



УДК 577.214.6;539.199

С. Н. Волков

КОНФОРМАЦИОННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ НИЗКОЧАСТОТНЫХ КОЛЕБАНИЙ МАКРОМОЛЕКУЛЫ ДНК

Изучена зависимость спектра колебаний макромолекулы ДНК в диапазоне 10—100 см⁻¹ от конформации двойной спирали (В-, А-форма, клубок). Определена иерархия ветвей колебаний макромолекулы типа ДНК в низкочастотном диапазоне. Показана возможность определения конформационного состояния и силовых постоянных макромолекулы по ее низкочастотным спектрам. Найден характер температурной зависимости спектров при фазовых превращениях двойной спирали. Обсуждается роль низкочастотных колебаний в процессах нуклеиново-белкового узнавания.

Исследования низкочастотных колебаний макромолекул ДНК, выполненные в последние годы с помощью подходов динамической теории кристаллической решетки, привели к определенным результатам. Дана интерпретация спектров комбинационного рассеяния (КР) в диапазоне 10—100 см⁻¹, определены колебания, ответственные за динамику отдельных элементов структуры двуцепочечной ДНК (нуклеозидов, водородно-связанных пар оснований, цепей остова), получено согласие теории и эксперимента для В-формы и показана возможность охарактеризовать конформационное состояние всей макромолекулы и ее структурных элементов на относительно узком участке спектра колебаний [1—4]. Значение последнего нетрудно оценить, если учесть, что низкочастотные спектры КР оказались чувствительными к конформационным перестройкам двойной спирали [5, 6]. Кроме того, колебания ДНК в этом диапазоне достаточно хорошо видны и в составе биологических агрегатов [7], что позволяет воспользоваться низкочастотными спектрами КР для тестирования конформационного состояния ДНК *in vivo*. Однако конформационная зависимость экспериментально прослежена пока только для одной из ветвей спектра КР ДНК [5, 6].

Хорошим стимулом дальнейшего развития направления может стать теоретическое изучение зависимости низкочастотных ветвей колебаний ДНК в диапазоне 10—100 см⁻¹ от формы двойной спирали. В настоящей работе это исследование проведено в следующем порядке. Вначале изучена иерархия ветвей колебаний в длинноволновом спектре двойной спирали. Затем выполненные ранее для В-формы расчеты низкочастотного спектра дополнены результатами для А-формы и клубка ДНК. Изучена также трансформация низкочастотного спектра при конформационных переходах макромолекулы типа В — А и спираль — клубок. В работе рассмотрены также некоторые приложения, интересные с физической и биологической точек зрения.

Структура спектра низкочастотных колебаний макромолекулы типа ДНК. В соответствии с развитым подходом [1—4] при описании низкочастотных колебаний макромолекулы типа ДНК в модели учитывали характерные движения структурных элементов двойной спирали: изгибания цепей остова, растяжения водородных связей в парах оснований, качания нуклеозидов вокруг сахаро-фосфатных цепей и внутринуклеозидную подвижность. Включение в теоретическую схему перечисленных степеней свободы макромолекулы приводит в теории к восьми ветвям

© С. Н. ВОЛКОВ, 1991

нормальных колебаний системы, пять из которых являются колебаниями оптического типа, а остальные три — акустического типа.

Нас будут интересовать предельно длинноволновые колебания оптического типа, проявляющиеся в КР. В работах [3, 4] показано, что взаимное расположение ветвей в спектре колебаний двутяжевой макромолекулы определяется дисперсионными уравнениями, которые для предельно длинноволновых колебаний имеют вид:

$$\omega^4 \left(\omega^2 - \frac{M}{m_0} \beta_0 \right) - \omega^2 \frac{M}{m_0} (\alpha_0 + \beta_0) \left[\omega^2 - \left(\frac{\alpha_0 \rho + \varepsilon_0}{\alpha_0 + \varepsilon_0} \right) \frac{M}{m_0} \beta_0 \right] + \frac{M^2}{m^2} \alpha_0 \varepsilon_0 q \left[\omega^2 - \frac{m}{q m_0} \beta_0 \right] = 0; \quad (1)$$

$$\left(\omega^2 - \varepsilon_0 \frac{M}{m_0} \right) \left(\omega^2 - \beta_0 \frac{M}{m_0} \right) = 0. \quad (2)$$

В выражениях (1) и (2) приняты обозначения:

$$\alpha_0 = 2\alpha m_0 / M m; \quad \beta_0 = \beta / m l^2; \quad \varepsilon_0 = \varepsilon / m, \quad (3)$$

где α , β , ε — силовые постоянные энергии растяжения водородных связей в парах, качания нуклеозидов и внутринуклеозидной подвижности соответственно; M , m , m_0 — массы нуклеотида, нуклеозида и элемента остова ($M = m + m_0$); l — приведенная длина нуклеозида.

Величины ρ и q определяются параметрами модели:

$$\rho = b^2 + m a^2 / M; \quad q = a^2 + m b^2 / M, \quad (4)$$

где $a = \sin \theta_0$, $b = \cos \theta_0$; θ_0 — угол подвеса физического маятника-нуклеозида к остову.

Из выражений (1), (2) следует, что вид дисперсионных уравнений существенно зависит от значения параметров модели двутяжевой макромолекулы. В соответствии с подходом [1—4] фигурирующие в уравнениях параметры модели рассчитаны нами для В- и А-форм ДНК на основании известных рентгеноструктурных данных [8]. Полученные значения параметров усреднены по нуклеотидному составу, что соответствует описываемым объектам — природным ДНК — и точности эксперимента. Результаты расчета приведены в табл. 1. Там же указаны результаты вычисления значений ρ и q по выражениям (4).

Таблица 1

Значение параметров модели двутяжевых ДНК, рассчитанные на основании рентгеноструктурных данных работы [8]

The model parameters values calculated on the basis of X-ray data [8] for double-stranded DNA

Форма спирали	θ_0	l , нм	ρ	q	m/qM
В	28°	0,49	0,92	0,72	0,90
А	25°	0,40	0,91	0,71	0,91

Как видно из проведенного расчета, параметры ρ , q , а также отношение m/qM имеют для В- и А-форм ДНК близкие значения. Из данных табл. 1 следует, что выполняются соотношения:

$$(\alpha_0 \rho + \varepsilon_0) / (\alpha_0 + \varepsilon_0) \approx 1; \quad (5,а)$$

$$m/q \approx 1. \quad (5,б)$$

Соотношения (5, а, б) также выполняются и для клубка ДНК. Это очевидно, поскольку для клубка $\alpha = 0$. Отметим, что выполнение условия (5, а) зависит от соотношения постоянных α_0 и ε_0 . Однако проведенный

нами численный анализ показал, что эта зависимость слабая и ее можно не учитывать. При выполнении соотношений (5, а, б) для уравнения (1) могут быть получены следующие приближенные решения:

$$\omega_{1,2}^2 \approx \frac{M}{2m_0} [\alpha_0 + \varepsilon_0 \pm \sqrt{(\alpha_0 + \varepsilon_0)^2 - 4q\alpha_0\varepsilon_0}];$$

$$\omega_3^2 \approx \frac{M}{m_0} \beta_0.$$
(6)

Выражения (6) совместно с очевидными решениями уравнения (2):

$$\omega_4^2 = \frac{M}{m_0} \varepsilon_0;$$

$$\omega_5^2 = \frac{M}{m_0} \beta_0,$$
(7)

определяют спектр колебаний оптического типа двухтяжевой макромолекулы.

Найдем иерархию ветвей колебаний (6) и (7) в длинноволновом спектре макромолекул ДНК. Поскольку для таких макромолекул заранее может быть оговорено соотношение силовых постоянных ε_0 и β_0 : $\varepsilon_0 \gg \beta_0$, то соответствующие ветви колебаний располагаются следующим образом: $\omega_4 \gg \omega_5 \approx \omega_3$. Более сложным является определение местоположения ветвей ω_1 и ω_2 . Для двуспиральной структуры: $\alpha_0 \gg \beta_0$ и поэтому: $\omega_1, \omega_2 \gg \omega_5$. Найдем их расположение относительно ветви ω_4 . В этих целях рассмотрим выражения (6) и (7), считая, что $\alpha_0 = \eta\varepsilon_0$, где $\eta > 0$. Тогда для $\omega_{1,2}$ можем записать:

$$\omega_{1,2}^2 \approx \frac{M}{2m_0} \varepsilon_0 [1 + \eta \pm \sqrt{(1 + \eta)^2 - 4q\eta}]$$
(8)

или

$$\omega_{1,2}^2 \approx \frac{1}{2} \omega_4^2 [1 + \eta \pm \sqrt{1 - 0,8\eta + \eta^2}].$$

В последней записи учтен явный вид частоты ω_4^2 (7) и значение q (табл. 1).

Из выражения (8) сразу следует, что при малых η , $\eta \ll 1$, справедливо

$$\omega_{1,2}^2 \approx \frac{1}{2} \omega_4^2 [1 + \eta \pm (1 - 0,4\eta)],$$

что дает $\omega_1^2 \approx \omega_4^2 + 0,3\eta$ и $\omega_2^2 \approx 0,7\eta$. Откуда

$$\omega_1 > \omega_4 > \omega_2.$$
(9)

Видно, что когда $\eta \rightarrow 0$, то $\omega_1 \rightarrow \omega_4$, а $\omega_2 \rightarrow 0$. Практически этот случай соответствуют клубкообразному состоянию макромолекулы.

Численный анализ выражения (8) показывает, что на всем интервале изменения η соотношение (9) сохраняет силу. Результаты расчета представлены на рис. 1.

Таким образом, для широкого класса форм двойной спирали ДНК (А- и В-семейства) справедлива следующая иерархия частот в низкочастотном спектре:

$$\omega_1 > \omega_4 > \omega_2 > \omega_5 \approx \omega_3.$$
(10)

Аналогичное отношение может быть определено и для клубкообразной ДНК. В этом случае следует учитывать, что при сближении частот колебаний между ветвями возникает специфическое взаимодействие резонансного типа (см., например, [9] и соотношения для амплитуд колебаний, полученные нами в [3, 4]). Учет этого взаимодействия приводит

к «отталкиванию» ветвей при сближении в спектре так, что для клубка ДНК при $\alpha \rightarrow 0$ происходит следующее: $\omega_1 \rightarrow \omega_4$, $\omega_2 \rightarrow \omega_5$, а $\omega_3 \rightarrow 0$. Исходя из этого, иерархия ветвей колебаний для клубка ДНК выглядит таким образом:

$$\omega_1 = \omega_4 > \omega_2 = \omega_5 > \omega_3 = 0. \quad (11)$$

Конформационные переходы в низкочастотных спектрах КР ДНК.

Из экспериментальных данных известно, что низкочастотные спектры двухжелевых полинуклеотидов и природных ДНК в волокнах оказались

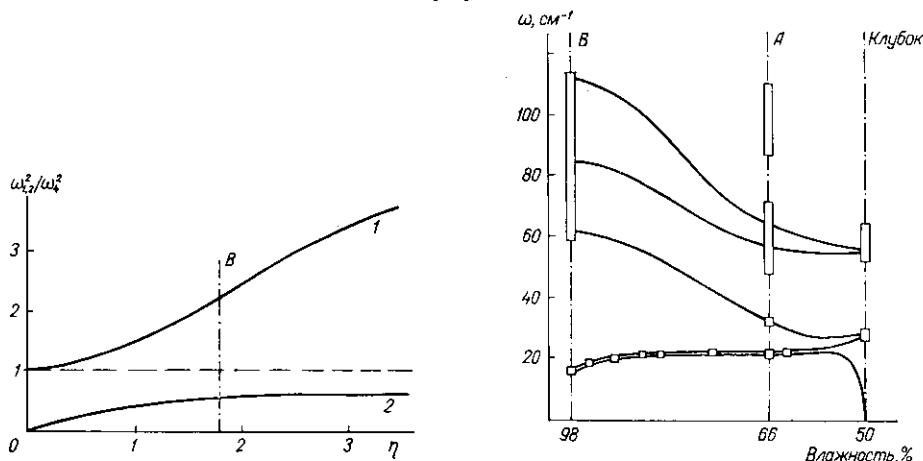


Рис. 1. Взаимное расположение ветвей колебаний в низкочастотном спектре макромолекулы типа ДНК при различных значениях упругих постоянных: 1 — зависимость отношения ω_2^2/ω_4^2 от η ; 2 — зависимость отношения ω_2/ω_4 от η

Fig. 1. The mutual disposition of vibration branches in the low-frequency spectrum of the DNA-type macromolecule at different values of the elastic constants: 1 — a dependence of the ω_2^2/ω_4^2 ratio on η , 2 — the same for the ω_2/ω_4 ratio on η

Рис. 2. Зависимость низкочастотного спектра ДНК от конформационного состояния двойной спирали. Указаны экспериментальные данные по спектрам комбинационного рассеяния ДНК (прямоугольники) [5, 7, 10]

Fig. 2. The dependence of the DNA frequency spectrum on the double helix conformation (B-form — 98 % humidity, A-form — 66 % humidity, coil — 50 % humidity). The experimental data on DNA Raman spectra are indicated (\square) [5, 7, 10]

чувствительными к конформационным перестройкам двойной спирали (табл. 2). При изменении относительной влажности образца, когда ДНК переходит из В- (98 % относительной влажности) в А-форму (66 %) и затем в клубкообразное состояние (50 %), меняется интенсивность линий рассеяния, их ширина и местонахождение в спектре [5—7, 10]. Полученные для волокон данные подтверждены в целом измерениями, проведенными недавно для кристаллических образцов [11, 12]. Отметим, что волокна ДНК оказались более чувствительными к конформационным переходам двойной спирали, а полученные для них результаты — более близкими к результатам для раствора [7]. Поэтому при обсужде-

Таблица 2

Экспериментальные спектры КР для различных конформаций ДНК в низкочастотном диапазоне 10—100 см⁻¹

The experimental Raman spectra for different DNA conformations in low-frequency range 10—100 cm⁻¹

Форма ДНК (Calf thymus, Na-соль, волокна)	Низкочастотный спектр колебаний, см ⁻¹			Литературный источник
В-форма	16	~85		[5, 7, 10]
А-форма	22	33	~60 ~100	[5, 10]
Клубок	28	~60		[5]

нии экспериментальных данных в настоящей работе будем опираться на спектры КР ДНК в волокнах (табл. 2).

Рассмотрим структуру спектра для А-формы и клубка ДНК, а также трансформацию низкочастотных колебаний при конформационных переходах типа В — А и спираль — клубок. При этом будем учитывать полученные результаты по иерархии низкочастотных колебаний макромолекулы и согласие теории и эксперимента для В-формы.

Для определения спектра колебаний макромолекулы в конкретной форме двойной спирали достаточно, как видно из выражений (1) и (2), знать постоянные α , β , ϵ модели. Эти силовые постоянные могут быть найдены двумя способами. Первый — на основании отнесения некоторых частот колебаний теоретической схемы (10) к экспериментальным значениям и решения обратной задачи. Второй — с помощью расчетов энергии конформационных изменений макромолекулы при известных траекториях движения структурных элементов. Хотя при определении спектра В-формы [1—4] нам удалось использовать результаты конформационных расчетов, однако из-за малочисленности такого рода данных для конкретных траекторий движения колеблющихся масс в других формах ДНК второй способ сейчас использовать не представляется возможным. Поэтому силовые постоянные будем искать с помощью отнесения частот.

Для А-ДНК отнесение частот может быть сделано для трех ветвей колебаний. Так, колебание с частотой ω_5 может быть отнесено к пику 22 см^{-1} . Это колебание определяется одной постоянной β_0 , его положение установлено для В-ДНК [2] и экспериментально прослежено изменение от 16 (В-форма) до 22 см^{-1} (А-форма) [10]. Колебание ω_4 может быть отнесено к полосе $\sim 60 \text{ см}^{-1}$, поскольку постоянная ϵ_0 , определяющая это колебание, не должна значительно (по сравнению с В-формой) изменяться при конформационных переходах. Наконец, имеющийся в экспериментальном спектре для А-ДНК пик 33 см^{-1} следует отнести к ω_2 , так как ни ω_3 , ни ω_1 в силу отношения (10) в этот участок спектра попасть не могут.

Сделанное отнесение частот колебаний позволяет определить значения силовых постоянных для А-ДНК: $\alpha_0 = 2,7 \cdot 10^{25} \text{ с}^{-2}$; $\beta_0 = 6,1 \cdot 10^{21} \text{ с}^{-2}$; $\epsilon_0 = 4,5 \cdot 10^{25} \text{ с}^{-2}$ и произвести расчет полного спектра по уравнениям (1) и (2) (табл. 3). Для сравнения в таблице также даны полученные нами ранее частоты колебаний для В-ДНК [3, 4].

Из полученных для А-формы результатов видно, что колебания ω_1 и ω_4 образуют полосу около 60 см^{-1} , а колебания ω_2 и $\omega_5 \approx \omega_3$ соответствуют экспериментальным пикам 33 и 22 см^{-1} . Происхождение полосы $\sim 100 \text{ см}^{-1}$ может быть объяснено проявлением более высокоэнергетических колебаний, степени свободы которых в данной модели не учитывали.

Таблица 3
Результаты расчета частот колебаний (см^{-1})
The results of the oscillation frequencies calculation (cm^{-1})

Форма ДНК	ω_1	ω_2	ω_3	ω_4	ω_5
А	68	33	21,8	60	22
В [4]	114	62	16	85	17
Клубок	60	28	0	60	28

Спектр низкочастотных колебаний клубкообразной ДНК может быть определен в соответствии с отношением для частот (11). Единственное возможное отнесение частот дает вид спектра, приведенный в табл. 3.

Исходя из полученных спектров ДНК для В-, А-форм и клубка изучим зависимость низкочастотных колебаний от конформационных пере-

строек двойной спирали. Рассмотрим ход изменения спектров макромолекулы в зависимости от относительной влажности образца в интервале 100—50 %. Учитывая, что для всего интервала конформационных изменений выполняется соотношение (10), и считая ход изменения частот колебаний изучаемых ветвей монотонным, мы экстраполировали вид зависимостей ветвей колебаний от относительной влажности ДНК. Полученные зависимости показаны на рис. 2. Там же указаны известные на этот счет экспериментальные данные, в частности, прослеженная в [5]

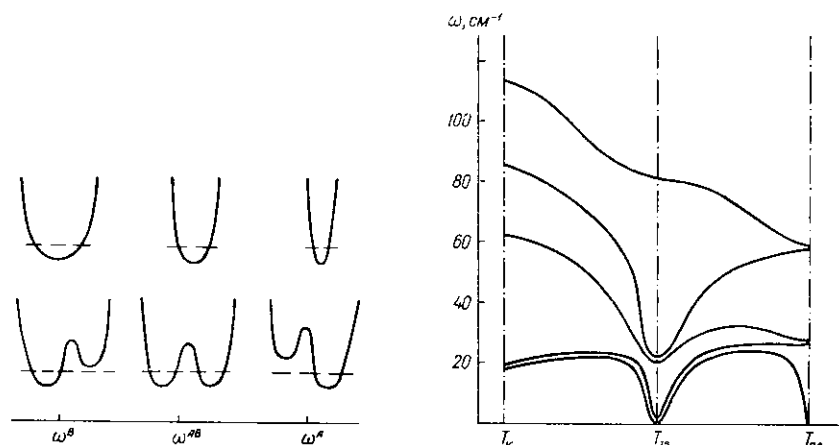


Рис. 3. Изменение формы потенциальных ям нормальных колебаний макромолекулы при конформационных переходах типа В→А. Указана средняя энергия колебаний при комнатной температуре (T_k)

Fig. 3. Form variation of the potential wells of normal vibrations for the conformation B→A transitions. The middle vibration energy at room temperature (T_k) is indicated

Рис. 4. Вид температурной зависимости низкочастотных колебаний двуцепочечной ДНК. $T_{дв}$ соответствует барьеру перехода В→А, $T_{пл}$ — температура плавления

Fig. 4. The form of the temperature dependence of low-frequency vibrations of double-stranded DNA. $T_{дв}$ corresponds to the energy barrier of B→A transition, $T_{пл}$ is the melting temperature

зависимость ветвей ω_2 , ω_3 от формы ДНК при В — А-переходе. Как видно из рис. 2, теоретическая схема объясняет поведение полос и пиков колебаний при конформационных преобразованиях двойной спирали. Становится понятным появление пика 33 см^{-1} при В — А-переходе.

Предположение о монотонности хода приведенных зависимостей, сделанное нами, требует некоторого пояснения. Обсуждаемые конформационные изменения связаны с переходом макромолекулы в другое конформационное состояние (В → А, А → клубок). В процессе перехода свободная энергия системы претерпевает изменения, которые отражаются в изменении форм потенциальных ям изучаемых нормальных колебаний (рис. 3). Меняется форма как «одиночных», так и «двойных» ям, связанных с барьером перехода в другое конформационное состояние. Поскольку при В → А-переходах система в целом находится в состоянии, ниже потенциального барьера перехода, то ее спектр меняется монотонно, регистрируя состояния, являющиеся наиболее выгодными по энергии. Резко меняется спектр колебаний макромолекулы лишь вблизи 50 % влажности, когда рвутся водородные связи и $\alpha \rightarrow 0$ (рис. 2). Картина вблизи $\alpha \approx 0$ соответствует процессу «смягчения» моды и может реализовываться также и в случае нагревания образца до температуры плавления двойной спирали $T_{пл}$.

О характере изменений силовых постоянных при В→А-переходах в ДНК. Развита теоретическая схема и полученные зависимости ветвей колебаний от конформации двойной спирали (рис. 2) позволяют использовать результаты теории для определения конформационного состояния ДНК по известным экспериментальным спектрам с помощью решения обратной задачи. Так, на основании экспериментальных спек-

ров могут быть найдены силовые постоянные макромолекулы и прослежено их изменение при конформационных переходах. Необходимо учитывать, однако, что полученные таким образом силовые постоянные отражают как конформационное состояние макромолекулы, так и ее окружения.

Рассмотрим, как меняются силовые постоянные α , β и ε при В \rightarrow А-переходах двойной спирали. Согласно выражениям (3), (6) и (7), постоянные могут быть представлены в виде:

$$\begin{aligned}\alpha &= \frac{m}{2} (\omega_1^2 + \omega_2^2 - \omega_4^2); \\ \beta &= \omega_5^2 l^2 m \cdot m_0 / M; \\ \varepsilon &= \omega_4^2 m \cdot m_0 / M.\end{aligned}\tag{11}$$

Пользуясь спектральными данными табл. 3 и известными структурными параметрами В- и А-форм ДНК (табл. 1), из выражений (11) нетрудно получить значения силовых постоянных. Однако прямой перерасчет спектральных данных нельзя считать корректным, поскольку при В \rightarrow А-переходах существенно меняется характер гидратации двойной спирали [13], что приводит к изменению количества достаточно сильно связанных с ДНК молекул воды, и, как следствие, к изменению эффективных масс структурных элементов, находящихся в движении.

Так, в В-форме двойной спирали молекулы воды в первом гидратном слое расположены нерегулярно, за исключением А·Т-богатых участков, где в минорном желобе спирали могут образовываться гидратные цепи («водный хребет») [13]. Для природных ДНК, нуклеотидный состав которых колеблется от 30 до 70 % пар А·Т, можно считать, что в В-форме в целом нет «сильно» связанных молекул воды. В то же время для А-формы в первом гидратном слое наблюдают регулярную сеть водородных связей вдоль фосфатных групп остова [13], что указывает на достаточно большое количество «сильно» связанных молекул воды.

Учтем изменение гидратации макромолекулы при В \rightarrow А-переходе, считая на качественном уровне, что

$$\begin{aligned}m_0^* &= m_0 + n \cdot m_{\text{H}_2\text{O}}; \\ m^* &\approx m.\end{aligned}\tag{12}$$

Здесь массы, помеченные звездочкой, соответствуют А-форме ДНК при учете изменения гидратации, n — дополнительное число сильно связанных молекул воды в первом гидратном слое по сравнению с В-формой, $n > 0$. Выясним, как меняются массовые коэффициенты в выражениях (11) при В \rightarrow А-переходе. С учетом (12) имеем

$$\frac{m^* m_0^*}{M^*} \approx \frac{m(m_0 + nm_{\text{H}_2\text{O}})}{m + m_0 + nm_{\text{H}_2\text{O}}} = \frac{mm_0}{M} \frac{\left(1 + \frac{n}{m_0} m_{\text{H}_2\text{O}}\right)}{\left(1 + \frac{n}{M} m_{\text{H}_2\text{O}}\right)}.$$

Поскольку $1 + nm_{\text{H}_2\text{O}}/m_0 > 1 + nm_{\text{H}_2\text{O}}/M$, то при переходе к А-форме эффективный массовый коэффициент увеличивается:

$$\frac{m^* m_0^*}{M^*} > \frac{mm_0}{M}.\tag{13}$$

Принимая во внимание неравенство (13), а также изменение параметра l ($l^B > l^A$) и частот колебаний ($\omega_{1,2}^B > \omega_{1,2}^A$, $\omega_4^B > \omega_4^A$, $\omega_5^B < \omega_5^A$) при В \rightarrow А-переходе в ДНК, может быть сделан вывод о ходе изменения силовых постоянных двойной спирали. Качественно характер изменения посто-

янных при $B \rightarrow A$ -переходе можно представить следующим образом:

$$\alpha^B > \alpha^A, \quad \beta^B < \beta^A, \quad \varepsilon^B \approx \varepsilon^A. \quad (14)$$

Отношения (14) между силовыми постоянными свидетельствуют о том, что в А-ДНК происходит увеличение жесткости остова (увеличение β), в то время как жесткость нуклеозидов меняется незначительно. Уменьшение жесткости водородных связей пар оснований при $B \rightarrow A$ -переходе, по-видимому, связано с изменением траектории поперечных движений оснований, регистрируемых в КР, из-за более сильного наклона пар в А-ДНК.

Такие представления о происходящих изменениях конформационного состояния ДНК соответствуют общепринятой трактовке [13] и дополняют ее существенной детализацией картины.

Мягкие моды в ДНК. Большой интерес вызывает вопрос о возможности проявления мягких мод в низкочастотных спектрах макромолекул ДНК. Идея использования представлений о мягких модах при анализе спектров КР ДНК высказывалась еще в работе [14]. Как известно, наблюдение мягких мод позволяет регистрировать имеющиеся в системе фазовые переходы, а также свидетельствует о нелинейных свойствах объекта исследований [15]. Обсудим возможность обнаружения мягких мод в низкочастотных спектрах КР ДНК.

В соответствии с концепцией мягкой моды [15, 16] при наличии в веществе фазовых состояний, отделенных относительно невысоким потенциальным барьером, повышение температуры приводит к непрерывному фазовому переходу, который можно наблюдать по смягчению частоты соответствующего нормального колебания в спектре КР [16]. В теории [15, 16] процесс смягчения моды вблизи критической температуры перехода описывают введением температурной зависимости для силовой постоянной колебания.

В случае низкочастотного спектра колебаний макромолекулы ДНК представления о мягкой моде могут быть применены к колебаниям, связанным с внутринуклеозидной подвижностью (силовая постоянная ε , колебание ω_4), и колебаниям, связанным с растяжением водородных связей (постоянная α , колебания ω_1 и ω_2). Потенциальные ямы этих колебаний содержат барьеры перехода: для ω_4 — это барьер, связанный с $B \rightarrow A$ -переходом формы двойной спирали, а для ω_1 и ω_2 — это барьер плавления ДНК. Таким образом, для силовых постоянных α и ε могут быть записаны температурные зависимости вида:

$$\varepsilon = \tilde{\varepsilon}(T_{AB} - T); \quad (15)$$

$$\alpha = \tilde{\alpha}(T_{пл} - T),$$

где T_{AB} — температура, соответствующая барьеру $B \rightarrow A$ -перехода, $T_{пл}$ — температура плавления ДНК и $T_{AB} < T_{пл}$.

Согласно выражениям (15), частоты оптического спектра ДНК должны проявлять зависимость от температуры. Действительно, в эксперименте такая зависимость была зафиксирована, однако в довольно общих чертах [17]. На основании выражений (15) представляется возможным дать детальную картину изменения низкочастотного спектра при повышении температуры, начиная с комнатного значения (T_K). Используя такие же соображения, как в случае построения зависимости спектра колебаний от влажности, получили картину изменения спектра В-ДНК при повышении температуры. Вид зависимостей показан на рис. 4.

Как видно из рисунка, при повышении температуры для В-ДНК следует ожидать ухода ветвей колебаний к центральному пику КР, интенсивность которого должна возрастать, а интенсивность полосы с центром $\sim 85 \text{ см}^{-1}$ — падать. Максимальное отклонение ветвей фиксирует температуру T_{AB} , знание которой поможет уточнить величину

барьера В → А-перехода. Дальнейшее увеличение температуры до $T_{пл}$ приводит спектр к виду, соответствующему уменьшению влажности до 50 % (сравнить с рис. 2).

Отметим здесь, что зависимость частот колебаний ДНК от температуры отмечалась в работе [18] для пика 16 см^{-1} В-ДНК в интервале температур ниже 273 К. На наш взгляд, этот эффект не имеет прямого отношения к состоянию ДНК в растворе, а связан с замораживанием гидратного окружения цепей остова и увеличением эффективных массовых коэффициентов в духе выражений (11—13).

Низкочастотные колебания ДНК и нуклеиново-белковое взаимодействие. Детальная картина конформационных колебаний, полученная в работах [1—4] и в предыдущих разделах настоящей работы, может оказаться полезной для различных приложений биологического характера. Из-за относительно больших амплитуд колебаний [3, 4] низкочастотная подвижность ДНК должна проявляться при взаимодействии с другими макромолекулами. Действительно, акт узнавания или взаимодействия между макромолекулами может произойти в случае, когда их низкочастотные колебания окажутся скоррелированными по направлениям и по частотам. Особенно важное значение это может иметь для генетических процессов, отличающихся повышенной точностью взаимодействия.

В качестве иллюстрации изложенного рассмотрим возможную роль низкочастотной подвижности в механизме активации транскрипции с помощью CAP-белка. Так, по имеющимся представлениям, активация транскрипции ДНК происходит путем присоединения узнающей части белка — α -спирального участка — к промотору ДНК. В соответствии с гипотезой [19], α -спиральный участок белка, присоединяясь к ДНК, может индуцировать В—А-переход, что является достаточным условием для активации транскрипции в ДНК. При этом геометрические соображения указывают на то, что α -спираль должна располагаться поперек двойной спирали ДНК [19]. В настоящее время эта гипотеза опирается лишь на косвенные данные.

Результаты изучения низкочастотных колебаний ДНК позволяют дать дополнительное обоснование гипотезы [19]. Согласно теоретическим оценкам [20] и экспериментальным данным [21], встроенные в белок α -спиральные участки имеют частоту колебаний $\sim 22\text{ см}^{-1}$, которая является нижней в низкочастотном диапазоне для этих макромолекул. Известно также, что колебания α -спирали с частотой $\sim 22\text{ см}^{-1}$ должны быть продольными [20]. В соответствии с вышеизложенным для присоединения белка необходимо наличие таких же колебаний в ДНК. Как мы видели, колебания с 22 см^{-1} появляются в ДНК только при переходе макромолекулы в А-форму. Важно также, что эти колебания являются поперечными. Поэтому, с точки зрения развитой теории, необходимым условием присоединения α -спирали является переход ДНК в А-форму и расположение α -спирали поперек ДНК. Этот вывод полностью соответствует гипотезе [19] и служит независимым ее подтверждением.

Автор благодарен Г. Е. Вайнребу за помощь при проведении расчетов силовых постоянных для А-ДНК.

Резюме

Вивчена залежність спектру коливань макромолекули ДНК в діапазоні $10\text{--}100\text{ см}^{-1}$ від конформації подвійної спіралі (В-, А-форма, клубок). Визначена ієрархія гілок коливань макромолекули типу ДНК у низькочастотному діапазоні. Показана можливість визначення конформаційного стану і силових постійних макромолекули по її низькочастотних спектрах. Знайдено характер температурної залежності спектрів при фазових перетвореннях подвійної спіралі. Обговорюється роль низькочастотних коливань у процесах нуклеїново-білкового впізнавання.

Summary

Conformational dependence of the vibration spectrum is studied for DNA macromolecule in the range of (10—100) cm^{-1} . It is shown possible to determine DNA conformations state and power constants by its low-frequency spectra. The temperature dependence of the spectra under phase transformations of double helix is found. The contribution of the low-frequency vibrations to the processes of the nucleic-protein recognition is under discussion.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волков С. Н., Косевич А. М. Конформационные колебания двуцепочечной ДНК.— Киев, 1986.— 25 с.— (Препринт / Ин-т теорет. физики; № 119Р).
2. Волков С. Н., Косевич А. М. О конформационных колебаниях ДНК // Молекуляр. биология.— 1987.— 21, № 3.— С. 797—806.
3. Volkov S. N., Kosevich A. M., Weinreb G. E. Spectrum of low-frequency vibrations of DNA macromolecules.— Kiev, 1988.— 19 p.— (Preprint / ITP-88-177E).
4. Волков С. Н., Косевич А. М., Вайнреб Г. Е. Теоретическое изучение низкочастотных колебаний макромолекул ДНК // Биополимеры и клетка.— 1989.— 5, № 6.— С. 32—39.
5. Urabe H., Tominaga Y. Low-lying collective models of DNA double helix by Raman spectroscopy // Biopolymers.— 1982.— 21, N 11.— P. 2477—2481.
6. Lindsay S. M., Powell J. W., Rupprecht A. Observation of low-lying Raman bands in DNA by tandem interferometry // Phys. Rev. Lett.— 1984.— 53, N 19.— P.— 1853—1855.
7. Collective vibrational modes in molecular assembly of DNA and its application to biological systems. Low-frequency Raman spectroscopy / H. Urabe, H. Hayashi, Y. Tominaga et al. // J. Chem. Phys.— 1985.— 82, N 1.— P. 531—535.
8. Arnott S., Hukins D. W. L. Optimized parameters for A-DNA and B-DNA // Biochem. and Biophys. Res. Commun.— 1972.— 47, N 11.— P. 1504—1509.
9. Косевич А. М. Физическая механика реальных кристаллов.— Киев: Наук. думка, 1981.— 328 с.
10. Urabe H., Tominaga Y., Kubota E. Experimental evidence of collective vibrations in DNA molecule // J. Chem. Phys.— 1983.— 78, N 10.— P. 5937—5939.
11. Low-frequency Raman spectra of DNA: a comparison between two oligonucleotide crystals and highly crystalline films of Calf thymus DNA / T. Weidlich, S. M. Lindsay, S. A. Lee et al. // Ibid.— 1988.— 92, N 12.— P. 3315—3317.
12. Lamba O. P., Wang A. H.-J., Thomas G. J. Jr. Low-frequency dynamics and Raman scattering of crystals, of B-, A-, and Z-DNA, and fibers of C-DNA // Biopolymers.— 1989.— 28, N 2.— P. 667—678.
13. Saenger W. Principles of nucleic acid structure.— Berlin: Springer, 1984.— 584 p.
14. Eyster J. M., Prohofsky E. W. On the B to A conformation change of the double helix // Biopolymers.— 1977.— 16, N 5.— P. 965—982.
15. Брус А., Каули Р. Структурные фазовые переходы.— М.: Мир, 1984.— 408 с.
16. Суцинский М. М. Спектры комбинационного рассеяния молекул и кристаллов.— М.: Наука, 1969.— 576 с.
17. Urabe H., Tominaga Y. Low-frequency Raman spectra of DNA // J. Phys. Soc.— 1981.— 50, N 11.— P. 3543—3544.
18. Coupled dynamics between DNA double helix and hydrated water by low-frequency Raman spectroscopy / Y. Tominaga, M. Shida, K. Kubota et al. // J. Chem. Phys.— 1985.— 83, N 11.— P. 5972—5975.
19. Иванов В. И. В→А переход в ДНК и транскрипция // Биополимеры и клетка.— 1985.— 1, № 1.— С. 5—13.
20. Chou K.-Ch. Origin of low-frequency motions in biological macromolecules. A view of recent progress in the quasi-continuity model // Biophys. Chem.— 1986.— 25, N 2.— P. 105—116.
21. Painter P. C., Mosher L. E., Rhoads C. Low-frequency modes in the Raman spectra of proteins // Biopolymers.— 1982.— 21, N 7.— P. 1469—1472.

Ин-т теорет. физики АН УССР, Киев

Получено 05.06.90