системи з нуклеосомною ДНК значно нижчі через нижчу концентрацію спермідину³⁺, що є результатом нашого вибору підтримувати співвідношення $Spd^{3+}/\text{фосфатна група}$ постійним для всіх досліджуваних систем. Рисунок з роботи дисертанта [80].

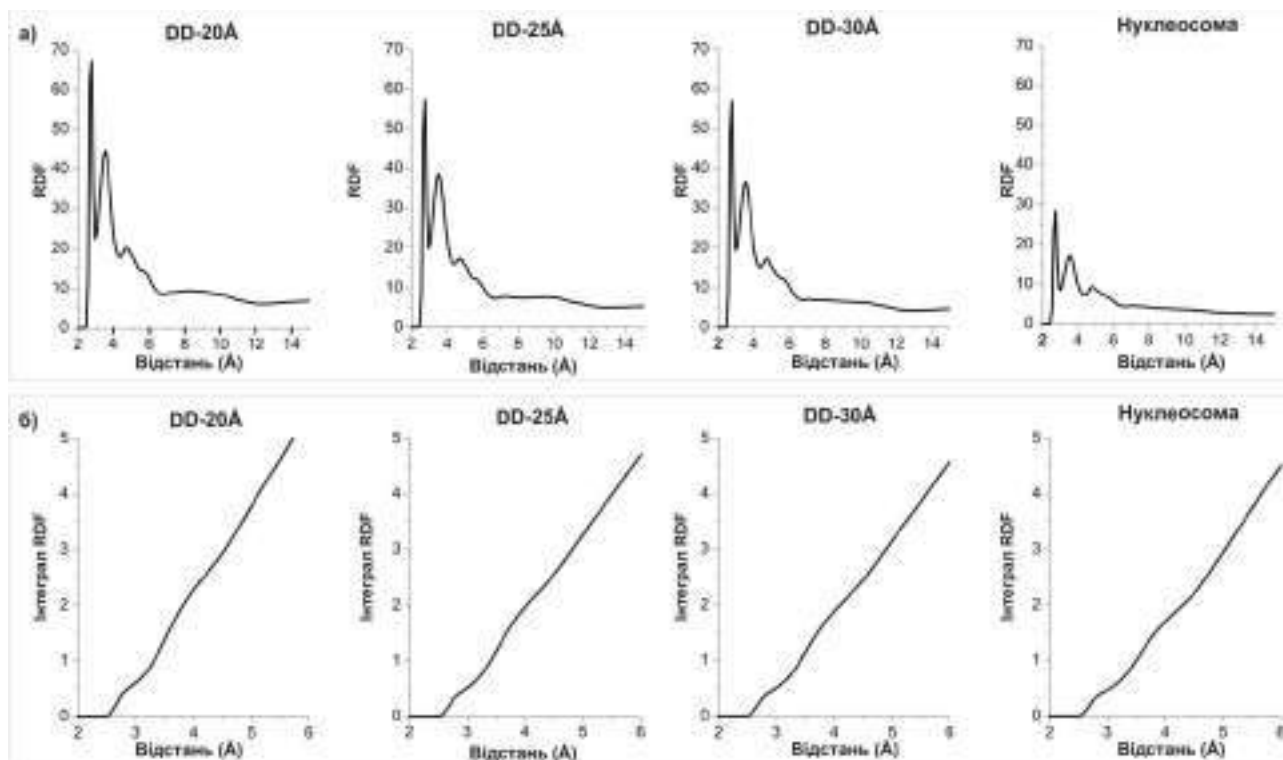


Рис. E20. а) RDF_{PH} і RDF_{MAJ} ; б) інтеграли RDF для всіх важких атомів спермідину³⁺ відносно вибраних атомів мінорного та головного жолобів для систем DD-20Å, DD-25Å, DD-30Å і нуклеосомної ДНК. RDF та їхні інтеграли були усереднені за DNA1 та DNA2. Рисунок з роботи дисертанта [80].

Для всіх систем RDF_{PH} характеризуються двома максимумами та плечем, відокремленим приблизно 1 Å. Перший максимум обумовлений атомами спермідину³⁺, які безпосередньо контактують з ДНК, тоді як другий максимум походить переважно від атомів спермідину³⁺, зв'язаних з атомами, які безпосередньо контактують з фосфатними групами. Як спостерігається для взаємодій у жолобах, інтенсивність першого максимуму та значення відповідних координаційних чисел, зазначених у додатковій Таблиці E4, вищі в DD-20Å порівняно з DD-25Å, і не спостерігається відповідного зниження в DD-30Å порівняно з DD-25Å. Загалом, це вказує на збільшення взаємодії з спермідину³⁺ зі збільшенням ущільнення системи через збільшення кількості тісних взаємодій із поліамінами в захопленому стані.

Таблиця Е4. Значення інтегралів радіальних функцій розподілу (координатних чисел, CN) для важких атомів спермідину³⁺ на двох різних відстанях (3,05, 4,55 Å) від еталонних атомів. Значення відображаються для RDF_{MAJ}, RDF_{MIN}, RDF_{PH}.

Система	Відстань (Å)	RDF _{MIN}	RDF _{MAJ}	RDF _{PH}
DD-20Å	3,05	0,28898	0,23748	1,47543
	4,55	0,74354	0,76975	3,01055
DD-25Å	3,05	0,08246	0,07865	0,54844
	4,55	0,64137	0,69952	2,62201
DD-30Å	3,05	0,08944	0,08032	0,53965
	4,55	0,67655	0,67575	2,5033
Нуклеосома	3,05	0,03186	0,03004	0,49429
	4,55	0,30177	0,26596	2,26717

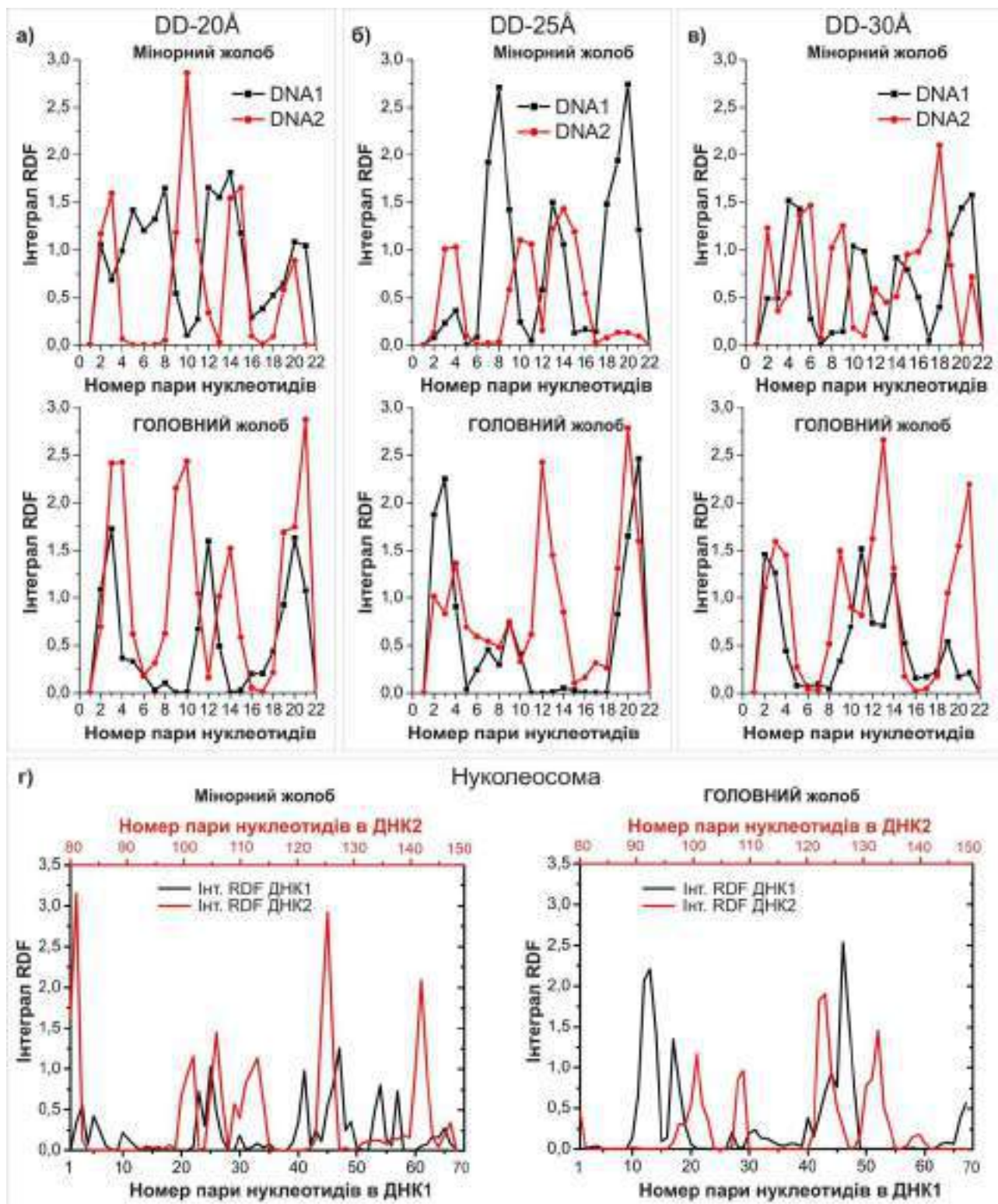


Рис. E21. Координаційні числа для спермідину³⁺ (розраховано для відстані 4,55 Å) у мінорному і головному жолобах а) система DD-20Å; б) система DD-25Å; в) система DD-30Å; г) система з нуклеосомною ДНК (I частина ДНК – DNA1 і II частина ДНК – DNA2). Рисунок з роботи дисертанта [80].

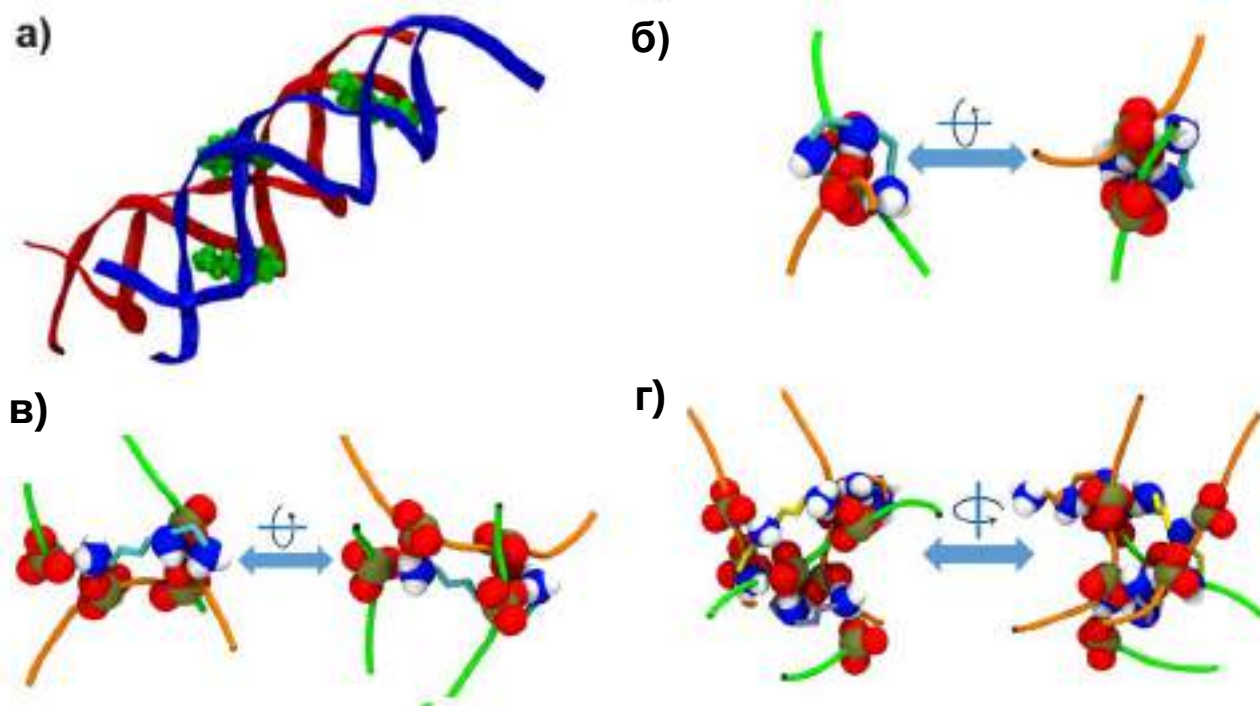


Рис. E22. Репрезентативні типи взаємодії молекул спермідинів³⁺ з подвійними спіралями ДНК. а) Знімок, що зображує паралельно-перпендикулярну (pp) конформацію спермідинів³⁺ в системі DD-20Å. Остов ДНК представлений червоними і синіми стрічками, спермідини³⁺ – зеленими сферами VdW. б) С-подібний спермідин³⁺, який опосередковує контакт між двома фосфатними групами, по одній від кожної молекули ДНК. в) pp конформація молекули спермідинів³⁺, яка опосередковує контакт між чотирма фосфатними групами, по дві від кожної молекули ДНК. г) Точки контакту між двома молекулами ДНК. Три спермідини³⁺ опосередковують цю контактну точку, взаємодіючи з 7 групами PO₃. У б), в) і г) остови ДНК зображені у вигляді помаранчевої та зеленої трубок, один колір для кожної молекули, тоді як групи NH₃, NH₂ і PO₃ представлені у вигляді сфер VdW, а атоми С спермідинів³⁺ представлені бірюзовим, помаранчевого та жовтого кольору. Рисунок з роботи дисертанта [80].

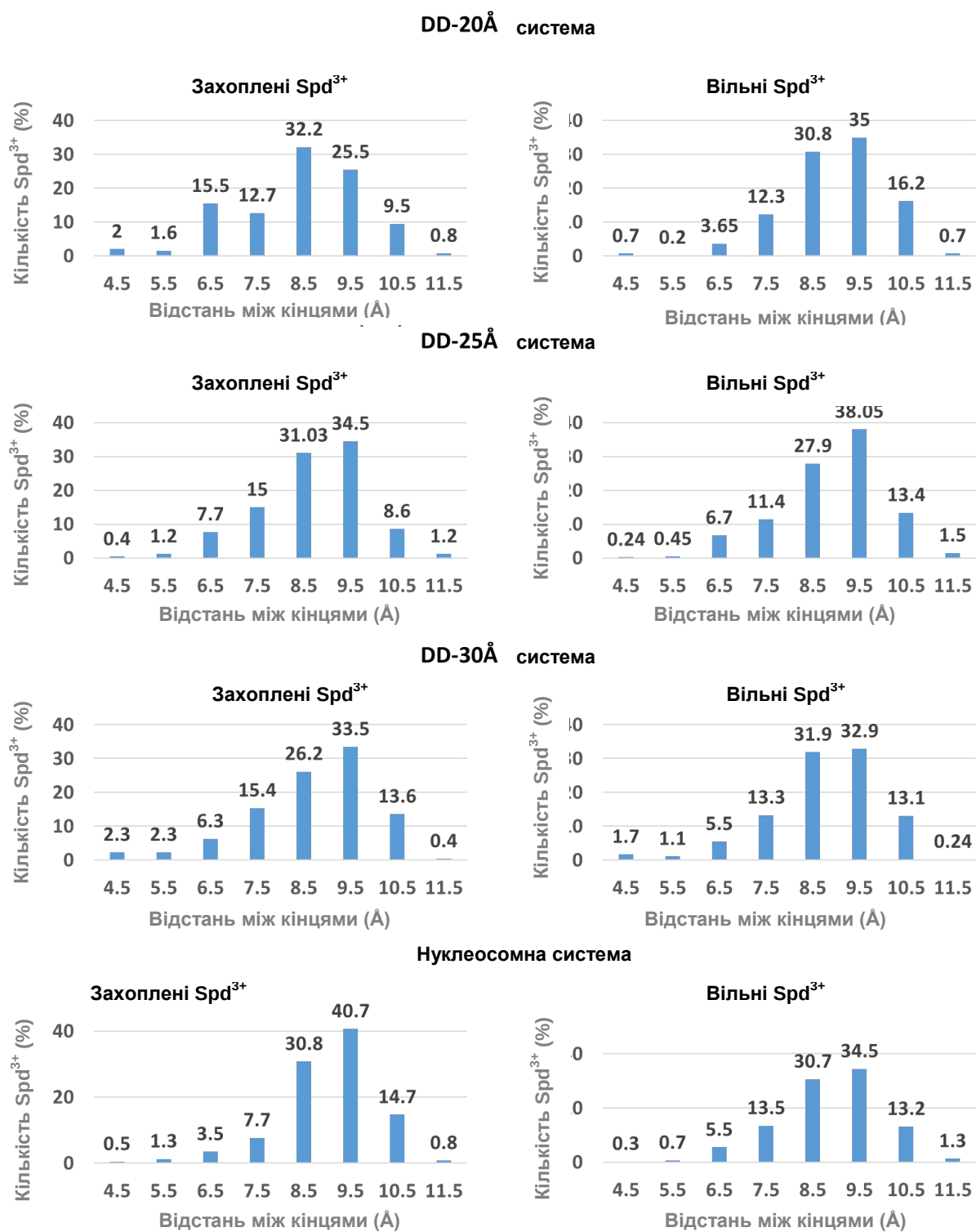


Рис. Е.23. Розподіл відстаней між кінцями молекул спермідинів³⁺ у захоплено-му (ліворуч) і вільному (праворуч) станах. Рисунок з роботи дисертанта [80].

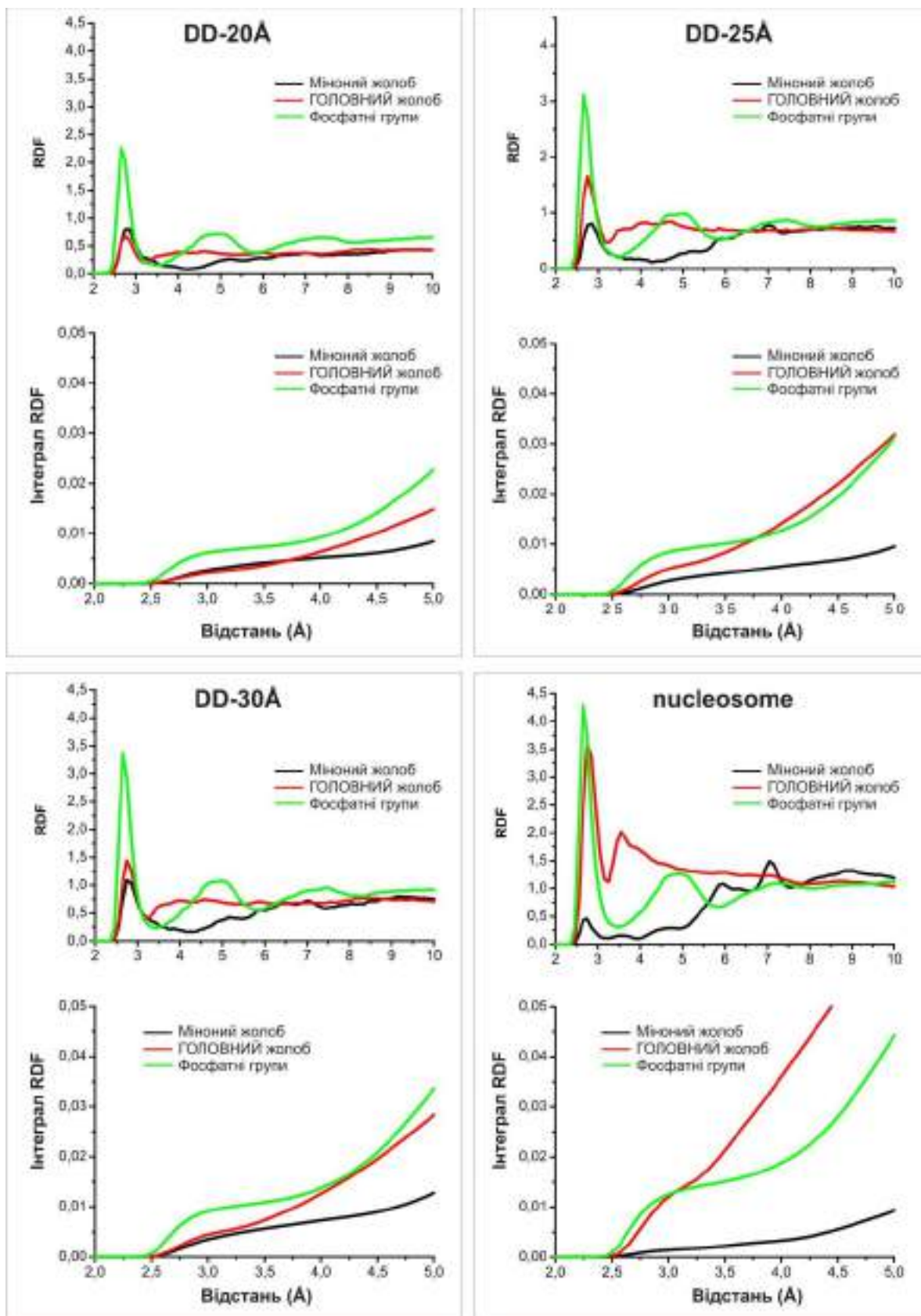


Рис. E24. Радіальні функції розподілу та їх інтеграли для протийонів K^+ відносно атомів фосфатних груп (зелена лінія), мінорного жолоба (чорна лінія) та головного жолоба (червона лінія) подвійної спіралі ДНК у випадку DD-20Å, DD-25 Å, DD-30 Å і системи нуклеосомної ДНК. Рисунок з роботи дисертанта [80].

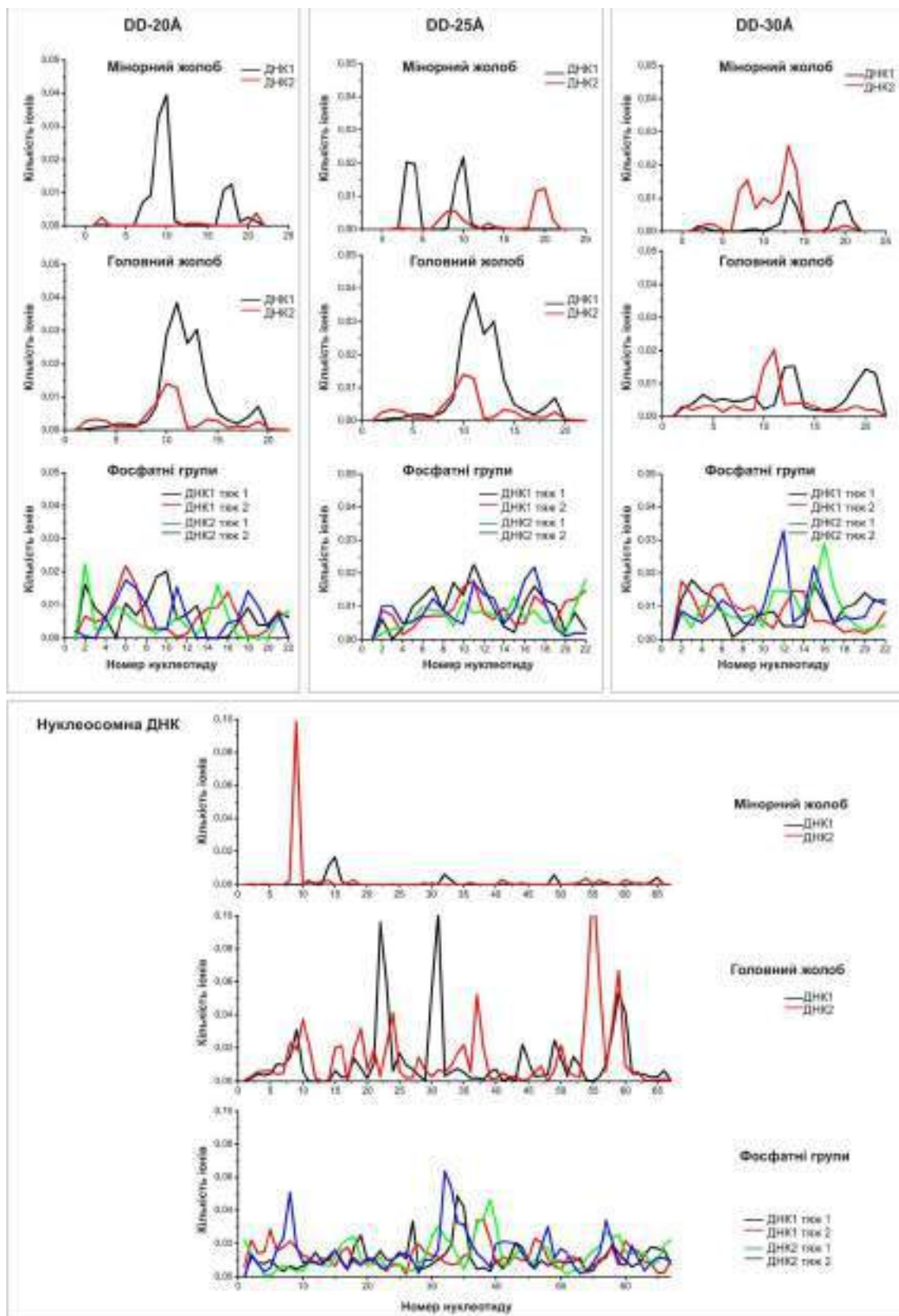


Рис. E25. Координатні числа (інтеграли першого піку RDF) як функція нуклеотидного числа у випадку DD-20 Å, DD-25 Å, DD-30 Å і системи нуклеосомної ДНК. Показано області міжорного та головного жолобів і та фосфатних груп. Рисунок з роботи дисертанта [80].

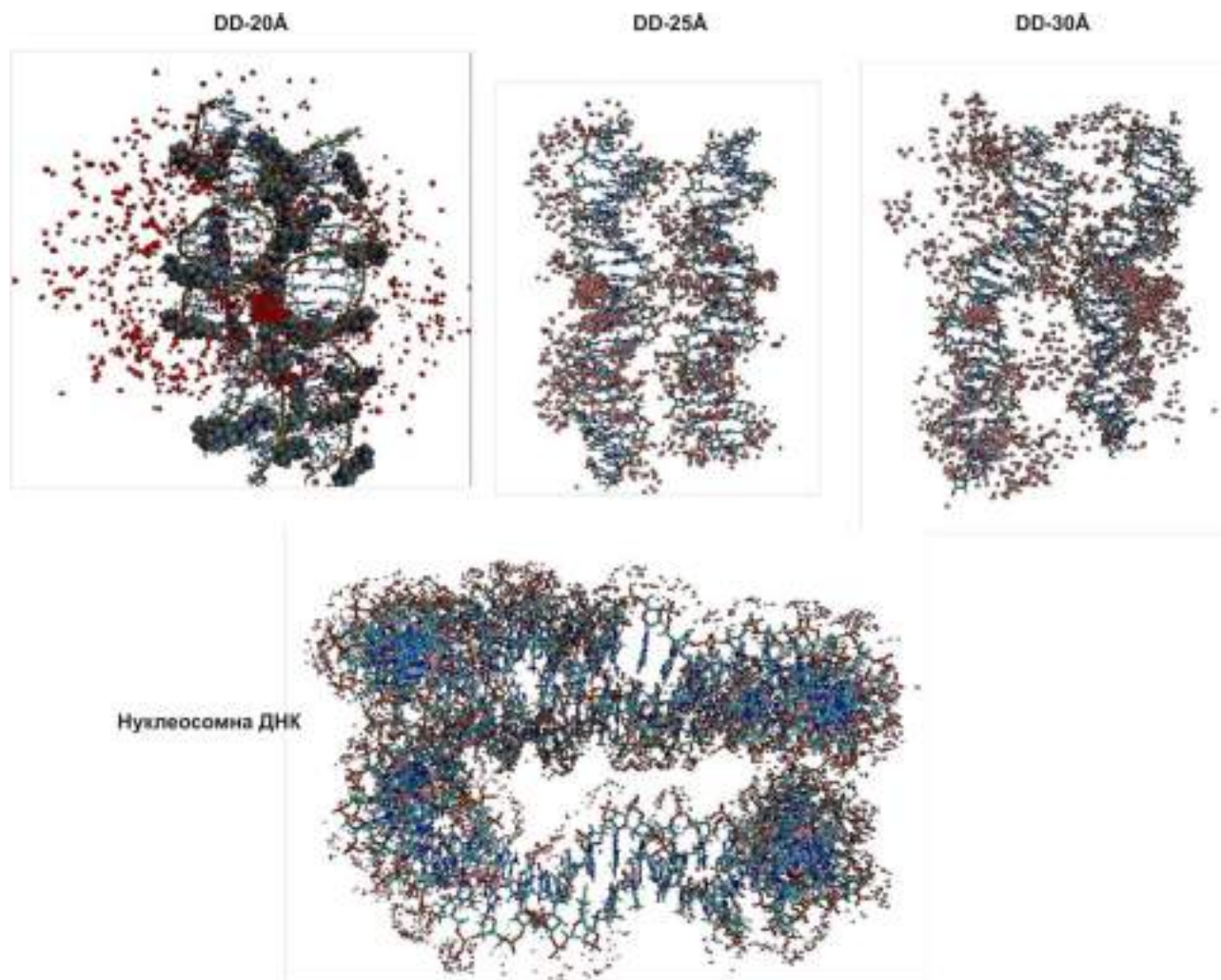


Рис. E26. Накладені один на один моментальні знімки протийонів K^+ (червоні крапки) навколо ДНК у випадку систем DD-20Å, DD-25Å, DD-30Å і системи нуклеосомної ДНК. Вибиралися лише ті протийони, що знаходяться на відстані $<5 \text{ Å}$ від атомів ДНК. Молекули ДНК і молекули поліамінів показано лише для кінцевого моменту траєкторії. Молекули води опущено для ясності зображення. Для наочності в системі DD-20Å молекули поліамінів показано в репрезентації радіусів ван дер ваальса; у випадку інших систем поліаміни не виділено.

ПОДЯКИ

Дисертант висловлює подяку д-р фіз.-мат. наук, ст.н.с. Сергію Наумовичу Волкову, з яким було виконано основну частину роботи і визначено напрям дисертаційного дослідження. Автор також дякує усім співробітникам лабораторії біофізики макромолекул і відділу теорії нелінійних процесів в конденсованих середовищах Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова Національної академії наук України, усім своїм колегам і співавторам, в тісній співпраці з якими виконувалися дослідження, зокрема:

Алексєєву Олександр Миколайовичу канд. фіз.-мат. наук ст.н.с.	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, фізичний факультет
Булавину Леоніду Анатолійовичу акад. НАН України	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, фізичний факультет
Васіліу Тудору (<i>Tudor Vasiliu</i>) д-р	Інститут макромолекулярної хімії «Петру Поні» (Яси, Румунія)
Вербінській Галині Миколаївні канд. фіз.-мат. наук доц.	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, фізичний факультет
Волкову Сергію Наумовичу д-р фіз.-мат. наук, ст.н.с.	Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова Національної академії наук України
Глибицькому Геннадію Марковичу канд. фіз.-мат. наук, ст.н.с.	Інститут радіофізики і електроніки ім. О.Я Усикова НАН України
Енджелбрехту Ліону (<i>Leon Engelbrecht</i>) д-р	Університет Кальярі (Сардинія, Італія)
Загородній Ользі Анатоліївні канд. фіз.-мат. наук	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, фізичний факультет
Здоровському Олексію Олександровичу канд. фіз.-мат. наук	Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова Національної академії наук України
Лааксонену Аатто (<i>Aatto Laaksonen</i>) проф., д-р	Стокгольмський Університет (Швеція)
Моччі Франчесці (<i>Francesca Mossi</i>) проф., д-р	Університет Кальярі (Сардинія, Італія)
Ткачову Сергію канд. фіз.-мат. наук	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, фізичний факультет
Улічному Йозефу (<i>Jozef Uličný</i>) проф., д-р	Університет ім. П.Й. Шафарика в Кошиці (Республіка Словаччина)