

ВЛИЯНИЕ ЕДИНИЧНЫХ ЗАМЕН ПРОТИЯ НА ДЕЙТЕРИЙ В МОЛЕКУЛЕ ДНК НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ОТКРЫТЫХ СОСТОЯНИЙ

© 2018 г. С.С. Джимаков*, А.А. Свидлов*, А.А. Басов* **,
М.Г. Барышев*, М.И. Дроботенко*

*Кубанский государственный университет, 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, 149

E-mail: jimack@mail.ru

**Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ, 350063, Краснодар, ул. Седина, 4

E-mail: son_sunytch79@mail.ru

Поступила в редакцию 19.02.18 г.

После доработки 10.04.18 г.

Представлены данные математического моделирования возникновения открытых состояний между азотистыми основаниями в гене *D. melanogaster* при замещении атома протия на дейтерий. Установлено, что в физиологическом диапазоне концентраций дейтерия замены протия на дейтерий увеличивают вероятность разрыва связи между комплементарными азотистыми основаниями на 0,22–0,60%, что отражает его способность замедлять скорость считывания генетической информации в процессах транскрипции. В условиях, ослабляющих силу межспиральных водородных связей в молекуле ДНК, замена атома протия на дейтерий увеличивает частоту возникновения открытых состояний, увеличивая вероятность модификации азотистых оснований при воздействии повреждающих факторов внешней среды.

Ключевые слова: дейтерий, изотопный обмен, ген *D. melanogaster*, математическое моделирование открытых состояний ДНК.

DOI: 10.1134/S0006302918040026

Возникновение открытых состояний в молекуле ДНК является облигатным условием, обеспечивающим ее функциональную активность, в том числе облегчающим специфические межмолекулярные ДНК-белковые взаимодействия в процессе транскрипции, фолдинга и репликации. Учитывая, что значительная часть ДНК в эукариотической клетке находится в конденсированном состоянии и связана с гистонами, исследование ее молекулярной динамики *in vivo* существенно затруднено, поэтому целесообразным представляется изучение открытых состояний в молекуле ДНК с помощью математического моделирования [1,2]. Последнее удобно для аналитического исследования, так как позволяет изучать ДНК в значительно более длительные временные периоды по сравнению с ее молекулярной динамикой *in vivo*.

При этом необходимо учитывать, что возникновение открытого состояния прежде всего инициируется разрывом водородных связей в комплементарных азотистых основаниях, способных наряду или во взаимодействии с другими нековалентными факторами, стабилизи-

рующими пространственную структуру ДНК (стэкинг, перенос заряда π -сопряженной системой, пространственная суперспирализация), приводить к формированию участков денатурации в ее молекуле [3]. При этом необходимо учитывать, что участки открывания ДНК, обусловленные разрывом водородных связей, могут существенно отличаться по длине, особенно для определенных последовательностей азотистых оснований, поэтому именно математическое моделирование помогает не только наиболее эффективно оценивать риск возникновения открытых состояний для различных генов и разных генотипов, но и одновременно производить поиск стабильных последовательностей пар азотистых оснований и участков, в большей мере подверженных процессу денатурации [4,5].

Кроме того, особую актуальность исследования молекулярной динамики ДНК можно обосновать также тем, что именно возникающие участки с различными по длине открытыми состояниями в первую очередь могут инициировать, например, переходы типа «спираль–клу-

бок» с частичным сбросом суперспирализованного напряжения (или иные этапы фолдинга), а также изотопный обмен (в том числе D/H-ротацию) или окислительную модификацию азотистых оснований, что в целом играет ключевую роль при активном функционировании ДНК, а также ее репарации после воздействия неблагоприятных факторов, или же, в свою очередь, являться пусковым механизмом в процессах онко- и мутагенеза [6,7]. Помимо вышперечисленного, математические расчеты кинетических показателей открытых состояний в зависимости от величины энергии внешних воздействий представляются достаточно важным еще и потому, что открытые состояния могут значительно отличаться термодинамическими свойствами в зависимости от первичной структуры участка молекулы ДНК, вида самого открытого состояния, а также особенностей взаимодействия различных открытых состояний между собой, что изменяет их энергетические показатели в широком интервале [8]. Следует понимать, что в таких условиях внедрение в молекулу ДНК даже одного дейтрона способно приводить к изменению термодинамических характеристик не только в месте непосредственного внедрения *in situ*, но и на отдаленных участках, что достаточно сложно оценить традиционными методами молекулярной биологии [9–12]. Кроме того, в исследованиях последних лет показано, что снижение концентрации дейтерия ниже природного уровня также оказывает существенное влияние на метаболические процессы [13–15], и это важно учитывать при моделировании биологических процессов в условиях непрерывного D/H-обмена.

Целью работы являлось исследование возникновения открытых состояний в гене *D. melanogaster* между азотистыми основаниями двухцепочечной молекулы ДНК в зависимости от концентрации дейтерия в окружающей ее жидкой среде.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Для моделирования процессов расплетения двойной спирали ДНК и образования открытых состояний будем использовать математическую модель, описывающую вращательное движение азотистых оснований вокруг сахаро-фосфатной цепочки молекулы ДНК. При построении такой модели используется аналогия между молекулой ДНК и механической системой, состоящей из двух цепочек взаимосвязанных маятников: вращающимся маятникам соответствуют азотистые основания, а сахаро-фосфатные цепочки молекулы ДНК – упругой нити, к которой

прикреплены эти маятники; водородной связи пары комплементарных азотистых оснований эквивалентна упругая связь соответствующих маятников. Поведение такой механической системы, состоящей из n пар маятников, описывается задачей Коши для системы $2n$ обыкновенных дифференциальных уравнений [16,17].

ВЛИЯНИЕ D/H-ОБМЕНА НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ОТКРЫТЫХ СОСТОЯНИЙ

Влияние D/H-обмена на возникновение открытых состояний характеризуется величиной вероятности их возникновения:

$$P = p_0 P_0 + p_1 P_1 + p_2 P_2 + \dots + p_N P_N, \quad (1)$$

где p_l – вероятность того, что в рассматриваемой молекуле ровно l водородных связей заменены на дейтериевые; P_l – вероятность возникновения открытых состояний в молекуле, у которой ровно l водородных связей заменены на дейтериевые, N – количество водородных связей в молекуле.

Вычисление вероятностей p_l и P_l . Вычислим вначале p_l . Вероятность образования дейтериевой связи p^D в молекуле ДНК зависит от концентрации дейтерия в жидкости, окружающей эту молекулу. Некоторые авторы считают [7], что вероятность p^D численно равна этой концентрации, т.е. $p^D = 1,56 \cdot 10^{-4}$ при концентрации дейтерия, равной 156 ppm.

Считая, что образование новой дейтериевой связи в молекуле ДНК не зависит от наличия и расположения других дейтериевых связей в этой молекуле, получим:

$$p_0 = (1 - p^D)^N, \quad p_1 = N p^D (1 - p^D)^{N-1}.$$

Вероятности P_l найдем на основе численного решения задачи для молекулы, у которой ровно l водородных связей заменены на дейтериевые. Для этого построим на отрезке $[0, T]$ множество точек $t_j = j\tau$, $j = \overline{1, m}$, где $\tau = T/m$. При $t = t_j$ отношение q_j количества открытых пар оснований к общему количеству пар оснований n и среднее арифметическое по точкам t_j значение этих отношений $Q = m^{-1}(\sum_{j=1}^m q_j)$.

Считая, что вероятности возникновения в молекуле различных комбинаций l дейтериевых связей одинаковы, получили, что вероятность P_l возникновения открытых состояний на промежутке времени $[0, T]$ в молекуле, у которой ровно l водородных связей заменены на дейтериевые, равна Q_l – среднему арифметическому значению величин Q по всем возможным комбинациям l дейтериевых связей.

Значения P_0 , P_1 и P_0/P_1 , вычисленные при $T = 1,0 \cdot 10^{-10}$ с, $\tau = 0,001 \cdot 10^{-10}$ с для различных значений $E_{кр}^H$

$E_{кр}^H \cdot 10^{-22}$ Н·м	P_0	P_1	P_0/P_1
0,200	0,0605637	0,0601351	1,00712
0,220	0,0481479	0,0485409	0,99190
0,240	0,0358297	0,0360817	0,99301
0,260	0,0297244	0,0298044	0,99731
0,280	0,0217019	0,0220847	0,98266
0,300	0,0146827	0,0145950	1,00600
0,320	0,0077185	0,0077013	1,00223

Учет D/H-обмена. Будем считать, что замена протия, образующего водородную связь в парах оснований, на дейтерий изменяет ее величину в k^D раз. Таким образом, значение величины, характеризующей упругие свойства водородной связи в паре А–Т, будет принимать значения k_{12} , если обе связи образованы протием, $k_{12}(k^D + 1)/2$ и $k_{12}k^D$, если одна или две связи образованы дейтерием. Соответственно в паре С–G эта величина будет принимать значения k_{12} , если все три связи образованы протием, $k_{12}(k^D + 2)/3$, $k_{12}(2k^D + 1)/3$ и $k_{12}k^D$, если одна, две или три связи образованы дейтерием.

Пусть $E_{кр}^H$ – критическое значение потенциальной энергии, превышение которого приводит к разрыву в паре оснований со всеми протиевыми связями; тогда критическое значение для пары, в которой хотя бы одна протиевая связь заменена дейтериевой, будем принимать равным $E_{кр}^D = k^D E_{кр}^H$.

Изменением массы (а значит, и момента инерции) азотистых оснований, к которым приводит замена протия, образующего водородную связь в парах оснований, на дейтерий будем пренебрегать. Значение коэффициента $k^D = 1,05$ выбиралось с учетом того, что дейтериевая связь на 5% прочнее водородной [7,18,19].

Влияние на возникновение открытых состояний единичных замен протия на дейтерий. Для ДНК дрозофилы $n = 5000$ [20], количество водородных связей $N = 12256$, по две в паре А–Т, по три в паре С–G, значения коэффициентов уравнений, описывающих поведение рассматриваемой механической системы, взяты из работы [16], внешнее периодическое воздействие описывается функцией $F_0 \cos \omega t$, где $F_0 = 0,526 \cdot 10^{-22}$ Дж, $\omega = 0,4 \cdot 10^{12}$ с⁻¹ (данные также взяты из работы [16]).

При $p^D = 1,56 \cdot 10^{-4}$ значения $p_0 \approx 0,147772$, $p_1 \approx 0,282575$, $p_2 + p_3 + \dots + p_N \approx 0,569653$. Большое количество комбинаций дейтериевых связей при $l \geq 2$ требует значительных вычислительных ресурсов для вычисления величин P_l . Поэтому, несмотря на то, что вероятность $p_2 + p_3 + \dots + p_N$ образования в молекуле ДНК дрозофилы более одной дейтериевой связи $\approx 0,569653$, мы ограничимся рассмотрением влияния на возникновение открытых состояний единичных замен протия на дейтерий.

В таблице приведены значения P_0 , P_1 , P_0/P_1 , вычисленные при $T = 1,0 \cdot 10^{-10}$ с, $\tau = 0,001 \cdot 10^{-10}$ с для различных значений $E_{кр}^H$. Видно, что вероятности P_0 и P_1 монотонно убывают с ростом энергии разрыва $E_{кр}^H$. Изменение величины P_0/P_1 показывает, что даже единичные замены протия на дейтерий влияют на вероятность возникновения открытых состояний, как уменьшая, так и увеличивая ее для различных значений $E_{кр}^H$.

Из таблицы видно, что вероятность P_0 возникновения открытых состояний в молекуле ДНК, у которой все связи протиевые, нелинейно зависит от значений энергии разрыва $E_{кр}^H$. При этом наличие атома дейтерия увеличивает вероятность разрыва связи между комплементарными азотистыми основаниями на 0,22–0,60%, что подтверждает влияние единичных замен протия на дейтерий на изменение вероятности возникновения открытых состояний в молекуле ДНК.

Таким образом, математическое моделирование возникновения открытых состояний в молекуле ДНК позволяет прогнозировать резистентность генома к воздействию повреждающих факторов различной интенсивности, в том

числе влияние сверхнизких концентраций дейтерия на генетический аппарат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В физиологическом диапазоне атом дейтерия увеличивает вероятность разрыва связи между комплементарными азотистыми основаниями на 0,22–0,60%, что отражает его способность замедлять скорость считывания генетической информации в процессах транскрипции, сужая при персистентном воздействии в течение клеточного цикла низкоинтенсивного неблагоприятного фактора диапазон регуляторных механизмов и приводя к снижению адаптационного потенциала у клетки.

В то же время при возникновении условий, ослабляющих силу межспиральных водородных связей в молекуле ДНК, наличие атома дейтерия увеличивает частоту возникновения открытых состояний, повышая, таким образом, риск мутаций за счет большей доступности азотистых оснований к повреждающим воздействиям неблагоприятных внешних факторов. Последнее подтверждает возможность возрастания частоты спонтанных мутаций, опосредованных влиянием атомов дейтерия на молекулярную динамику двухцепочечной ДНК, что может играть существенную роль в процессе эволюции живых организмов. Полученные результаты также показывают неравноценность отдельных термодинамических/кинетических эффектов, связанных с заменой дейтерия на протий в молекуле ДНК, что указывает на способность реакций D/H-обмена регулировать скорость жизненно важных процессов биологически активных систем (например, считывание генетической информации). Таким образом, не исключается вероятность наличия у живых организмов особых механизмов различного уровня организации, осуществляющих долговременную адаптацию к выраженным колебаниям D/H-соотношения в окружающей среде.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МК-3359.2017.4, Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-41-230117), государственного задания Министерства образования и науки РФ (проект № 6.5882.2017/БЧ).

ект № 16-41-230117), государственного задания Министерства образования и науки РФ (проект № 6.5882.2017/БЧ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. P. J. Murray, B. Cornelissen, K. A. Vallis, and S. J. Chapman, *J. Roy. Soc. Interface* **13** (114), 20150679 (2016).
2. L. Yakushevich, *J. Biol. Phys.* **43**, 113 (2017).
3. А. С. Шигаев, О. А. Пономарёв и В. Д. Лахно, *Математическая биология и биоинформатика* **8** (2), 553 (2013).
4. B. Essevoz-Ruulet, U. Bockelmann, and F. Heslot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 11935 (1997).
5. U. Bockelmann, Ph. Thomen, B. Essevoz-Roulet, et al., *Biophys. J.* **82**, 1537 (2002).
6. D. Coman and I. M. Russu, *Biophys. J.* **89**, 3285 (2005).
7. V. N. Parmon, *Herald of the Russian Academy of Sciences* **85** (2), 170 (2015).
8. K. V. Shaitan, *Biophysics* **62** (1), (2017).
9. В. Н. Лобышев и Л. П. Калининченко, *Изотопные эффекты D₂O в биологических системах* (Наука, М., 1978).
10. L. G. Pedersen, L. Bartolotti, and L. Li, *J. Theor. Biol.* **238**, 914 (2006).
11. M. S. Shchepinov, *Rej. Res.* **10**, 47 (2007).
12. А. В. Косенков, В. И. Лобышев, М. В. Гуляев и др., *Актуальные вопросы биологической физики и химии* **2** (1), 120 (2017).
13. R. Rehakova, J. Klimentova, M. Cebova, et al., *Physiol. Res.* **65** (3), S401 (2016).
14. A. A. Kirkina, V. I. Lobyshev, O. D. Lopina, et al., *Biophysics* **59** (2), 326 (2014).
15. S. S. Dzhimak, A. A. Basov, N. N. Volchenko, et al., *Dokl. Biochem. Biophys.* **476**, 323 (2017).
16. L. V. Yakushevich and L. A. Krasnobaeva, *Biophysics* **61** (2), 241 (2016).
17. М. И. Дроботенко, С. С. Джимаков, А. А. Свидлов и др., *Биофизика* **63** (2), 258 (2018)
18. S. M. Pershin, E. Sh. Ismailov, M. M. Dibirova, et al., *Dokl. Biochem. Biophys.* **476**, 299 (2017).
19. H. L. Schmidt, R. J. Robins, and R. A. Werner, *Isotopes in Environmental and Health Studies* **51** (1), 155 (2015).
20. <http://www.discoveryandinnovation.com/bioinformatics/results/Szauter/1049B07.html>.

Influence of Single Replacements of Protium by Deuterium in DNA Molecule on Frequency of the Occurrence of the Open States

S.S. Dzhimak*, A.A. Svidlov*, A.A. Basov* **, M.G. Baryshev* and M.I. Drobotenko*

**Kuban State University, ul. Stavropolskaya 149, Krasnodar, 350040 Russia*

***Kuban State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, ul. Sedina 4, Krasnodar, 350063 Russia*

This paper presents data for mathematical modeling of the occurrence of the open states between nitrogenous bases in the *D. melanogaster* gene when the protium atom is replaced by deuterium. It has been established that in a physiological range of the deuterium concentrations, replacements of protium by deuterium increase the probability of a bond breaking between complementary nitrogen bases by 0.22–0.60%. This points to the fact that deuterium is able to slow down reading of the genetic information in transcription processes, whereas under conditions that weaken the strength of interspiral hydrogen bonds in DNA molecule, the replacement of the protium atom by deuterium enhances the frequency of the onset of open states, increasing the probability of modification of nitrogenous bases under the influence of damaging factors of external environment.

Keywords: deuterium, isotopic exchange, D. melanogaster gene, mathematical modeling of the open states of DNA