

## Динаміка протиіонів $\text{Na}^+$ в іонно-гідратному шарі молекули ДНК

О.М. Алексеев, Л.А. Булавін, Д.О. Шамайко\*

Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
просп. Акад. Глушкова, 2, корп. 1, Київ, 03022, Україна

**Резюме.** Явище неспецифічного зв'язування протиіонів лужних металів із ДНК обумовлює утворення відповідного іонно-гідратного шару навколо її кістяка. Таку динаміку протиіонів ДНК можна досліджувати з допомогою характерних часів релаксації, які визначено в цій роботі в рамках феноменологічної моделі. Зв'язані з молекулою ДНК протиіони характеризуються часом життя і не дають внеску в електропровідність системи. Істотний внесок у значення електропровідності дають вільні протиіони, які рухаються навколо подвійної спіралі. На основі теорії провідності електроліту отримано формулу, що поєднує час життя протиіонів з провідністю. Експериментально визначено електропровідність водних розчинів ДНК для різних концентрацій останньої (0,001-0,2 % маси) в частотному діапазоні 0,1-100 кГц. Установлено, що в розбавленому водному розчині ДНК (0,001 %) час життя протиіонів натрію в іонно-гідратному шарі молекули ДНК становить 1 нс, а в концентрованому (0,15 %) — 1 мс.

**Ключові слова:** макромолекула ДНК, протиіон, електропровідність.

**Вступ.** У природних умовах молекула ДНК перебуває в стані подвійної спіралі, у середині якої знаходяться пари азотистих основ, а назовні — цукро-фосфатний кістяк [1]. Кістяк подвійної спіралі складається з від'ємно заряджених фосфатних груп ( $\sim e$ ). Для забезпечення стабільності структури макромолекули заряди фосфатних груп нейтралізуються протиіонами, як правило,  $\text{Na}^+$  (рис. 1).

Тому у висушеному стані молекула ДНК є сіллю протиіонів натрію, яка у водному розчині дисоціює на аніонний поліелектроліт і протиіони [2-3]. Протиіони разом із молекулами води формують навколо ДНК іонно-гідратний шар, стабілізуючи структуру подвійної спіралі. Протиіони визначають здатність макромолекули до таких значних конформаційних трансформацій, як згин, кручення, привідкриття пар азотистих основ, що, імовірно,

відіграють провідну роль у функціонуванні молекули ДНК у живому організмі [4-6].

Результати останніх досліджень структури металокомплексів НК засвідчують, що протиіони натрію локалізуються переважно біля фосфатних груп кістяка макромолекули [7]. Як показують дані малокутового розсіювання

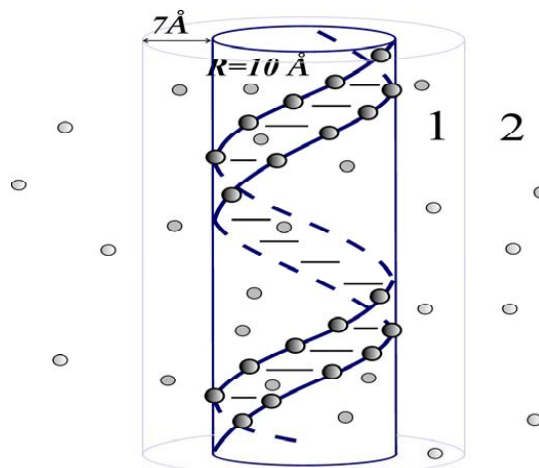


Рис. 1. ДНК із протиіонами: 1 — іонно-гідратний шар ДНК, 2 — розчин.

\*Corresponding author.

Tel.: +38097-2130966

E-mail address: dima\_dnepr@ukr.net

рентгенівських променів на водних розчинах ДНК [8], протиіони не мають певного положення біля ДНК і знаходяться в стані динамічної рівноваги в шарі товщиною  $\sim(5\div7)\text{\AA}$ . Існування такого іонного шару для ДНК передбачено теоретично з використанням рівнянь Пуасона-Больцмана і Дебая-Хюкеля [9-11], також визначено розподіл протиіонів навколо подвійної спіралі. Проте розподіл протиіонів навколо молекули ДНК є статичною характеристикою і не дає інформації про динамічні властивості.

У стані динамічної рівноваги протиіони безперервно приєднуються і від'єднуються від атомних груп ДНК. Дані молекулярної динаміки свідчать про те, що протиіони  $\text{Na}^+$  знаходяться в комплексі з молекулою ДНК протягом 1 нс і приблизно стільки ж часу перебувають у вільному стані [12]. Тому всі протиіони іонно-гідратного шару ДНК можна розподілити на протиіони, що безпосередньо зв'язані з макромолекулою, і вільні протиіони. Для опису динаміки протиіонів ДНК необхідно визначити траєкторії руху протиіонів цих двох груп.

Динаміку зв'язаних протиіонів ДНК описано в рамках теорії конформаційних коливань ДНК [13]. Протиіони, зв'язані з фосфатними групами кістяка молекули ДНК, коливаються відносно положення рівноваги. Розрахунки частот коливальних мод молекули ДНК із протиіонами лужних металів показали, що частота іонно-фосфатних коливань знаходиться в низькочастотному діапазоні ( $<250\text{ см}^{-1}$ ) і зменшується при збільшенні маси протиіонів [9-14]. Значення розрахованих частот узгоджуються з експериментальними даними з комбінаційного розсіювання світла на водних розчинах Na- і Cs-ДНК [14] і з ІЧ-спектрами полінуклеотидів [15-16]. Дані експериментальних і теоретичних досліджень частот коливань також узгоджуються з частотами коливань іонів в іонних кристалах, що вказує на те, що протиіони разом із ДНК утворюють динамічну іонну ґратку.

Вільні протиіони рухаються деякий час в іонно-гідратному шарі макромолекули і можуть виходити з нього або приєднуватися до ДНК. Для опису динаміки вільних протиіонів можна використовувати методи теорії електродитів і теорії плазми [2], а також метод молекулярної динаміки [14]. Серед експеримен-

тальних методів одним з найбільш інформативних у дослідженні динаміки протиіонів є метод визначення електропровідності розчинів ДНК на різних частотах.

Як відомо, електропровідність водних розчинів ДНК обумовлена протиіонами і протонами води. Визначаючи електропровідність водних розчинів на різних частотах, можна встановити характерні часи релаксації макромолекули та часи життя протиіонів поблизу поверхні макромолекули. Так, у роботі [17] показано, що на частотах 10 кГц і 10 МГц спостерігаються максимуми уявної частини діелектричної проникності, а отже, електропровідності. Автори цієї статті вважають, що це пов'язано з конформаційними трансформаціями макромолекули. Смуг, пов'язаних з рухами протиіонів, не виявлено.

У нашій роботі ми пов'язуємо час життя протиіонів біля поверхні молекули ДНК з електропровідністю в частотному діапазоні від 20 до 100 кГц. На основі результатів проведеного експерименту з електропровідності водних розчинів молекули ДНК визначено час життя протиіонів.

**Модель динаміки протиіонів ДНК.** Для визначення часу життя протиіонів в іонно-гідратному шарі ДНК вважатимемо, що електропровідність зумовлюють протиіони, які знаходяться поза межами іонно-гідратного шару ДНК (вільні протиіони). Енергія взаємодії макромолекули з протиіонами, які знаходяться в середині іонно-гідратного шару, значно більша, ніж взаємодія із зовнішнім полем, тому їх внеском в електропровідність системи знехтуємо. Знаходження протиіонів в іонно-гідратному шарі ДНК та у вільному стані будемо описувати характерними часами життя у зв'язаному та вільному станах. Для простоти вважатимемо, що ці часи однакові і дорівнюють  $\tau$  (рис. 1). Для визначення часу  $\tau$  з даних електропровідності водних розчинів ДНК необхідно оцінити кількість протиіонів, які знаходяться у вільному стані.

Нехай зовнішнє електричне поле діє на систему протягом часу  $t$ . За цей час один протиіон вийде і повернеться до іонно-гідратного шару ДНК  $\frac{t}{2}$  разів. Загальна кількість місць зв'язування для протиіонів на молекулі ДНК приблизно дорівнює кількості фосфатних груп

Таблиця 1

Середня кількість і час життя протиіонів молекули ДНК залежно від концентраційного режиму

Розчин	$N$ , іон/м <sup>3</sup>	$\tau$ , с
Розбавлений (0,001 %)	$3,2 \times 10^{22}$	$10^{-7}$
Напіврозбавлений (0,005 %)	$1,6 \times 10^{23}$	$10^{-6}$
Концентрований (0,15 %)	$4,8 \times 10^{24}$	$10^{-4}$

( $N$ ). Тоді загальна кількість протиіонів, які беруть участь в електропровідності системи, визначатиметься таким чином:

$$n = N \frac{t}{2\tau} \quad (1).$$

Ураховуючи, що період зовнішнього поля із частотою  $\nu$  дорівнює  $T = \frac{1}{\nu} = 2\tau$ , отримуємо вираз для часу життя протиіонів біля поверхні ДНК:

$$\tau = \frac{N \cdot T}{4n} = \frac{N}{4n\nu} \quad (2).$$

Величину  $n$  визначимо на основі експериментальних даних з електропровідності таким чином:

$$n = \frac{\sigma - \sigma'}{e\mu} \quad (3),$$

де  $\sigma$  — електропровідність водного розчину молекули ДНК із надлишковими іонами  $\text{Na}^+$  і  $\text{Cl}^-$ ;  $\sigma'$  — провідність розчину солі  $\text{NaCl}$  із концентрацією, яка відповідає концентрації надлишкової солі в зразку ДНК;  $\mu$  — рухомість іонів;  $e$  — абсолютне значення заряду електрона. Коефіцієнт рухомості характеризує середню швидкість упорядкованого руху іона в зовнішньому полі.

Як відомо, електропровідність  $y$  можна виразити з диференційного запису закону Ома [19]:

$$\sigma' = (\mu^+ + \mu^-) \cdot e \cdot C \cdot N_A \quad (4),$$

де  $\mu^+$  і  $\mu^-$  — коефіцієнти рухомості відповідних іонів;  $C$  — молярна концентрація розчину;  $N_A$  — стала Авогадро. Добуток  $C \cdot N_A$  визначає середню кількість носіїв струму в електроліті.

У наших розрахунках вважатимемо, що коефіцієнти рухомості іонів  $\text{Na}^+$  і  $\text{Cl}^-$  однакові ( $\mu^+ \approx \mu^-$ ). Підставляючи (4) у (3), а потім (3) у (2), одержуємо вираз для часу життя протиіонів натрію в іонно-гідратному шарі молекули ДНК:

$$\tau = \frac{\sigma' \cdot N}{8 \cdot N_A \cdot C \cdot \nu \cdot (\sigma - \sigma')} \quad (5).$$

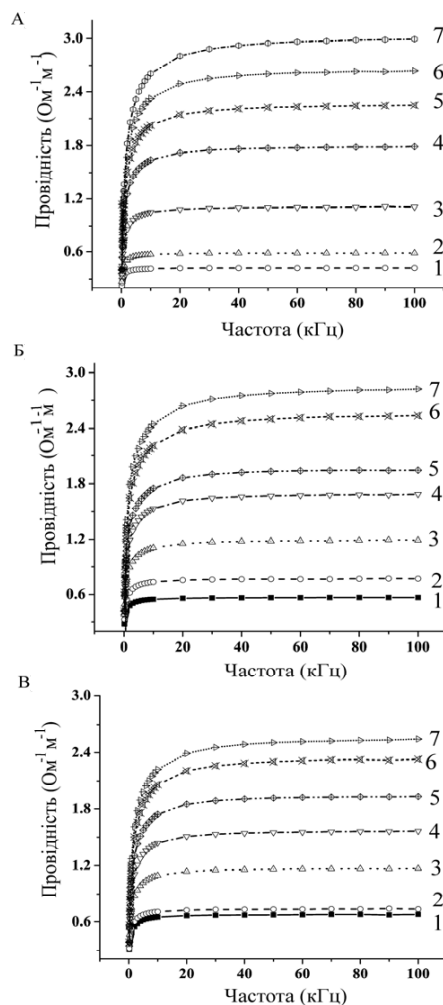


Рис. 2. Залежність питомої електропровідності електроліту і водних розчинів молекули ДНК від частоти змінного струму за різних концентрацій солі  $\text{NaCl}$ : 1-0,1 М; 2-0,15 М; 3-0,3 М; 4-0,5 М; 5-0,7 М; 6-0,85 М; 7-1 М. А — розчин без ДНК ( $\text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$ ); Б — розбавлений розчин ДНК (0,001 % мас); В — концентрований розчин ДНК (0,15 % мас).

Параметри  $\sigma$  і  $\sigma'$  визначаються на основі експерименту з електропровідності на різних частотах  $\nu$ . Загальну кількість фосфатних груп ( $N$ ) можна обрахувати за концентрацією молекули ДНК у розчині (табл. 1).

**Експериментальна частина.** Вимірювання електропровідності розчинів проводили за допомогою методу діелектричної спектроскопії. Було приготовлено чотири серії зразків — А, В, С і D. Серія А складалася із семи розчинів  $\text{NaCl}$  з молярними концентраціями  $C_{\text{NaCl}} = 0,1; 0,15; 0,3; 0,5; 0,7; 0,85; 1$  М кожний. Серії В, С і D склалися із семи розчинів, кожен з яких містив ДНК і  $\text{NaCl}$ . Концентрація ДНК стано-

вила 0,001, 0,005 і 0,15 % маси відповідно. Розчинником в усіх зразках була деіонізована вода. Молекула ДНК виділена з тимусу теляти і мала молекулярну масу  $10^7$  а.о.м. Усі вимірювання проводили при сталій температурі 23 °С. Масові концентрації ДНК становили 0,001, 0,005 і 0,15 %, вони були розраховані і відповідають трьом концентраційним режимам розчину — концентрованому, напіврозбавленому і розбавленому відповідно. У ході обчислень ураховувався персистентний механізм гнучкості макромолекули [20].

**Результати й обговорення.** Залежність питомої електропровідності розчинів NaCl (відповідної концентрації) від частоти змінного струму подано на рис. 2 (А). З підвищенням концентрації солі електропровідність системи підвищується. В області частот 20–100 кГц значення питомої електропровідності системи виходить на «полицю», що свідчить про зменшення дисперсії, обумовленої явищем приелектродної поляризації.

Залежність питомої електропровідності водних розчинів молекули ДНК з різною концентрацією надлишкової солі від частоти змінного струму наведено на рис. 2 (Б, В). Як бачимо, з підвищенням концентрації іонів у розчині електропровідність також підвищується, а в області частот 20–100 кГц значення питомої електропровідності системи теж виходить на «полицю» (постійне значення — рис. 2 (Б, В)).

Для визначення внеску протиіонів ДНК в електропровідність розглянемо детальніше залежність електропровідності розчину ДНК від концентрації надлишкової солі ( $\sigma(C)$ ) на частоті 50 кГц. На цій частоті дисперсія електропровідності, зумовлена явищем приелектродної поляризації, є незначною. Залежність електропровідності від концентрації солі NaCl має лінійний характер для всіх зразків.

Результати експерименту засвідчують, що в області малих концентрацій солі (0–0,25 М) молекула ДНК збільшує загальну електропровідність системи за рахунок наявності вільних протиіонів. Коли іонна сила розчинів досягає значення 0,3 М, настає динамічна рівновага, за якої кількість протиіонів, що сконденсувалися на молекулі ДНК, дорівнює кількості протиіонів, що звільнилися. При концентраціях

солі, більших за 0,3 М, молекула ДНК зменшує загальну електропровідність системи за рахунок утворення густої протиіонної шуби з вільних іонів  $\text{Na}^+$ , що її оточують. Така поведінка молекули ДНК пояснюється, імовірно, зменшенням власної іонної атмосфери зі збільшенням іонної сили розчину [3]. Поведінка протиіонів також змінюється, оскільки їх рухомість зменшується за рахунок збільшення концентрації солі [19].

Різниця електропровідності розчинів ДНК і розчину солі NaCl показує, що внесок протиіонів ДНК в електропровідність більший за малих концентрацій ДНК (0,001 %).

На початку нашої статті вже йшлося про те, що молекула ДНК містить на собі додатно заряджені протиіони, які локалізуються на негативно заряджених фосфатних групах. Виходячи з міркувань, що на одну фосфатну групу припадає один іон натрію, можемо визначити середню кількість власних протиіонів молекули ДНК відповідно до її концентрації у водному розчині (табл. 1). На основі результатів запропонованої феноменологічної моделі динаміки протиіонів навколо молекули ДНК (формула (8)) обрахуємо час життя протиіонів (табл. 1).

Як видно з таблиці, час життя протиіонів в іонно-гідратному шарі молекули ДНК залежить від її концентрації. Сила іонного розчину (або концентрація солі в розчині) і характеристики зовнішнього поля також впливають на значення часу життя, про що свідчить формула (8).

Таким чином, протиіони можуть утворювати порівняно стійкі зв'язки із самою макромолекулою або брати участь у дифузному оточенні НК. У першому випадку утворюється металокомплекс, час життя якого становить  $10^{-7}$  с, у другому — навколо спіралі ДНК з'являється іонна атмосфера, яка може простягатися навколо неї на сотні Å. Ці іони зберігають гідратну оболонку і в процесі динамічної рівноваги вступають в електростатичну взаємодію з полііоном.

**Висновки.** Досліджено структуру водного розчину молекули ДНК шляхом визначення електропровідності системи. Встановлено, що електропровідність водних розчинів ДНК у діапазоні частот від 0,2 до 100 кГц зумовлена

наявністю власних протиіонів макромолекули. Час життя протиіонів біля поверхні ДНК розрахований за допомогою запропонованої феноменологічної моделі і становить у розбавле-

ному розчині  $\sim 10^{-7}$  с, у напіврозбавленому —  $\sim 10^{-6}$  с, у концентрованому —  $\sim 10^{-4}$  с.

Надійшла в редакцію 10.02.2009 р.

### Dynamics of sodium counterions in the DNA ion-hydrate shell

O.M. Alekseyev, L.A. Bulavin, D.O. Shamayko

Kyiv National Taras Shevchenko University  
1 Glushkova Ave, Kyiv, 03022, Ukraine

**Summary.** The lifetime of DNA counterions was determined using the phenomenological model, developed in this work. The counterions bonded to DNA are characterized by the lifetime and do not make contribution to the conductivity of the system. Free counterions, moving around the double helix make the main contribution to the conductivity. Using the theory of electrolyte conductivity, the formula connecting the counterion lifetime and conductivity was obtained. The conductivity of DNA aqueous solutions was determined for different concentrations of DNA (0.001-0.2 % by mass) at frequencies 0,1-100 kHz. The results show that in dilute DNA aqueous solutions (0.001 %) the lifetime is about 1  $\mu\text{s}$ , and in the concentrated aqueous solutions (0.15 %) it is about 1 ms.

**Keywords:** DNA macromolecule, counterion, conductivity.

### Перелік літератури

1. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. — М.: Мир, 1987. — 584 с.
2. Levin Y. Electrostatic correlations: from plasma to biology // Rep. Prog. Phys. — 2002. — 65. — P. 1577-1632.
3. Kornyshev A.A., Lee D.J., Leikin S., Wynveen A. Structure and interaction of biological helices // Rev. Mod. Phys. — 2007. — 79. — P. 943-966.
4. Ivanov V.I., Minchenkova L.E., Schyolkina A.K., Poletayev A.I. Different conformations of double-stranded nucleic acid in solution as revealed by circular dichroism // Biopolymers. — 1973. — 12. — P. 89-110.
5. Baumann C.G., Smith S.B., Bloomfield V.A., Bustamante C. Ionic effects on the elasticity of single DNA molecules // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1997. — 94. — P. 6185-6190.
6. Williams L.D., Maher L.J. Electrostatic mechanisms of DNA deformation // Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. — 2000. — 29. — P. 497-521.
7. Благой Ю.П., Галкин В.Л., Гладченко Г.О., Корнилова С.В., Сорокин В.А., Шкорбатов А.Г. Металлокомплексы нуклеиновых кислот в растворах. — К.: Наукова думка, 1991. — 270 с.
8. Tereshko V., Wilds C.J., Minasov G., Prakash T.P., Maier M.A., Howard A., Wawrzak Z., Manoharan M., Egli M. Determination of alkali metal ions in DNA crystals using state of the X-ray diffraction experiments // Nucleic Acids Res. — 2001. — 29. — P. 1208-1220.
9. Skuratovskii I.Ya., Volkova L.I., Kapitonova K.A., Bartenev V.N. Position of cesium ions in crystalline B-form DNA determined by synchrotron radiation diffraction. Preliminary results // J. Mol. Biol. — 1979. — 134. — P. 369-374.
10. Das R., Mills T., Kwok L.W., Maskel G.S., Millet I.S., Doniach S., Finkelstein K.D., Herschlag D., Polack L. Counterion distribution around DNA probed by solution X-ray scattering // Phys. Rev. Lett. — 2003. — 90. — P. 188103-1—188103-4.
11. Manning G.S. The molecular theory of polyelectrolyte solutions with applications to the electrostatic properties of polynucleotides // Q. Rev. Biophys. — 1978. — 11. — P. 179-246.
12. Франк-Каменецкий М.Д., Аншенивич В.В., Лукашин А.В. Полиэлектrolитная модель ДНК // УФН. — 1987. — 151. — С. 595-618.
13. Young M.A., Jayaram B., Beveridge D.L. Intrusion of counterions into the spine of hydration in the minor groove of B-DNA: Fractional occupancy of electronegative pockets // J. Am. Chem. Soc. — 1997. — 119. — P. 59-69.
14. Varnai P., Zakrzewska K. DNA and its counterions: a molecular dynamics study // Nucl. Acids Res. — 2004. — 32. — P. 4269-4280.
15. Булавин Л.А., Волков С.Н., Кутювий С.Ю., Перепелиця С.Н. Спостереження моди іон-фосфатних коливань макромолекули ДНК // Доп. НАН України. — 2007. — 10. — С. 69-73.
16. Perepelytsya S.M., Volkov S.N. Ion mode in the DNA low-frequency vibration spectra // Ukr. J. Phys. — 2004. — 49. — P. 1074-1080.
17. Podgornik R. Dielectric relaxation of DNA aqueous solutions // Phys. Rev. — 2007. — 75. — P. 021905-1—021905-13.
18. Perepelytsya S.M., Volkov S.N. Counterion vibrations in the DNA low-frequency spectra // Eur. Phys. J. E. — 2007. — 24. — P. 261-269.
19. Измайлов Н.В. Электрохимия растворов. — М.: Химия, 1976. — 488 с.
20. Флори П. Статистическая механика цепных молекул. — М.: Мир, 1971. — 440 с.