

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»
УКРАЇНСЬКО-УГОРСЬКИЙ НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ
КАФЕДРА ФІЗИКО-МАТЕМАТИЧНИХ ДИСЦИПЛІН

БОРОНІ САБОЛЧ ЕРНЕСТОВИЧ

**ФІЗИЧНІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ ВИПРОМІНЮВАННЯ
НА ГЕНЕТИЧНІ СТРУКТУРИ
В КУРСІ ФІЗИКИ СЕРЕДНЬОЇ ШКОЛИ**

014.08 “Середня світа. Фізика та астрономія ”

Дипломна робота на здобуття освітнього ступеня
магістра

Науковий керівник:
д.ф.-м.н. Шафраньош М.І.

Ужгород – 2024

Регістрація 2
(номер)

«02» грудня 2024 р.

[підпис]
(підпис лаборанта)

Суресма Н.А.
(прізвище ініціали)

Дипломна робота допущена до захисту

Завідувач кафедри

[підпис]
(підпис)

Шафраньош М.І.
(ініціали, прізвище)

доктор фізико-математичних наук, доцент
(науковий ступінь, вчене звання)

«09» грудня 2024 р.

Рецензент [підпис]
(підпис)

Маргітич М.О.
(прізвище, ініціали)

доцент
(науковий ступінь, вчене звання)

досл
нук
світ.
при
змет
Цей
нег
Впе
пер
еВ.
ура

spe
nuc
mo
Ult
adc
din
neg

Анотація

Дипломна робота магістра 51 сторінок, 18 рис., 6 табл., 30 джерел.

Здійснені розрахунки структурних параметрів основ ДНК тиміну і цитозину за допомогою напівемпіричного методу AM1 з пакету програм HyperChem з оптимізацією геометрії молекул. Для іонізованих і нейтральних форм біомолекул розраховані довжини і порядки зв'язків, а також розподіл електронних густин. Встановлено, що найменші порядки зв'язків мають іонізовані молекули. За допомогою аналізу розподілу густин зарядів у структурі молекул виявлені локальні області, які є найбільш чутливими до впливу негативно заряджених частинок.

Annotation

Master's thesis: 51 pages, 18 figures, 6 tables, 30 sources.

The structural parameters of thymine and cytosine DNA bases were calculated using the semi-empirical method AM1 from the HyperChem software package with optimization of molecule geometry. For ionized and neutral forms of biomolecules, bond lengths and orders, as well as electron density distributions, are calculated. Ionized molecules have been found to have the lowest bond orders. By analyzing the distribution of charge densities in the structure of molecules, local regions were identified that are most sensitive to the influence of negatively charged particles.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. ІНФОРМАЦІЙНІ БІОМОЛЕКУЛИ.....	8
1.1. Властивості та функції біомолекул.....	8
1.2. Вторинна структура ДНК. Комплементарність. Генетичний код	16
1.3. Особливості ДНК та РНК	18
1.4. Загальна характеристика будови нуклеїнових кислот	21
1.5. Структура та фізико-хімічні властивості нуклеїнових кислот	24
РОЗДІЛ 2. ВИВЧЕННЯ ХАРАКТЕРИСТИК ІНФОРМАЦІЙНИХ	31
БІОМОЛЕКУЛ ТА ЇХ СКЛАДОВИХ	31
2.1. Загальні відомості про теоретичні методи досліджень властивостей біомолекул та їх складових	31
2.2. Метод молекулярної динаміки	33
2.3. Моделювання та дослідження характеристик молекул з допомогою програми HyperChem	39
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТЕОРЕТИЧНИХ РОЗРАХУНКІВ.....	42
ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	42
3.1. Визначення за допомогою програми HyperChem параметрів основ нуклеїнових кислот..	42
ВИСНОВКИ	51
ЛІТЕРАТУРА.....	52

ВСТУП

Інформаційні біомолекули (нуклеїнові кислоти) - основа життя, принаймні відомої нам земної форми. Не дивлячись на те, що атомний склад, навіть ближній порядок між атомами у випадку біомолекул відомі, й ніби більш-менш визначена загальна картина структури біомолекул, вони вдало приховують від нас більшу частину інформації, яку зберігають. А ця інформація не мало, не багато – інформація про таємницю життя.

Вивчення структури, властивостей нуклеїнових кислот на сьогоднішній день - напрямок науки, що найбільш динамічно розвивається, напрямок, в який здійснюється найбільше інвестицій. У цих дослідженнях перетинаються біологія, хімія і фізика, математика та інформаційні технології. Сучасний науково-технічний прогрес пов'язаний з пошуком і розробкою нових екологічно чистих матеріалів для нанотехнологій. Зараз розвиваються такі перспективні наукові напрямки, як молекулярна електроніка, біосенсорика та біоніка. Для ефективного використання нових технологічних елементів необхідна інформація про фізичну структуру біологічно важливих молекул.

Метою даної роботи є аналіз особливостей структури та фізичних властивостей інформаційних біомолекул та їх складових (азотистих основ).

Для досягнення даної мети необхідно виконати наступні **завдання**:

- ознайомитися із науковою літературою про структуру, фізико-хімічні та біологічні властивості інформаційних біомолекул та їх компонентів;
- проаналізувати основні теоретичні (квантова хімія та молекулярна динаміка) методи дослідження нуклеїнових кислот та їх складових;

- за допомогою програми HyperChem обчислити структурні характеристики (довжини та порядки зв'язків, розподіл електронних густин та кути) молекулярних компонентів нуклеїнових кислот.

Об'єктом дослідження є піримідинові азотисті основи ДНК і РНК: тимін та урацил у різних станах.

Предмет дослідження – фізичні механізми формування структури природних біоінформаційних систем.

Метою викладання представленого матеріалу *в середній школі* на рівні стандарту полягає у формуванні в учнів знань про закономірності функціонування живих систем, їх початок, розвиток і взаємодію, взаємозв'язок із навколишнім середовищем; розуміння фізичної та біологічної картини світу та цінності таких категорій, як знання, життя, природа, здоров'я, необхідності раціонального використання і відновлення природних ресурсів, усвідомлення біосферної етики; уміння опанувати методологію пізнання живої природи, різноманітними способами пізнавальної діяльності, життєвими навичками, здатністю до саморозвитку й самонавчання в умовах сьогодення, з врахуванням глобальних змін і викликів; свідомого ставлення до природи як безперечної, унікальної цінності; застосування знань з фізики та біології у повсякденному житті та майбутній професійній діяльності, оцінювання їх ролі для збалансованого розвитку людства, науки та технологій.

РОЗДІЛ 1. ІНФОРМАЦІЙНІ БІОМОЛЕКУЛИ

1.1. Властивості та функції біомолекул

Біомолекули – молекулярні конструкції, що складають основу життєдіяльності будь-якого організму. Серед них слід виділити нуклеїнові кислоти (ДНК-дезоксирибонуклеїнова кислота і РНК-рибонуклеїнова кислота) і білки. Молекули ДНК і РНК відіграють ключову роль в життєдіяльності біологічних систем. ДНК виконує роль порталу, що вміщує інформацію про структуру білків, а РНК виступає як дієвий чинник синтезу білків відповідно до структури ДНК [1].

Основні функції біоорганічних речовин є критично важливими для підтримання життя та функціонування організмів. Біоорганічні речовини включають білки, вуглеводи, ліпіди, нуклеїнові кислоти та вітаміни. Кожна з цих груп виконує специфічні функції, що забезпечують нормальне функціонування біологічних систем.

Основні функції біоорганічних речовин:

Білки:

Будівельна функція: Білки є основними структурними компонентами клітин і тканин.

Каталітична функція: Входять до складу ферментів, що прискорюють хімічні реакції.

Транспортна функція: Білки забезпечують транспортування речовин через мембрани або в крові (наприклад, гемоглобін).

Імунна функція: Білки, як антитіла, беруть участь в імунній відповіді організму.

Вуглеводи:

Енергетична функція: Вуглеводи є основним джерелом енергії для клітин.

Структурна функція: Входять до складу клітинних стінок (целюлоза у рослин, хітин у грибів).

Захисна функція: Деякі вуглеводи беруть участь у захисті клітин від патогенів.

Ліпіди:

Енергетична функція: Ліпіди забезпечують збереження великої кількості енергії.

Будівельна функція: Входять до складу мембран клітин (фосфоліпіди, стерини), забезпечуючи їхню функціональність.

Гормональна функція: Ліпіди є попередниками для синтезу стероїдних гормонів.

Нуклеїнові кислоти:

Інформаційна функція: ДНК і РНК несуть генетичну інформацію для синтезу білків і регуляції біологічних процесів.

Енергетична функція: АТФ (аденозинтрифосфат) є ключовим носієм енергії.

Вітаміни:

Кофакторна функція: Вітаміни виконують роль коензимів або компонентів ферментних систем, які забезпечують нормальні метаболічні процеси.

Антиоксидантна функція: Деякі вітаміни (наприклад, вітамін Е, С) захищають клітини від пошкоджень вільними радикалами.

Висновок:

Біоорганічні речовини виконують важливі функції в метаболічних процесах, забезпечуючи будівництво клітинних структур, енергетичні обміни, біохімічні реакції, регуляцію фізіологічних функцій і захист організму.

Нуклеїнові кислоти — це біополімери, які є основними носіями генетичної інформації та відіграють ключову роль у синтезі білків і обміні речовин у клітинах.

Основні типи нуклеїнових кислот:

Дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК)/

Основний носій генетичної інформації у всіх організмах.

Складається з нуклеотидів, які мають структуру:

дезоксирибоза + фосфат + азотиста основа (аденін, гуанін, цитозин, тимін).

Основні функції: збереження, реплікація і передача генетичної інформації.

Рибонуклеїнова кислота (РНК)

Відповідає за транскрипцію та трансляцію генетичної інформації.

Складається з нуклеотидів, подібних до ДНК, але з рибозою замість дезоксирибози та замість тиміну містить урацил.

РНК має різні функції: мРНК (транскрипція), рРНК (структурна складова рибосом), тРНК (транспорт амінокислот).

Будова нуклеїнових кислот:

Нуклеотиди — основні будівельні блоки нуклеїнових кислот:

Склад нуклеотиду:

Пентозний цукор (дезоксирибоза в ДНК або рибоза в РНК)

Фосфатна група

Азотиста основа (аденін, гуанін, цитозин, тимін для ДНК; урацил замість тиміну для РНК).

Структура:

У ДНК дволанцюгова спіральна структура з комплементарними базовими парами:

Аденін (А) — Тимін (Т)

Гуанін (G) — Цитозин (C)

У РНК одноланцюгова структура без подвійних спіралей.

Основні функції нуклеїнових кислот:

Збереження і передача генетичної інформації:

ДНК служить довготривалим носієм спадкової інформації.

Транскрипція і трансляція:

РНК транслює інформацію з ДНК для синтезу білків через процеси транскрипції (з ДНК до мРНК) і трансляції (з мРНК до білків).

Каталіз (рНК):

Деякі молекули РНК виконують каталізаторські функції, наприклад, рибозими .

Регуляція генів:

РНК також відіграє роль у регуляції експресії генів.

Нуклеїнові кислоти є фундаментальними компонентами живих організмів, що відповідають за збереження, передачу та реалізацію генетичної інформації для синтезу білків та підтримання життєдіяльності клітин [2].

Дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК) — це молекула, що складається з двох спіралей, які утворюють подвійну спіраль. Вона є основним носієм генетичної інформації в клітинах усіх живих організмів [3].

Основна структура ДНК:

Нуклеотиди — основні будівельні блоки ДНК:

Пентозний цукор: дезоксирибоза

Фосфатна група

Азотисті основи: аденін (A), гуанін (G), цитозин (C) і тимін (T)

Структура подвійної спіралі:

ДНК складається з двох комплементарних ланцюгів, які закручуються у спіраль.

Ланцюги утворюють пари між азотистими основами:

Аденін (A) — Тимін (T)

Гуанін (G) — Цитозин (C)

Біфункціональна структура:

Один ланцюг ДНК є матричним, що використовується для синтезу відповідного ланцюга РНК під час транскрипції.

Основні функції ДНК:

Збереження генетичної інформації:

ДНК зберігає інформацію про всі білки та молекули, необхідні для функціонування клітин і організмів.

Реплікація:

ДНК здатна самовідтворюватися шляхом розділення подвійної спіралі та синтезу комплементарних ланцюгів.

Транскрипція:

ДНК служить основою для синтезу РНК шляхом транскрипції, яка необхідна для синтезу білків.

Регуляція експресії генів:

ДНК містить регуляторні послідовності, які контролюють активність різних генів у клітині.

Будова ДНК:

Антипаралельна орієнтація: Два ланцюги ДНК мають протилежні напрямки — один ланцюг направлений від 5' до 3', а інший від 3' до 5'.

Спіралізація: Завдяки регулярній взаємодії між парами азотистих основ створюється компактна, стабільна структура.

ДНК є центральною молекулою в генетичному матеріалі живих організмів. Вона забезпечує збереження, передачу та реалізацію генетичної інформації, необхідної для життєдіяльності клітин та організмів.

З хімічної точки зору, ДНК— це довга полімерна молекула, що складається з послідовності блоків — нуклеотидів (рис.1.1).

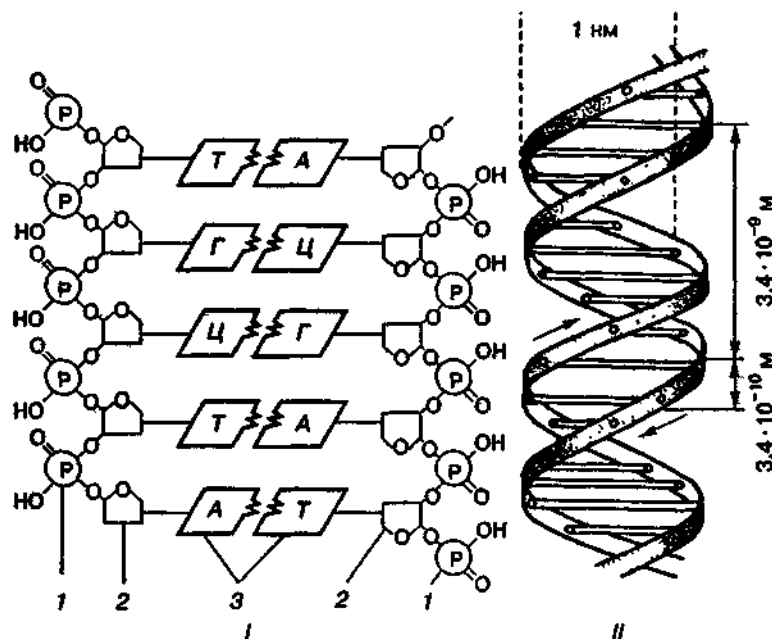


Рис. 1.1. Схема будови молекули ДНК (I) та її спіральної структури (II) [3]:

1 — залишок фосфорної кислоти; 2 — дезоксирибоза, 3 — азотисті основи

Кожний нуклеотид складається з азотистої основи, цукру (дезоксирибози) і фосфатної групи. Зв'язки між нуклеотидами в ланцюжку утворюються за рахунок дезоксирибози і фосфатної групи. У переважній більшості випадків (окрім деяких вірусів, що містять одноланцюжкові ДНК) макромолекула ДНК складається з двох ланцюжків, орієнтованих азотистими основами один проти одного. Ця дволанцюжкова молекула утворює спіраль. В цілому структура молекули ДНК отримала назву «подвійної спіралі».

У ДНК зустрічаються чотири види азотистих основ (аденін, гуанін, тимін і цитозин) (виняток становлять випадки пізніших модифікацій нуклеотидів, наприклад метильованих). Азотисті основи одного з ланцюжків сполучені з азотистими основами іншого ланцюжка водневими зв'язками згідно принципу комплементарності: аденін з'єднується тільки з тиміном, гуанін — тільки з цитозином. Послідовність нуклеотидів дозволяє «кодувати» інформацію про

різні типи РНК, найбільш важливими з яких є інформаційні, або матричні (мРНК), рибосомальні (рРНК) і транспортні (тРНК). Всі ці типи РНК синтезуються на матриці ДНК (тобто за рахунок копіювання послідовності ДНК у послідовність макромолекули, що синтезується) у процесі транскрипції і беруть участь у біосинтезі білків (процесах сплайсингу і трансляції). Крім кодуючих послідовностей, ДНК клітин містить послідовності, що виконують регуляторні і структурні функції. Ділянки кодуючої послідовності разом із регуляторними ділянками називаються генами.

У геномах еукаріотів містяться також довгі послідовності без очевидної функції (некодуючі послідовності, інтрони). Також у складі геному досить поширені генетичні паразити — транспозони і вірусні або схожі на них послідовності.

Розшифровка структури ДНК (виконана в 1953 році) стала одним з поворотних моментів в історії біології. За видатний внесок у це відкриття Френсісу Кріку, Джеймсу Ватсону і Морісу Вілкінсу була присуджена Нобелівська премія з фізіології і медицини 1962 року [5].

ДНК є носієм генетичної інформації, записаної у вигляді нуклеотидної послідовності за допомогою генетичного коду. З молекулами ДНК зв'язані дві основоположні властивості живих організмів — спадковість і мінливість. У ході процесу, що називається реплікацією ДНК, утворюються дві копії початкового ланцюжка, які успадковуються дочірніми клітинами при поділі. Клітини, що утворилися таким чином, будуть генетично ідентичними. Генетична інформація, потрібна для життєдіяльності клітини, зчитується при експресії генів [6].

РНК (рибонуклеїнова кислота) — клас нуклеїнових кислот, лінійних полімерів нуклеотидів, до складу яких входять залишок фосфорної кислоти, рибоза (на відміну від ДНК, що містить дезоксирибозу) і азотисті основи — аденін, цитозин, гуанін і урацил (на відміну від ДНК, що містить замість урацилу тимін). РНК містяться головним чином в цитоплазмі клітин. Ці молекули

синтезуються в клітинах всіх клітинних живих організмів, а також містяться у віроїдах та деяких вірусах. Основні функції РНК в клітинних організмах — шаблон для трансляції генетичної інформації в білки та поставка відповідних амінокислот до рибосом. У вірусах РНК є носієм генетичної інформації (кодує білки оболонки та ферменти вірусів). Віроїди складаються з кільцевої молекули РНК та не містять в собі інших молекул. Існує гіпотеза світу РНК, згідно з якою, РНК виникли до білків й були першими формами життя. Клітинні РНК утворюються в ході процесу, що зветься транскрипцією, тобто синтезу РНК на матриці ДНК, що здійснюється спеціальними ферментами - РНК-полімерази. Потім матричні РНК (мРНК) беруть участь у процесі, що називається трансляцією. Трансляція - це синтез білка на матриці мРНК за участю рибосом. Інші РНК після транскрипції піддаються хімічним модифікаціям, і після утворення вторинної та третинної структур виконують функції, що залежать від типу РНК [1].

Для одноланцюжкової РНК характерні різноманітні просторові структури, в яких частина нуклеотидів одного і того ж ланцюга спарені між собою. Деякі високо структуровані РНК приймають участь у синтезі білка клітини, наприклад, транспортні РНК служать для впізнавання кодонів та доставки відповідних амінокислот до місця синтезу білка, а матричні РНК служать структурною і каталітичною основою рибосом [1].

Однак функції РНК в сучасних клітинах не обмежуються їх роллю в трансляції. Так, малі ядерні РНК беруть участь у сплайсингу еукаріотичних матричних РНК та інших процесах.

Крім того, що молекули РНК входять до складу деяких ферментів (наприклад, теломерази) у окремих РНК виявлена власна ензиматична активність, здатність вносити розриви в інші молекули РНК або, навпаки, «склеювати» два РНК-фрагмента. Такі РНК називаються рибозимами.

Геноми ряду вірусів складаються з РНК, тобто у них вона відіграє роль, яку у вищих організмів виконує ДНК. На підставі різноманітності функцій РНК в клітині була висунута гіпотеза, згідно з якою РНК - перша молекула, здатна до самовідтворення в добіологічних системах [5].

1.2 Вторинна структура ДНК. Комплементарність. Генетичний код

Вторинна структура нуклеїнової кислоти утворюється внаслідок взаємодій між парами азотистих основ. Ці взаємодії можуть виникати як між двома молекулами нуклеїнової кислоти, так і між ділянками однієї молекули. Хімічним механізмом взаємодії між певними парами азотистих основ є водневий зв'язок. У ДНК аденін взаємодіє з тиміном (А-Т), утворюючи три водневі зв'язки, а гуанін взаємодіє з цитозином (Г-Ц), утворюючи два водневі зв'язки. Це явище називається комплементарністю.

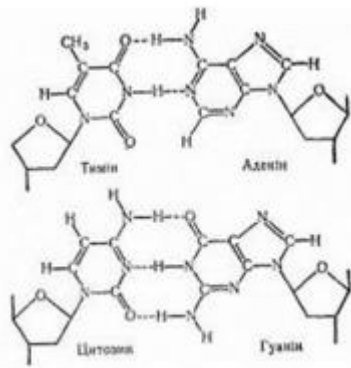


Рис.1.2 Комплементарність [10]

Комплементарність ланцюгів ДНК в подвійній спіралі дозволяє використовувати один з ланцюгів як матрицю для побудови іншого. Цей принцип грає важливу роль в реплікації ДНК, оскільки він є основою спадковості, тобто використовується для передачі генетичної інформації наступному поколінню. Транскрипція ДНК, тобто синтез ланцюга РНК на матриці ДНК, також ґрунтується на комплементарності.

У клітинах ДНК існує у вигляді дволанцюгової молекули, в якій всі азотисті основи беруть участь в утворенні відповідних водневих зв'язків між ланцюгами. РНК складається з одного ланцюга і часто утворює складні структури завдяки здатності додаткової гідроксильної групи в залишках рибози утворювати додаткові водневі зв'язки.

Генетичний код – це набір правил, використовуваних живими клітинами для трансляції інформації, закодованої в генетичному матеріалі (послідовності нуклеотидних триплетів (кодонів) в ДНК або інформаційній РНК) в послідовність амінокислот в білках. Кодон, що складається з трьох нуклеотидів в послідовності нуклеїнової кислоти, визначає одну певну амінокислоту. Генетичний код є спільним для всіх організмів і містить 64 кодони. З них 61 кодон використовується для кодування 20 різних амінокислот, і 3 кодони є «стоп-кодонами», що сигналізують про припинення синтезу білка. Один «старт-кодон», AUG, кодує початок синтезу білка, а також кодує амінокислоту метіонін.

Кодони в інформаційній РНК послідовно зчитуються під час трансляції, починаючи зі старт-кодону і до досягнення стоп-кодону. Кодони в інформаційній РНК зчитуються в напрямку від 5' кінця до 3' кінця, визначаючи порядок амінокислот у білку від N-термінусу (метіонін) до С-термінусу. Трансляція здійснюється рибосомою, яка з'єднує між собою амінокислоти в тому порядку, що визначений в інформаційній РНК, використовуючи молекули транспортної РНК для перенесення амінокислот до місця синтезу білка. Генетичний код є надлишковим (виродженим), тому що кількість кодонів більша, ніж кількість кодованих амінокислот, і одну амінокислоту можуть кодувати кілька кодонів. [10]

1.3. Особливості ДНК та РНК

Незважаючи на схожість будови і хімічної природи, ДНК та РНК виконують у живих організмах різні функції.

Головна функція ДНК - збереження і передача генетичної (спадкової) інформації від батьків до нащадків. В її молекулі зашифрована інформація про будову всіх білків організму. Пригадаємо, що білки - це поліпептидні ланцюги, що складаються з амінокислот. Кожній амінокислоті в молекулі білка відповідає послідовність із трьох нуклеотидів (триплет) в молекулі ДНК. Ділянка ДНК, в якій зашифрована будова одного білка, називається **геном**. Довжина гену залежить від розмірів білкової молекули. Оскільки в організмі є дуже багато різновидів білків, то молекула ДНК має велику довжину і досягає 1 м. В клітині вона перебуває в компактному (згорнутому) вигляді. При поділі клітини подвійна спіраль ДНК розкручується і під дією спеціального ферменту полінуклеотидні ланцюги роз'єднуються. За принципом комплементарності кожний з ланцюгів добудовує собі новий ланцюг із відповідних нуклеотидів.. Цей процес називається **реплікацією ДНК** (мал.4). При цьому із однієї молекули ДНК утворюються дві абсолютно точні її копії, і кожна з дочірніх клітин дістає свою ДНК. Таким чином повністю передається вся спадкова інформація.

Головна функція РНК - забезпечувати процес синтезу білка, властивого конкретному організмові. Є три види РНК: інформаційні, транспортні, рибосомні. Кожна молекула **інформаційної РНК** дістає в процесі свого синтезу в ядрі інформацію від ДНК про будову білка у вигляді скопійованої послідовності нуклеотидів і переносить її на рибосоми, де відбувається синтез білка. Кожен з тисячі білків має свою інформаційну РНК. Основна функція **транспортних РНК** - транспортування до рибосом амінокислот,

необхідних для синтезу білка. Кожна амінокислота має свою транспортну РНК, іноді не одну.

Рибосомні РНК зосереджені в рибосомах і допомагають залишкам амінокислот з'єднуватись, утворюючи білок. Їх функція вивчена ще недостатньо. Перестановка амінокислот місцями або втрата під час синтезу білка хоча б однієї амінокислотної ланки практично не відбуваються. Рідкісні випадки, що трапляються, можуть негативно позначитись на організмі.

Вивчення будови ДНК дало змогу розвиватися новій галузі науки, яка називається генною інженерією. Її досягнення використовуються у виведенні нових сортів рослин і порід тварин, виявленні та лікуванні спадкових хвороб тощо[17].

Дезоксирибонуклеїнова кислота є біополімером (поліаніоном), мономерами якого є нуклеотиди. Кожен нуклеотид складається із залишку фосфорної кислоти, приєднаного по 5'-положення до цукру дезоксирибози, до якого також через глікозидний зв'язок (C—N) по 1'-положенню приєднана одна з чотирьох азотистих основ. Саме наявність характерного цукру і складає одну з головних відмінностей між ДНК і РНК, зафіксовану в назвах цих нуклеїнових кислот (до складу РНК входить цукор рибоза). Виходячи із структури молекул, основи, що входять до складу нуклеотидів, розділяють на дві групи: пуринові (аденін [A] і гуанін [G]), утворені сполученими п'яти- і шестичленним гетероциклами і піримідинові (цитозин [C] і тимін [T]) — утворені одним шестичленним гетероциклом [2].

Як виняток, наприклад, у бактеріофага PBS1, в ДНК зустрічається п'ятий тип основ — урацил (U), азотиста основа, що зазвичай входить до складу РНК замість тиміну і відрізняється від тиміну відсутністю метильної групи на кільці. Слід зазначити, що тимін і урацил не так строго приурочені до ДНК і РНК

відповідно, як це вважалося раніше. Так, після синтезу деяких молекул РНК значне число урацилів у цих молекулах метилюється за допомогою спеціальних ферментів, перетворюючись на тимін. Це відбувається в транспортних і рибосомних РНК [6].

РНК знаходиться у ядрах клітин і існує у вигляді подвійної спіралі. Пуринові і азотисті основи направлені до внутрішньої частини спіралі і утворюють між собою водневі зв'язки. Причому, пуринові основи завжди утворюють водневий зв'язок лише з азотистими основами і навпаки. Аденін завжди утворює водневий зв'язок з тиміном, а гуанін - з цитозином [7].

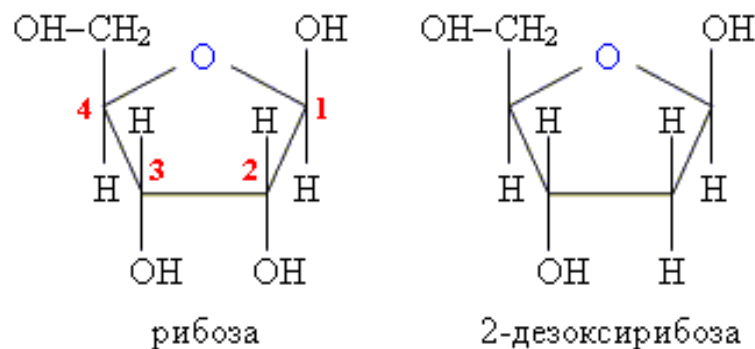


Рис 1.3. Рибоза, дезоксирибоза.[7]

До складу ДНК входять аденін, гуанін, цитозин і тимін. До складу РНК входять аденін, гуанін, цитозин і урацил [4]:

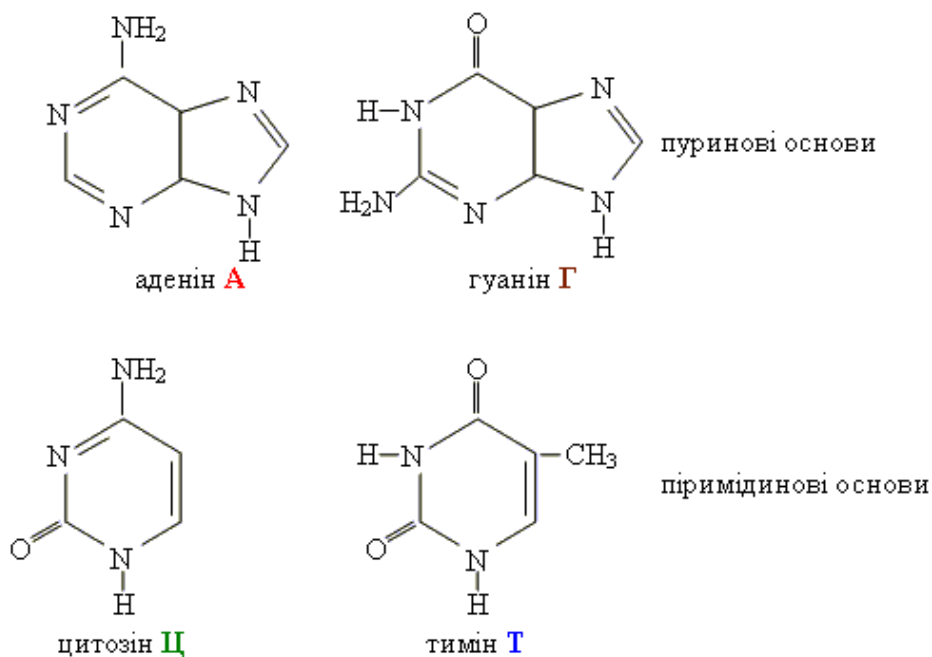


Рис 1.4. Пуринові та піримідинові основи [4].

Урацил являє собою диметильований тимін:

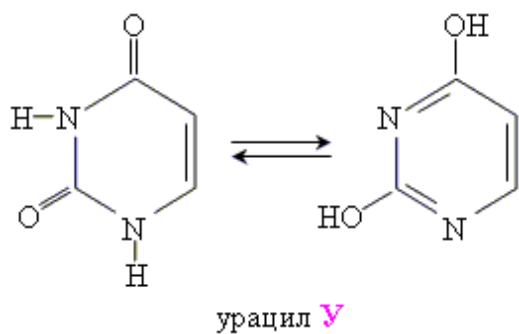


Рис 1.5. Урацил [4].

1.4. Загальна характеристика будови нуклеїнових кислот

Нуклеїнові кислоти – це високомолекулярні органічні сполуки, які складаються з великої кількості залишків мононуклеотидів (нуклеотидів),

з'єднаних 3',5'-фосфодієфірними зв'язками в полінуклеотидні ланцюги, і які виконують важливу роль у збереженні й передачі генетичної інформації, беруть участь у біосинтезі та регуляції біосинтезу специфічних білків живого організму.

Нуклеїнова кислота – це гетерополімер, мономер якого представлений не однією певною речовиною, а трьохкомпонентним утворенням – нуклеотидом. Нуклеотиди складаються із гетероциклічної основи, сполученої з вуглеводним залишком, етерифікованим, у свою чергу, фосфорною кислотою. Нуклеїнова кислота називається рибонуклеїною (РНК), якщо до її складу входить рибоза, або дезоксирибонуклеїною (ДНК), якщо до її складу входить дезоксирибоза. Пентози у складі нуклеїнових кислот присутні завжди в β -D-фуранозній формі:

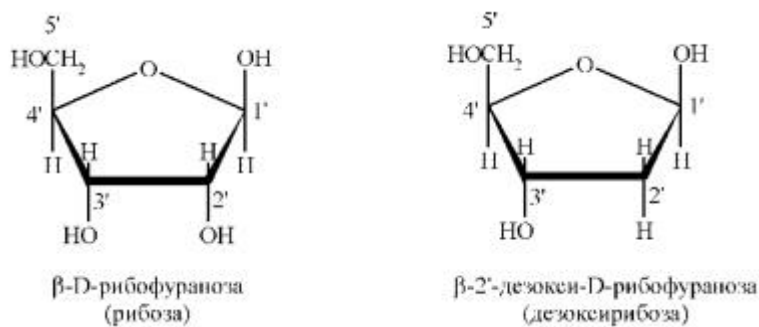
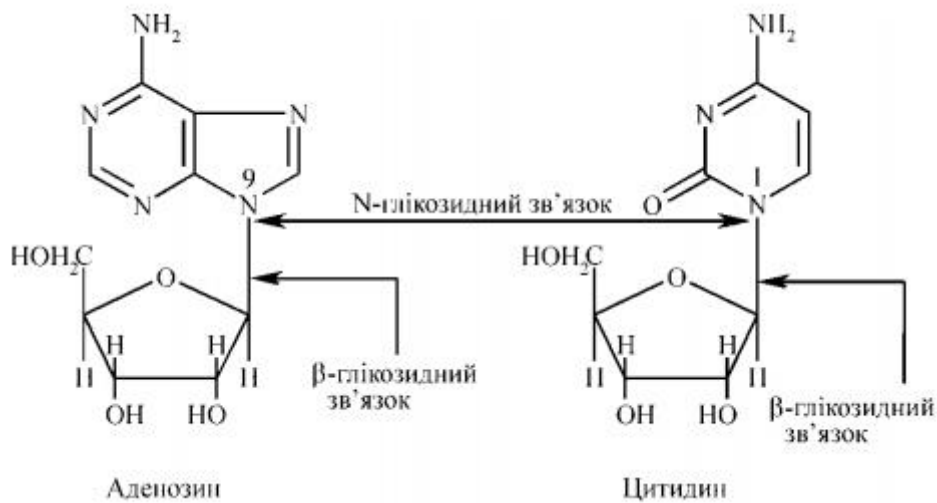


Рис. 1.6 β -D-рибофураноза, β -D-деооксирибофураноза [19]

Нуклеозиди. Азотисті основи, з'єднуючись із пентозами, утворюють сполуки, що одержали назву нуклеозидів. Пуринові основи через 9-й атом азоту, а піримідинові – через 1-й – утворюють N-глікозидний зв'язок із рибозою або 2'-дезоксирибозою. При цьому завжди утворюється β -глікозидний зв'язок (за рахунок відщеплення молекули води – гідрогену від N9 або N1 основ і

гідроксигрупи аномерного атома C-1' рибози):



Використовуються назви, які походять від тривіальної назви відповідної азотистої основи із закінченням -идин (-идин) у піримідинових і -озин – у пуринових нуклеозидів:

Аденін + Рибоза → Аденозин (А) Гуанін + Рибоза → Гуанозин (Г)

Цитозин + Рибоза → Цитидин (Ц) Урацил + Рибоза → Уридин (У)

Аденін + 2'-Дезоксирибоза → Дезоксиаденозин (дА)

Гуанін + 2'-Дезоксирибоза → Дезоксигуанозин (дГ)

Цитозин + 2'-Дезоксирибоза → Дезоксицитидин (дЦ)

Тимін + 2'-Дезоксирибоза → Дезокситимідин (дТ)

Будова полінуклеотидного ланцюга. Нуклеїнові кислоти являють собою полінуклеотиди, побудовані з мономерів – нуклеотидів, кількість яких варіюється від 7 десятків до сотень мільйонів (продукт поліконденсації).

Роль містка між нуклеотидами виконує 3',5'-фосфодіефірний зв'язок, з'єднуючий С-3'-D-рибози (або 3'-дезоксирибози) одного нуклеотиду з С-5' 58 другого. У зв'язку з цим полінуклеотидний ланцюг має певний напрямок: на

одному його кінці (початок ланцюга) залишається вільною 5'-ОН, на іншому – 3'-ОН група (кінець ланцюга). Тому кінці лінійного (нерозгалуженого) полінуклеотидного ланцюга позначають: 5'-кінець (ліворуч) і 3'-кінець (праворуч), оскільки написання ланцюга починають з 5'-кінця. У цьому випадку загальний напрямок утворення фосфодієфірних зв'язків у ланцюгу позначається 5'→3'. На 5'-кінці знаходиться фосфатна група у складі першого нуклеотиду, тому такий кінець позначають літерою «Р» (фосфор) або «Ф». На іншому кінці в пентозному залишку зберігається вільна гідроксильна група в С-3', і тому цей кінець ланцюга ще позначають як 3'-ОН-кінець

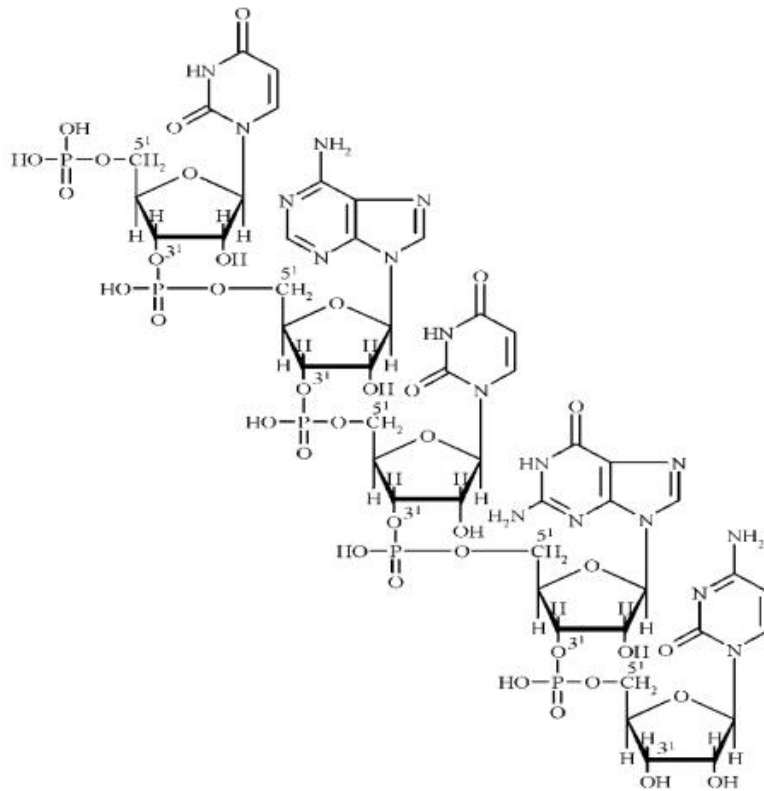


Рис.1.7 Графічне зображення пентануклеотиду РНК [19]

1.5. Структура та фізико-хімічні властивості нуклеїнових кислот

Нуклеїнові кислоти - тверді речовини білого або світло-жовтого кольору, волокнистої будови, погано розчиняються у воді. Як і білки, вони є

високомолекулярними сполуками з відносною молекулярною масою від сотень тисяч до кількох мільйонів. Виділяють 2 види нуклеїнових кислот: дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК) і рибонуклеїнова кислота (РНК). Макромолекули обох речовин побудовані із структурних ланок (**нуклеотидів**). Кожний нуклеотид складається із залишків трьох речовин, які з'єднані між собою: азотистої **основи, моносахариду і ортофосфатної кислоти**.

Азотисті основи - це органічні речовини з особливою будовою замкнутого ланцюга, утвореного атомами Карбону і Нітрогену. До складу нуклеотидів входять п'ять основ: аденін, гуанін, тимін, цитозин, урацил.



Рис.1.8. Азотисті основи [17]

Моносахаридом ДНК є дезоксирибоза C₅H₁₀O₄, а моносахаридом РНК - рибоза C₅H₁₀O₅. Молекули їх мають будову замкнутого п'ятикутника.

За кількістю основ виділяють 4 види нуклеотидів. Схематично їхня будова зображена на *мал.1*.

В молекулі ДНК кількість аденіну дорівнює кількості тиміну, а кількість гуаніну - кількості цитозину. Ця закономірність допомогла розкрити структуру ДНК., яка складається не з одного полінуклеотидного ланцюга, а з двох, причому аденін одного полімерного ланцюга завжди з'єднаний водневими зв'язками з тиміном другого полінуклеотидного ланцюга, а гуанін постійно зв'язується з цитозином . Така закономірність дістала назву **комплементарності** (доповнюваності)

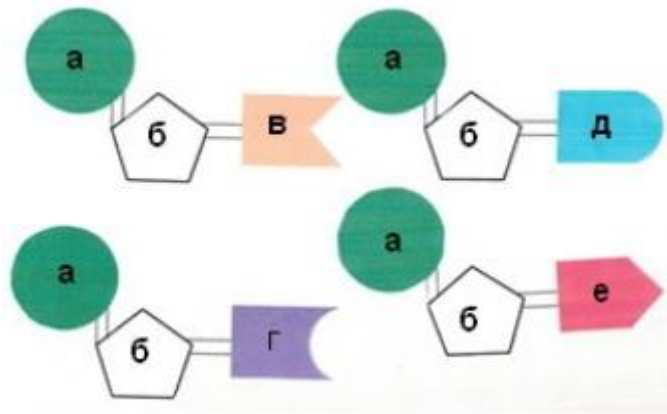


Рис 1.9 Будова нуклеотидів: а – ортофосфатна кислота; б – моносахарид; в,г,д,е – нітратні основи[17]

З точки зору енергетики зв'язків, структури молекули РНК і ДНК можна описати ієрархічно.

По-перше, це первинна структура молекули, що описує її як ланцюг нуклеотидів, послідовно з'єднаних найбільш сильними фосфодієфірними зв'язками. Деякі нуклеотиди в цьому ланцюгу зв'язані попарно водневими Уотсон-Криковськими зв'язками, які також досить міцні. Структура цих зв'язків називається вторинною структурою РНК (ДНК).

В силу скінченності множини можливих водневих Уотсон-Криковських зв'язків число вторинних структур, які може приймати дана РНК (ДНК) скінченне, але дуже велике.

Визначення реальної вторинної структури РНК (ДНК) за її відомою первинною структурою також є важливою фундаментальною проблемою молекулярної біології.

Під третинною структурою молекули РНК (ДНК) розуміють просторову форму, яку приймає її молекулярний ланцюг в просторі під дією Уотсон-Криковських та інших більш слабких потенціалів. Четвертинною структурою називається форма молекули, яку вона отримує, зв'язуючись в комплекс з іншими біомолекулами. Первинна структура у молекули РНК одна, а

потенціально можливих вторинних (третинних, четвертинних) структур багато [1].

В залежності від концентрації іонів і нуклеотидного складу молекули, подвійна спіраль ДНК у живих організмах існує в різних формах. На малюнку (зліва направо) представлені А, В і Z форми.

Якщо узятися за кінці мотузки і почати скручувати їх в різні боки, вона стає коротшою і на мотузці утворюються великі «супервитки». Також може бути суперскручена й ДНК. У звичайному стані ланцюжок ДНК робить один

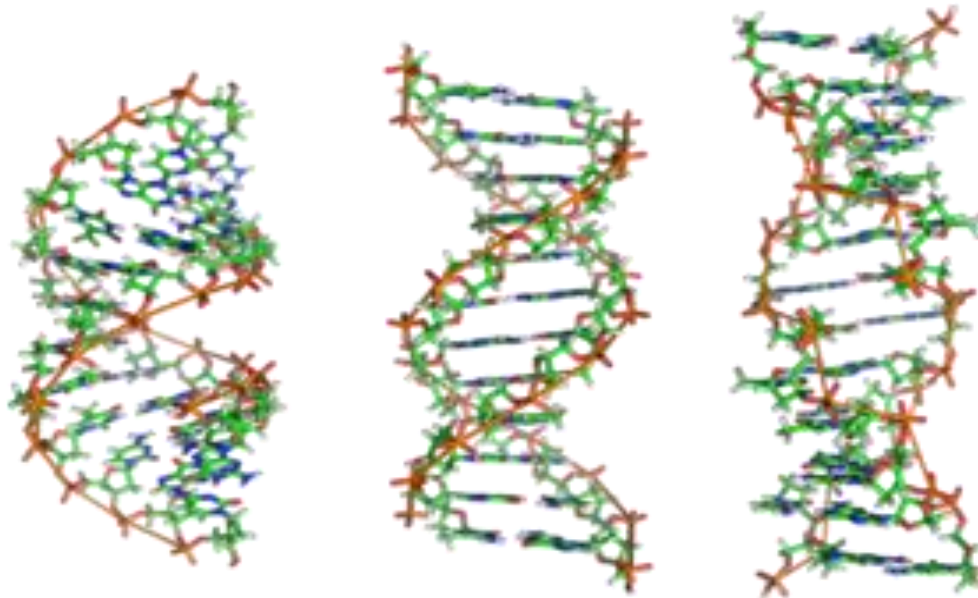


Рис. 1.10. А, В і Z форми подвійної спіралі ДНК [1].

оберт на кожні 10,4 основ, але в суперскрученому стані спіраль може бути згорнута тугіше або розплетена. Виділяють два типи суперскрученості: позитивну — у напрямі нормальних витків, при якому основи розташовані ближче одна до одної; і негативну — в протилежному напрямку. У природі молекули ДНК зазвичай перебувають в стані негативної суперскрученості, який вноситься ферментами, — [топоізомеразами](#). Ці ферменти вилучають додаткову скрученість, що виникає в ДНК в результаті [транскрипції](#) і [реплікації](#) [3].

Стабільність просторової структури біомакромолекул забезпечує цілий ряд хімічних зв'язків [7]:

1. ковалентні зв'язки;
2. електростатичні взаємодії;
3. водневі зв'язки;
4. Ван-дер-Ваальсові взаємодії;
5. гідрофобні зв'язки.

Кожен з видів взаємодії відіграє свою особисту роль в існуванні та функціюванні біомолекул в такому виді, в якому вони зустрічаються і забезпечують існування відомих нам форм живих організмів.

Нуклеїнові кислоти добре розчинні у воді, практично не розчинні в органічних розчинниках. Дуже чутливі до дії температури, тиску та критичних значень рівня [рН](#). Молекули ДНК з високою молекулярною масою, виділені з прородних джерел, здатні фрагментуватися під дією механічних сил, наприклад при перемішуванні розчину. Нуклеїнові кислоти фрагментуються ферментами— [нуклеазами](#) [8].

ДНК може пошкоджуватись різноманітними [мутагенами](#), до яких належать [окислюючі](#) й [алкілюючі](#) речовини, а також високоенергетична радіація — електромагнітна і корпускулярна. Тип пошкодження ДНК залежить від типу мутагена. Наприклад, ультрафіолет пошкоджує ДНК шляхом появи в ній димерів тиміну, які утворюються при формуванні ковалентних зв'язків між сусідніми основами. [Активні форми кисню](#), наприклад [«вільні» радикали](#) або [перекис водню](#), призводять до кількох типів пошкодження ДНК, включаючи модифікації основ, особливо гуанозину, а також дволанцюжкові розриви в ДНК. За деякими оцінками у кожній клітині людини близько 500 основ пошкоджуються окислюючими сполуками кожного дня. Серед різних типів пошкоджень найнебезпечніші — дволанцюжкові розриви, тому що вони важко [репаруються](#) і можуть призвести до втрат ділянок хромосом ([делецій](#)) і [транслокацій](#). Багато

молекул мутагенів вставляються ([інтеркалюються](#)) між двома сусідніми парами основ. Більшість цих сполук, наприклад, [бромистий етидій](#), [дауноміцин](#), [доксорубіцин](#) і [талідомід](#), мають [ароматичну структуру](#). Для того, щоб ароматична сполука могла вміститися між основами, вони повинні розійтися, розплітаючи й порушуючи структуру подвійної спіралі. Ці зміни в структурі ДНК перешкоджають транскрипції і реплікації, викликаючи мутації. Тому інтеркалюючі речовини часто є [канцерогенами](#), найвідоміші з яких — [бензопірен](#), [акридини](#), [афлатоксини](#) і бромистий етидій. Незважаючи на ці негативні властивості, в силу своєї здатності пригнічувати транскрипцію і реплікацію ДНК, деякі речовини, що інтеркалюють до ДНК, використовуються в [хіміотерапії](#) для пригнічення швидкого росту [ракових](#) клітин [8].

Відомо, що рентгенівське випромінювання та потік заряджених електронів руйнує біомолекули. Тому для отримання кожного рентгенівського знімку ДНК потрібно брати нову ДНК. Однак, Швейцарські вчені виявили, що ДНК досить стійка до опромінення пучком когерентних електронів енергією біля 60 еВ а сумарний поріг руйнування зростає на п'ять порядків. Це дозволило їм без руйнування зробити знімок ДНК (рис.2.7). Молекула ДНК витримала опромінення протягом 70 хвилин, причому на кожний квадратний нанометр зразка впало 10^8 частинок [9].

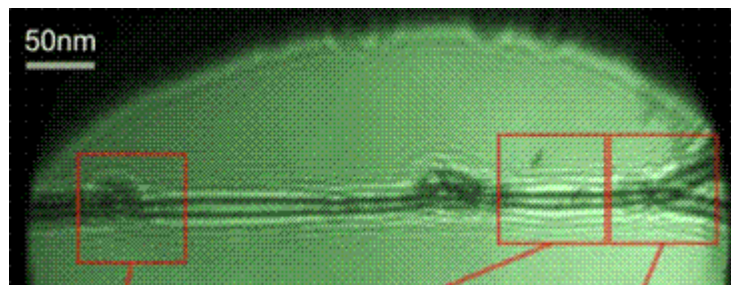


Рис. 1.11. Фотографія з допомогою електронного мікроскопу молекули ДНК [5].

Не дивлячись на те, що структури ДНК та РНК вдалось розшифрувати майже 60 років тому, питань в розумінні їх структури та функціювання більше, ніж відповідей. Це надзвичайно складні молекули, не дивлячись на те, що складаються з досить простих та однотипних складових (нуклеотидів). ДНК, РНК - носії колосального об'єму інформації – інформації про життя. Знаходження цієї інформації - одне з головних завдань сучасної біофізики. Воно має як теоретичний так і прикладний аспект. Тому подальше дослідження ДНК та РНК не втратило актуальності і, напевно, ще не втратить актуальності в найближчі десятиліття, а можливо і ніколи.

РОЗДІЛ 2. ВИВЧЕННЯ ХАРАКТЕРИСТИК ІНФОРМАЦІЙНИХ БІОМОЛЕКУЛ ТА ЇХ СКЛАДОВИХ

2.1. Загальні відомості про теоретичні методи досліджень властивостей біомолекул та їх складових

Молекулярне моделювання є ефективним інструментом молекулярної біоінженерії, наноматеріалознавства та інших наук [9-13]. Потенціал промислового розвитку, заснований на технологіях атомної точності, в найближчі роки буде пов'язаний значною мірою з комп'ютерно-орієнтованими методами моделювання складних систем, з дизайном нових функціональних матеріалів *in silico* (комп'ютерна симуляція), особливо, біологічних. Завдяки зростанню комп'ютерних потужностей зараз стало можливим досліджувати складні біологічні системи, такі як інтегральні мембранні білки, комплекси ДНК з білками і багато іншого [14-20]. Молекулярне моделювання включає в себе цілий ряд методів: молекулярну динаміку, квантову хімію, моделювання структури за гомологією і т.п.

Найбільшого розвитку в даний час отримав метод молекулярної динаміки (МД), який дозволяє досліджувати не лише структурні особливості та фізико-хімічні властивості досить складних (в тому числі, біологічних) об'єктів, а й моделювати динаміку функціональних процесів [21-28].

За останні 30 років найбільш помітним досягненням у сучасній комп'ютерній хімії та біології став розвиток обчислювальних методів вивчення динамічної поведінки молекулярних систем.

За словами знаменитого фізика Річарда Фейнмана, для розуміння принципів функціонування живої матерії досить припущення, «що все складається з атомів, і що все, що відбувається в живому об'єкті, можна представити у

термінах коливань і зсувів атомів ». Іншими словами, знання динамічної поведінки молекулярної системи дозволяє пролити світло на механізм її функціонування. З точки зору фізики, найбільш коректним описом еволюції молекулярної системи у часі є квантово-механічному подання. Однак отримати рішення рівняння Шредінгера з перших принципів (*ab initio*), навіть з огляду на сучасний рівень комп'ютерної техніки, практично можливо тільки для атома гелію, але ніяк не більше великих систем. Існують, щоправда, підходи, які використовують різні наближення [9].

У той же час є альтернативний шлях - розглядати молекулярну систему з позиції класичної ньютонівської механіки і при цьому описувати її еволюцію в часі за допомогою методу молекулярної динаміки (МД). В основі методу МД лежить чисельний розв'язок рівнянь Ньютона для набору атомів:

$$m_i d^2r_i/dt^2 = F_i; \quad F_i = -dU/dr_i \quad (2.1)$$

Тут друга похідна координати атома (прискорення) пропорційна силі, що діє на атом, яка, у свою чергу, дорівнює похідній від потенціальної енергії по координаті, взятої з протилежним знаком. При цьому вважається, що ефект руху електронів неявно враховується в емпіричній функції потенціальної енергії $U(r)$, тому в даному випадку динамічної змінної є тільки положення ядер як функція часу [9].

У даний час використання методів МД в дослідженні різних біомолекулярних систем стало звичайним явищем. Тривалість розрахунків часто досягає декількох мікросекунд (10^{-6} с), а розміри модельованої системи - декількох мільйонів атомів. При цьому об'єктом дослідження є вже не окремі молекули, а складні молекулярні комплекси, наприклад, білки, вбудовані в багатокomпонентні мембрани в комірках з молекулами води і різними іонами [26], і навіть такі складні молекулярні машини, як рибосома [27].

Поряд з МД, іншим важливим апаратом теоретичних досліджень структури та будови молекул, в тому числі і біомолекул та їх складових, є

квантова хімія. Квантова хімія - область теоретичної хімії, в якій питання будови і реакційної здатності хімічних сполук, хімічні зв'язки розглядаються на основі уявлень і методів квантової механіки. Квантова механіка в принципі дозволяє розраховувати властивості атомно-молекулярних систем, виходячи тільки з рівняння Шредінгера, принципу Паулі і універсальних фізичних постійних. Сучасні комп'ютерні технології квантової хімії (неемпіричної та напівемпіричної) дозволяють передбачити геометричну будову, енергію й інші властивості молекул, за що методи квантової хімії часто називають новим важливим засобом хімічних досліджень, важливість якого порівнюють із значимістю методів молекулярної спектроскопії. Проте між дослідженнями молекул методами квантової та експериментальної хімії існує фундаментальна різниця: розрахунки можна однаково "легко" виконати як для неіснуючих або нестійких сполук, так і для існуючих сполук, з якими доводиться проводити експериментальні дослідження в лабораторії. Інформативність квантовохімічних методів структурної хімії значно вища, ніж експериментальних тому, що вони дозволяють одночасно одержати дані про геометрію молекул, дипольні моменти, ентальпії утворення, потенціали іонізації, розподіл зарядів, порядки зв'язків, спінові густини і т.д. І все це в одному експерименті [29].

2.2. Метод молекулярної динаміки

Сьогодні використання МД в дослідженні різних біомолекулярних систем є звичайною практикою. Цей підхід широко застосовується для вивчення структурно-динамічних властивостей білків, нуклеїнових кислот, ліпідних мембран. Проте всього 30 років тому публікацію в Nature короткочасного розрахунку МД бичачого панкреатичного трипсинового інгібітора (БПТІ) [9] стала справжнім проривом у структурній біології і багато в чому визначила розвиток методів молекулярного моделювання.

Народження методів молекулярної механіки, що включають МД і метод конформаційного пошуку Монте-Карло (МК), було абсолютно не пов'язано з біологією і відбувалося в надрах американського ядерного проекту - національних лабораторіях Лос-Аламоса і Лівермора [9] .

Одним з творців методів молекулярної механіки по праву можна вважати Берні Алдера (Bernie Alder). Працюючи на початку 50-х аспірантом у Каліфорнійському технічному інституті (CALTECH), він займався проблемою поведінки системи твердих сфер, у якій, подібно більярдним кулям, частинки взаємодіють безпосередньо при зіткненні і рухаються між зіткненнями як вільні частки. Виникло питання - чи може в даній системі спостерігатися фазовий перехід з рідкої фази в тверду? Дане завдання не піддавалася простому аналітичному розв'язку, зважаючи на складність і нелінійність одержуваних інтегральних рівнянь. Тоді разом зі своїм безпосереднім керівником Стеном Френклом (Stan Frankel), який перейшов до Каліфорнійського інституту з Лос-Аламоса, вони вирішили використовувати стохастичний підхід у вирішенні цієї задачі. Для цього ними був розроблений алгоритм, який дозволяв досліджувати поведінку системи твердих сфер шляхом серії випадкових «перетасовок» частинок у деякій «віртуальній комірці». Проте розв'язати поставлену проблему дані розрахунки наразі не дозволили [9].

Створений ними алгоритм отримав згодом широке поширення, і відомий світу під назвою «метод Монте-Карло» (МК). Правда, автором МК вважається Ніколас Метрополіс.

Проблема фазового переходу в системі твердих сфер і невдачі з використанням МК в її дослідженні не давали Алдеру спокою. У 1955 році він знов зайнявся цим завданням Спільно з Томом Вайнрайтом (Tom Wainwright) він використовував динамічний підхід у дослідженні фазової діаграми системи твердих сфер. Розрахунки МД навіть для найпростішої системи в той час були значно більш трудомісткими, ніж стохастичний пошук методом МК.

Групою Алдера була розроблена перша програма для розрахунку МД - STER. У 1957 році завдання було вирішено. У системі твердих куль спостерігалися одночасно області твердого тіла і рідини. Вийшла в тому ж році публікація, яка стала першою роботою з використання розрахунків МД [22]. Безумовно, важливу роль в успіху дослідження відіграло створення ефективного алгоритму розрахунку, реалізованого в STER. Ряд революційних підходів у вирішенні динамічних рівнянь, зокрема, алгоритм пошуку найближчих сусідів у системі куль, дозволив істотно прискорити обчислення. Треба сказати, що завдання про фазовий перехід в системі твердих сфер було з часом розв'язано з використанням МК. Причини невдач в перших спробах Алдера ховались в неоптимальному алгоритмі розрахунків [9].

Подальший розвиток методу МД йшов за кількома напрямками. Один з них було пов'язаний з вивченням поведінки не абстрактних сфер, а реалістичних атомарних систем. Піонерською роботою в даній області стали розрахунки рідкого аргону, проведені Анесуром Рахманом (Aneesur Rahman) [23]. У системі, що складається з 864 атомів, взаємодія частинок визначалась не тільки їх зіткненнями, але також додатковим парним потенціалом Ленарда-Джонса, відповідним Ван-дер-Ваальсовій енергії взаємодії атомів. Дослідження Ван-дер-Ваальсових рідин за допомогою методу МД знайшли продовження в роботах французького фізика Лу Верле (Loup Verlet) з Університету Парі-Сюд (L'Université Paris-Sud). У 1967 р. Верле розрахував фазову діаграму для рідкого аргону, а також на підставі комп'ютерного експерименту визначив для такої рідини ряд характерних кореляційних функцій, які добре узгоджувались з розробленою раніше теорією рідкого стану [15]. Крім того, заслугою Верле є розробка ефективного методу чисельного інтегрування рівнянь руху (алгоритм Верле), згідно з яким знаходять координати кожного атома на підставі значення координат у два попередніх моменти часу. Це дозволяє не проводити

розв'язування диференціальних рівнянь для обчислення швидкостей на кожному кроці МД, а отримувати їх на підставі різницевого рівняння, також запропонованого Верле. Такий алгоритм допомагає суттєво економити комп'ютерний час при розрахунку МД [9].

Істотний прорив у розвитку обчислювальних підходів у вивченні реальних молекул став можливий після того, як ізраїльським фізиком Шнеіром Ліфсоном (Shneior Lifson) з Вейсманського інституту в середині 60-х була запропонована концепція Хартрі силового поля (CFF- consistent force field) [9].

Ідея полягала у використанні набору простих термів потенційної енергії для розрахунку різних властивостей молекул. Таким чином, потенційна енергія молекули описується набором рівнянь, параметрами яких служать константи (довжини і енергії міжатомних зв'язків, значення валентних і двогранних кутів і ін), отримані експериментально або за допомогою методів квантової хімії. Нобелівський лауреат, англійський біохімік Джон Кендрю (John Kendrew [9]), дізнавшись про ідею Ліфсона, побачив великі можливості використання CFF у вивченні молекул білків і нуклеїнових кислот. У 1967 р. він направив одного з своїх аспірантів працювати в групу Ліфсона. Цим аспірантом був Майкл Левіт (Michael Levitt). Він почав роботу зі створення комп'ютерної програми, в якій була б реалізована ідея Ліфсон. Левіт провів перші в світі розрахунки потенційної енергії білків. Для цього були використані вже отримані на той час за допомогою рентгеноструктурного аналізу просторові структури міоглобіну і лізоциму. Подальша робота Левіта була пов'язана з побудовою моделі просторової структури транспортної РНК (тРНК). Існування цієї молекули було передбачене Криком за десять років до того, як почали проводитися активні дослідження її структури і функцій. тРНК містить ~ 2000 атомів, тому, коли Левіт у себе вдома побудував СРК-модель з конструктора, вага «молекули» становила майже 50 кілограм [9].

Проте структура нуклеїнових кислот в той час здавалася досить простою і очевидною, і тому більш інтригуючою тематикою були принципи організації поліпептидного ланцюга. Надалі Левит активно працював над проблемою згортання білкових молекул і механізмів ферментативних реакцій, використовуючи різні методи конформаційного аналізу, засновані на концепції силового поля.

Програма CFF, написана Левітом ще в роки аспірантури, виявилася «вплутаною» в історію розвитку методів МД. Як він писав пізніше, CFF «подорожувала по світу самостійно», з'являючись у різних лабораторіях [14]. Так програма, написана Желіном, дозволила провести перший розрахунок молекулярної динаміки білка, який був опублікований Ендрю Мак-Кеммоном (Andrew McCammon) і Карплюсом в 1977 р. [11]. Робота стала справжнім проривом, бо свідчить про настання нової ери в комп'ютерних дослідженнях молекулярних систем. З цього моменту використання силових полів для розрахунків МД біомолекул стало стандартною практикою. [9]

Об'єктом дослідження Мак-Кеммон і Карплюс вибрали невеликий білок БПТІ, що складається з 58 амінокислотних залишків і містить три дисульфідні зв'язки, які стабілізують молекулу. В якості стартової конформації авторами була взята кристалографічна структура БПТІ, отримана кількома роками раніше [9].

Обрана ними схема розрахунку МД у вакуумі, в цілому, нагадує сучасні методики. Крок інтегрування динамічних рівнянь був обраний рівним 1 фс (10^{-15} с) - свідомо менше найшвидших рухів в білку (коливання протонів). Оскільки вихідна конформація БПТІ не перебувала в енергетичному мінімумі, щоб знизити потенційну енергію, частина її була переведена в кінетичну. У результаті білок за кілька сотень кроків МД «нагрівся» від 0 до 285 К. Наступні 9 пс (9000 кроків) основного розрахунку температура в системі коливалася в районі 295 К (22 °С - кімнатна температура). Варто відзначити, що «температура» у МД є досить абстрактним поняттям і відповідно до молекулярно-кінетичної теорії

визначається кінетичною енергією атомів (їх швидкостями). У сучасних розрахунках використовують спеціальні алгоритми - «термостати», які дозволяють усереднювати температуру в системі близько заданого значення, уникаючи появи «нагрітих» і «заморожених» областей. Їхній принцип заснований на введенні в рівняння МД додаткової знакозмінної сили тертя, що залежить від швидкості атома. Ця сила може або розганяти «заморожені» атоми, або гальмувати «нагріті». Один з перших подібних алгоритмів, що дозволяють проводити розрахунки в реалістичних умовах з постійною температурою, кількома роками пізніше був запропонований Германом Берендсенем (Herman J. C. Berendsen) [23].

Незважаючи на те, що розрахунки БПТІ Мак-Кеммона і Карплюса були дуже короткочасними і проводилися в нереалістичних для білкової глобули умовах (відсутність розчинника, не постійна температура тощо), ряд висновків, зроблених авторами на підставі своєї роботи, мав велике значення для розвитку теоретичних уявлень про принципи організації молекули білка. Зокрема, аналіз динамічного поведінки атомів БПТІ в процесі МД дозволив їм встановити, що внутрішня організація білкової глобули за своїми динамічними властивостями ближче до рідини, ніж до твердого тіла. При цьому ними було постульовано, що внутрішній рух в білку має дифузний характер, або як більш точно було сформульовано пізніше - характер обмеженою дифузії. Крім того, сам факт, що за допомогою комп'ютерних розрахунків можна спостерігати за структурно-динамічними властивостями біомолекул на атомному рівні, спонукав багатьох вчених на активні дослідження в даній області [9].

Кількість робіт по МД білків і, трохи пізніше - ДНК, стрімко зросла за кілька наступних років. Вже через два роки Мак-Кеммон і Карплюс опублікували статтю, в якій довжина траєкторії МД для БПТІ була на порядок більше (100 пс) [24]. У ті роки ними також було досліджено питання при

наявності розчинника в розрахунках [25], характер зв'язування кисню з молекулами гемоглобіну і міоглобіну [26].

2.3. Моделювання та дослідження характеристик молекул з допомогою програми HyperChem

У сучасній хімічній практиці широко використовуються комплекси програм неемпіричної (GAUSSIAN і GAMESS) і напівемпіричної (MOPAC і Hyper Chem) комп'ютерної квантової хімії. Найбільш доступним є комплекс програм структурної хімії – Hyper Chem. Це пакет високо сервісних програм, що забезпечують можливість квантовохімічного розрахунку хімічних частинок речовини методами неемпіричної і напівемпіричної квантової хімії. [30].

Так як точний квантовомеханічний розрахунок для структури, складнішої за атом гелію, не можливий, то і комплекс програм структурної хімії – Hyper Chem є лише наближеним, алгоритм якого можна умовно поділити на кілька основних етапів:

- 1) вибір досліджуваної молекули – її хімічної формули, тобто визначення вихідних параметрів;
- 2) побудова її просторової моделі-молекулярної структури, тобто визначення віддалей та кутів між атомами у просторі;
- 3) вибір наближення квантовохімічного розрахунку,
- 4) вибір методу квантовохімічного розрахунку та встановлення необхідних параметрів,
- 5) вибір режиму квантовохімічного розрахунку.

У квантовохімічному розрахунку визначаються енергетичні характеристики вибраної хімічної частинки:

- повна енергія,

- енергії іонізації,
- енергія ізольованих атомів, які входять до складу хімічної частинки,
- електронна енергія - розраховується електронно-орбітальна характеристика сполуки (визначаються заповнені-основні та збуджені електронні енергетичні стани),
- енергія взаємодії атомних остовів,
- стандартна ентальпія утворення.

Розрахунки опираються на ітераційну збіжність застосованих квантовомеханічних наближень та супроводжуються візуалізацією молекулярної структури у просторі та розрахунком енергетичних електронних станів. База даних та моделі, які використовує Hyper Chem, дозволяють проводити квантово-хімічний розгляд молекулярних компонент нуклеїнових кислот. Очевидно, найкращим способом перевірки теоретичних методів досліджень властивостей біомолекул є експеримент, наприклад - спектрометричні дослідження.

Одна молекула ДНК є носієм інформації, яку на сьогоднішній день не міг би зберігати, обробляти жоден комп'ютер, або навіть мозок людини, при тому, що кількість складових елементів ДНК хоча і велика але досить обмежена. Це означає, що існує якийсь прихований код в інформаційних біомолекулах, тобто вони, скоріше за все, не є безпосередньо носіями інформації для використання, а є носіями алгоритму (методу архівації) запису інформації.

Саме моделювання при дослідженні біомолекул і є одним з найбільш перспективних методів знаходження хоча б частково цього алгоритму. Знання цього алгоритму дало би можливість розв'язати безліч актуальних на сьогоднішній день проблем біології, хімії, медицини, техніки та навіть інформатики.

З аналізу літературних джерел також випливає, що теоретичні методи досліджень біомолекул та їх складових на сьогоднішній час надзвичайно розвинуті. Найбільше значення з теоретичних методів мають – квантова хімія та молекулярна динаміка.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТЕОРЕТИЧНИХ РОЗРАХУНКІВ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Визначення за допомогою програми HyperChem параметрів основ нуклеїнових кислот

Основними характеристиками молекул та їх фрагментів є розподіл електронних густин, кути між зв'язками, довжини та порядки зв'язків (між останніми існує обернено пропорційна залежність). Ці параметри є чи не найбільш важливими для оцінки реакційної здатності молекул та їх фрагментів. Енергія дисоціації прямо пропорційна порядку зв'язку, тобто чим менший порядок зв'язку, тим менша енергія дисоціації молекули, а значить більша хімічна активність. Причому, за означенням [7]:

$$\text{Порядок зв'язку} = \frac{\text{Кількість зв'язуючих електронів} - \text{Кількість антизв'язуючих електронів}}{2}$$

В загальному випадку порядок зв'язку - величина дробова.

Слід відмітити, що для реакційної здатності особливе значення має випадок іонізації молекул, так як саме іонізовані молекули найбільш хімічно активні. Тому поряд із зарядово нейтральними молекулами слід досліджувати і випадки як додатньо так і від'ємно заряджених іонів молекул азотистих основ.

Вивчення характеристик основ можна здійснити із застосування програми HyperChem. Для проведення розрахунків структурних параметрів молекул був вибраний напівемпіричний метод AM1 з оптимізацією геометрії молекул. Така процедура дає енергетично вигідну просторову структуру молекули шляхом мінімізації енергії як за рахунок зміни просторового розташування атомів, так і за рахунок конформаційних перетворень молекул. Основна мотивація вибору теоретично-розрахункового методу – доступність реалізації при прийнятній швидкості отримання інформації і її якості.

На рисунках 3.1-3.6 показані молекули тиміну та урацилу та довжини зв'язків у аніоні тиміну та катіоні урацилу. Для молекул тиміну та урацилу з

допомогою програми HyperChem обчислені розподіли електронних густин, порядки зв'язків, довжин зв'язків а також кути. (табл. 3.1-3.6).

Для порівняння розглянуто як нейтральні молекули, так і іони цих молекул, як додатньо (катіони) так і від'ємно (аніони) заряджені.

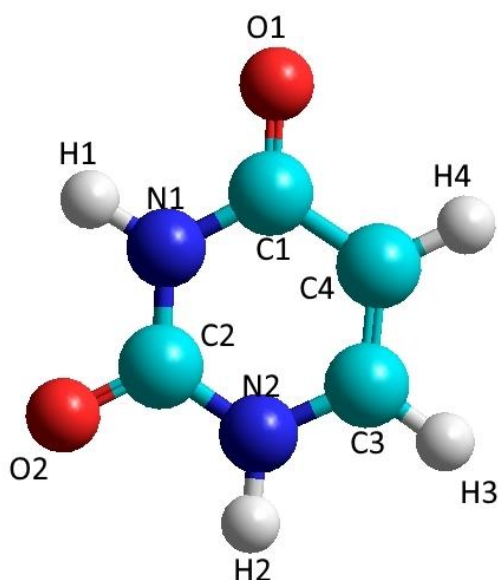


Рис.3.1 Молекула урацилу

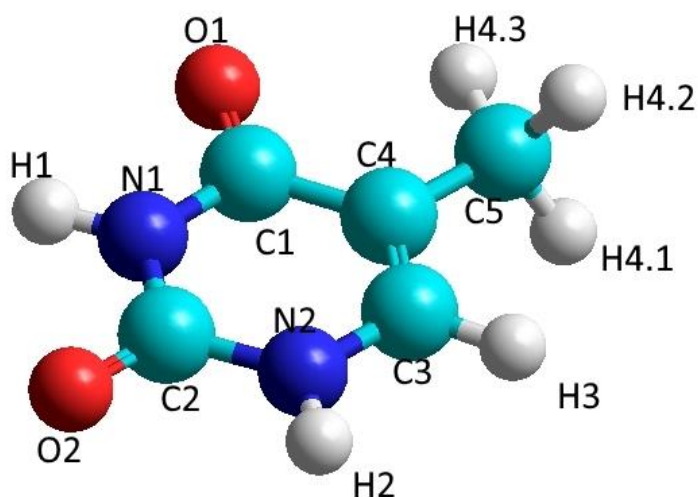


Рис.3.2 Молекула тиміну

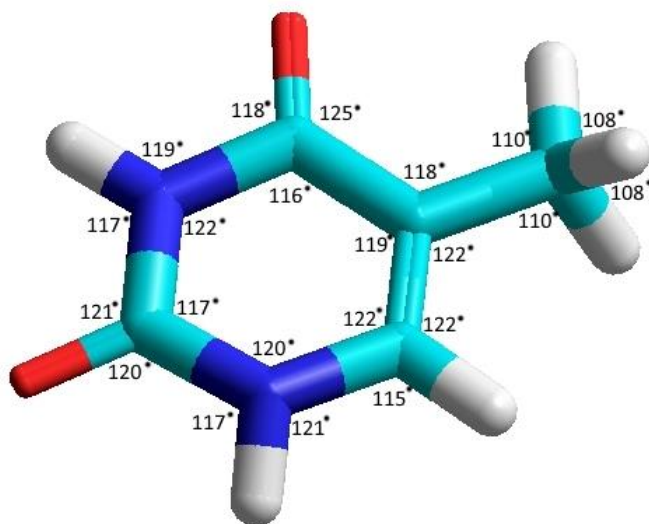


Рис.3.3 Кути у молекулі тиміну

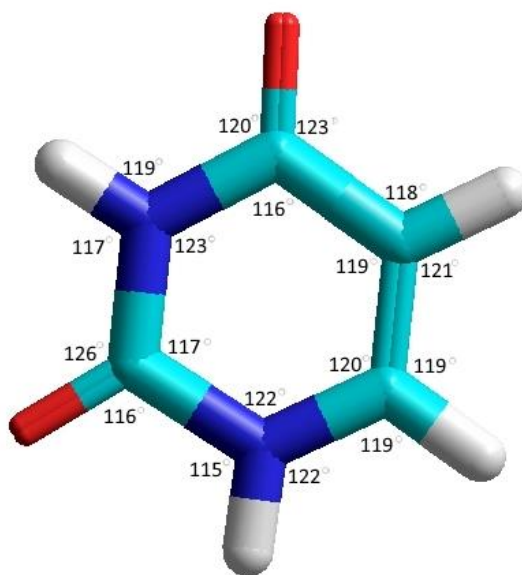


Рис 3.4 Кути у молекулі урацилу

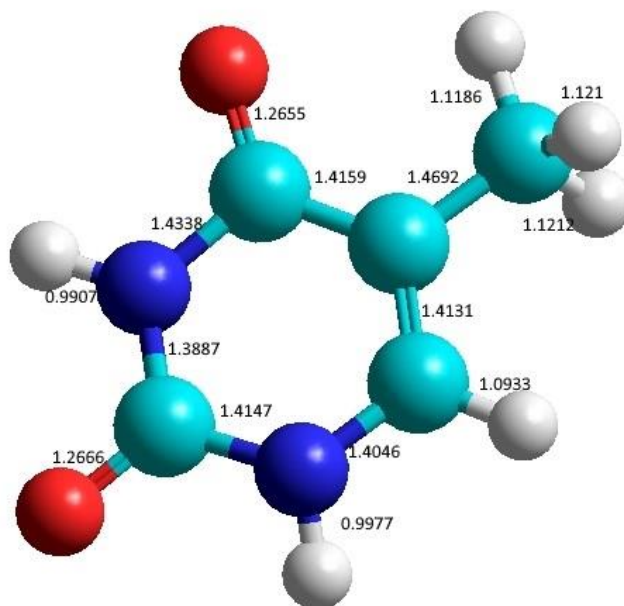


Рис.3.5 Довжини зв'язків у аніоні тиміну

Таблиця 3.1

Довжини зв'язків у аніоні тиміну

Зв'язок	Довжина зв'язку, Å
C1-O1	1.26
N1-H1	0.99
C1-N1	1.43
N1-C2	1.38
C2-O2	1.26
C2-N2	1.41
N2-H2	0.99
N2-C3	1.4
C3-H3	1.09
C3-C4	1.41
C4-C5	1.46
C5-H4.1	1.12
C5-H4.2	1.12
C5-H4.3	1.11

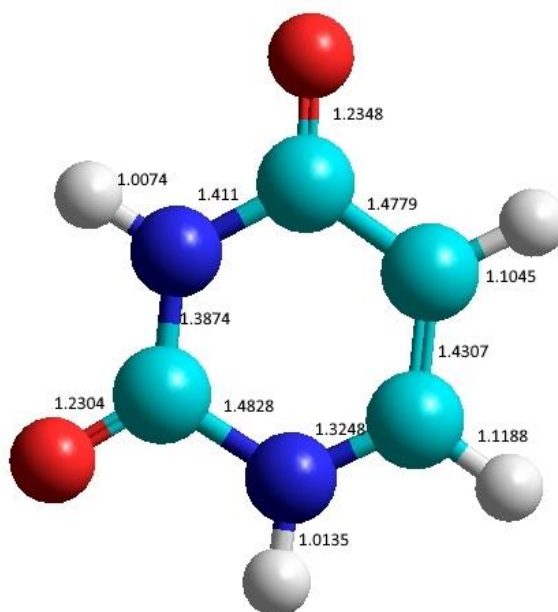


Рис.3.6 Довжини зв'язків у катіоні урацилу

Таблиця 3.2

Довжини зв'язків у катіоні урацилу

Зв'язок	Довжина зв'язку, Å
O1-C1	1.23
C1-N1	1.41
N1-H1	1.0074
N1-C2	1.38
C2-O2	1.23
C2-N2	1.48
N2-H2	1.01
N2-C3	1.32
C3-H3	1.11
C3-C4	1.43
C4-H4	1.1
C1-C4	1.47

Таблиця 3.3

Порядки зв'язків та їх сума у тиміні

Зв'язок	Порядок зв'язку у тиміні		
	аніон	нейтральний	катіон
C1-O1	1.5556	1.7881	1.8749
N1-H1	0.8916	0.874	0.8491
C1-N1	0.8926	0.9857	0.9645
N1-C2	1.1033	1.039	1.0711
C2-O2	1.5846	1.7102	1.8703
C2-N2	1.0527	1.0036	0.815
N2-H2	0.9068	0.8784	0.8514
N2-C3	0.9969	1.099	1.5162
C3-H3	0.9411	0.9316	0.9082
C3-C4	1.1578	1.7175	1.1736
C4-C5	1.0052	0.9923	1.0356
C5-H4.1	0.9658	0.9661	0.9211
C5-H4.2	0,9665	0.9661	0,9214
C5-H4.3	0,9742	0.9679	0,9521
Σ	14.9947	15.9195	15,7245

Таблиці 3.4

Порядки зв'язків та їх сума в урацилі

Зв'язок	Порядок зв'язку в урацилі		
	аніон	нейтральний	катіон
O1-C1	1.6069	1.7899	1.8668
C1-N1	1.0805	0.9803	0.9579
N1-H1	0.8858	0.8742	0.8476
N1-C2	0.8857	1.0415	1.0768
C2-O2	1.6682	1.7133	1.8783
C2-N2	0.6128	0.9986	0.8015
N2-H2	0.8355	0.8783	0.8496
N2-C3	1.2658	1.102	1.5285
C3-H3	0.94	0.9317	0.9052
C3-C4	1.5095	1.7445	1.1845
C4-H4	0.951	0.9340	0.9098
C1-C4	1.0563	0.9886	0.9584
Σ	13.298	13.9769	13.7649

Таблиця 3.5

Розподіл густини заряду та їх сума в тиміні

Зв'язок	Розподіл густини в тиміні		
	аніон	нейтральний	катіон
O1	-0.507	-0.332	-0.178
O2	-0.491	-0.363	-0.195
C1	0.327	0.356	0.311
C2	0.364	0.393	0.377
C3	-0.248	0.035	0.108
C4	-0.374	-0.23	-0.032
C5	-0.082	-0.161	-0.233
N1	-0.371	-0.364	-0.35
N2	-0.241	-0.314	-0.148
H1	0.221	0.268	0.315
H2	0.184	0.268	0.317
H3	0.112	0.163	0.226
H4.1	0.021	0.082	0.156
H4.2	0.019	0.082	0.156
H4.3	0.067	0.116	0.168
Σ	-0.999	-0.001	0.9984

Таблиця 3.6

Розподіл густини заряду та їх сума в урацилі

Зв'язок	Розподіл густини в урацилі		
	аніон	нейтральний	катіон
O1	-0.502	-0.330	-0.153
N1	-0.380	-0.365	-0.349
H1	0.173	0.268	0.318
C2	0.265	0.394	0.375
O2	-0.502	-0.361	-0.185
N2	-0.264	-0.319	-0.129
H2	0.078	0.268	0.320
C3	0.02	0.048	0.106
H3	0.067	0.163	0.235
C4	0.421	-0.3	-0.075
H4	0.113	0.181	0.239
C1	0.353	0.353	0.298
Σ	-0,158	0	1

Аналізуючи таблиці розподілу електронних густин (таблиці 3.5, 3.6) можна визначити найбільш додатньо заряджені області молекули (або іону). Тобто, найбільш вразливі для низькоенергетичних (одиниці-десятки eV) електронів місця молекул та іонів тиміну, урацилу. Видно, що найбільш вразливими мішенями для потоку низькоенергетичних електронів є області атомів (табл. 3.5, 3.6): C1, C2, N1 у аніоні тиміну; C1, C2, C4 у аніоні урацилу; C1, C2, N1, N2 у нейтральному тиміні; C1, C2, N1, N2 у нейтральному урацилі; C1, C2, N1, N2 у катіоні тиміну та області C1, C2, N1, N2 у катіоні урацилу. Цю інформацію можна використати на практиці, наприклад, в молекулярній електроніці, в біоінженерії та при конструюванні біосенсорів.

При іонізації молекули змінюється: розподіл електронних густин, довжини зв'язків, просторові кути між зв'язками та порядки зв'язків. Однак, найбільш інформативні, з погляду визначення хімічної активності, є порядки зв'язків (обернено пропорційні довжинам зв'язків) та розподіл електронних густин. Аналіз розподілу електронних густин та порядків зв'язків показує (табл. 3.3-3.6), що при іонізації електронні густини та порядки зв'язків локально десь зростають, а десь зменшуються. Хоча, як видно з розподілу порядків зв'язків (табл. 3.3-3.4), при іонізації домінує зменшення порядків зв'язків, що свідчить про просторово локальне зростання хімічної активності молекули. Тому, можливо, найбільш глобальним параметром, що відображає хімічну активність молекули може бути сумарний порядок зв'язку молекули (табл. 3.3-3.4), який буде адекватно відображати її енергію дисоціації.

Аналізуючи у таблицях 3.3-3.4 сумарний порядок зв'язку у нейтральній та іонізованих молекулах азотистих основ, можна відмітити наступне: як і можна було сподіватися, у випадку іонізованих молекул сумарний порядок зв'язків менший, ніж у нейтральній молекулі, що свідчить про їх більшу хімічну активність. Причому найбільша хімічна активність спостерігається у катіонів.

Отримані результати показують значимість іонізуючого впливу зовнішніх факторів, таких як електромагнітне (гамма, рентгенівське, ультрафіолетове та корпускулярне (альфа, бета, протони) опромінення, на хіміко-біологічні властивості азотистих основ. Аналогічного впливу можна сподіватися і у випадку самих ДНК та РНК. Цей вплив може призводити до різного роду мутагенних змін, що іноді має як позитивний (еволюція, яка за своєю суттю є мутацією), так і негативний наслідок (різного роду новоутворення – пухлини, а також шкідливі мутації).

ВИСНОВКИ

1. Аналіз наукової літератури показав, що ДНК та РНК - надзвичайно складні біомолекули. Вони носії колосального об'єму інформації – інформації про життя. Крім цього, такі молекули є перспективними матеріалами для розробки нових біонанотехнологічних елементів. Тому необхідно вивчати фізичну структуру біологічно важливих молекул.

2. Для проведення розрахунків структурних параметрів молекул був вибраний напівемпіричний метод AM1 з пакету програм HyperChem з оптимізацією геометрії молекул. Основна мотивація вибору теоретично-розрахункового методу – це доступність реалізації при оптимальній швидкості отримання інформації та її якості.

3. Для азотистих основ ДНК- молекул урацилу і тиміну, розраховані такі структурні характеристики: довжини зв'язків, порядки зв'язків, кути та розподіл електронних густин. Здійснено порівняння цих структурних параметрів для іонних та електрично нейтральних форм біомолекул. Встановлено, що найменші порядки зв'язків мають іонізовані молекули.

4. За допомогою аналізу розподілу густин зарядів у структурі молекул виявлені локальні області, які є найбільш чутливими до впливу негативно заряджених частинок: це область атомів C1, C2, N1, N2 у тиміні і C1, C2, N1, N2 в урацилі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Kuzin, A. Electromagnetic information in the phenomenon of life // Biofizika. 2000. V. 45. P. 144-147.
2. Bull J.N., J. Lee W.L., Vallance C. Absolute electron total ionization cross-sections: molecular analogues of DNA and RNA nucleobase and sugar constituents // Physical Chemistry Chemical Physics. 2014. V. 16, P. 10743–10752.
3. П.Г. Костюк, В.Л. Зима, М.С. Мірошниченко, М.Ф. Шуба. Біофізика.-К.: Вища школа, 2001. -760с.
4. Рубин А.Б. Біофізика.- К.: Вища школа.-745с.
5. Волькенштейн М.В. Біофізика. – М.: Наука, 1988.- 680с.
6. <http://www.technovelgy.com/ct/Science-Fiction-News.asp?NewsNum=115>
7. Afrosimov V.V., Basalaev A.A., Morozov Yu.G, Panov M.N., Smirnov O.V. & Tropp E.A. Fragmentation of adenine and uracyl molecules through electron captures in collisions with ions // Technical Physics. 2012, V. 57 P. 594–602.
8. Champion C. Quantum-mechanical predictions of electron-induced ionization cross sections of DNA components // The Journal of Chemical Physics. 2013. V. 138, P. 184306.
9. Middleton C.T., La Harpe K., Su Ch., Crespo-Hernandez C.E., Cohen B., Kohler B. DNA excited-state dynamics: from single bases to the double helix // Phys. Chem. 2009. V.60. P. 217–239.
10. Vinodkumar M., Limbachiya C., Barot M., Swadia M., Barot A. Electron impact total ionization cross sections for all the components of DNA and RNA molecule // International Journal of Mass Spectrometry. 2013. V. 339-340, P. 16–23.
11. McCammon J.A., Gelin B.R., Karplus M. “Dynamics of folded proteins”. Nature V. 267, 1977.-P.585–590.

12. Metropolis N., Rosenbluth A., Rosenbluth M., Teller A., Teller E. “Equation of State Calculations by Fast Computing Machines“// J. Chem. Phys. V. 21, 1953.-P.1087–1092.
13. Alder B.J., Wainwright T.E. “Phase transition for a hard sphere system“// J. Chem. Phys. V. 27, 1957.-P.1208–1209.
14. Rahman A. “Correlations in the motion of atoms in liquid argon“ // Phys. Rev. V. 136A, 1964.-P. 405–411.
15. Verlet L. “Computer Experiments on Classical Fluids“//Phys. Rev. V.159, 1967.- P. 98–103.
16. Curutchet C., Voityuk A.A. Triplet-triplet energy transfer in DNA: A process that occurs on the nanosecond timescale // Angewandte Chemie Internat. Edition. 2011. V. 50, № 8. P. 1820–1822.
17. <https://disted.edu.vn.ua/courses/learn/4255>
18. Підручник з Біології і екології. 10 клас. Соболь - Нова програма
19. К. В. Александрова, Є. Р. Федотов НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК для студентів медичних факультетів спеціальність: 227 «Фізична терапія, ерготерапія».
20. https://www.umsa.edu.ua/storage/kf_med_him/docs/bRkifPa5gWYWgS3ZkcsmwB0NRodBzSrL4rHgZv8S.pdf
21. Levitt M. “Detailed Molecular Model for Transfer Ribonucleic Acid”// Nature V.224, 1969.-P. 759–763.
22. Levitt M. “The birth of computational structural biology“// Nat. Struct. Biol. V.8, 2001.-P. 392–393.
23. Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., Van Gunsteren W.F., Dinola A., Haak J.R. “Molecular-Dynamics with Coupling to an External Bath”. // J. Chem. Phys. V.81, 1984.-P. 3684–3690.
24. Karplus M., McCammon J.A. “Protein structural fluctuations during a period of 100 ps“// Nature V. 277, 1979.-P. 578.

25. Rossky P.J., Karplus M. "Solvation: a molecular dynamics study of a dipeptide in water". *J. Am. Chem. Soc.* V. 101, 1979.-P.1913–1937.
26. Case D.A., Karplus M. "Dynamics of ligand binding to heme proteins"// *J. Mol. Biol.* V.132, 1979.-P. 343–368.
27. Bostick D.L., Brooks C.L. "Deprotonation by dehydration: the origin of ammonium sensing in the AmtB channel"// *PLoS. Comput. Biol.* V. 3,2007.-P.22.
28. Sanbonmatsu K.Y., Tung C.S. "High performance computing in biology: multimillion atom simulations of nanoscale systems"// *J. Struct. Biol.* V.157, 2007.-P. 470–480.
29. <http://bse.sci-lib.com/article060307.html>
30. О.М.Туровська, М.А.Туровський. Практикум з квантової хімії. Навчально-методичний посібник: ДонНУ, 2007-81с.