

**Національна академія наук України
Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова**

Здоревський Олексій Олександрович

УДК 539.199; 577.323

**Конкурентна взаємодія молекул пероксиду водню та
води з центрами впізнавання макромолекули ДНК**

01.04.02 — теоретична фізика

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фізико-математичних наук

Київ — 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України.

Науковий керівник: доктор фізико-математичних наук, старший науковий співробітник
Волков Сергій Наумович,
Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України, головний науковий співробітник.

Офіційні опоненти: член-кореспондент НАПН України, доктор фізико-математичних наук, професор
Чалий Олександр Васильович,
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, зав. кафедри медичної і біологічної фізики та інформатики;
доктор фізико-математичних наук, старший науковий співробітник
Шестопалова Ганна Вікторівна,
Інститут радіофізики та електроніки ім. О.Я. Усикова НАН України, зав. відділом біологічної фізики.

Захист відбудеться «27» _____ ЛЮТОГО 2020 р. об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.191.01 Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України за адресою: 03143 м. Київ, вул. Метрологічна, 14б.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України.

Автореферат розісланий «23» _____ СІЧНЯ 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.191.01,
доктор фізико-математичних наук

Кузьмичев В. Є.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Вплив середовища на структуру та функціонування біологічних макромолекул є фундаментальною проблемою в дослідженнях фізичних властивостей біологічних систем. Взаємодія біологічних молекул з молекулами середовища визначає механізми ключових біологічних процесів збереження та передачі генетичної інформації. Структура ДНК у вигляді подвійної спіралі утворюється у фізіологічних умовах в середовищі живої клітини та стабілізується молекулами води та протионами. Від структури розчину залежить форма подвійної спіралі, наявність механічних напружень в її структурі, правильність та послідовність зчитування генетичної інформації. Під час онкологічних захворювань процеси передачі інформації в клітині відбуваються неконтрольовано, що призводить до утворення та росту пухлин.

Одним із найбільш перспективних методів лікування онкологічних захворювань є іонна терапія, де на спеціальних прискорювачах відбувається опромінювання пацієнтів пучками важких іонів з енергіями ~ 100 МеВ. Побудовано велику кількість спеціалізованих ядерних центрів, де проводиться лікування методом іонної терапії. Проте конкретного фізичного механізму деактивації ракових клітин у методі іонної терапії ще не визначено. Відповідно, ефективність цього методу залишається недостатньо високою.

Дослідження процесу радіолізу води, що має місце під час іонної терапії, показують, що на біологічних часах життя серед усіх продуктів радіолізу найбільшу концентрацію мають молекули пероксиду водню (H_2O_2). Але визначенню ролі цих молекул в іонній терапії достатньої уваги не приділялося. У дисертації за допомогою комп'ютерного моделювання досліджено взаємодію молекул H_2O_2 з активними центрами макромолекули ДНК та запропоновано новий механізм деактивації ракових клітин під час іонної терапії. Він полягає в тому, що молекула пероксиду водню може утворити стійкий комплекс з активними центрами ДНК, і тим самим заблокувати процеси передачі генетичної інформації в ракових клітинах. Дослідження даного процесу на молекулярному рівні, а саме, моделювання зв'язування молекули пероксиду водню з активними атомними групами ДНК, повинно суттєво поглибити розуміння фізичних процесів, що відбуваються під час іонної терапії, і, як наслідок, підвищити ефективність та зменшити ресурсоемність такого лікування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження за темою дисертації проводились згідно з планом науково-дослідних робіт відділу теорії нелінійних процесів у конденсованих середовищах Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України в рамках фундаментальних держбюджетних НДР: 'Особливості механічних, електронних та магнітних процесів у низьковимірних системах на наномасштабах' (0116U003192); 'Комп'ютерне моделювання структури та динаміки ДНК в різних зовнішніх умовах' (0117U003429); 'Моделювання конкурентного зв'язування молекул води і пероксиду водню з атомними групами ДНК' (0118U000662).

Мета і задачі дослідження. Метою роботи було встановлення можливості блокування молекулами пероксиду водню, які в суттєвій кількості виникають під час іонної терапії, активних центрів макромолекули ДНК ракових клітин.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі основні задачі:

1. Провести аналіз експериментальних даних та теоретичних розрахунків процесу радіолізу води і встановити співвідношення молекулярних фрагментів, що виникають у середовищі на фізіологічних часових масштабах.
2. Показати, що методи атом-атомних потенціальних функцій та квантової механіки молекул можуть бути використані для розрахунку енергій взаємодії та просторової конфігурації комплексів молекули пероксиду з активними центрами подвійної спіралі ДНК. Проаналізувати, як врахування ефектів середовища впливає на отримані результати. Методом квантової механіки молекул розрахувати спектр коливальних мод молекули пероксиду водню.
3. Розрахувати енергію та структуру комплексів фосфатної групи ДНК з молекулою пероксиду водню та порівняти з відповідними комплексами з молекулою води.
4. Визначити атомні групи нуклеїнових основ ДНК, які є суттєво більш енергетично вигідними для утворення комплексів з молекулою пероксиду водню, ніж із молекулою води. Знайти просторові конфігурації пар нуклеїнових основ, стабілізованих молекулою пероксиду водню та порівняти з відповідними комплексами з молекулою води.
5. Визначити можливість появи 'привідкритих' та 'розтягнутих' конфігурацій пар основ, стабілізованих молекулами пероксиду водню, на траєкторії розкриття макромолекули ДНК під дією зовнішньої сили. Показати, що поява таких станів може призводити до зростання сили розкриття подвійної спіралі.
6. Показати можливість експериментальної перевірки взаємодії молекул пероксиду водню з макромолекулою ДНК. Визначити імовірні параметри процесу розкриття стабілізованих пероксидом пар основ ДНК у методі мікрomanipування структурою подвійної спіралі.

Об'єкт дослідження. Об'єктом дослідження є взаємодія молекули пероксиду водню з атомними групами макромолекули ДНК.

Предмет дослідження. Предметом дослідження є комплекси центрів неспецифічного та специфічного впізнавання макромолекули ДНК із молекулами пероксиду водню та води.

Методи дослідження. Методи комп'ютерного моделювання, що використані в даній роботі, включають методи атом-атомних потенціальних функцій та квантової механіки молекул.

Наукова новизна одержаних результатів. В рамках дисертаційної роботи отримано наступні оригінальні наукові результати.

1. Запропоновано новий механізм деактивації ракових клітин в процесі іонної терапії - блокування процесів передачі генетичної інформації молекулами пероксиду водню.

2. Вперше досліджено взаємодію молекул пероксиду водню з центрами неспецифічного (фосфатні групи остову) та специфічного (нуклеїнові основи) впізнання подвійної спіралі ДНК.
3. Знайдено комплекси фосфатної групи ДНК з молекулою пероксиду водню, які є більш стабільними та більш довгоживучими, ніж аналогічні комплекси з молекулою води.
4. Визначено атомні групи нуклеїнових основ ДНК, з якими молекула пероксиду водню зв'язується суттєво краще за молекулу води.
5. Знайдено просторові конфігурації пар нуклеїнових основ, стабілізованих молекулами пероксиду водню, які можуть спостерігатися на експерименті з послідовного розкриття пар нуклеїнових основ ДНК за допомогою методів мікроманіпулювання.
6. Запропоновано метод експериментальної перевірки можливості блокування молекулами пероксиду водню процесу послідовного розкриття пар нуклеїнових основ макромолекули ДНК під дією зовнішньої сили.

Практичне значення одержаних результатів. Запропонований у даній роботі молекулярний механізм деактивації ДНК ракових клітин в процесі терапії онкологічних захворювань пучками важких іонів дозволяє підвищити ефективність лікування методами іонної терапії.

Особистий внесок здобувача. Автором дисертаційної роботи самостійно проведено аналіз наукової літератури, методом атом-атомних потенціальних функцій проведено розрахунок енергій взаємодії та структури комплексів молекул води та пероксиду водню з фосфатною групою остову ДНК, з нуклеїновими основами (Аденіном, Тиміном, Гуаніном та Цитозином), а також з парами нуклеїнових основ (Аденін-Тимін та Гуанін-Цитозин). Автором особисто здійснено інтерпретацію попередніх результатів та сформульовано попередні висновки. Разом з науковим керівником д.ф.-м.н. Волковим С.Н. були визначені мета, задачі роботи та способи їх вирішення, здійснено інтерпретацію отриманих результатів та зроблено остаточні висновки. В опублікованих спільно зі співавторами працях особистий внесок здобувача полягає в наступному: у роботах [1, 2] проведено комп'ютерне моделювання та проаналізовано отримані результати; в роботах [3, 4] здійснено розрахунок енергій взаємодії молекул пероксиду водню та води з нуклеїновими основами та парами основ методом атом-атомних потенціальних функцій та сформульовано висновки; в роботі [5] проведено аналіз літератури, здійснено комп'ютерні розрахунки розкриття пар основ А-Т та G-C за різними сценаріями, оцінено середню силу розкриття А-Т- та G-C-вмісного гомополімеру.

Апробація роботи. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на таких міжнародних та відчизняних конференціях:

- D.V. Piatnytskyi, O.O. Zdorevskyi, S.M. Perepelytsya, S.N. Volkov «Creation of stable complexes of DNA double helix with hydrogen peroxide», VI Young scientists conference 'Problems of Theoretical Physics', Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, 13-15 December (2014);

- O.Zdorevskiy, S. N. Volkov «About the possible scenario of the DNA unzipping process», VII Young scientists conference ‘Problems of Theoretical Physics’, Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, 13-15 December (2016);
- O. Zdorevskiy, S.N. Volkov «The mechanism of DNA deactivation by hydrogen peroxide action», 13th Greta Pifat Mrzljak International School of Biophysics, Split, Croatia, 1-10 September (2016);
- O. Zdorevskiy, S.N. Volkov «Role of water and hydrogen peroxide molecules in nucleic base pairs stabilization», VIII Young scientists conference ‘Problems of Theoretical Physics’ Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, 12-14 December (2017);
- О. Здоревський, С.Н. Волков «Два сценарії процесу анзіпінгу подвійної спіралі ДНК», 17-а Всеукраїнська школа-семінар та Конкурс молодих вчених зі статистичної фізики та теорії конденсованої речовини, Львів, Україна, 8-9 червня (2017);
- O. Zdorevskiy, S.N. Volkov «Possible scenarios of DNA unzipping process», 19th IUPAB and 11th EBSA congress, Edinburgh, Scotland, 16-20 July (2017);
- O.Zdorevskiy, D.V.Piatnytskyi, S.N.Volkov «Blocking of DNA sites of specific recognition by hydrogen peroxide molecules in the process of ion beam therapy», IX Young scientists conference ‘Problems of Theoretical Physics’, Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, 4-5 December (2018);
- O.Zdorevskiy, S.N.Volkov «Competitive interaction of water and hydrogen peroxide molecules with specific DNA recognition sites», 14th Greta Pifat Mrzljak International School of Biophysics, Split, Croatia, 23 August - 1 September (2018);
- O.Zdorevskiy, D.V.Piatnytskyi, S.N.Volkov «Competitive interaction of hydrogen peroxide and water molecules with specific DNA recognition sites», Final AMMODIT Conference ‘Mathematics for Life Sciences’, Kyiv, Ukraine, 18-22 March (2019);
- O.Zdorevskiy, S.N.Volkov «The Possibility of blocking the process of DNA base pairs opening by hydrogen peroxide», X International Conference for Professionals and Young Scientists ‘Low Temperature Physics 2019’ in memory of B.Verkin for his 100th birthday anniversary, 3-7 June (2019);
- O.Zdorevskiy, D. Piatnytskyi, S.N. Volkov «Competitive interaction of hydrogen peroxide and water molecules with specific DNA recognition sites in the process of ion beam therapy», Joint 12th EBSA 10th ICBP-IUPAP biophysics congress, Madrid, 20-24 July (2019).

Публікації. Основні результати дисертації опубліковано у 5 статтях у провідних фізичних журналах [1—5] та 11 тезах доповідей на вітчизняних та міжнародних конференціях [6—16].

Структура дисертаційної роботи. Дисертаційна робота складається зі вступу, 5 розділів, висновків, переліку використаних літературних джерел та додатків. Повний обсяг дисертації складає 119 сторінок, дисертація містить 26 рисунків та 15 таблиць, 10 з яких займають окремі сторінки. Список використаних джерел складається зі 107 найменувань та займає 12 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ

Вступ. У вступі обґрунтована актуальність обраної теми, сформульовані мета та задачі дослідження, показана наукова та практична цінність отриманих результатів.

Розділ 1. У першому розділі наведено огляд літературних даних з дослідження фізичних механізмів проходження пучка важких іонів через біологічне середовище. Відомо, що крива енергетичних втрат важких іонів, в залежності від відстані проникнення в середовище, досягає максимуму під кінець пробігу іонів (формується так-званий пік Брегга). Цей ефект описується формулою Бете-Блоха, яка в нерелятивістському наближенні має вигляд:

$$-\frac{dE}{dx} = \frac{4\pi Z^2 e^4 N_e}{m_e V^2} \ln\left(\frac{V^3}{\bar{\omega} Z e^2}\right), \quad (1)$$

де Z - заряд налітаючих іонів, V - швидкість налітаючих іонів, N_e - концентрація електронів на атомах середовища, $\bar{\omega}$ - середня частота обертання електронів на атомних орбітах, e - заряд електрона, m_e - маса електрона. З (1) видно, що енергетичні втрати не залежать від маси налітаючих іонів, а лише від їх заряду та швидкості.

Явище формування піку Брегга робить метод лікування онкологічних захворювань пучками важких іонів особливо ефективним для опромінення утворень, що знаходяться на достатньо великій відстані (~ 10 см) від поверхні організму. В роботі проведено аналіз процесів радіолізу води під дією важких іонів. Результати аналізу показали, що в середовищі клітини виникає велика кількість додаткових продуктів, таких як: електрони (e^-), вільні радикали ($\text{HO}\cdot, \text{H}\cdot, \text{HO}\cdot$), іони ($\text{OH}^-, \text{H}_3\text{O}^+$), а також молекулярні продукти ($\text{H}_2, \text{H}_2\text{O}_2$).

В роботі проаналізовано загальновідомі фізичні механізми деактивації ДНК ракових клітин під дією важких іонів. Вважається, що основним із них є розриви хімічних зв'язків остову макромолекули ДНК під дією вторинних електронів та вільних радикалів. Проте, зараз добре відомо, що існують потужні механізми репарації одноланцюжкових розривів остову ДНК в клітині. В той же час, імовірність дволанцюжкових розривів, що не підлягають репарації, є вкрай низькою. В зв'язку з цим, реалізація даного процесу як основного механізму іонної терапії залишається під питанням.

У дисертації запропоновано механізм деактивації ДНК ракових клітин молекулами пероксиду водню. Він полягає у тому, що молекули пероксиду можуть утворити певні стійкі комплекси з атомними групами подвійної спіралі ДНК, заблокувавши тим самим процеси нуклеїново-білкового впізнавання. Оскільки молекули пероксиду водню та води мають схожу просторову структуру, вони можуть конкурувати в розчині за місця зв'язування з ДНК. Для того, щоб перевірити коректність запропонованого механізму деактивації ракових клітин, в даній роботі розраховано енергії взаємодії та просторові конфігурації комплексів молекули пероксиду

водню з активними центрами макромолекули ДНК. Одержані результати порівняно з аналогічними комплексами з молекулою води.

Розділ 2. У Розділі 2 описано методи комп'ютерних розрахунків, що використовуються в дисертаційній роботі. Цими методами є методи атом-атомних потенціалних функцій та квантової механіки молекул.

В рамках методу атом-атомних потенціалних функцій (AAPF), енергія міжмолекулярної взаємодії складається з енергій водневих зв'язків, ван-дер-Ваальсових та кулонівських взаємодій:

$$E(r) = \sum_{i,j} (E_{vdW}(r_{ij}) + E_{HB}(r_{ij}) + E_{Coul}(r_{ij})). \quad (2)$$

Ван-дер-Ваальсова взаємодія описується потенціалом Леннарда-Джонса '6-12':

$$E_{vdW}(r_{ij}) = -\frac{A_{ij}}{r_{ij}^6} + \frac{B_{ij}}{r_{ij}^{12}}, \quad (3)$$

де r_{ij} - відстань між атомами i та j , A_{ij} , B_{ij} - параметри ван-дер-Ваальсової взаємодії між атомами i та j .

Енергія водневого зв'язку між атомами i та j моделюється модифікованим потенціалом Леннарда-Джонса '10-12':

$$E_{HB}(r_{ij}) = \left[-\frac{A_{ij}^{(10)}}{r_{ij}^{10}} + \frac{B_{ij}^{(10)}}{r_{ij}^{12}} \right] \cos \varphi, \quad (4)$$

де $A_{ij}^{(10)}$, $B_{ij}^{(10)}$ - параметри водневого зв'язку між атомами i та j , φ - кут водневого зв'язку.

Кулонівська взаємодія описується електростатичним потенціалом:

$$E_{Coul}(r_{ij}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon(r_{ij})} \frac{q_i q_j}{r_{ij}}, \quad (5)$$

де q_i та q_j - заряди атомів i та j , розташованих на відстані r_{ij} , ϵ_0 - діелектрична проникність вакууму, а $\epsilon(r)$ - діелектрична проникність середовища.

Оскільки ДНК у живій клітині знаходиться в водно-іонному розчині, атоми, які взаємодіють, оточені молекулами води. Це призводить до послаблення кулонівської взаємодії між атомами, що знаходяться на далеких відстанях один відносно одного. Таким чином, ми враховуємо залежність діелектричної проникності від відстані ($\epsilon(r)$) у явному вигляді:

$$\epsilon(r) = 78 - 77 (r_p)^2 \frac{e^{r_p}}{(e^{r_p} - 1)^2}, \quad (6)$$

де $r_p = r/2.5$. При невеликих відстанях $\epsilon(r) \approx 1$, а при збільшенні r $\epsilon(r) \rightarrow 80$, що відповідає значенню діелектричної проникності водного середовища. Метод атом-атомних потенціалних функцій з використанням залежності (6) позначено

як ААРFh. В рамках методу атом-атомних потенціальних функцій, всі хімічні зв'язки, а також валентні та двогранні кути є фіксованими.

В рамках квантово-механічного підходу для молекулярного комплексу шукається розв'язок стаціонарного рівняння Шредінгера. В дисертаційній роботі для розв'язку цього рівняння застосовується теорія функціоналу густини з 3-параметричним функціоналом Беке (B3LYP). Розрахунки проводяться в базисі B3LYP/6-311+G(d,p). Для обчислень використовується програмний пакет GAUSSIAN.

В рамках методу квантової механіки молекул, енергією взаємодії вважається різниця між енергією молекулярного комплексу XY та його компонентів X і Y :

$$\Delta E_{XY} = E_{XY}(XY) - E_X(X) - E_Y(Y). \quad (7)$$

В дужках вказано базис молекулярного комплексу XY (димер-центрований базисний набір) і ізолюваних молекул X і Y (мономерно-центровані базисні набори). Для запобігання перекриття базисів було розраховано поправку на перекриття (counterpoise correction):

$$\Delta E_{XY}^{CP} = E_{XY}(XY) - E_X(XY) - E_Y(XY). \quad (8)$$

В рамках даного підходу вважається, що всі молекулярні складові розглянутих комплексів є жорсткими структурами, окрім молекул води та пероксиду водню. Враховується деформація валентного та двогранного кутів молекул H_2O_2 та H_2O відповідно. У зв'язку з цим, для молекул H_2O та H_2O_2 розраховано енергії деформації. Енергією деформації є різниця оптимізованих енергій молекули у складі комплексу та молекули в ізолюваному стані:

$$E_{def} = E_{complex} - E_{isolated}. \quad (9)$$

Звідси випливає, що повна енергія взаємодії комплексу описується формулою:

$$\Delta E_{complete} = \Delta E^{CP} + E_{def}. \quad (10)$$

Розрахунок енергії взаємодії в окремих комплексах було додатково проведено з урахуванням неявного водного оточення. Дані ефекти розраховано за допомогою моделі поляризованого континууму (Polarizable continuum model - PCM).

Методом квантової механіки молекул здійснено розрахунок оптимізованих просторових структур молекул пероксиду водню та води в газовій фазі та з використанням РСМ-моделі. Результати показали, що врахування ефектів середовища суттєво знижує значення двогранного кута молекули, що збігається з експериментальними даними. Присутність молекул H_2O_2 в розчині може бути виявлена шляхом реєстрації мод з частотами $\sim 400 - 3800 \text{ cm}^{-1}$ у коливальних спектрах. У зв'язку з цим, було розраховано спектри інфрачервоного поглинання та комбінаційного розсіяння молекули пероксиду водню у газовій фазі. Отримані значення за порядком величини узгоджуються з експериментальними даними.

Для того, щоб встановити правильність обраних параметрів, здійснено розрахунок енергій простих комплексів, що складаються з молекул пероксиду водню та води, з'єднаних одним водневим зв'язком. Показано узгодження енергій взаємодії та просторових конфігурацій комплексів для різних використовуваних методів між собою, а також із результатами квантово-механічних розрахунків, наведеними в інших роботах. Також обчислено конфігурацію гідратної оболонки молекули H_2O_2 ('кластер') пероксиду. Для цього, методом атом-атомних потенціальних функцій розраховано оптимізовану просторову структуру комплексу, що складається з молекули пероксиду водню, оточеної шістьма молекулами води. Знайдено розмір 'кластеру', що дорівнює $\approx 7 \text{ \AA}$. Показано, що молекула H_2O_2 разом зі своєю гідратною оболонкою може заходити в великий жолоб В-форми або в малий жолоб А-форми ДНК.

Розділ 3. У даному розділі розглянуто конкурентну взаємодію молекул пероксиду водню та води із центрами неспецифічного нуклеїново-білкового впізнавання - фосфатними групами ДНК (PO_4^-). В силу того, що фосфатні групи є складовою частиною остову макромолекули ДНК та мають два заряджені атоми кисню, вони є особливо 'привабливими' для взаємодії з молекулами середовища. Відомо, що в середовищі клітини, поряд із молекулами води, міститься значна концентрація протиіонів. У зв'язку з цим, в даному розділі додатково розглянуто комплекси фосфатної групи з молекулами пероксиду водню та води в присутності протиіону. Розрахунки здійснено методами атом-атомних потенціальних функцій та квантової механіки молекул. Для врахування впливу ефектів середовища також виконано обчислення з використанням методів AAPFh та PCM.

В результаті розрахунків, знайдено комплекси, в яких молекула пероксиду водню взаємодіє з фосфатною групою суттєво краще, ніж молекула води. Енергетична перевага має місце для комплексів як в присутності протиіона (Рис. 1а), так і без нього (Рис. 1б). Відповідна різниця енергій для комплексів з молекулою пероксиду водню та води наведена в Табл. 1.

Табл. 1

Різниця енергій взаємодії ($\Delta E = |E_{\text{H}_2\text{O}_2-\text{PO}_4^-} - |E_{\text{H}_2\text{O}-\text{PO}_4^-}|$) між комплексами молекул H_2O_2 та H_2O з групою PO_4^- , а також з групою PO_4^- в присутності протиіона Na^+ . Енергії наведені в ккал/моль.

Метод	ΔE	
	PO_4^-	$\text{PO}_4^- + \text{Na}^+$
AAPFh	0.7	---
B3LYP-PCM	3.0	0.9

З результатів розрахунків видно, що метод квантової механіки молекул дає суттєво більшу енергетичну перевагу для комплексу PO_4^- порівняно з відповідним комплексом із молекулою води. Це відбувається внаслідок того, що в рамках методу квантової механіки молекул двограний кут молекули H_2O_2 може деформуватися. Це призводить до формування більш прямих та сильних водневих зв'язків (Рис. 1б). Варто також зазначити, що метод квантової механіки молекул дає таку

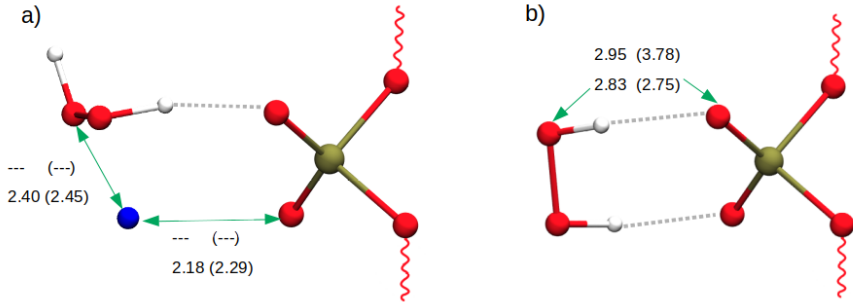


Рис. 1: Комплекси, що складаються з молекули H_2O_2 та групи PO_4^- у присутності протиіону натрію (Na^+) (а), а також без нього (б). Відстані, розраховані за допомогою різних методів, вказано в наступному порядку (зверху вниз): ААРF, ВЗЛР. В дужках наведено значення, отримані з врахуванням розчину (формула (6) у методі ААРFh та РСМ модель у квантово-механічних розрахунках. Значення відстаней наведено в Å.

геометрію комплексу молекули H_2O з групою PO_4^- в присутності іона натрію (Рис. 1а), яку спостерігають в кристалічних структурах експериментально.

Відповідно до теорії Арреніуса, відношення часів життя для комплексів з молекулою води та пероксиду водню має наступний вигляд:

$$\frac{\tau_1}{\tau_2} = \frac{\omega_2}{\omega_1} \exp\left(\frac{E_1 - E_2}{kT}\right) \quad (11)$$

де ω_1, ω_2 - частоти коливань у відповідних комплексах з молекулами пероксиду водню і води; E_1 і E_2 - енергії взаємодії в цих комплексах. Оскільки частота $\omega = \sqrt{\frac{k}{m}}$, і для відповідних комплексів можна вважати, що $k_1 \approx k_2$, то $\frac{\omega_2}{\omega_1} \approx \sqrt{\frac{m_1}{m_2}} \approx \sqrt{2}$. Внаслідок того, що різниця енергій взаємодії у відповідних комплексах $\epsilon \sim 1$ ккал/моль і більше (Табл. 1), отримуємо, що $\tau_1 \gtrsim 7\tau_2$. Це означає, що час життя комплексу з молекулою H_2O_2 є відчутно вищим, ніж відповідного комплексу з молекулою H_2O . Відповідно, молекули пероксиду водню можуть накопичуватися поблизу подвійної спіралі ДНК. У зв'язку з цим, необхідним напрямком подальшого дослідження має бути аналіз взаємодії молекул пероксиду водню із атомними групами макромолекули ДНК, в яких безпосередньо міститься генетична інформація, тобто з нуклеїновими основами.

Розділ 4. У даному розділі розглянуто конкурентну взаємодію молекул пероксиду водню та води з центрами специфічного впізнавання макромолекули ДНК - нуклеїновими основами. В першій частині розділу розглянуто взаємодію з окремими основами (Аденін, Тимін, Гуанін та Цитозин), а в другій частині - одночасно з двома нуклеїновими основами, що утворюють комплементарні пари (А·Т та Г·С). Для розрахунків використано методи ААРFh та ВЗЛР.

Оскільки для розпізнавання конкретної ділянки ДНК ферменту необхідно взаємодіяти з атомними групами цієї ділянки щонайменше двома водневими зв'язками,

в даній частині дослідження розглядаються лише ті комплекси, де молекула пероксиду водню або води утворює з нуклеїною основою два водневі зв'язки.

У випадку Тиміну існують дві ділянки зв'язування з молекулами пероксиду водню та води. Відповідні молекулярні комплекси зображено на Рис. 2. Видно, що молекула пероксиду водню, в силу своєї геометрії, може утворити два водневі зв'язки з Тиміном, в яких беруть участь різні атоми кисню молекули H_2O_2 . В той же час, водневі зв'язки, які утворює молекула води з відповідними атомними групами Тиміну, є суттєво зігнутими, і, відповідно, послабленими. Внаслідок цього досягається енергетична перевага для комплексу з молекулою H_2O_2 по відношенню до комплексу з молекулою води.

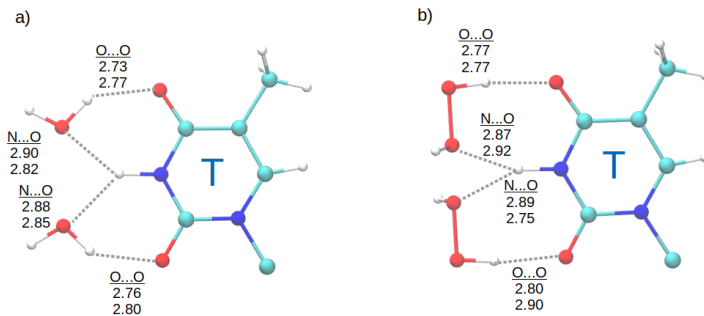


Рис. 2: Розраховані в даній роботі просторові конфігурації комплексів Тиміну з молекулами води (а) та пероксиду водню (б) з утворенням двох водневих зв'язків. Відстані (в Å), розраховані за допомогою різних методів, вказано в наступному порядку (зверху вниз): AAPFh, B3LYP.

В роботі визначено всі атомні групи Аденіну, Тиміну, Гуаніну та Цитозину, з якими молекула пероксиду водню може утворити більш стабільний комплекс, ніж молекула води. Ці ділянки позначено римськими цифрами на Рис. 3. Відповідне значення різниць енергій взаємодії для комплексів з молекулами води та пероксиду водню наведено в Табл. 2. З результатів видно, що обидва обчислювальні методи дають подібні результати. З Рис. 3 можна бачити, що у випадку Тиміну найбільш імовірним є зв'язування молекули пероксиду водню зі сторони комплементарних водневих зв'язків. Для Аденіну і Гуаніну - як з боку великого і малого жолобів, так і з боку комплементарних водневих зв'язків. А для Цитозину - з боку великого жолобу і комплементарних водневих зв'язків.

Як відомо, впізнавання макромолекули ДНК білком може мати місце як із великого, так і з малого жолобів, в залежності від типу ферменту і форми подвійної спіралі. Тому, утворення комплексу нуклеїнової кислоти з молекулою пероксиду водню, яка зв'язується з нуклеїною основою зі сторони великого (Рис. 3, А-I, С-III, G-I) або малого (Рис. 3, А-III, G-IV) жолобів, можуть запобігти впізнаванню цієї основи ферментом і, отже, може вплинути на процес нуклеїново-білкового впізнавання.

Утворення таких самих комплексів з боку комплементарних водневих зв'язків (ТI, Т-II, А-II, СI, С-II, G-II, G-III) може мати місце на стадії процесу транскрипції

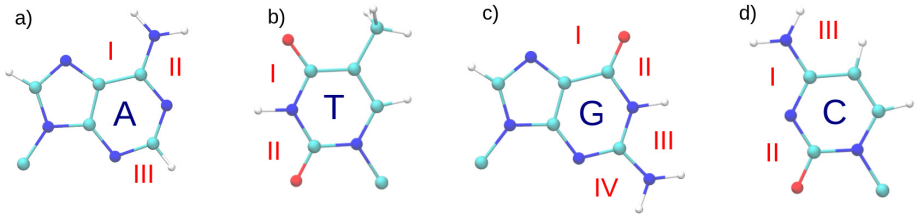


Рис. 3: Схематичне зображення ділянок Аденіну (а), Тиміну (b), Гуаніну (c) і Цитозину (d), де молекула пероксиду водню або води може утворювати стійкий комплекс з відповідною нуклеїновою основою з двома водневими зв'язками. Римські цифри позначають номер ділянки.

ДНК, коли подвійна спіраль вже є розкритою до двох окремих ланцюжків. У цьому випадку енергія блокування нуклеїнової основи молекулою пероксиду водню за порядком величини співпадає з енергією формування комплементарних пар.

Підводячи підсумок, залежно від форми ДНК, взаємодія з нуклеїновими основами ДНК в розчині може відбуватися як зі сторони великого, так і зі сторони малого жолобів. Таким чином, існують ділянки нуклеїнових основ, де взаємодія з пероксидом водню є суттєво більш енергетично вигідною, ніж взаємодія з молекулою води.

Проте відомо, що в подвійній спіралі ДНК нуклеїнові основи перебувають у стані комплементарних пар: Аденін-Тимін та Гуанін-Цитозин. Тому, молекули пероксиду водню можуть взаємодіяти одночасно з двома нуклеїновими основами, що утворюють комплементарну пару. Ця взаємодія може впливати на процес розкриття пар основ макромолекули ДНК, що є ключовим процесом передачі генетичної інформації в живих клітинах. В зв'язку з цим, в роботі проведено розрахунок енергії взаємодії комплексів, що складаються з пар нуклеїнових основ А·Т і G·C з молекулами H_2O_2 та H_2O .

Нуклеїнові основи в комплементарній парі мають багато ступенів вільності, які визначені стандартною номенклатурою. Оскільки пари основ розташовані в подвійній спіралі, їх структура стабілізується стекинг-взаємодією між сусідніми парами. Це суттєво обмежує ті ступені вільності, які виводять основи з площини пари. Відповідно, в даному дослідженні враховуються лише ступені вільності основ у площині пари ('stretch', 'opening', 'shear'). Додатково, внаслідок особливостей просторової структури молекули H_2O_2 , враховується ступінь вільності 'propeller twist' (Рис. 4) .

У даній роботі розглянуто три конфігурації пар нуклеїнових основ з молекулами пероксиду водню та молекулами води. Комплекс, що складається з комплементарних пар А·Т і G·C та молекули пероксиду водню або води, що взаємодіє з основою зі сторони головного жолобу, позначено як 'закритий' ('closed') (Рис. 5 а). Конфігурацію пари, де домінує траєкторія 'opening', позначено як 'привідкритий' ('reopened') (Рис. 5 b) а ту конфігурацію, у якій домінує траєкторія 'stretch', позначено як 'розтягнутий' ('stretched') (Рис. 5 с).

Результати показали, що існують 'привідкриті' та 'розтягнуті' пари нуклеїно-

Різниця енергій взаємодії ($\Delta E = |E_{H_2O_2}| - |E_{H_2O}|$) між комплексами, що складаються з молекул H_2O і H_2O_2 та нуклеїнових основ (Аденін, Тимін, Гуанін, Цитозин), розраховані методами AАPFh і V3LYP. Енергії наведені в ккал/моль. “—” означає, що на цій ділянці не існує мінімуму з двома водневими зв'язками.

Метод	Аденін				Тимін		
	I	II	III	I	II		
AАPFh	2.76	3.57	---	3.72	3.37		
V3LYP	(1.16)	(2.19)	(---)	(1.75)	(1.88)		

Метод	Гуанін				Цитозин		
	I	II	III	IV	I	II	III
AАPFh	0.61	3.57	4.01	---	4.40	---	---
V3LYP	(2.53)	(1.81)	(---)	(2.00)	(1.81)	(---)	(---)

вих основ, що є стабілізованими молекулою пероксиду водню суттєво краще, ніж молекулою води (Рис. 6). Варто зазначити, що геометрія ‘привідкритих’ пар А·Т є майже однаковою для конфігурацій з молекулами H_2O_2 та H_2O . Як видно з отриманих результатів, найбільш суттєва різниця в енергіях взаємодії має місце для ‘розтягнутих’ конфігурацій пар. Тому, можливість блокування ‘розтягнутих’ пар молекулами пероксиду водню є більш імовірною. У цьому випадку, різниця між енергіями розкриття становить $\approx 7 - 8$ ккал/моль (Рис. 6). Це пов’язано з тим, що молекула пероксиду водню завдяки своїй просторовій структурі утворює чотири водневі зв’язки з нуклеїновими основами. При цьому, молекула води утворює три водневі зв’язки, два з яких істотно вигнуті, тобто їх енергія послаблена. Слід також зазначити, що в ‘розтягнутих’ конфігураціях параметр ‘propeller twist’ відіграє суттєву роль. Оскільки в макромолекулі ДНК комплементарні пари основ стабілізовані стекинг-взаємодією, ‘розтягнуті’ конфігурації не можуть виникнути в результаті флуктуаційних коливань структури подвійної спіралі. Утворення таких конфігурацій можливе лише в процесі анзіпінгу ДНК в тій парі основ, яка знаходиться на межі між відкритими та закритими парами (так-звана вилка анзіпінгу, Рис. 7). В цьому випадку, в зазначеній парі з однієї сторони буде відсутня стекинг-взаємодія, що надасть основам додаткові ступені вільності в площині, перпендикулярній до площини пари.

Розділ 5. Метою даного розділу є дослідження процесу розкриття пар основ макромолекули ДНК на масштабах рухів нуклеїнових основ у комплементарній парі. Існують методи мікроманіпулювання окремою молекулою, які дозволяють працювати з біологічними макромолекулами як з окремими системами. За допомогою цих методів стало можливим вивчати такі механічні властивості біополімерів, як розтяг, згин, скручування. Серед них особливий інтерес представляє дослідження процесу послідовного розкриття пар нуклеїнових основ подвійної спіралі ДНК під дією зовнішньої сили (анзіпінг), оскільки він відіграє ключову роль в процесах передачі генетичної інформації.

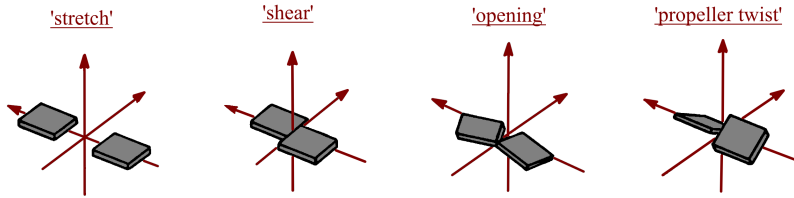


Рис. 4: Основні ступені вільності нуклеїнових основ у комплементарній парі, які були враховані при розрахунках молекулярних комплексів в даній роботі.

В експерименті з анзіпінгу ДНК, подвійну спіраль одним ланцюжком прикріплюють до підкладки, а іншим - до поліестирової кульки, що тримають в оптичній пастці (Рис. 7). При цьому, оскільки частина макромолекули ДНК залишається без впливу дії сили, вона знаходиться в розчині в звичайному 'клубкоподібному' стані. Відповідно, сила, що діє на вилку анзіпінгу, через наявність клубка повинна виконувати роботу двох типів: витягувати дволанцюжкову ДНК (dsDNA) з клубка та розкривати пари основ. Таким чином, сила анзіпінгу повинна мати дві складові: F_x та F_y (Рис. 7).

Найбільш імовірними ступенями вільності нуклеїнових основ для процесу анзіпінгу ДНК є траєкторія 'stretch', коли основи рухаються одна відносно одної вздовж лінії водневих зв'язків, а також траєкторія 'opening', коли пари основ розкриваються в жолоб (Рис. 4). Всі ці рухи можуть призвести до розтягу водневих зв'язків і, відповідно, до розкриття пари основ.

Показано, що внаслідок того, що нуклеїнові основи можуть розкриватися за різними траєкторіями, процес анзіпінгу ДНК може протікати за двома різними сценаріями. В рамках методу атом-атомних потенціальних функцій, обчислюються енергії розкриття пар А-Т та Г-С за відповідними сценаріями. Показано, що під час процесу анзіпінгу ДНК, пари основ можуть розкриватися не лише напряму вздовж водневих зв'язків (сценарій 'stretch'), але, за деяких умов, вони можуть спочатку перейти в деякий 'привідкритий' метастабільний стан, після чого повністю розкритися (сценарій 'stretch after opening'). Результати показали, що енергії розкриття пар основ за сценарієм 'stretch after opening' є значно ближчими до експериментальних, ніж відповідні значення за сценарієм 'stretch' (Табл. 3).

В роботі також зроблено оцінку критичної сили, що відповідає сценарію розкриття 'stretch after opening' для 50%-го А-Т-вмісного гомополімеру: $F_{av} \approx 13$ пкН. Це значення збігається зі значенням, що спостерігається на експериментах з анзіпінгу, проведених методами мікроманіпулювання.

Підсумовуючи все вищезазначене, можна стверджувати, що на траєкторії анзіпінгу можуть виникати 'привідкриті' та 'розтягнуті' стани пар нуклеїнових основ. В попередньому розділі було показано, що ці стани можуть бути стабілізовані молекулами розчину. Якщо до стандартного буферу, в якому проводиться експеримент, додати певну концентрацію молекул пероксиду водню, то у вилці анзіпінгу можлива поява стабілізованих молекулами пероксиду пар. Згідно результатів по-

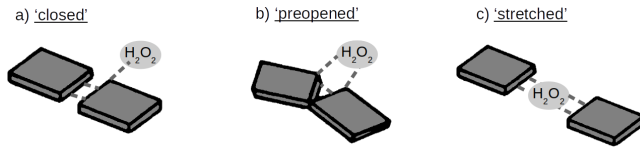


Рис. 5: Комплекси пар нуклеїнових основ з молекулами пероксиду водню, що розглядаються в цій роботі (і повинні виникати на шляху відкриття пар основ макромолекули ДНК): а) 'закрита' ('closed') конфігурація; б) 'привідкрита' ('preopened') конфігурація; в) 'розтягнута' ('stretched') конфігурація.

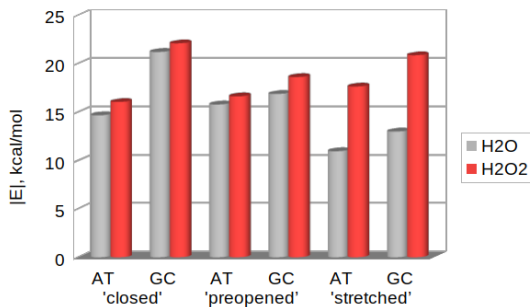


Рис. 6: Діаграма значень енергії взаємодії для комплексів, що складаються з молекул пероксиду водню та води із 'закритою', 'привідкритою' та 'розтягнутою' конфігураціями пар А-Т та Г-С.

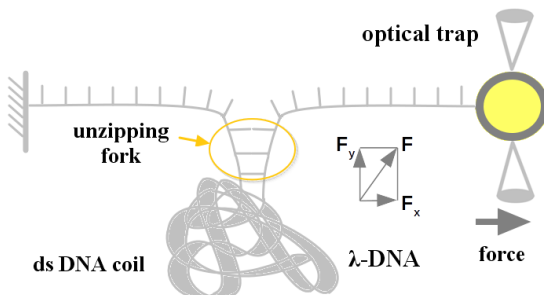


Рис. 7: Схема експерименту з дослідження процесу анзипінгу ДНК, що проводиться методами мікроманіпулювання окремою молекулою. F - сила, що діє на дволанцюжкову ДНК у вилиці анзипінгу. Внаслідок геометричних особливостей експериментальної установки, прикладена сила повинна мати дві складові (F_x та F_y) - прямий розтяг однотажевих ланцюжків ДНК та витягання макромолекули з клубка. Сила прикладена до поліестеролової кульки, якою керує оптичний пінцет.

Порівняння енергій розкриття (в ккал/моль) за сценаріями ‘stretch’ та ‘stretch after opening’, розрахованих в даній роботі, з ентальпіями, які використовуються для опису експерименту з анзіпінгу в рамках мезоскопічної моделі. $\Delta E = |E_{AT} - E_{GC}|$ - різниця в енергіях розкриття пар А·Т та G·C.

	‘stretch’	‘stretch after opening’	мезоскопічна модель
E_{AT}	-9.72	-7.72	-7.70
E_{GC}	-15.82	-9.30	-9.02
ΔE	6.10	1.58	2.02

переднього розділу, енергії розкриття ‘привідкритих’ та ‘розтягнутих’ конфігурацій пар, стабілізованих молекулами пероксиду водню, є більшими, ніж відповідних конфігурацій, стабілізованих молекулами води (Рис. 6). Відповідно, згідно нашого дослідження, присутність в розчині молекул пероксиду водню повинно призвести до зростання значення сили розкриття, що вимірюють на експерименті.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі досліджено конкурентну взаємодію молекул пероксиду водню та води із центрами неспецифічного та специфічного впізнавання макромолекули ДНК. Основні результати роботи можна підсумувати наступним чином:

1. Запропоновано новий механізм блокування активності ДНК молекулами пероксиду водню.
2. Показано, що методи атом-атомних потенціальних функцій та квантової механіки молекул, дають близькі результати, які також узгоджуються з відповідними результатами попередніх робіт для розрахунків енергії взаємодії та геометрії комплексів, що складаються з молекул води та пероксиду водню.
3. В результаті проведених розрахунків показано, що комплекси атомів фосфатної групи ДНК з молекулою пероксиду водню є більш стабільними, ніж аналогічні комплекси з молекулою води.
4. Визначено атомні групи нуклеїнових основ ДНК, які є більш енергетично вигідними для утворення комплексів з молекулою пероксиду водню, ніж із молекулою води. Знайдено просторові конфігурації пар нуклеїнових основ, стабілізованих молекулою пероксиду водню суттєво краще, ніж молекулою води.
5. Показано можливість появи ‘привідкритих’ та ‘розтягнутих’ станів на траєкторії анзіпінгу. Стабілізація таких станів молекулами пероксиду водню повинна призвести до зростання сили розкриття подвійної спіралі.
6. Запропонований метод експериментальної перевірки взаємодії молекул пероксиду водню з макромолекулою ДНК. Він полягає в проведенні експериментів з анзіпінгу методами мікрomanipулювання за присутності певної концентрації молекул пероксиду водню.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ РОБОТИ

- [1] 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», *The European Physical Journal D* **69**, p. 255 (2015).
- [2] D. Piatnytskyi, O. Zdorevskyi, S. Perepelytsya, and S. Volkov, «Formation of complexes of hydrogen peroxide molecules with DNA», *Ukrainian journal of physics* **61**, pp. 219–225 (2016).
- [3] O. Zdorevskyi, D. Piatnytskyi, and S. Volkov, «Blocking of DNA specific recognition sites by hydrogen peroxide molecules in the process of ion beam therapy of cancer cells», *Dopov. nac. akad. nauk. Ukr.*, pp. 82–89 (2019).
- [4] O. Zdorevskyi and S. Volkov, «The possibility of blocking the process of DNA base pairs opening by hydrogen peroxide», *Ukrainian journal of physics* **64**, pp. 500–508 (2019).
- [5] O. Zdorevskyi and S. N. Volkov, «Possible scenarios of DNA double-helix unzipping process in single-molecule manipulation experiments», *European Biophysics Journal* **47**, pp. 917–924 (2018).
- [6] D. V. Piatnytskyi, O. O. Zdorevskyi, S. M. Perepelytsya, and S. N. Volkov, «The possibility of blocking the process of DNA base pairs opening by hydrogen peroxide», VI Young scientists conference "Problems of Theoretical Physics" Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, Book of Abstracts, p. 26 (2014).
- [7] D. V. Piatnytskyi, O. O. Zdorevskyi, S. M. Perepelytsya, and S. N. Volkov, «About the possible scenario of the DNA unzipping process», VII Young scientists conference "Problems of Theoretical Physics" Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, Book of Abstracts, p. 29 (2016).
- [8] O. O. Zdorevskyi and S. N. Volkov, «The mechanism of DNA deactivation by hydrogen peroxide action», 13th Greta Pifat Mrzljak International School of Biophysics, Split, Croatia, Book of Abstracts, p. 162 (2016).
- [9] O. O. Zdorevskyi and S. N. Volkov, «Role of water and hydrogen peroxide molecules in nucleic base pairs stabilization», VIII Young scientists conference "Problems of Theoretical Physics" Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, Book of Abstracts, p. 24 (2017).
- [10] O. O. Zdorevskyi and S. N. Volkov, «Two scenarios of DNA double helix unzipping», 16th Ukrainian school-seminar on statistical physics and condensed matter theory, Lviv, Ukraine, Book of Abstracts, p. 37 (2017).
- [11] O. O. Zdorevskyi and S. N. Volkov, «Possible scenarios of DNA unzipping process», *European Biophysics Journal* **46 (Suppl.1)**, p. 135 (2017).
- [12] O. Zdorevskyi, D. Piatnytskyi, and S. Volkov, «Blocking of DNA sites of specific recognition by hydrogen peroxide molecules in the process of ion beam therapy», IX Young scientists conference "Problems of Theoretical Physics" Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, Book of Abstracts, p. 6 (2018).

- [13] O. Zdorevskyi and S. Volkov, «Competitive interaction of water and hydrogen peroxide molecules with specific DNA recognition sites», 14th Greta Pifat Mrzljak International School of Biophysics, Split, Croatia, Book of Abstracts, p. 129 (2018).
- [14] O. Zdorevskyi, D. Piatnytskyi, and S. Volkov, «Competitive interaction of hydrogen peroxide and water molecules with specific DNA recognition sites», Final AMMODIT Conference "Mathematics for Life Sciences", Kyiv, Ukraine, Book of Abstracts, p. 57 (2019).
- [15] O. Zdorevskyi and S. Volkov, «The possibility of blocking the process of DNA base pairs opening by hydrogen peroxide», X International Conference for Professionals and Young Scientists "Low Temperature Physics 2019" in memory of B.Verkin for his 100th birthday anniversary, Kharkiv, Ukraine, Book of Abstracts, p. 124 (2019).
- [16] O. Zdorevskyi, D. Piatnytskyi, and S. Volkov, «Competitive interaction of hydrogen peroxide and water molecules with specific DNA recognition sites in the process of ion beam therapy», Joint 12th EBSA 10th ICBP-IUPAP biophysics congress, Madrid, Addendum: late abstracts, p. 7 (2019).

АНОТАЦІЯ

Здоровський О.О. Конкурентна взаємодія молекул пероксиду водню та води з центрами впізнання макромолекули ДНК — Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 01.04.02 — теоретична фізика. — ІТФ ім. М.М. Боголюбова НАН України, Київ, 2019.

В дисертаційній роботі запропоновано механізм блокування атомних груп макромолекули ДНК молекулами пероксиду водню (H_2O_2). Досліджено конкурентну взаємодію молекул H_2O_2 і H_2O з центрами впізнання макромолекули ДНК. Для розрахунків енергій взаємодії та просторових конфігурацій молекулярних комплексів використовуються методи атом-атомних потенціальних функцій та квантової механіки молекул. Результати розрахунку показують, що молекула H_2O_2 може утворювати комплекс з фосфатною групою ДНК, який є більш стабільний, ніж аналогічний комплекс з молекулою води. Знайдено конкретні атомні групи нуклеїнових основ, які є більш енергетично вигідними для утворення стабільного комплексу з молекулою H_2O_2 , ніж із молекулою води. Також показано, що існують певні конфігурації пар основ А·Т і G·C, які стабілізуються молекулою пероксиду водню суттєво краще, ніж молекулою води. Показано, що такі стани можна спостерігати в експериментах з анзіпінгу ДНК за допомогою методів мікрomanipування. Відповідно, ці методи можуть бути використані для експериментального спостереження взаємодії пероксиду водню з макромолекулою ДНК.

Ключові слова: ДНК, пероксид водню, нуклеїнові основи, фосфатні групи, іонна терапія.

АННОТАЦИЯ

Здоровский А.А. Конкурентное взаимодействие молекул пероксида водорода и воды с центрами узнавания макромолекулы ДНК — Рукопись.

Диссертация на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.02 -- теоретическая физика. -- ИТФ им. Н.Н. Боголюбова НАН Украины, Киев, 2019.

В диссертационной работе предложен механизм блокирования атомных групп макромолекулы ДНК молекулами пероксида водорода (H_2O_2). Исследовано конкурентное взаимодействие молекул H_2O_2 и H_2O с центрами узнавания макромолекулы ДНК. Для расчетов энергий взаимодействия и пространственных конфигураций молекулярных комплексов используются методы атом-атомных потенциальных функций и квантовой механики молекул. Результаты расчета показывают, что молекула H_2O_2 может образовывать комплекс с фосфатной группой ДНК, который является более стабильным, чем аналогичный комплекс с молекулой воды. Найдены конкретные атомные группы нуклеиновых оснований, которые являются более энергетически выгодными для образования стабильного комплекса с молекулой H_2O_2 , чем с молекулой воды. Также показано, что существуют определенные конфигурации пар оснований А·Т и G·C, которые стабилизируются молекулой H_2O_2 существенно лучше, чем молекулой воды. Показано, что такие состояния можно наблюдать в экспериментах по анзипингу ДНК с помощью методов микроманипулирования. Следовательно, эти методы могут быть использованы для экспериментального наблюдения взаимодействия пероксида водорода с ДНК.

Ключевые слова: ДНК, пероксид водорода, нуклеиновые основания, фосфатные группы, ионная терапия.

ABSTRACT

Zdorevskiy O.O. Competitive interaction of hydrogen peroxide and water molecules with recognition sites of DNA macromolecule — Manuscript.

Thesis for the Doctor of Philosophy degree (Candidate of Science in Physics and Mathematics) in speciality 01.04.02 — theoretical physics. — Bogolyubov Institute for Theoretical Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2019.

The interaction of biological macromolecules with the medium is an extremely important area of research in the physics of biopolymers. Under the influence of external factors, such as temperature, pressure, as well as ionizing radiation, the structure and functions of biological macromolecules in the cell change significantly. In particular, a DNA macromolecule can transit into other forms of a double helix, which should certainly affect its functioning in a cell of a living organism. Among the external factors affecting the DNA functioning, the action of ionizing radiation is especially important: action of gamma rays, x-rays, and heavy ions. The influence of these factors, depending on the intensity of the radiation, may give healing or damaging impact to the body.

A large number of accelerators are now being built in the world, where beams of heavy ions (protons, α -particles, carbon ions) with initial energies of ~ 100 MeV are used to treat oncological diseases. This method is called ion therapy. The main advantage of this method over other types of radiation therapy lies in the so-called Bragg effect, when heavy ions transfer the most amount of their energy to the medium at a certain distance from the surface of the body. This effect makes the method of ion beam therapy especially effective for the treatment of tumours that are localized deep enough in the body. However, no specific molecular mechanism of the deactivation of biological cells during ion therapy has yet been determined. Consequently, the physical processes that occur during ion beam therapy require a fundamental theoretical study.

It is known that the central target in radiation therapy is a DNA macromolecule of irradiated cells. Under physiological conditions, the DNA macromolecule is situated in water medium that determines the structure and stability of the double helix. Under the influence of ionizing radiation, the intracellular medium undergoes significant changes (the process of radiolysis), which can affect the stability of the double helix, and, therefore, all subsequent processes of genetic information transfer in the cell. Studies of water radiolysis show that in the cell medium many additional products occur such as electrons (e^-), free radicals ($HO\cdot$, $H\cdot$, $HO_2\cdot$), ions (OH^- , H_3O^+), as well as molecular products (H_2 , H_2O_2).

Results of Monte Carlo simulations of the water radiolysis process reveal that at physiological timescales (~ 1 μ sec), hydrogen peroxide molecules (H_2O_2) accumulate in the medium of the irradiated cell. However, in previous studies of the mechanisms of ion beam therapy, the role of these molecules in the deactivation of DNA of cancer cells has not been discussed properly.

The present work proposes a mechanism of deactivation of the DNA of cancer cells in the process of ion beam therapy. According to this mechanism, hydrogen peroxide molecules can form stable complexes with the atomic groups of the DNA macromolecule,

and in this way block the processes of genetic information transfer in cancer cells. As water and hydrogen peroxide molecules have a similar structure, they can compete for binding with DNA sites in solution. In the present work, the competitive interaction of H_2O_2 and H_2O molecules with non-specific (phosphate groups of DNA backbone) and specific (nucleic bases and base pairs) DNA recognition sites is investigated.

In the framework of this research, the following scientific results were obtained.

1. The interaction of hydrogen peroxide molecules with non-specific (phosphate groups of DNA backbone) and specific (nucleic bases) DNA recognition sites was investigated.
2. It has been shown that DNA phosphate groups can form stable complexes with hydrogen peroxide molecules that are more stable and more long-living than similar complexes with water molecules.
3. The atomic groups of the DNA nucleic bases where the hydrogen peroxide molecule binds better than the water molecule are determined.
4. The spatial configurations of nucleic acid base pairs stabilized by hydrogen peroxide molecules have been found. These configurations can be observed in the experiment on the sequential opening of DNA nucleic base pairs (DNA unzipping) held by single-molecule manipulation method.
5. The experimental verification method of the possibility of blocking the DNA unzipping process by hydrogen peroxide molecules is proposed.

The study of the interaction of hydrogen peroxide molecules with the active sites of DNA macromolecule leads to the understanding of the molecular processes that take place in living cells under the action of ionizing radiation. The molecular mechanism of the DNA deactivation of cancer cells proposed in this work allows to increase the efficiency of treatment of oncological diseases by heavy ion beams.

The results of the study are published in the leading foreign and Ukrainian refereed journals.

Keywords: DNA, hydrogen peroxide, nucleic bases, phosphate groups, ion therapy.

Здорецький Олексій Олександрович

Конкурентна взаємодія молекул пероксиду водню та води з центрами впізнавання макромолекули ДНК. (Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук.)

Зам. – 2. Формат 60 × 84/20. Обл.-вид. арк. – 1.00

Підписано до друку 26.12.2019. Тираж 100 прим.

Поліграфічна дільниця Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН
України,
03143 м. Київ, вул. Метрологічна, 14б.

