

МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ: МЕХАНИЧЕСКИЕ ВОЗМУЩЕНИЯ СТРУКТУРЫ ДНК

Нечипуренко Ю. Д., Полозов Р. В., Нечипуренко Д. Ю.,
Ильичева И. А., Воробьев Е. А., Гроховский С. Л.,
Гурский Г. В.

(Россия, Москва и Пушкино)

В основании явления регуляции экспрессии генов лежит связывание лигандов с ДНК. В ряде случаев между адсорбированными лигандами существуют кооперативные взаимодействия. Связывание лигандов влияет на конформацию ДНК, и это влияние распространяется на протяженные участки ДНК, превышающие размер лиганда. Такие возмущения структуры ДНК могут быть сопряжены с механическими напряжениями, которые возникают при экспрессии генов. В данной работе продемонстрирован простой подход, позволяющий моделировать конформационные возмущения в ДНК, на которой адсорбированы лиганды.

Введение. В живой клетке ДНК находится в форме комплексов с различными белками и низкомолекулярными лигандами и связывание одних лигандов может влиять на связывание других. Эти взаимодействия могут иметь механическую природу. Экспериментальные модельные системы позволяют исследовать механические возмущения, возникающие в ДНК. Таким примером является система, в которой механические возмущения создаются при помощи воздействия на ДНК ультразвука [1]. Представляет интерес построение теоретических моделей, которые связывали бы адсорбцию лигандов с конформационной механикой ДНК.

Влияние связывания лигандов на состояние молекулы ДНК. Молекула ДНК может претерпевать механические искаже-

ния при связывании с лигандами. Протяженный лиганд при связывании на полимере закрывает несколько реакционных центров ДНК, делая их недоступными для других молекул лиганда. Между адсорбированными лигандами наблюдаются кооперативные взаимодействия, обусловленные механическими искажениями в ДНК. Взаимодействия между ближайшими соседними адсорбированными лигандами были рассмотрены в работе [2], где введен в рассмотрение потенциал, описывающий такие взаимодействия. На рис. 1 показан пример такого потенциала — в случае, когда энергия взаимодействия между ближайшими соседними адсорбированными лигандами постоянна и распространяется на расстояние в пять звеньев полимера.

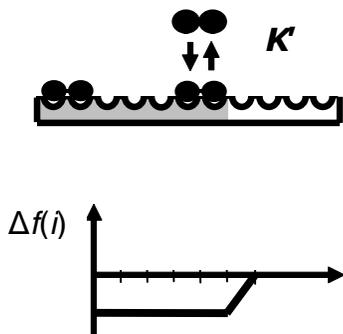


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая взаимодействие между лигандами. Вверху показана молекула ДНК. Связывание первого лиганда на ДНК (показан слева) происходит с константой K . В результате участок ДНК переходит в возмущенное состояние. Связывание последующего лиганда на расстоянии, меньше чем 6 пар нуклеотидов, характеризуется константой K' . Внизу показан потенциал с прямоугольной ямой $\Delta f(i)$, описывающий взаимодействия между лигандами, адсорбированными на ДНК

Для объяснения кооперативных взаимодействий между аналогами антибиотика дистамицина А, адсорбированными на ДНК, в работе [2] предложена следующая модель: связывание лиганда инициирует переход участка ДНК определенной длины в возму-

возмущенное состояние (рис. 1). Связывание первого лиганда на ДНК происходит с константой K , а связывание каждого последующего лиганда на расстоянии, меньшем чем l , от одного из адсорбированных лигандов происходит с одной и той же константой K' . Такая модель позволяет описать с единой точки зрения связывание лиганда как с искусственными полимерами, так и с природными [2,3].

Механические возмущения в днк. Многие белки, связываясь с днк, инициируют изгибы, изломы или другие, более мягкие, конформационные возмущения канонической структуры в-формы днк. Действия таких белковых комплексов, как рнк-полимераза, является примером «молекулярных машин» [4,5], которые движутся вдоль днк и искажают ее структуру. Определенные механические напряжения хроматина возникают в процессе эмбриогенеза и определяют паттерны экспрессии генов [6].

Возмущения структуры ДНК могут иметь причиной механические воздействия. Такие воздействия могут быть промоделированы при помощи ультразвукового облучения растворов ДНК. Облучение растворов ультразвуком сопровождается кавитационными эффектами. Образуются пузырьки, схлопывание которых приводит к появлению потоков воды, скорости которых составляют около 300 м/сек [7]. Известно, что под воздействием этих потоков в молекуле ДНК образуются дунитевые разрывы. Размеры пузырьков и соответственно размеры потоков воды были оценены в ряде экспериментов [8]. Характерные размеры таких потоков составляют величину 0,1 мкм, что значительно превышает диаметр молекулы ДНК. Можно ожидать, что по отношению к возмущающему потоку ДНК ведет себя как одномерная структура. Для моделирования распространения возмущений вдоль молекулы ДНК можно использовать модель струны.

Оценить натяжение такой модельной струны может помочь представление о самонапряженных конструкциях. Такие конструкции широко распространены в биологии [9]. Характерным их свойством является то, что одна часть конструкции создает на-

пряжение, направленное на уменьшение их размера, а другая противодействует им. В ДНК «элементами конструкции», которые растягивают структуру, являются заряды. В воде заряды на фосфатных группах ДНК частично компенсированы противоионами, однако существуют диполи, которые в двойной спирали ДНК оказываются сближенными в пространстве. Расчеты дипольных моментов пар оснований показывают, что GC пара обладает значительным дипольным моментом (около 10 дебай), на порядок большим, чем AT пара [10]. Неоднородность электростатических полей молекулы ДНК может «чувствоваться на расстоянии» регуляторными белками, и, например, существуют данные в пользу того, что поиск промотора РНК-полимеразой определяется в значительной степени электростатическими взаимодействиями между белком и ДНК [11].

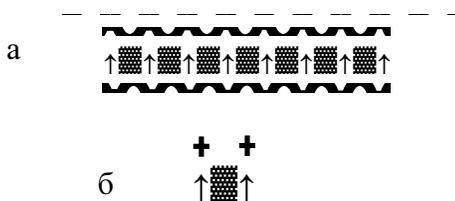


Рис. 2 Представление ДНК в виде самонапряженной конструкции.

а) Молекула ДНК показана схематически: стрелки обозначают дипольные моменты, мелкие решетки соответствуют невалентным взаимодействиям между парами оснований. б) Одноименные заряды ближайших соседних диполей отталкиваются, невалентные взаимодействия компенсируют это отталкивание, в результате чего возникает напряжение.

В гомополимере poly dG poly dC две последовательные пары оснований имеют диполи, повернутые друг относительно друга на 36° , такие диполи будут отталкиваться. Силы отталкивания компенсируются невалентными (ван-дер-ваальсовыми и стэкинг) взаимодействиями между парами оснований. Можно считать, что в гомополимере poly dG poly dC существует определенное напряжение. По-видимому, такое напряжение существует в любой молекуле ДНК, и в зависимости от последовательности те или

иные участки структуры ДНК напряжены в большей или меньшей степени. На рис. 2 ДНК схематически представлена в виде линейной самонапряженной конструкции.

Оценки дипольных неоднородностей и соответствующих им неоднородностей в напряжении ДНК могут помочь проанализировать результаты экспериментов по разрезанию ДНК ультразвуком. Было показано, что разрезание специфично к последовательности нуклеотидов [1].

Моделирование распространения возмущения в ДНК.

Молекула днк обладает определенной упругостью, и, чтобы изучить механические напряжения в днк, мы воспользуемся самой простой моделью – моделью идеальной струны. Эта простая модель позволит нам увидеть некоторые режимы распространения механических возмущений в молекуле днк. Мы полагаем, что такие режимы могут быть аналогичны механическим напряжениям, которые могут наблюдаться в процессах регуляции экспрессии генов на реальных молекулах днк.

Динамика поперечных колебаний идеальной струны определяется стандартным гиперболическим уравнением:

$$\frac{\partial^2 U}{\partial t^2} = \frac{F}{\rho(x)} \frac{\partial^2 U}{\partial x^2} + g(x,t), \quad (1)$$

где $U(x,t)$ – поперечное отклонение струны на расстоянии x от конца струны в момент времени t , F — натяжение струны, $\rho(x)$ — линейная плотность, $g(x,t)$ – удельная внешняя сила, действующая на струну. Величина $\frac{F}{\rho(x)} = c^2$, где c – скорость распространения возмущения в ДНК.

Мы изучили динамику поведения струны со свободными концами в ответ на кратковременное внешнее воздействие, приложенное к центральной части струны. Так как движение струны анализировалось для времен, меньших чем время распространения начального возмущения до концов струны, то граничные ус-

ловия не влияют на полученный результат. Жесткость струны определяет увеличение ее масштаба при записи волнового уравнения (1); точке x на растянутой струне соответствует точка $x \frac{k}{F+k}$ на нерастянутой струне, где k – коэффициент жесткости.

Потенциальную энергию элемента струны в любой момент можно вычислить, зная жесткость струны.

Рассмотрим случай, когда на ДНК связан протяженный лиганд. Этому случаю будет соответствовать ступенчатая неоднородность $\rho(x)$: $\rho(x) = \rho_0$ ($0 \leq x < 0,70$ и $x > 0,80$) и $\rho(x) = 2 \rho_0$ ($0,70 \leq x \leq 0,80$), где полная длина струны принята за 1. Эта ситуация может моделировать наличие на ДНК адсорбированного лиганда, который увеличивает массу сегмента ДНК в месте связывания в два раза.

Начальное возмущение было выбрано экспоненциальным как по времени, так и по координате:

$$g(x,t) = A \exp\{-(at^2 + (x-x_0)^2/b)\}, \quad (2)$$

где A , a b – численные параметры. Динамика струны отслеживалась численно с использованием стандартной разностной схемы. Для оценки значения натяжения молекулы ДНК рассматривалась модель, в которой натяжение обусловлено отталкиванием между дипольными моментами ближайших соседних в последовательности пар оснований ДНК [10]. Оценки дают значение величины $F = 10^{-9}$ ньютона для двух GC пар. Для poly dG poly dC величина $\rho_0 = 10^{-14}$ кг/м. Таким образом, параметр $c^2 = 10^5$ м²/с². Этому значению соответствует скорость распространения возмущения в ДНК $c = 300$ м/с. Скорость распространения возмущения в модельной струне примерно равна скорости движения потоков воды, вызванных кавитационным схлопыванием пузырьков под действием ультразвука.

На рис. 3а показаны величины поперечных смещений струны для двух моментов времени, а на рис 3б — значения потенциальной энергии струны для этих же моментов.

В начальные моменты времени струна быстро принимает форму возмущения (см. рис. 3а). При этом потенциальная энергия сосредоточена на границах между возмущённой и ещё не возмущённой частями (см. рис. 3б).

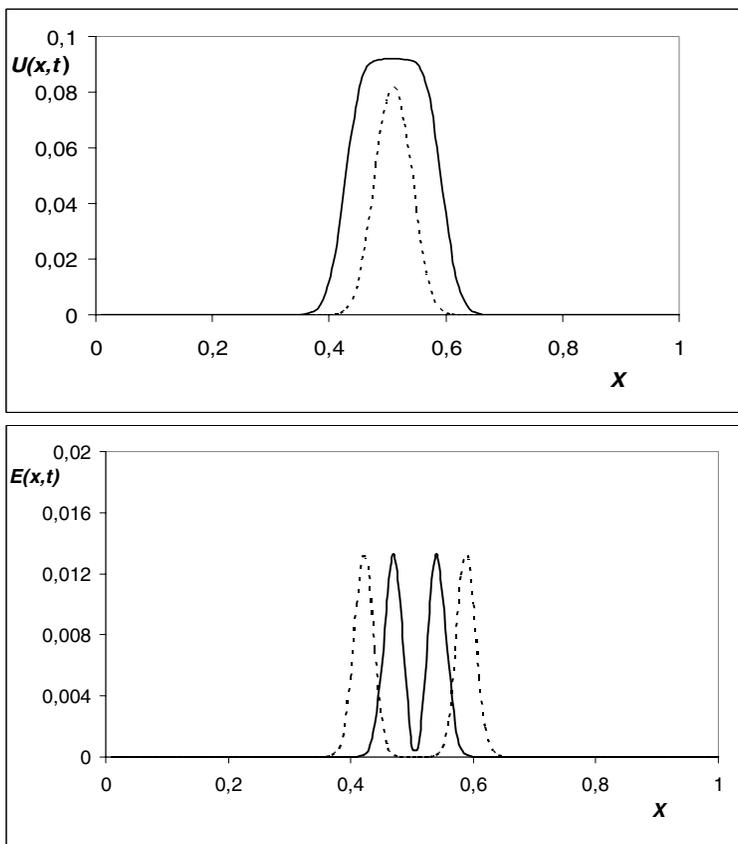


Рис. 3. Графики, соответствующие возмущениям струны в два момента времени, когда возмущение еще не дошло до неоднородности. Вверху показаны значения отклонений $U(x, t)$ (в условных единицах) для двух моментов времени, внизу – относительные значения потенциальной энергии $E(x, t)$ (в условных единицах) для тех же моментов времени

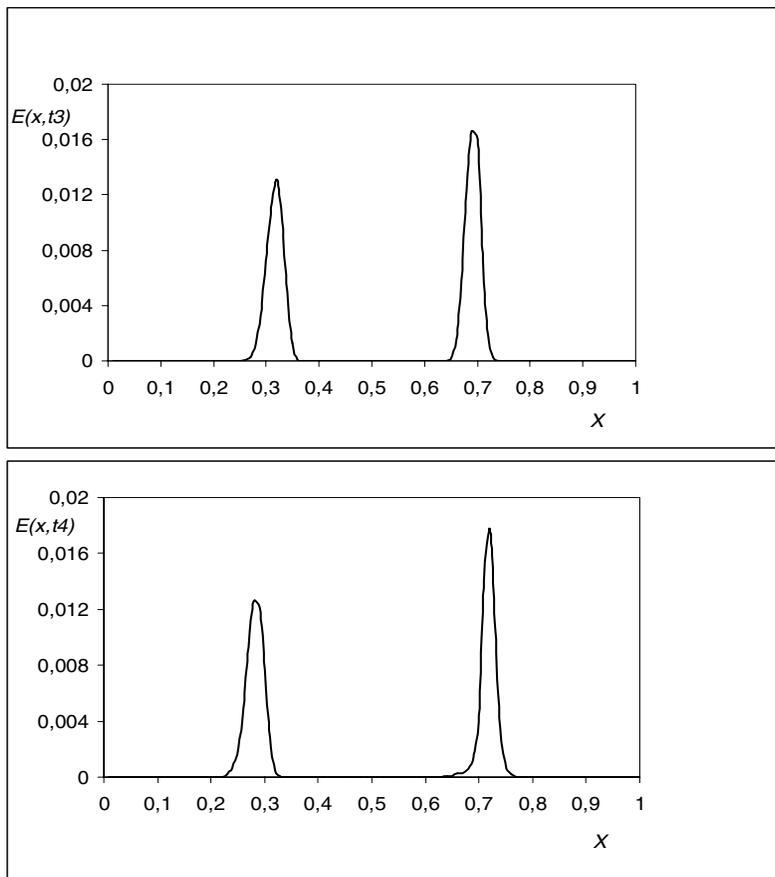


Рис. 4. Графики, соответствующие возмущениям струны в два момента времени. Вверху показаны значения потенциальной энергии $E(x, t)$ для моментов времени, когда возмущение достигает неоднородности (t_3) и проходит через нее (t_4)

На рис. 4 показано, как меняется картина, когда возмущение доходит до неоднородности. Здесь происходит частичное отражение волны как от переднего, так и от заднего края неоднородности.

родности. На границе неоднородности, благодаря этому, происходит накопление потенциальной энергии.

При этом энергия растяжения сосредотачивается у переднего края неоднородности. Увеличение энергии на границе неоднородности (рис. 4) позволяет объяснить полученный в работе [1] результат, что разрывы в ДНК, покрытой адсорбированными лигандами, при облучении ее ультразвуком проходят на границах мест связывания лигандов.

Заключение. Полученные нами результаты позволяют качественно представить конформационную механику ДНК, покрытой протяженными лигандами, при воздействии возмущающего механического воздействия. Таким образом, для описания регуляции экспрессии генов наряду с подходами статистической термодинамики [12] могут быть использованы модели электромеханических возмущений в ДНК.

Расчеты проводились с помощью стандартного пакета программ Матлаб 7.0.

Работа была выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ (проекты №04-03-33144 и №04-04-49364) и программы Президиума РАН по молекулярной и клеточной биологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гроховский С.Л. Специфичность расщепления ДНК ультразвуком // Мол биология, 2006. — Т.40. — С. 317–325.
2. Krylov A.S., Grokhovsky S.L., Zasedatelev A.S., Zhuze A.L., Gursky G.V., Gottikh B.P. // Nucleic Acids. Res., 1978. — V.6. — P.289–304.
3. Нечипуренко Ю.Д., Крылов А.С., Заседателев А.С., Гурский Г.В. Взаимодействия между аналогами антибиотика Дистамицина А, адсорбированными на ДНК. Молекулярная биология, 1984. — Т.18. — С. 332–342.
4. Чернавский Д.С., Чернавская Н.М. «Белок – машина» Биологические макромолекулярные конструкции. — Москва: Янус-К, 1999. — 200 с.

5. Bustamante C. Of torques, forces, and protein machines // *Protein Sci.* — 2004. — V.13. — P. 3061–3065.
6. Stein G.S. Mechanogenomic Control of DNA Exposure and Sequestration // *American Journal of Pathology*. 2005. V.166. P. 959-962.
7. Маргулис М.А. Основы звукохимии — Москва: Высшая школа, 1984. — 43 с.
8. Lee J, Ashokkumar M., Kentish S., Grieser F. Determination of the size distribution of sonoluminescence bubbles in a pulsed acoustic field // *Journal of American Chemical Society*. — 2005. — V.127. — P. 16810–16811.
9. Ingber D.E. Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks // *Journal of Cell Science* 2003. — V.116. — P.1397–1408.
10. Polozov R.V., Kuznetsov D.A., Tumanyan V.G., Esipova N.G. Electostatics of DNA. New dipole model. // *Modelling and Computer Methods in Molecular Biology and Genetics* Nova Science Publishers Inc., N. Y. 1992. — P. 97–102.
11. Polozov R.V., Dzhelyadin T.R., Sorokin A.A., Ivanova N.N., Sivozhelezov V.S., Kamzolova S.G. Electrostatic potentials of DNA. Comparative analysis of promoter and nonpromoter nucleotide sequences. // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1999. — V.16. — P. 1135–1143.
12. Нечипуренко Ю.Д., Гурский Г.В. Термодинамические модели связывания лигандов с ДНК. // *Биофизика*, 2003. — Т.48. — С. 773–796.

**MATHEMATICAL MODELS OF GENE ACTIVITY
REGULATION PROCESSES: MECHANICAL
PERTURBATIONS OF DNA STRUCTURE**

**Nechipurenko Yu. D., Polozov R. V., Nechipurenko D. Yu.,
Il'icheva I. A., Vorobiov E. A., Grokhovsky S. L., Gursky G. V.**

(Russia, Moscow and Pushino)

Binding of proteins and low molecular weight ligands to DNA play a fundamental role in processes of gene activity regulation. Binding of a protein to DNA can be coupled with DNA conformation changes which can be transmitted over great distances extending outside the DNA region immediately covered by a bound ligand. The perturbed DNA structures and even DNA cleavage can induced by mechanical tensions. Electromechanical perturbations of DNA structure is a widespread phenomenon which may play a fundamental role in processes of gene activity regulation. A simple approach is developed to describe electromechanical perturbations of DNA in complexes with large ligands, as revealed from recent studies on effects of ultrasound irradiation on DNA complexes with sequence specific binding ligands.