

УДК 547.963.3:57.016.4

Статистическая термодинамика связывания лигандов с ДНК

Ю. Д. Нечипуренко

ЮРИЙ ДМИТРИЕВИЧ НЕЧИПУРЕНКО — доктор физико-математических наук, старший научный сотрудник Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, научный сотрудник МГУ им. М. В. Ломоносова. Область интересов: физика ДНК и РНК, регуляция экспрессии генов, математическое моделирование в молекулярной биофизике, нанобиология.

119991 Москва, ул. Вавилова, 32, Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН,
E-mail nech@immb.ru

119899 Москва, Ленинские горы, МГУ им. М.В. Ломоносова, Физический факультет.

Введение

Регуляция экспрессии генов осуществляется посредством взаимодействия нуклеиновых кислот с лигандами. В роли лигандов выступают как отдельные регуляторные белки и белковые факторы, так и сложные белковые комплексы, например гистоновые октамеры. Лиганды служат тем инструментом живой клетки, который позволяет сохранять, экспонировать и своевременно востребовать генетическую информацию. Лиганды «включают» и «выключают» транскрипцию, определяют пути превращения пре-мРНК (РНК-предшественника) в мРНК, играют ключевую роль при трансляции генетической информации.

Для выполнения большинства из этих функций необходимо координированное связывание нескольких молекул лиганда. На первый взгляд, эта «организованность» связывания лигандов с нуклеиновыми кислотами противоречит равновесной природе взаимодействия молекул (такие взаимодействия носят характер случайного процесса). Ситуация осложняется теми обстоятельствами, что в живой клетке взаимодействие регуляторных белков с нуклеиновыми кислотами происходит на фоне связывания их с полипептидами, протаминами, олигонуклеотидами и разного рода низкомолекулярными соединениями, сами молекулы нуклеиновых кислот в хромосомах плотно упакованы и т.д.

Противоречие между статистическим и организованным поведением молекул лиганда может найти объяснение в рамках представлений физической теории адсорбции. Дело в том, что сами молекулы ДНК и РНК, на которых происходит связывание, организованы как регулярные матрицы, имеющие реакционные центры (химические группы), на которых «записаны» определенные сигналы. Регуляторные белки в свою очередь несут на себе «оттиски» участков этих матриц — стерически и электростатически комплементарные группы атомов. Таким образом, связывание белков с матрицами нуклеиновых кислот происходит посредством многоточечной координированной адсорбции, приводящей к молекулярному узнаванию белками соответствующих участков матрицы. Координация связывания лигандов на матрицах нуклеиновых кислот также может быть обусловлена кооперативны-

ми взаимодействиями между адсорбированными лигандами и существованием определенных граничных условий.

Если лиганд связывается стереоспецифично только с определенными местами на матрице («сайтами», которые редко встречаются в ДНК), такое связывание описывается при помощи уравнений химического равновесия. Однако большинство биологически активных лигандов может связываться с разными местами на матрице. При таком неспецифическом связывании один лиганд может закрывать целый участок матрицы, делая его недоступным для других молекул лиганда. Для описания связывания в этом случае необходимо привлечь методы статистической термодинамики. Если константы связывания на разных участках матрицы равны, то говорят о связывании на гомополимере. В случае, когда константы связывания лиганда на разных участках не равны, говорят о связывании на гетерополимере.

Подход, позволяющий описывать адсорбцию лигандов на линейных полимерах, был сформулирован в работах Т. Хилла, Д. Крозерса и Г. Гурского с соавт. [1—8]. Ими предложен ряд моделей и уравнений, позволяющих описывать связывание малых молекул с линейными полимерами. Получено точное решение уравнений адсорбции для случая некооперативного связывания лигандов на гомополимере и продемонстрирована возможность расчета изотерм адсорбции на гетерополимере с помощью матричного метода [2]. В работах Г. Гурского с соавт. [5—10] были сформулированы представления о решеточном узнавании, лежащем в основе взаимодействия между нуклеиновыми кислотами и регуляторными белками. Со времени этих публикаций прошло почти 30 лет и сейчас предложенные в них представления могут быть развиты и дополнены. В частности, анализ ряда модельных систем, которые по своей сложности приближаются к структурам генома (примером таких систем являются жидкокристаллические дисперсии нуклеиновых кислот), приводит к представлениям о матричной и координированной адсорбции [11—14].

В рамках этих представлений две сближенные в пространстве молекулы ДНК могут формировать одну матрицу с решеткой реакционных центров. Лиганды

могут выстраиваться в цепочки, которые соединяют отдельные реакционные центры матрицы, принадлежащие разным молекулам ДНК.

Применение термина «матрица» по отношению к некоторой молекуле в биологическом контексте может быть связано с двумя свойствами такой молекулы: способностью к самовоспроизведению и к передаче информации. Так, каждая отдельная цепь ДНК служит в качестве матрицы, по которой посредством ДНК-полимеразы достраивается другая цепь. Матричная РНК служит основанием для синтеза белковой цепи на рибосоме. В обоих этих процессах происходит связывание лигандов с нуклеиновой кислотой, что является необходимым этапом молекулярного узнавания. Лиганд «узнает» участок матрицы и связывается с ним, и если процесс связывания обратимый и равновесный, то для его описания можно применить представления теории физической адсорбции. Современный подход к описанию адсорбции протяженных лигандов на линейных матрицах нуклеиновых кислот основан на работах Заседателява, Гурского и Волькенштейна, и мы будем называть здесь этот подход сокращенно «подходом ЗГВ».

Проблемы описания связывания протяженных лигандов с линейными полимерами привлекали вни-

мание многих исследователей (в частности, связывание олигонуклеотидов с полинуклеотидами, именно такое связывание послужило основанием для развития представлений о связывании белков с ДНК) [см., например, 15, 16]. С появлением работы [17] внимание широкого круга биохимиков и молекулярных биологов было привлечено к проблеме неспецифического взаимодействия лигандов с нуклеиновыми кислотами. Авторы [17] показали, что все события, происходящие на матрице, можно наглядно представить в рамках теории вероятностей и что соотношения, описывающие связывание лигандов, имеют форму уравнений химического равновесия.

В целом инструментарий для описания взаимодействия нуклеиновых кислот с лигандами на языке статистической механики (в русле подхода ЗГВ) включает в себя три взаимосвязанных структурных компонента — решеточную, термодинамическую и математическую модели адсорбции. Прежде чем перейти к описанию этих моделей, представим общую схему анализа данных по связыванию лигандов с нуклеиновыми кислотами (рис. 1), составленную в контексте общей теории физической адсорбции, развитой в работах А.А. Лопаткина [18]. Основанием этой схемы является представление о том, что термодинамическая теория



Рис. 1. Схема, демонстрирующая взаимосвязи между отдельными этапами исследования взаимодействия лигандов с матрицами нуклеиновых кислот

выступает в качестве посредника между первичными экспериментальными данными и данными, рассчитанными в рамках моделей адсорбции.

С точки зрения теории физической адсорбции, взаимодействие лигандов с линейными полимерами является частным случаем применения одномерной решеточной модели адсорбции. Именно в таком смысле мы используем здесь понятие «решеточная модель адсорбции», а под «схемой связывания» будем понимать ту часть модели адсорбции, которая описывает взаимодействие лиганда с матрицей (модель адсорбции включает в себя помимо схемы связывания еще и описание взаимодействий между лигандами). В данной работе наряду с понятием «адсорбция» используется понятие «связывание» по сути как синонимичное: равновесное связывание рассматривается как явление физической адсорбции.

Описание связывания лигандов с нуклеиновыми кислотами

Решеточная модель адсорбции. В рамках решеточной модели реальная молекула нуклеиновой кислоты представляется в наиболее общем виде — как одномерная матрица или линейная решетка центров связывания. Эти центры связывания называются реакционными центрами [3, 4, 18]. В зависимости от соотношения размеров матрицы ДНК и молекулы лиганда, а также в зависимости от природы взаимодействий ДНК—лиганд в качестве реакционных центров матрицы могут выступать не только отдельные атомы пар оснований ДНК, но и целые ее участки, включающие группы атомов сахарофосфатного остова.

Молекула лиганда также представляется в общем виде как структура, которая несет одну или несколько групп атомов — реакционных центров, способных вступать во взаимодействие с центрами связывания матрицы. Обычно считается, что лиганд может образовывать комплекс с расположенными подряд центрами связывания матрицы, совокупность которых называется связывающим местом (см. рис. 2а).

Следует заметить, что реальные взаимодействия лигандов с ДНК могут развиваться по разным сценариям в зависимости от размера участка ДНК, вовлеченного во взаимодействие, молекулярной массы ли-

ганда и ДНК. Если в качестве лигандов выступают низкомолекулярные соединения, то естественно предположить, что адсорбция лиганда не искажает (или незначительно искажает) молекулу ДНК, т.е. основные модели, а именно, регулярная решетка центров связывания не разрушается при адсорбции. Другая ситуация может возникнуть, если лигандом является макромолекула белка или даже несколько белков (например, комплекс белков, входящих в состав РНК-полимеразы). Здесь мы ограничимся рассмотрением ситуации, когда решетка реакционных центров нуклеиновой кислоты не разрушается при адсорбции лигандов.

Так как речь идет о физической адсорбции, то взаимодействие между центрами связывания матрицы и реакционными центрами лиганда имеет обратимый характер. Обычно это ван-дер-ваальсовы или диполь-дипольные взаимодействия. Энергия таких взаимодействий составляет, как правило, несколько kT .

Решеточная модель адсорбции предполагает описание взаимодействий между адсорбированными лигандами, характер которых определяет специфику модели адсорбции (рис. 2б). С точки зрения статистической механики поведение адсорбированных лигандов на матрице во многом аналогично поведению одномерного «решеточного газа», частицы которого взаимодействуют между собой. Такие взаимодействия могут включать как стерическое отталкивание между молекулами лигандов, конкурирующими за одни и те же центры связывания на ДНК (в этом случае принято говорить об «исключенном объеме» молекул решеточного газа), так и электростатические взаимодействия между атомами ближайших соседних молекул лиганда.

Термодинамическая модель адсорбции. После построения решеточной модели адсорбции необходимо определить: в рамках какой именно термодинамической системы будет рассматриваться взаимодействие нуклеиновой кислоты с лигандом. Обычно речь идет об открытой (μ, p, T)-системе, где независимыми переменными являются химический потенциал лиганда μ в растворе, давление p и температура T [19]. Рассматривая систему, представляющую собой матрицу с адсорбированными лигандами, которая находится в растворе при постоянном давлении и постоянной температуре, мы полагаем, что эта система является открытой: лиганды могут адсорбироваться на матрицу и десорбироваться с нее, т.е. происходит обмен веществом с раствором, в котором находятся свободные молекулы, имеющие определенный химический потенциал.

Переход от статистической механики к термодинамике предполагает установление такого способа усреднения различных величин по динамическим состояниям, который позволяет получаемые средние по ансамблю величины поставить в соответствие термодинамическим функциям системы [19]. Для проведения такого усреднения существуют стандартные процедуры.

Математическая модель адсорбции. На этом этапе для описания связывания применяются методы статистической термодинамики, позволяющие рассчитать характеристики системы. Обычно это матричный метод [1, 2], комбинаторный метод [3], метод генери-

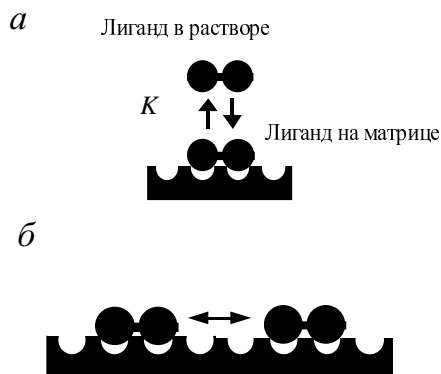


Рис. 2. Схема связывания лиганда на матрице ДНК в рамках решеточной модели адсорбции:

а — связывание лиганда с матрицей (K — константа связывания); б — взаимодействие между адсорбированными лигандами

рующих функций [20—22], метод рекуррентных соотношений [4, 6—8]. Результатом является система уравнений, формирующая математическую модель адсорбции. Решение такой системы дает соотношения, описывающие зависимости концентрации адсорбированных молекул лиганда от концентрации свободных молекул лиганда в растворе. На основании исследования формы этих зависимостей можно провести классификацию моделей адсорбции и предложить методы, которые могут быть использованы для анализа конкретных экспериментальных данных.

Анализ данных. Математическая модель позволяет сделать качественные и количественные выводы относительно физической модели адсорбции. Физическая модель адсорбции может включать молекулярную модель связывания. Однако анализ кривых связывания, как и другого рода термодинамических данных, обычно позволяет воссоздать только самые общие свойства модели, которую мы называем решеточной моделью адсорбции. В такой модели не конкретизируется, какие группы лиганда взаимодействуют с определенными центрами матрицы, а оцениваются размер участка матрицы, который занимает молекула адсорбированного лиганда как физического тела, и энергия взаимодействия лиганда с этим участком. Если в модели рассматривается несколько типов комплекса, которые один лиганд может образовывать на матрице, и учитываются кооперативные взаимодействия между адсорбированными лигандами, то необходимо определить величины энергии образования этих комплексов и параметры, характеризующие кооперативные взаимодействия.

На основании анализа кривых связывания выбирается физическая модель адсорбции и определяются ее параметры. Такой выбор часто осуществляется неоднозначно: требуется привлечение дополнительных данных об экспериментальной системе и проведение специального математического исследования, поскольку связь между физической моделью адсорбции и экспериментальными данными опосредована математической моделью. Кроме того, сами экспериментальные данные зачастую оказываются непрямыми: обычно измеряется не количество связанных и свободных молекул, а сигналы, которые требуют интерпретации.

Число моделей адсорбции, используемых при анализе данных, относительно невелико. Можно сказать, что почти все они представляют собой вариации моделей, развитых в рамках подхода ЗГВ и предложенных в работах [1—4]. Одним из методов анализа данных может служить сравнение экспериментальных данных с наборами теоретических кривых, которые соответствуют как разным моделям адсорбции, так и разным параметрам связывания. Набор таких кривых представлен в работах [23, 24], где показано, как изменяются кривые связывания в зависимости от используемой модели и ее параметров.

Термодинамические модели связывания лигандов на биополимерах

Статистическая механика вводит в рассмотрение ряд моделей адсорбции, включая модель одномерной адсорбции, которая используется для описания равновесного связывания лиганда с линейным полимером, подобным ДНК. За последнюю четверть века опубли-

кованы десятки работ, в которых описывается связывание лигандов с матрицами (см., например, [25—45]). С точки зрения статистической механики модели, характеризующие адсорбцию в одномерном варианте, близки к моделям, описывающим «решеточный газ» и ферромагнетики. Родоначальником такого класса моделей считают модель Изинга (1925 г.). Адсорбция на линейных полимерах для случая, когда учитываются парные взаимодействия между адсорбированными лигандами, рассмотрена еще в работе [46]. В этой же работе были получены уравнения, которые могут быть применены для описания связывания ионов с полиэлектролитами. В таком подходе предполагается, что один лиганд (ион) при связывании занимает один реакционный центр матрицы и учитываются как взаимодействия между «первыми» соседними парами ближайших адсорбированных лигандов (такие лиганды занимают ближайшие соседние в последовательности реакционные центры), так и взаимодействия между «вторыми» соседними парами лигандов, которые разделены одним реакционным центром матрицы.

При изучении взаимодействия определенного лиганда с ДНК исследователи задают схему связывания и постулируют характер взаимодействий между адсорбированными лигандами (см. рис. 2). При этом учитывается только самая общая характеристика связывания: размер места, которое занимает лиганд при связывании на ДНК. Двойная спираль ДНК может быть представлена как одномерная решетка реакционных центров, и число центров, которые занимает лиганд, составляет размер связывающего места.

Ниже описываются схемы связывания «протяженного» лиганда с ДНК.

Схемы связывания

Молекула ДНК состоит из двух свитых в одну спираль нитей, или цепочек, в которых чередуются атомы фосфора и пятичленные кольца сахара [47]. К сахарофосфатному остову присоединены основания ДНК. Водородные связи между основаниями, принадлежащими разным цепочкам, объединяют эти цепочки в двутяжевую структуру, образуя двойную спираль. Эту спираль в упрощенном виде можно представить как двустороннюю витую лестницу, перилами которой служат цепочки сахарофосфатного остова, ступеньками — пары оснований. Внутренняя и внешняя стороны лестницы аналогичны так называемым малой и большой бороздкам реальной ДНК. Каждая нить ДНК соответствует одной матрице.

Большая часть атомов пар оснований участвует в стэкинг-взаимодействиях, обусловленных ван-дер-ваальсовыми контактами между плоскостями ближайших соседних в последовательности пар оснований. Атомы фосфора и кислорода, составляющие сахарофосфатный остов, атомы кислорода и NH-группы оснований, которые выходят в малую и большую бороздки ДНК, могут выступать в качестве реакционных центров ДНК.

Биологически активные соединения разных классов могут связываться с ДНК, используя различные наборы реакционных центров. Однако могут существовать и «универсальные» наборы реакционных центров, используемые лигандами одной природы. Гурский и соавт. [5, 9, 10] сформулировали принципы, по

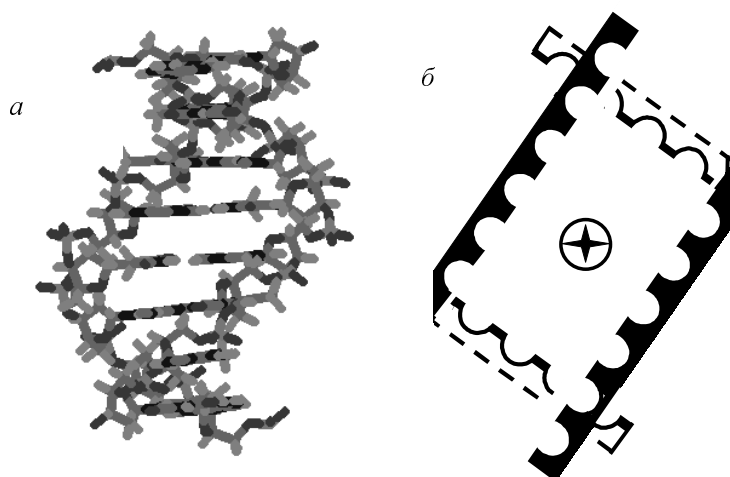


Рис. 3. Представление двойной спирали ДНК в виде двух параллельных матриц реакционных центров:

a — фрагмент двойной спирали ДНК (молекулярная модель); *б* — схематическое изображение участка ДНК, на котором происходит связывание лигандов (вид со стороны малой бороздки). Лунками показаны реакционные центры, черный цвет соответствует наружной стороне матрицы, белый — внутренней стороне. Круг в центре рисунка — атомы сахарофосфатного остова ДНК, связанные осью симметрии второго порядка (перпендикулярной плоскости рисунка)

которым лиганды пептидной природы (белки, а также содержащие пептидные или амидные группы антибиотики) могут узнавать определенные последовательности пар оснований ДНК. Ключевым моментом такого узнавания является образование водородных связей между донорами водородной связи — амидными группами лиганда и акцепторами связи — N3 атомами аденина или O2 атомами тимина и цитозина молекулы ДНК. Указанные атомы тимина, аденина и цитозина занимают в В-форме молекулы ДНК положения, связанные спиральной симметрией (трансляция на 3,4 Å вдоль оси спирали и поворот на 36° переводит их друг в друга с определенной степенью точности). Эти атомы формируют регулярную решетку реакционных центров — акцепторов водородной связи. Рассматривая только эти ключевые для связывания атомы, можно представить двуспиральную молекулу ДНК в качестве решетки реакционных центров (см. рис. 3). Такая решетка является двойной, т.е. содержит две параллельные линейные цепочки реакционных центров, и если участок ДНК содержит только АТ-пары, то такие центры, как акцепторы водородной связи, будут эквивалентны. В работе [48] продемонстрировано, что подобная схема связывания приводит к реальным оценкам способности регуляторного белка найти специфическое место связывания среди случайной последовательности пар нуклеотидов ДНК.

Такие лиганды, как нетропсин, дистамицин А и целый ряд соединений, сконструированных на основании этих веществ и несущих пептидные и амидные группы, связываются по малой бороздке ДНК, используя именно эти принципы [49–56].

Связывание таких соединений обусловлено не только взаимодействием доноров и акцепторов водородной связи, существенный вклад вносят ван-дер-ваальсовы контакты и разного рода взаимодействия, в которые вступают лиганды в малой бороздке молекулы ДНК. Даже такое схематичное и упрощенное представление о связывании дистамицина А с ДНК позволило оценить размер связывающего места, число реакционных центров и в конечном счете предложить молекулярную модель связывания, подтвержденную рентгеноструктурным анализом [49–51]. Таким образом, весьма упрощенная схема связывания, в рамках которой ДНК представлена в качестве линейной решетки реакционных центров, может служить инструментом, позволяющим весьма эффективно описывать связывание лигандов и анализировать экспериментальные данные.

Следует специально пояснить термины: решетку реакционных центров ДНК мы называем двойной, потому что атомы сахарофосфатного остова двойной спирали ДНК связаны осью симметрии второго порядка, которая направлена перпендикулярно длинной оси спирали. Заметим, что N3 атом аденина и O2 атом тимина, которые могут выступать в качестве акцепторов водородной связи, тоже связаны осью симметрии второго порядка. Поэтому на участке ДНК, состоящем из АТ-пар, будем иметь двойную решетку реакционных центров (рис. 4) (то же самое касается ряда полимеров, например, поли(А)поли(Т)). В случае, когда лиганд при связывании закрывает центры только одной половины матрицы, связывание по разным половинам будет неконкурентным. При этом возможно образование «сэндвича» — двух прижатых друг к другу лигандов, каждый из которых связан со своей решеткой реакционных центров (рис. 4б,

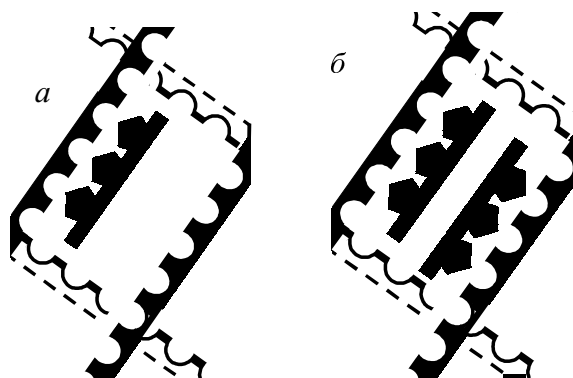


Рис. 4. Схемы связывания лигандов с ДНК:

a — связывание одной молекулы лиганда с тремя реакционными центрами на одной нити ДНК; *б* — связывание двух молекул лиганда с реакционными центрами двух нитей ДНК (образование «сэндвича»)

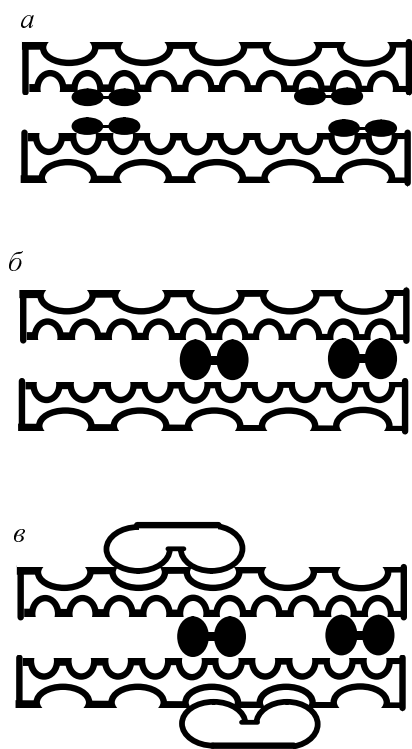


Рис. 5. Варианты неконкурентного и конкурентного связывания лигандов с двойными матрицами ДНК:

a — неконкурентное связывание, «внешняя» и «внутренняя» поверхности матрицы имеют реакционные центры разного размера и типа (например, «внешней» стороне может соответствовать сахарофосфатный остов, «внутренней» — атомы пар оснований, выходящие в малую бороздку); *b* — конкурентное связывание, один лиганд при связывании закрывает внутренние центры двух половин двойной матрицы; *v* — неконкурентное связывание двух разных лигандов по «внутренней» и «внешней» поверхностям матрицы

рис. 5*a*). Однако если один лиганд при связывании стерически закрывает все пространство в узкой бороздке ДНК, то такая двойная решетка по многим своим свойствам будет похожа на линейную решетку и в этом случае осуществляется конкурентное связывание (рис. 5*b*). С другой стороны, если связывание лиганда осуществляется не с атомами пар оснований, а с фосфатами сахарофосфатного остова, и на каждой из цепочек отдельно и независимо от связывания на другой цепочке, то такую двойную решетку реакционных центров можно рассматривать как две независимые одномерные решетки (рис. 5*v*).

Связывание лигандов с матрицами РНК и одноцепочечной ДНК тоже может рассматриваться как адсорбция на линейных одномерных решетках реакционных центров. В этом случае множество конкретных молекулярных моделей связывания лиганда с ДНК в первом приближении может сводиться к небольшому набору простых схем связывания.

Характер взаимодействия между адсорбированными лигандами

Уже в одной из первых работ, посвященных адсорбции лиганда, который занимает при связывании один реакционный центр линейного полимера [46], рассматривались взаимодействия как между ближай-

шими соседними молекулами лиганда, так и между молекулами вторых пар «соседей» (рис. 6). В дальнейшем при описании взаимодействий между адсорбированными лигандами ограничивались только первой парой «соседей».

Взаимодействие между молекулами лиганда обычно рассматривают без учета их стерического отталкивания. В рамках подхода ЗГВ описывается взаимодействие только между первой парой соседей адсорбированных лигандов [3]. В рассмотрение вводится потенциал, характеризующий такие взаимодействия. На рис. 7 показан пример такого потенциала для случая, когда энергия взаимодействия между молекулами ближайших соседних адсорбированных лигандов постоянна и распространяется на расстояние в пять звеньев полимера. В результате связывания участок матрицы переходит в возмущенное состояние. Связывание последующего лиганда на расстоянии меньше, чем шесть пар нуклеотидов, характеризуется константой K' . Пример такого типа взаимодействий приведен в работе [57], где рассматривается ситуация, когда между адсорбированными лигандами существуют положительные кооперативные взаимодействия, т.е. связывание одной молекулы лиганда облегчает связывание другой молекулы (такую модель связывают с аллостерическим эффектом ДНК, см. ниже).

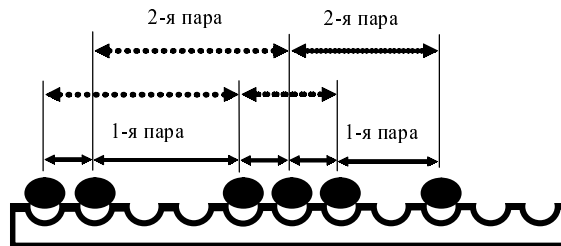


Рис. 6. Пары соседних лигандов, адсорбированных на линейной матрице.

Пары ближайших соседних лигандов — «первых соседей» отмечены стрелками без разрывов, пары «вторых» соседей отмечены стрелками с разрывами

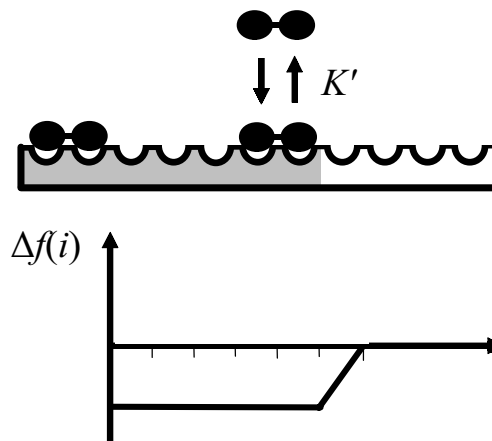


Рис. 7. Схема взаимодействия между лигандами на расстоянии («аллостерический эффект ДНК»).

Вверху — матрица ДНК, в которой серым цветом показан участок, находящийся в возмущенном состоянии; внизу — потенциал с прямоугольной ямой, описывающий взаимодействия между молекулами адсорбированного лиганда

Существуют и другие типы взаимодействий между адсорбированными лигандами. Например, лиганд может связываться на определенном месте ДНК в виде димера или сэндвича. Подобное связывание было обнаружено экспериментально и исследовано спектрофотометрически и методом рентгеноструктурного анализа. Возможно полное или частичное перекрывание молекул лиганда при связывании на двойной решетке реакционных центров. Исследование взаимодействия с ДНК специально сконструированных лигандов, которые специфически связываются на определенных последовательностях ДНК, требует построения новых моделей адсорбции, учитывающих разные типы кооперативных взаимодействий между адсорбированными лигандами [58, 59].

Следует принять во внимание и то обстоятельство, что в живой клетке регуляция экспрессии генов осуществляется посредством координированного взаимодействия с ДНК разных регуляторных белков, которое влияет на упаковку молекул ДНК (плотная упаковка ДНК в хроматине обусловлена взаимодействием с гистоновыми октамерами). Исследование регуляции экспрессии требует моделирования процессов координированной адсорбции и десорбции лигандов разных типов.

Влияние связывания лигандов на матрицы

Для объяснения кооперативных взаимодействий между аналогами антибиотика дистамицина А, адсорбированными на ДНК, А.С. Крылов с соавт. [57] предложил следующую модель. Связывание лиганда инициирует переход участка матрицы определенной длины в возмущенное состояние. Процесс связывания первого лиганда на матрице характеризуется константой K , а связывание каждой последующей молекулы лиганда на расстоянии, меньшем чем l от одного из адсорбированных лигандов, происходит с одной и той же константой K' . Этот эффект можно назвать аллостерическим по аналогии с аллостерической регуляцией в ферментах [60]. В рамках несколько другой модели аллостерический эффект ДНК описал Крозерс с соавт. [61, 62]. По Крозерсу с соавт., этот эффект также обусловлен переходом при воздействии лиганда отдельных пар оснований ДНК в возмущенное состояние, но в отличие от модели Крылова, этот переход не является обязательным: в возмущенном состоянии пары оснований могут находиться и безотносительно к связыванию с лигандом, адсорбция лиганда лишь смещает равновесие этого перехода.

Взаимодействие между матрицами, покрытыми лигандом

Существует теория Маннинга, описывающая эффект конденсации заряженных ионов из раствора на полимерах, несущих регулярно повторяющиеся заряженные группы. В этой теории идет речь о делокализации зарядов противоионов [63].

Вместе с тем в ряде работ для описания связывания лигандов, несущих заряженные группы, применяется подход ЗГВ, т.е. модель, описывающая локализованное связывание «протяженных» лигандов с матрицами нуклеиновых кислот [64–66]. Наиболее полно развил и обосновал применение этого подхода Поршке [65, 66]. По-видимому существует определенное соотношение между гидрофобными и гидрофильными

свойствами лиганда, количеством его заряженных и нейтральных групп, при котором оптимальным образом описывать связывание лиганда будет модель делокализованного и/или локализованного связывания.

Поршке, а вслед за ним Тейф и Ландо [40, 41] применили подход ЗГВ для описания ситуации, когда при связывании с лигандами матрицы переходят в состояние, в котором между ними возможны взаимодействия [66]. Известны два варианта таких взаимодействий — лиганды переводят матрицы в целом в измененное состояние, которое позволяет матрицам вступать во взаимодействие (опосредованное влияние лигандов), и лиганды могут выступать непосредственно в качестве шпиков, при этом один лиганд может взаимодействовать либо одновременно с двумя разными матрицами, либо лиганды, адсорбированные на разных матрицах, будут взаимодействовать между собой [67].

В первом случае возможен следующий механизм взаимодействия между матрицами. Предположим, что лиганд несет положительно заряженные группы, тогда по мере связывания происходит компенсация отрицательно заряженных фосфатных групп нуклеиновых кислот и между молекулами матриц могут возникать взаимодействия типа диполь-наведенный диполь или обусловленные дисперсионными и прочими силами, вносящими вклад в энтальпийную часть свободной энергии взаимодействия между матрицами. Такие взаимодействия могут приводить к конденсации молекул нуклеиновых кислот.

В другом случае лиганды могут выступать в качестве скрепок или шпиков между сближенными в пространстве молекулами нуклеиновых кислот. Тогда две молекулы кислоты могут взаимодействовать между собой и без лигандов, но свободная энергия такого взаимодействия положительна, т.е. само взаимодействие невыгодно. Кроме того, две взаимодействующие молекулы нуклеиновой кислоты могут выступать в качестве новой матрицы (которую можно назвать матрицей следующего уровня), и на такой составной матрице возможна адсорбция другого типа, например, один конец лиганда связывается с реакционным центром первой молекулы нуклеиновой кислоты, а другой — с реакционным центром второй молекулы. Таким образом, лиганды могут выступать в качестве шпиков между разными молекулами нуклеиновых кислот.

Различные модели, описывающие связывание лигандов с нуклеиновыми кислотами, были рассмотрены нами в работах [79, 80]. Описание и анализ свойств разных моделей адсорбции позволяет вплотную подойти к решению так называемой «обратной» задачи — определению на основании экспериментальных кривых связывания свойств модели адсорбции и количественной оценки параметров такой модели. Для решения этой задачи необходима классификация как этапов описания связывания лигандов с ДНК, так и самих моделей адсорбции.

* * *

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ (проекты № 04-03-33144 и № 04-04-49364), программ Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и «Создание средств лечения и профилактики вирусных заболеваний методами химического синтеза».

ЛИТЕРАТУРА

1. Hill T.L. J. Polymer Sci., 1957, v. 23, p. 549—562.
2. Crothers D. Biopolymers, 1968, v. 6, p. 575—584.
3. Заседателев А.С., Гурский Г.В., Волькенштейн М.В. Мол. биология, 1971, т. 5, с. 245—490.
4. Гурский Г.В., Заседателев А.С., Волькенштейн М.В. Там же, 1972, т. 6, с. 479—489.
5. Гурский Г.В., Туманян В.Г., Заседателев А.С., Жузе А.Л., Гроховский С.Л., Готтх Г.П. Там же, 1975, т. 9, с. 635—651.
6. Гурский Г.В., Заседателев А.С. Биофизика, 1978, т. 23, с. 932—946.
7. Гурский Г.В., Заседателев А.С. В кн.: Итоги науки и техники. Сер. Молекулярная биология. М.: ВНИИТИ, 1982, с. 190—237.
8. Gursky G.V., Zasedatelev A.S. Sov. Sci. Rev. D. Physicochem. Biol., 1984, v. 5, p. 53—139.
9. Гурский Г.В., Туманян В.Г., Заседателев А.С., Жузе А.Л., Гроховский С.Л., Готтх Г.П. Мол. биология, 1975, т. 9, с. 635—651.
10. Gursky G.V., Tumanyan V.G. e.a. Mol. Biol. Report., 1976, v. 2, p. 413—425.
11. Нечипуренко Ю.Д., Стрельцов С.А., Евдокимов Ю.М. Биофизика, 2001, т. 46, с. 428—435.
12. Нечипуренко Ю.Д., Захаров М.А., Саянов В.И., Евдокимов Ю.М. Там же, 2002, т. 47, с. 600—606.
13. Нечипуренко Ю.Д., Рябоконе В.Ф., Семенов С.В., Евдокимов Ю.М. Там же, 2003, т. 48, с. 802—811.
14. Yevdokimov Yu.M., Skuridin S.G., e.a. Int. J. Biol. Macromol., 2005, v. 36, p. 103—115.
15. Magee W.S., Gibbs J.H., Zimm B.H. Biopolymers, 1963, v. 1, p. 133—143.
16. Latt S.A., Sober L.H. Biochemistry, 1967, v. 6, p. 3293—3306.
17. McGhee J.D., von Hippel P.H. J. Mol. Biol., 1974, v. 86, p. 469—489.
18. Лопаткин А.А. Теоретические основания физической адсорбции. М.: Изд-во МГУ, 1983.
19. Хилл Т.Л. Статистическая механика. М.: Издательство, 1960.
20. Lifson S. J. Chem. Phys., 1964, v. 40, p. 3705—3710.
21. Schellman J.A. In: Molecular structure and dynamics. Ed. M. Balaban, 1980, p. 245—265.
22. Schellman J.A. Biopolymers, 1975, v. 14, p. 999—1018.
23. Schwarz G. Biophys. Chem., 1977, v. 6, p. 65—76.
24. Schwarz G., Stankovsky S. Ibid., 1979, v. 10, p. 173—181.
25. Schwarz G. Ibid., 2000, v. 86, p. 119—129.
26. Epstein I.R. Ibid., 1978, v. 8, p. 327—339.
27. Chen Y.D., Maxwell A., Westerhoff H.V. J. Mol. Biol., 1986, v. 190, p. 211—214.
28. Reiter J., Epstein I.R. J. Phys. Chem., 1987, v. 91, p. 4813—4820.
29. Reiter J., Epstein I.R. Biophys. Chem., 1989, v. 33, p. 1—9.
30. Wolfe A.R., Meehan T. J. Mol. Biol., 1992, v. 223, p. 1063—1087.
31. Lohman T.M., Mascotti D.P. Methods in Enzymology, 1992, v. 212, p. 400—424.
32. Evans J.W. Rev. Mod. Phys., 1993, v. 65, p. 1281—1329.
33. Krapivsky P.L., Bennaïm E. J. Chem. Phys., 1994, v. 100, p. 6778—6782.
34. Saroff H.A. Biopolymers, 1995, v. 36, p. 121—134.
35. DiCera E., Kong Y. Biophys. Chem., 1996, v. 61, p. 107—124.
36. Kong Y. Ibid., 1999, v. 81, p. 7—21.
37. Munro P.D., Jackson C.M., Winzor D.J. J. Theor. Biol., 2000, v. 203, p. 407—418.
38. Torralba A.S., Colmenarejo G., Montero F. Biopolymers, 2001, v. 58, p. 562—576.
39. Tsodikov O.V., Holbrook J.A., Shkel I.A. e. a. Biophys. J., 2001, v. 81, p. 1960—1969.
40. Lando D., Teif V. J. Biomol. Struct. and Dynamics, 2000, v. 17, p. 903—911.
41. Teif V.B., Haroutiunian S.G., Vorob'ev V.I. e. a. J. Biomol. Struct. and Dynam., 2002, v. 19, p. 1093—1100.
42. Poland D. J. Chem. Phys., 2000, v. 113, p. 4774—4784.
43. Fiscaro E., Braibanti A., Lamb J.D., Oscarson J.L. Biophys. Chem., 1990, v. 36, p. 1—14.
44. Сибирицев В.С., Гарабаджиу А.В., Иванов С.Д. Биоорганическая химия, 2001, т. 27, с. 57—65.
45. Бабаян Ю., Аракелян В., Потюкян Г., Казарян А. Биофизика, 2001, т. 46, с. 1003—1005.
46. Steiner R.F. J. Chem. Phys., 1954, v. 22, p. 1458—1459.
47. Watson J.D., Crick F.H.C. Nature, 1953, v. 171, p. 737—738.
48. Livshitz M.A., Gursky G.V., Zasedatelev A.M., Volkenstein M.V. Nucleic Acids Res., 1979, v. 6, p. 2217—2236.
49. Zasedatelev A.S., Gursky G.V., Zimmer Ch., Thrum H. Mol. Biol. Reports, 1974, v. 1, p. 337—342.
50. Заседателев А.С., Жузе А.Л., Циммер К., Гроховский С.Л., Туманян В.Г., Гурский Г.В., Готтх Г.П. Докл. АН СССР, 1976, т. 231, с. 1006—1009.
51. Kopka M.L., Yoon C., Goodsell D., Pjura P., Dickerson R.E. PNAS, 1985, v. 82, p. 1376—1380.
52. Gursky G.V., Zasedatelev A.S., Zhuze A.L. e. a. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1983, v. 47, p. 367—378.
53. Лейнсоо Т.А., Николаев В.А. и др. Мол. биология, 1989, т. 23, с. 1616—1637.
54. Гроховский С.Л., Николаев В.А., Сидорова Н.Ю., Зубарев В.Е., Заседателев А.С., Жузе А.Л., Чернов Б.К., Гурский Г.В. Там же, 1992, т. 26, с. 1313—1292.
55. Gursky G.V., Surovaya A.N., Kirochkin A.V. e. a. J. Biomol. Struct. Dyn., 1992, v. 10, p. 15—33.
56. Zasedatelev A.S., Borodulin V.B., Grokhovsky S.L. e. a. FEBS Lett., 1995, v. 375, p. 304—306.
57. Krylov A.S., Grokhovsky S.L., Zasedatelev A.S. e. a. Nucleic Acids Res., 1978, v. 6, p. 289—304.
58. Нечипуренко Ю.Д., Стрельцов С.А., Михейкин А.Л. Биофизика, 2000, т. 45, с. 1044—1048.
59. Nchipurenko Yu.D., Mikheikin A.L., Streltsov S.A. e. a. J. Biomol. Struct. Dyn., 2001, v. 18, p. 703—708.
60. Куранов Б.И. Аллостерические ферменты. М.: Наука, 1978.
61. Hogan M., Dattagupta N., Crothers D.M. Nature, 1979, v. 278, p. 521—524.
62. Dattagupta N., Hogan M., Crothers D.M. Biochemistry, 1980, v. 19, p. 5998—6005.
63. Manning G. Q. Rev. Biophys., 1978, v. 11, p. 2.
64. Rousina I., Bloomfield V.A. J. Phys. Chem., 1996, v. 100, p. 4292.
65. Porschke D. J. Mol. Biol., 1991, v. 222, p. 423—433.
66. Porschke D. Biochemistry, 1984, v. 23, p. 4821—4828.
67. Lando D., Teif V. J. Biomol. Struct. and Dynamics, 2002, v. 20, p. 215—222.
68. Streltsov S.A., Oleinikov V.A., Ermichov M.A. e. a. Biopolymers (Biospectroscopy), 2003, v. 72, p. 442—454.
69. Нечипуренко Ю.Д. Биофизика, 1982, т. 27, с. 391—398.
70. Нечипуренко Ю.Д., Заседателев А.С., Гурский Г.В. Мол. биология, 1984, т. 18, с. 798—812.
71. Нечипуренко Ю.Д. Там же, 1984, т. 18, с. 1066—1079.
72. Йованович Б., Нечипуренко Ю.Д. Там же, 1990, т. 24, с. 478—486.
73. Воробьев Е.А., Нечипуренко Ю.Д., Саянов В.И., Евдокимов Ю.М. Биофизика, 2007, т. 52 (в печати).
74. Рябоконе В.Ф., Нечипуренко Ю.Д., Гурский Г.В. Докл. РАН, 2004, т. 398, с. 832—837.
75. Нечипуренко Ю.Д., Вольф А.М., Гурский Г.В. Биофизика, 2003, т. 48, с. 986—997.
76. Нечипуренко Ю.Д., Вольф А.М., Саянов В.И., Евдокимов Ю.М. Ж. эксперим. и теор. физики, 2004, т. 125, с. 103.
77. Нечипуренко Ю.Д., Гурский Г.В. Биофизика, 2003, т. 48, с. 773—796.
78. Нечипуренко Ю.Д. Дисс. ... доктора физ.-мат. наук. М., 2005.
79. Nchipurenko Y.D., Jovanovic B., Riabokon V.F., Gursky G.V. Ann N. Y. Acad. Sci., 2005, v. 1048, p. 206—214.
80. Нечипуренко Ю.Д., Полозов Р.В., Нечипуренко Д.Ю., Ильичева И.А., Воробьев Е.А., Гроховский С.Л., Гурский Г.В. Математика. Компьютер. Образование: Сб. науч. трудов. Том 2. Под ред. Г.Ю. Ризниченко. М.—Ижевск: 2006, с. 392—402.