МОЛОДІ ВЧЕНІ

ПЕРЕПЕЛИЦЯ
Сергій Миколайович —
кандидат фізико-математичних наук, учений секретар Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України

УДК 539.199

ДИНАМІЧНЕ ВПОРЯДКУВАННЯ ІОНІВ МЕТАЛІВ НАВКОЛО ПОДВІЙНОЇ СПІРАЛІ ДНК

За матеріалами наукового повідомлення на засіданні Президії НАН України 2 жовтня 2013 року

Досліджено систему подвійної спіралі ДНК з іонами металів, що нейтралізують негативно заряджені фосфатні групи остова макромолекули. Показано, що іони металів можуть формувати динамічну впорядковану структуру вздовж остова ДНК, подібну до ґратки іонного кристала (іон-фосфатну ґратку). Знайдено специфічні моди коливань іон-фосфатної ґратки і показано, що вони знаходяться в низькочастотному діапазоні коливального спектра ДНК (<200 см$^{-1}$). У рамках підходу динамічного впорядкування іонів навколо ДНК пояснено роль іонів солі у формуванні фрактальних структур, що спостерігаються на поверхні після висушування водних розчинів ДНК з солями хлоридів лужних металів.

***Ключові слова*:** ДНК, протиіони, ґратка, конформаційні коливання, низькочастотний спектр, текстура.

Як відомо, молекула ДНК є носієм генетичної інформації, що кодується за допомогою послідовності структурних елементів — азотистих основ. Азотисті основи бувають чотирьох типів: аденін (A), тимін (T), гуанін (G) і цитозин (C). У молекулі ДНК азотисті основи сполучаються між собою водневими зв'язками згідно з правилом комплементарності: аденін завжди з'єднується з тиміном (A—T), а гуанін — з цитозином (G—C). Всередині макромолекули розміщені пари азотистих основ, а зовні — цукро-фосфатний остов, що складається з фосфатних груп (PO_4) і молекул дезоксирибози (цукрів). Азотисті основ разом із цукрами та фосфатними групами складають нуклеотиди, з яких формується подвійна спіраль ДНК (рис. 1). У 1953 р. біолог Джеймс Уотсон і фізик Френсіс Крік запропонували модель двоспіральної структури молекули ДНК, ґрунтуючись на блискучих експериментальних дослідженнях Моріса Уілкінса і Розалінди Франклін [1—3]. Відкриття подвійної спіралі ДНК

Френсіс Крік (1916—2004)

Джеймс Уотсон (1928)

Моріс Уілкінс (1916—2004)

Розалінда Франклін (1920—1958)

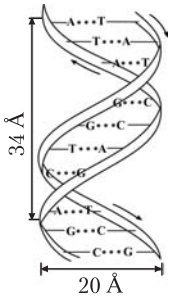

Рис. 1. Подвійна спіраль ДНК

у 1963 р. було удостоєне Нобелівської премії з фізіології й медицини та ознаменувало початок нової епохи в науці.

У природних умовах фосфатні групи несуть на собі електростатичний заряд, який дорівнює приблизно заряду електрона (-*e*). У зв'язку з тим, що відстань між фосфатними групами в ДНК мала (близько 1 нм), за законом Кулона вони відштовхуються зі значною силою. Енергія електростатичного відштовхування для такої системи вдвічі перевищує енергію водневих зв'язків, тому для стабілізації подвійної спіралі ДНК необхідно, щоб фосфатні групи були нейтралізовані. У природі фосфатні групи нейтралізуються позитивно зарядженими іонами, які називають протиіонами. Як правило, роль протиіонів відіграють іони металів, що завжди містяться в клітині в достатній кількості, наприклад натрій, калій та ін. (рис. 2). Нейтралізація зарядів фосфатних груп остова макромолекули ДНК іонами металів була одним із ключових положень у моделі подвійної спіралі Уотсона і Кріка, яке повністю підтвердилося подальшими експериментами.

У природних умовах протиіони разом з молекулами води формують іон-гідратну оболонку, всередині якої вони перебувають у стані динамічної рівноваги і можуть приєднуватися і відщеплюватися від фосфатних груп ДНК. У зв'язку з тим, що фосфатні групи періодично повторюються вздовж гомогенного остова макромолекули, протиіони, відтворюючи структуру подвійної спіралі, розташовуються регулярно навколо ДНК. Таким чином формується динамічна впорядкована структура з протиіонів і фосфатних груп (рис. 3), яка в наших роботах [4—9] розглядається як динамічна ґратка іонного типу (іон-фосфатна ґратка). За своїми властивостями така ґратка має бути подібною до ґратки іонних кристалів, наприклад NaCl. Як відомо, однією з типових властивостей іонних кристалів є коливання зарядів відносно положення рівноваги у вузлах кристалічної ґратки. Такі коливання виявляються в коливальних спектрах у низькочастотному діапазоні < 200 см$^{-1}$ [10]. Слід очікувати, що динаміка іон-фосфатної ґратки також характеризуватиметься специфічними коливаннями протиіонів відносно фосфатних груп остова ДНК (іон-фосфатними коливаннями). Визначення іон-фосфатних коливань у спектрі ДНК є важливим для розуміння взаємозв'язку між структурною організацією протиіонів і стабільністю подвійної спіралі в умовах живого організму.

Іон-фосфатні коливання мають знаходитися в низькочастотному діапазоні спектра, так само, як і внутрішньомолекулярні коливання ДНК [11—17]. Низькочастотні коливання ДНК характеризуються зміщеннями цілих атомних груп подвійної спіралі, таких як нуклеотиди, фосфатні групи тощо. Коливання такого типу називають конформаційними [11—13]. Найнижчою модою конформаційних коливань ДНК є мода 20 см$^{-1}$, яка пов'язана зі зміщеннями азотистих основ разом із цукрами відносно остова макромолекули в площині, ортогональній до осі повідної спіралі. У діапазоні від 60 до 120 см$^{-1}$ знаходяться коливальні моди, що характеризують рухи структурних елементів ДНК, пов'язані з розтягненням водневих зв'язків у парах азотистих основ та деформацією цукрів. Інтерпретацію низькочастотного коливального спектра ДНК було надано в рамках теорії конформаційних коливань Волкова—Косевича [11—13], яку далі було взято за основу для визначення іон-фосфатних коливань ДНК.

Ґрунтуючись на теорії конформаційних коливань Волкова—Косевича і теорії іонних кристалів, побудовано модель динаміки іон-фосфатної ґратки [4, 5]. У рамках моделі молекулу ДНК представлено у вигляді ланцюжка моно-

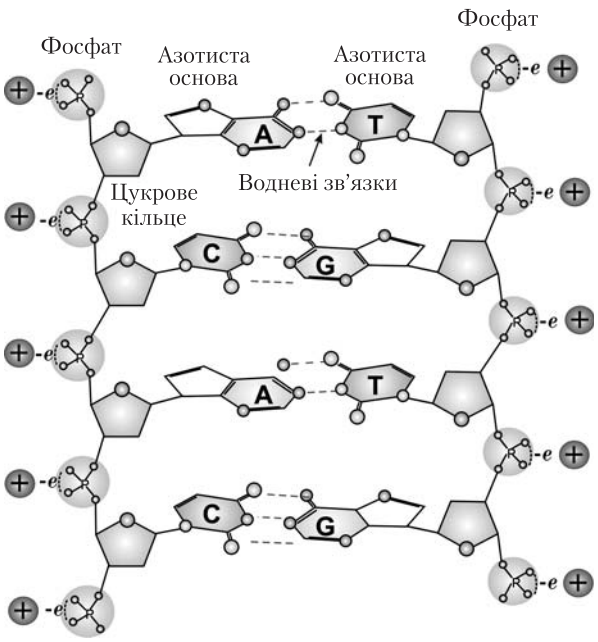

Рис. 2. Структурні елементи ДНК з протиіонами

мерних ланок. У мономерній ланці азотисті основи та цукри ДНК моделюються як фізичні маятники, сполучені між собою водневими зв'язками. Фізичні маятники можуть здійснювати коливання відносно остова ДНК у площині, ортогональній до осі подвійної спіралі (рис. 4). Довжини фізичних маятників можуть змінюватися внаслідок конформаційної гнучкості кільця дезоксирибози. Протиіони приєднуються до фосфатних груп у вигляді окремих зарядів. Положення протиіонів відносно фосфатних груп може бути різним залежно від конформації ДНК та типу іона, тому для різних випадків розташування протиіонів було побудовано різні модифікації моделі динаміки іон-фосфатної ґратки [6—9].

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. 5). Порівняння одержаних результатів з експериментальними даними [14—17] показало, що в коливальних спектрах ДНК з іонами лужних металів наявна мода, яка має

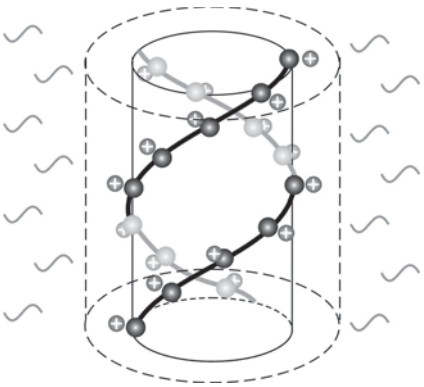

Рис. 3. Іон-фосфатна ґратка ДНК

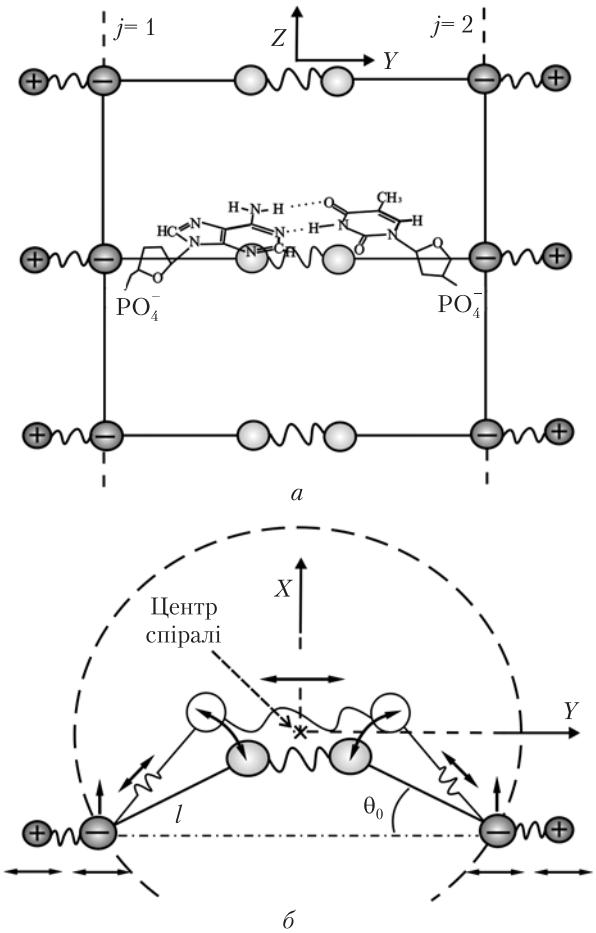

Рис. 4. Модель динаміки іон-фосфатної ґратки ДНК: *а* — подвійний ланцюжок мас нуклеозидів, фосфатних груп та протиіонів; *б* — зміщення структурних елементів мономерної ланки в площині, ортогональній до осі подвійної спіралі; *l* — зведена довжина нуклеозиду; θ_0 — рівноважний кут

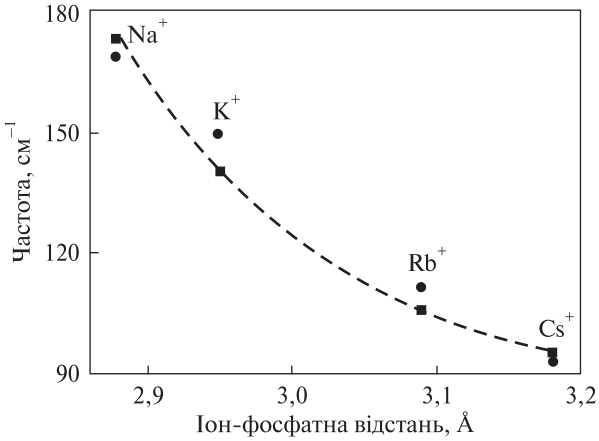

Рис. 5. Залежність частот іон-фосфатних коливань ДНК від типу протиіона: ■ — розрахункові значення; ● — експериментальні дані [14—17]

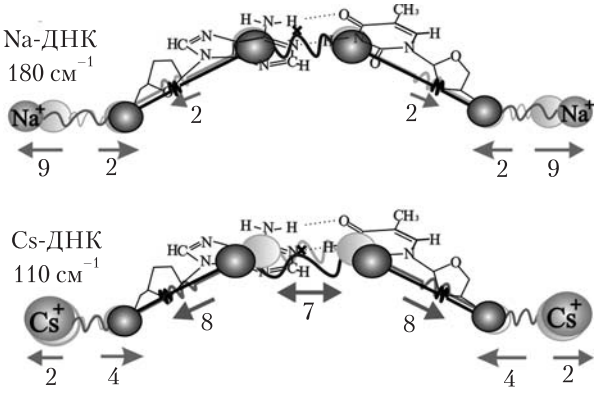

Рис. 6. Схема рухів структурних елементів Na- та Cs-ДНК у випадку моди іон-фосфатних коливань. Величини амплітуд зміщень вказано в пікометрах

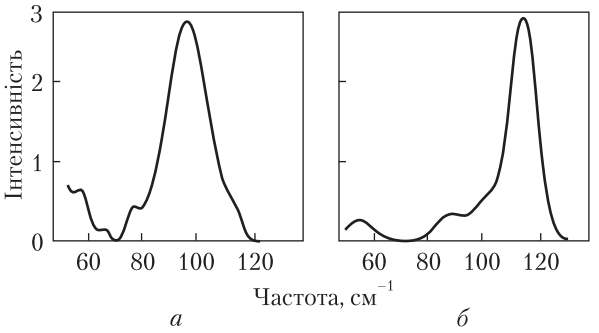

Рис. 7. Низькочастотні спектри комбінаційного розсіювання водних розчинів Cs-ДНК: *а* — експеримент [18, 19], *б* — теорія [20, 21]

таку саму залежність частоти від маси іона. Слід зазначити, що подібна залежність частот іонних коливань спостерігається і для іонних кристалів галогенідів лужних металів [10]. Це свідчить про те, що структура, яка утворюється з протиіонів і фосфатних груп, має властивості іонної ґратки, що підтверджує нашу ідею про існування іон-фосфатної ґратки ДНК.

Аналіз рухів структурних елементів ДНК показав [5], що іони легких металів, такі як Na^+ або K^+, не збурюють внутрішню динаміку подвійної спіралі і виконують роль нейтралізуючих зарядів. Водночас іони важких металів, такі як Cs^+, змушують рухатися структурні елементи всередині макромолекули (рис. 6). Вплив іонів важких металів на внутрішню динаміку молекули ДНК може зумовлювати негативну біологічну дію цих іонів на організм загалом.

Експериментальні дослідження низькочастотних спектрів комбінаційного розсіювання водних розчинів молекули ДНК з іонами натрію та цезію показали, що заміна протиіонів призводить не лише до зміщення частот іон-фосфатних коливань, а й до зміни форми спектра в цілому [18, 19]. У випадку Na-ДНК низькочастотний спектр складається 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. 7).

Щоб пояснити спостережувані зміни форми спектра під дією іонів металів, було розвинуто підхід для розрахунку інтенсивностей комбінаційного розсіювання мод конформаційних коливань ДНК [20, 21]. Результати показали, що у випадку іонів Na^+ інтенсивність іон-фосфатних коливань мала, і тому її не можна виділити зі смуги коливань молекул води. Водночас, для іонів Cs^+ мода іон-фосфатних коливань має значну інтенсивність і за частотою близька до внутрішніх мод ДНК. Тому в результаті утворюється одна інтенсивна смуга (рис. 7). Отже, розрахункові спектри ДНК узгоджуються з експериментальними даними і підтверджують існування моди іон-фосфатних коливань у водному розчині Cs-ДНК.

Ідею іон-фосфатної ґратки ДНК було застосовано для пояснення впливу солей лужних металів на формування молекулярних комплексів ДНК і солі [22]. У процесі висушування водного розчину ДНК з сіллю відбувається поступове зменшення об'єму, що призводить до збільшення концентрацій як молекули ДНК, так і солі (рис. 8). У певний момент об'єм розчину зменшується настільки, що концентрація солі досягає межі розчинності, а іони починають конденсуватися на ДНК, утворюючи ДНК-сольові комплекси. Після повного висушування такі комплекси осідають на поверхні, формуючи фрактальні структури (текстури). Приклад такої текстури наведено на рис. 9. Дослідження текстур ДНК, що утворюються на поверхні після висушування водного розчину, має велике прикладне значення для розроблення нових діагностичних тестів у медицині та біології [23].

Експериментальні дані показують, що поява текстур і їхня форма залежать від типу солі та її початкової концентрації в розчині [24]. Так, для солей NaCl, KCl та RbCl текстури спостерігаються за вихідної концентрації солі 10 ммоль/л, тоді як для солі CsCl — за значно вищої концентрації — 30 ммоль/л. У разі використання солі LiCl текстури не спостерігаються взагалі.

Для пояснення впливу солі на формування текстур ДНК було проведено розрахунки електростатичної енергії системи ДНК з іонами солі [22]. У результаті показано, що молекула ДНК є центром кристалізації для іонів солі, що спричинює формування ДНК-сольових комплексів. Здатність солі кристалізуватися на ДНК прямо залежить від ступеня розчинності цієї солі, що пояснює залежність утворення текстур від концентрації солі у вихідному розчині. Відсутність текстур у випадку солі LiCl пов'язана з її надзвичайно високою розчинністю.

Отже, в роботі показано, що іони металів, взаємодіючи з фосфатними групами остова ДНК, формують навколо подвійної спіралі динамічну впорядковану структуру, подібну до ґратки іонного кристала (іон-фосфатну ґратку).

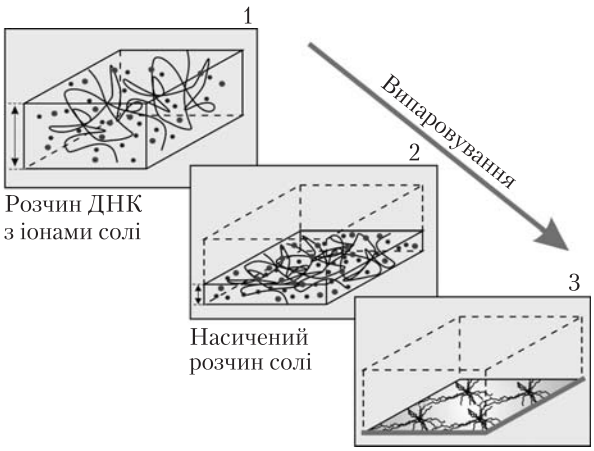

Рис. 8. Формування текстур у плівці ДНК

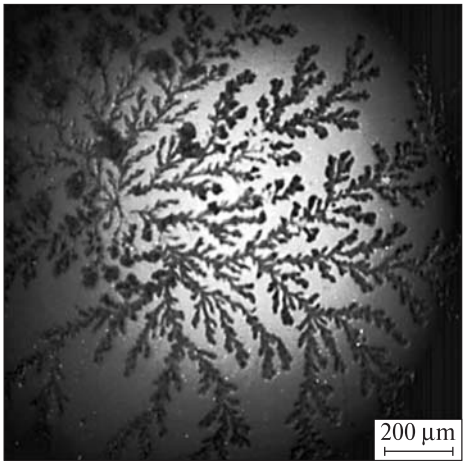

Рис. 9. Текстури у плівці ДНК з сіллю CsCl [22]

Коливання зарядів іон-фосфатної ґратки спостерігаються в низькочастотному діапазоні спектра (<200 $см^{-1}$) і залежать від типу протиіонів. Упорядкування протиіонів навколо подвійної спіралі ДНК у вигляді динамічної іон-фосфатної ґратки в концентрованих сольових розчинах приводить до формування ДНК-сольових комплексів, які після висушування розчину утворюють на поверхні текстури. Одержані результати є важливими як для розуміння ролі іонів металів у стабілізації подвійної спіралі ДНК, так і для розроблення медико-біологічних тестових систем на основі ДНК.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Watson J.D., Crick F.H.C.* A structure of deoxyribose nucleic acid // Nature. — 1953. — V. 171. — P. 737—738.
2. *Wilkins M.H.F., Stokes A.R., Wilson H.R.* Molecular structure of deoxypentose nucleic acid // Nature. — 1953. — V. 171. — P. 738—740.
3. *Franklin R.E., Gosling R.G.* Molecular configuration in sodium thymonucleate // Nature. — 1953. — V. 171. — P. 740—741.
4. *Perepelytsya S.M., Volkov S.N.* Ion mode in the DNA low-frequency vibration spectra // Ukr. J. Phys. — 2004. — V. 49, N 11. — P. 1072—1077.
5. *Perepelytsya S.M., Volkov S.N.* Counterion vibrations in the DNA low-frequency spectra // Eur. Phys. J. E. — 2007. — V. 24. — P. 261—269.
6. *Perepelytsya S.M., Volkov S.N.* Conformational vibrations of DNA with counterions in cross-stranded position // Ukr. J. Phys. — 2010. — V. 55. — P. 1182—1188.
7. *Perepelytsya S.M., Volkov S.N.* Conformational vibrations of ionic lattice in DNA: Manifestation in the low-frequency Raman spectra // J. Mol. Liq. — 2011. — V. 164. — P. 113—119.
8. *Perepelytsya S.M., Volkov S.N.* Vibrations of ordered counterions around left- and right-handed DNA double helix // J. Phys: Conf. Series. — 2013. — V. 438. — P. 012013.
9. *Perepelytsya S.M., Volkov S.N.* Dynamics of ion-phosphate lattice of DNA in left-handed the double helix form // Ukr. J. Phys. — 2013. — V. 58. — P. 554—561.
10. *Киттель Ч.* Введение в физику твердого тела. — М.: Физматлит, 1963. — 696 с.
11. *Волков С.Н., Косевич А.М.* О конформационных колебаниях ДНК // Молекулярная биология. — 1987. — Т. 21. — С. 797—806.
12. *Volkov S.N., Kosevich A.M.* Theory of low-frequency vibrations in DNA macromolecules // J. Biomolec. Struct. Dyn. — 1991. — V. 8. — P. 1069—1083.
13. *Волков С.Н.* Конформационная зависимость низкочастотных колебаний макромолекулы ДНК // Биополимеры и клетка. — 1991. — Т. 7, № 1. — С. 40—49.
14. *Powell J.W., Edwards G.S., Genzel L. et al.* Investigation of far-infrared vibrational modes in polynucleotides // Phys. Rev. A. — 1987. — V. 35, N 9. — P. 3929—3939.
15. *Urabe H., Kato M., Tominaga Y., Kajiwara K.* Counterion dependence of water of hydration in DNA gel // J. Chem. Phys. — 1990. — V. 92, N 1. — P. 76—774.
16. *Weidlich T., Lindsay S.M., Rui Q. et al.* A Raman study of low frequency interhelical modes in A-, B-, and C- DNA// J. Biomolec. Struct. Dyn. — 1990. — V. 8, N 1. — P. 139—171.
17. *Weidlich T., Powell J.W., Genzel L., Rupprecht A.* Counerion effects on the Far-IR vibrational spectra of poly(rI) poly(rC) // Biopolymers. — 1990. — V. 30. — P. 477—480.
18. *Bulavin L.A., Volkov S.N., Kutuvy S.Yu., Perepelytsya S.M.* Observation of the DNA ion-phosphate vibrations. — arXiv:0805.0696v1. (Доп. НАН України. — 2007. — № 10. — С. 69—73).
19. *Булавін Л.А., Актан О.Ю., Забашта Ю.Ф. та ін.* Медична фізика. — Т. 2. Експеримент в медичній фізиці. — К.: Київський університет, 2011. — 312 с.
20. *Перепелиця С.М., Волков С.Н.* Інтенсивності смуг низькочастотного спектру КР ДНК з легкими та важкими протиіонами // Біофізич. вісн. — 2009. — Т. 23(2). — С. 5—19.
21. *Perepelytsya S.M., Volkov S.N.* Intensities of DNA ion-phosphate modes in low-frequency Raman spectra // Eur. Phys. J. E. — 2010. — V. 31. — P. 201—206.
22. *Perepelytsya S.M., Glibitskiy G.M., Volkov S.N.* Texture formation in DNA films with alkali metal chlorides // Biopolymers. — 2013. — V. 99, N 6. — P. 508—516.
23. *Тарасевич Ю.Ю.* Механизмы и модели дегидратационной самоорганизации биологических жидкостей // УФН. — 2004. — Т. 174. — С. 779—790.
24. *Glibitskiy G.M.* Na-DNA films with ions of metals // Biophys. Bull. — 2008. — V. 21(2). — P. 29—34.

С.Н. Перепелица

Институт теоретической физики им. Н.Н. Боголюбова
Национальной академии наук Украины
ул. Метрологическая, 14-б, Киев, 03680, Украина

ДИНАМИЧЕСКОЕ УПОРЯДОЧЕНИЕ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ ВОКРУГ ДВОЙНОЙ СПИРАЛИ ДНК

Исследована система двойной спирали ДНК с ионами металлов, которые нейтрализуют отрицательно заряженные фосфатные группы остова макромолекулы. Показано, что ионы металлов могут формировать динамическую упорядоченную структуру вдоль остова ДНК, наподобие решетки ионного кристалла (ион-фосфатную решетку). Найдены специфические моды колебаний ион-фосфатной решетки и показано, что они находятся в низкочастотном диапазоне колебательного спектра ДНК (<200 $см^{-1}$). В рамках подхода динамического упорядочения ионов вокруг ДНК объяснена роль ионов соли в формировании фрактальных структур, наблюдаемых на поверхности после высушивания водных растворов ДНК с солями хлоридов щелочных металлов.

***Ключевые слова*:** ДНК, противоионы, решетка, конформационные колебания, низкочастотный спектр, текстура.

S.M. Perepelytsya

Bogolyubov Institute for Theoretical Physics
of the National Academy of Sciences of Ukraine
14-b Metrologichna Str., Kyiv, 03680, Ukraine

DYNAMICAL ORDERING OF METAL IONS AROUND DNA DOUBLE HELIX

DNA double helix with the ions of metals that neutralize the negatively charged phosphate groups of the macromolecule backbone has been studied. The results have been shown that metal ions may form a dynamical ordered structure along DNA, resembling to the lattice of ionic crystal (ion-phosphate lattice). The specific vibrational modes of DNA ion-phosphate lattice have been found and their frequencies have been shown to be in the low-frequency spectra range (< 200 cm^{-1}). The role of salts of alkali metal chlorides in the formation of fractal structures, observed on a surface after evaporation of aqueous solutions of DNA, has been explained within the framework of developed approach of dynamical ordering of ions around DNA.

***Keywords*:** DNA, counterions, lattice, conformational vibrations, low-frequency spectra, texture.