



УДК 577.352/577.34

ВПЛИВ КАТІОНІВ Na^+ та Rb^+ НА СТРУКТУРУ ДНК У ВОДНИХ РОЗЧИНАХ

¹Чен Х., ¹Цханг Ф.-Ш., ²Атамась Н.О.

¹Пекінський Нормал Університет, коледж ядерних досліджень та технологій
²Київський національний університет імені Тараса Шевченка
 e-mail: atamasphys@univ.kiev.ua

Надійшла до редакції 13.04.2014

Методом молекулярної динаміки були проведено дослідження впливу концентрації катіонів Na^+ та Rb^+ на структуру ДНК, які дозволили на атомарному рівні з'ясувати механізми взаємодії катіонів з ДНК та визначити вплив процесів конкуренції між цими двома типами катіонів при зміні їх концентрації у досліджуваній системі від 9:1 до 1:9. Одержані дані відносно конкуренції між катіонами Na^+ та Rb^+ та її вплив на формування форми ДНК у водному розчині за нормальних умов показують, що існує конкуренція між катіонами різних типів за участь у процесах формування структур з ДНК: коли один тип катіонів у більшості то ці катіони здатні проникати в первинну спіраль ДНК і запобігати взаємодії ДНК з електронегативних атомами. Проведені розрахунки показали, що розмір катіону суттєво впливає на процеси взаємодії катіонів з молекулою ДНК у водних розчинах.

Ключевые слова: структура ДНК, метод молекулярної динаміки, концентрація катіонів Na^+ та Rb^+ , конкуренція катіонів.

ВСТУП

ДНК є надійним матеріальним носієм для зберігання, дублювання, реалізації та передачі генетичної інформації, що широко використовується при проведенні досліджень в області біохімії, нанотехнологій, і комп'ютерного моделювання. Просторова структура молекули ДНК відіграє важливу роль у процесі взаємодії білок-ДНК. Структура ДНК, у свою чергу, залежить від взаємодії з зовнішніми факторами оточуючого середовища, насамперед, взаємодією з молекулами води і катіонами [1]. Катіони [2] забезпечують стабілізацію оточуючої молекули ДНК середовища, внаслідок чого вторинна структура ДНК стає більш компактною та впорядкованою. Процеси конкретних взаємодій катіон-ДНК і її впливу на стабільність і динаміку систем досліджувалися авторами робіт [3].

Фізико-хімічні властивості лужних металів в малих каналах В-ДНК вже давно досліджуються із використанням чисельних експериментальних і теоретичних підходів. Визначено, що в таких рідинних системах електростатична взаємодія та взаємодія молекул води з гідрофобною поверхнею ДНК, призводить до зміни форми ДНК. Дослідження показали, що катіони Na^+ і K^+

відіграють важливу роль у стабілізації та структурному поліморфізмі (наприклад, ДНК, В-ДНК, Z-ДНК і т.д.) ДНК [4]. Стелваген і співавт. [5] на основі електрофоретичних експериментів дослідили поведінку катіонів Na^+ в малих капілярних каналах. Відомо, що катіони Na^+ взаємодіють з фосфатною групою ДНК в той час, як катіони K^+ зв'язуються в малих каналах з електронегативною основою ДНК. Розподіл катіонів в малих каналах залежить від кількості молекул розчинника. Ці дослідження дозволили визначити, що катіони Na^+ і K^+ взаємодіють переважно з різними ділянками ДНК [6]. Також при проведенні експериментальних досліджень ДНК кристалічних структур показано, що іони Na^+ і K^+ (атомний номер яких менший, ніж Rb^+ та Cs^+ , можна вважати «як легкі іони») важко відрізнити від молекул води. Загалом проведені дослідження показали, що катіони Rb^+ і Cs^+ («важкі катіони» в наступному) взаємодіють із ДНК і можуть бути знайдені у частково зайнятих вузлах. Терешко [7] показав, що у водних розчинах катіони Rb^+ або Na^+ більш підходять для заміни води з внутрішнього хребта ДНК. Одержані результати дозволяють стверджувати, що так як різні катіони різну роль у підтримці вищої структури хроматину, важливо розглянути конкуренцію у розподілі двох рідних

катионів навколо молекули ДНК. Декілька експериментів підтверджують існування конкуренції між одновалентними катіонами, двовалентними іонами при взаємодії з ДНК. Іда та співавт. [8] безпосередньо зафіксували Rb^+ та Na^+ прив'язку до G-квадруплекса. Денисов та інш. зосередились на дослідженні процесів конкуренції між Na^+ і Rb^+ при взаємодії із ДНК та показали, що важкі лужні катіони зв'язуються з малим каналом. Ними також показано, що Rb^+ розташовуються ближче до ДНК ніж Na^+ . Савельєв та співавт. використовуючи метод молекулярної динаміки провели порівняння систем ДНК- Na^+ та ДНК- K^+ з іоном СГ та без нього. Їх результати показали, що в обох випадках навколо ДНК катіони Na^+ визначаються більш чітко ніж інші катіони. На сьогодні залишилось відкритим наступне питання: чи може взаємодія катионів з ДНК призводити до зміни структури ДНК. Зважаючи на це, було і сформульовано мету досліджень, а саме, дослідити яким чином співвідношення концентрації катионів Na^+ та Rb^+ в малих каналах впливає на структуру ДНК та детально, на атомарному рівні, з'ясувати механізми взаємодії катионів з ДНК. В представленому у цьому розділі звіту представлено результати дослідження взаємодії катионів Na^+ та Rb^+ в малих каналах ДНК та вивчено процеси конкуренції між цими двома типами катионів при зміні їх концентрації у досліджуваній системі від 9:1 до 1:9.

ТЕОРЕТИЧНІ УЯВЛЕННЯ ТА МОДЕЛІ

При проведенні досліджень первинної структури використовувалась структура синтетичної молекули, структура якої представляється як «B DUPLEX D» (CGCGAATTCGCG) і відома під назвою 171d. Слід зазначити, що зважаючи на широке розповсюдження та його біологічне значення система 171d досліджена доволі детально. Вона містить блок впізнання ферменту обмеження EcoRI і часто використовується в методах генної рекомбінації. Параметри силового поля Na^+ , Rb^+ та СГ катионів обрані таким чином, що $\epsilon^{Na^+} = 0,358$ кДж / моль, $\sigma^{Na^+} = 2,73$ °, $\epsilon^{Rb^+} = 1,602$ кДж / моль, $\sigma^{Rb^+} = 3,57$ °, а $\epsilon^{Cl^-} = 0,168$ кДж / моль, $\sigma^{Cl^-} = 4.86$ °. В якості розчинника використано воду, яка описувалась із використанням SPC моделі, в межах якої атоми представляються твердими зарядженими сферами, які мають розмір.

Енергія міжмолекулярної взаємодії у досліджуваній системі описувалась за допомогою виразу, що складається з двох частин. Перша з них описує Ван-дер Ваальсівські взаємодії, а друга – кулонівські. Гнучкість моделі SPC вважається з типом Морса потенціал для його ковалентних

зв'язків [9]. При розрахунках використовувались M.DynaMix пакети, що розроблені для моделювання сумішей молекул та макромолекул. Використані припущення використані та описані в роботах [10,11]. При проведенні розрахунків реалізовано подвійний крок по часу за алгоритмом Tuckerman, часовий крок якого складав 0,2 фс у межах швидкого наближення (4,8°). Сумування за Евальдом використовувалось для врахування та ліквідування впливу перетину електростатичних взаємодій за рахунок екранування. Досліджувана система складалась з одного 171d сегменту ДНК, 3600 SPC молекул розчинника (води) та 200 змішаних катионів для кожної періодичної гексагональної комірки із розміром (48× 48 × 56 ° А3).

Двісті змішаних катионів поступово додають у досліджувану систему з СГ-іонів та Na^+ та Rb^+ катионів у співвідношенні, яке змінюється від 9:1 до 1:9. Інші системи складаються: (1) із 180 Na^+ і 20 Rb^+ (скорочено Na180Rb20); (2) 150 Na^+ і 50 Rb^+ (Na150Rb50); (3) 100 Na^+ і 100 Rb^+ (Na100Rb100), (4) 50 Na^+ і 150 Rb^+ + (Na50Rb150), (5) 20 Na^+ та 180 Rb^+ (Na20Rb180). Таким чином, досліджуються п'ять систем, кожна з яких знаходиться в NVT ансамблі при $T=298K$. При дослідженні кожної системи, на початку експерименту ДНК фіксується в центрі в напрямку осі Z. Після стабілізації системи, досліджуються процеси взаємодії молекул розчинника та іонів з утворенням зовнішньої оболонки навколо ДНК. На наступному етапі досліджень, відпускаються усі ступені вільності системи і врівноважується досліджувана система протягом 1 нс у NVT ансамблі. Після цього, наступні 60нс здійснюється експериментальне дослідження системи та одержуються її структурні та енергетичні характеристики.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При проведенні аналізу розташування катионів навколо молекули ДНК у досліджуваній системі були розглянуті та проаналізовані ймовірності розташування катионів навколо молекули ДНК. Перший максимум розрахованих РФР відповідає відстані між взаємодіючими атомами. На рис. 1 представлено знаходження катионів Na^+ та Rb^+ у випадку взаємодії з атомами внутрішньої спіралі ДНК. Аналіз показав, що в системі, до складу якої входить 100 Rb^+ а та 100 Na^+ утворюється вісім взаємодіючих пар, а саме, 5 пар за рахунок взаємодії з Na^+ та 3 пари за рахунок взаємодії у Rb^+ . Для однієї спіралі, заселеність формується в позитивному напрямку, а для іншої спіралі - негативному напрямку. Ідеальна симетрія по відношенню до горизонтальної поперечної майже

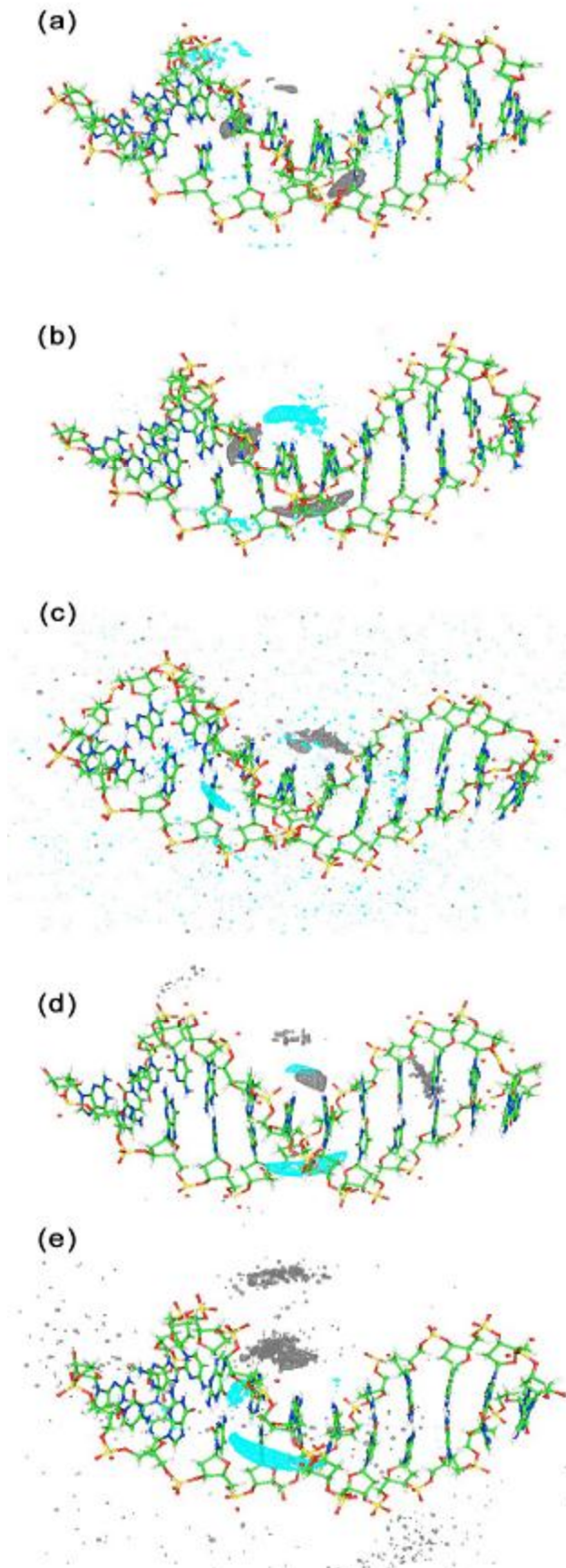


Рис. 1. Середня ймовірність знаходження катіонів Na^+ (а) та Rb^+ (б) навколо молекули ДНК у водному розчині за температури $T=298\text{K}$.

досягнута у випадку катіонів Na^+ . У випадку взаємодії ДНК з катіонами Rb^+ одержано розташування катіонів відносно молекули ДНК, яке корелює з висновками роботи Пономарьова [12]. Тобто складається враження, що розташування досліджуваних типів катіонів навколо ДНК «врівноважується». Однак, катіони Rb^+ мають більші значення ймовірностей їх знаходження в околі молекули ДНК ніж Na^+ , тобто катіони Rb^+ з більшою ймовірністю взаємодіють з ДНК та утворюють стійкі комплекси. Таким чином, у порівнянні з катіонами Na^+ катіони Rb^+ можуть утворювати більш стабільні системи з молекулою ДНК у водних розчинах ДНК. Одержані дані також дозволяють стверджувати, що в системі 20 Na^+ та 180 Rb^+ значна кількість катіонів Na^+ утворює системи стійкі системи з молекулами води. У випадку, коли катіони Na^+ в меншості, катіони відіграють домінуючу роль катіонів Rb^+ у взаємодії з ДНК. Інша ситуація виникає за концентрації 100 Na^+ та 100 Rb^+ так як, у цьому випадку спостерігається конкуренція між катіонами за формування стійких систем з молекулою ДНК. Тобто, ймовірність знаходження катіонів Rb^+ збільшується зі збільшенням концентрації катіонів Na^+ , а ймовірність знаходження катіонів Na^+ зменшується з збільшенням числа катіонів Rb^+ . Слід зазначити, що зв'язування катіонів з внутрішньою спіраллю ДНК визначається не тільки електростатичною взаємодією, але розмірами катіонів. За концентрації 100 Na^+ та 100 Rb^+ одержано, що незважаючи на розмір катіони Rb^+ можуть бути знайдені у малих каналах ДНК з більшою ймовірністю, ніж катіони Na^+ . Також одержано, що катіони Rb^+ можуть знаходитися у внутрішній спіралі ДНК набагато довше. Таким чином, Rb^+ іони мають більш високу спорідненість за концентрації 100 Na^+ та 100 Rb^+ . Можна припустити, що електростатична взаємодія домінувати у розподілі катіонів, зважаючи на те, що більшість катіонів, які знаходяться на внутрішній спіралі ДНК розташовуються на всій довжині молекули ДНК.

ВИСНОВКИ

Проведені дослідження дозволяють стверджувати, що необхідною умовою виконання молекулою ДНК своєї біологічної функції є її взаємодія з катіонами різних типів. Одержані дані відносно конкуренції між катіонами Na^+ та Rb^+ та її вплив на формування форми ДНК у водному розчині за нормальних умов показують, що існує конкуренція між катіонами різних типів за участь у процесах формування структур з ДНК: коли один тип катіонів у більшості то ці катіони здатні

проникати в первинну спіраль ДНК і запобігати взаємодії ДНК з електронегативних атомами. Проведені розрахунки показали, що розмір катіону суттєво впливає на процеси взаємодії катіонів з молекулою ДНК у водних розчинах.

Література

1. Privalov P. L., Dragan A. I., Crane-Robinson C., What drives proteins into the major or minor grooves of DNA? // *J. Mol. Biol.* – 2007. – Vol. 365. – P.1-9.
2. Muller J. Functional metal ions in nucleic acids// *Metallomics* . – 2010. – Vol.2. – P. 318-327.
3. Cheatham T. E. III , Molecular dynamics simulations find that 3' phosphoramidate modified DNA // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 2004. –Vol. 14. –P. 360 –367.
4. Stelwagen N. C., Magnusdottir S., Gelfi C, Preferential Counterion Binding to A-Tract DNA Oligom// *J. Mol. Biol.* –2001. – Vol. 305. – P. 1025 -1033.
5. Furse K. E, Corcelli S. A. The Dynamics of Water at DNA Interfaces: ... Water and Ions // *J. Phys. Chem. B.* – 2010. –Vol. 114. – P. 9934-9945.
6. Cheng H., Korolev N., Nordenskiold L. Thermodynamic properties of liquids; Nucleic acid - ions interaction; Modeling of lipid bilayers; Polyelectrolytes // *Nucleic Acids Res.* – 2006. – Vol.34. – P. 686-696.
7. Tereshko V., Minasov G., Egli M., Structure and Photoinduced Electron Transfer in Exceptionally Stable Synthetic DNA Hairpins with Stilbenediether Linkers // *J. Am. Chem.Soc.* –1999. –Vol. 121. – P. 9905-9906.
8. Toukan K., Rahman A. Molecular-dynamics study of atomic motions in water // *Phys. Rev. B.*–1985. – Vol. 31. – P. 2643-2648.
9. Ida R., Wu G., Direct NMR detection of alkali metal ions bound to G- quadruplex DNA// *J. Am. Chem. Soc.* –2008. – Vol.130. –P. 3590-3602.
10. Lyubartsev A. P., Laaksonen A. A molecular dynamics simulation study of oriented DNA with polyamine and sodium counterions: diffusion and averaged binding of water and cations // *Comput. Phys. Commun.* –2000. –Vol.128. –P.565-589.
11. Lohikoski R., Timonen J., Laaksonen A., Simulation of excited states and the sign problem in the path integral Monte Carlo method // *Chem. Phys. Lett.* – 2005. –Vol. 427. –P.6659- 6674.
12. Ponomarev S. Y., Thayer K. M., Beveridge D. L., Ion motion in molecular dynamics of DNA // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2004. – Vol.101. – P. 14771 -14775.

ВЛИЯНИЕ КАТИОНОВ Na⁺ И Rb⁺ НА СТРУКТУРУ ДНК У ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Чен Х., Цханг Ф.-Ш., Атамась Н.А.

Методом молекулярной динамики были проведены исследования влияния концентрации катионов Na⁺ и Rb⁺ на структуру ДНК, которые позволили на атомарном уровне выяснить механизмы взаимодействия катионов с ДНК и определить влияние процессов конкуренции между этими двумя типами катионов при изменении их концентрации в исследуемой системе от 9:1 до 1:9. Полученные данные относительно конкуренции между катионами Na⁺ и Rb⁺ и ее влияние на формирование формы ДНК в водном растворе при нормальных условиях показывают, что существует конкуренция между катионами различных типов за участие в процессах формирования структур с ДНК: когда один тип катионов преобладает то эти катионы способны проникать в первичную спираль ДНК и предотвращать взаимодействия ДНК с электроотрицательных атомами. Проведенные расчеты показали, что размер катиона существенно влияет на процессы взаимодействия катионов с молекулой ДНК в водных растворах.

Ключевые слова: структура ДНК, метод молекулярной динамики, концентрация катионов Na⁺ и Rb⁺, конкуренция катионов.

THE STUDY OF THE INTERACTION BETWEEN Na⁺, Rb⁺ AND DNA IN WATER SOLUTION

Shen X., Zhang F. S., Atamas N. A.

The competition between Na⁺ and Rb⁺ ions in the minor groove of a synthetic B-DNA dodecamer d(CGCGAATTCGCG) is studied using molecular dynamics simulations as the ratio of these two ions changing from 9:1 to 1:9 with the DNA merged into the solvent of water molecule at 298 K. When the concentration of Rb⁺ ions increases, from minority to majority, Na⁺ ions are gradually released from the A tract, and the binding sites in the minor groove are occupied by Rb⁺ ions, extending from the A tract to the whole minor groove. Comparing Na⁺ with Rb⁺ ions, the conformation of the minor groove is influenced strongly by Na⁺ ions

Key words: the structure of DNA, molecular dynamics method, the concentration of the cations Na⁺ and Rb⁺, competition between cations.