

УДК 577.3;573.7

ОСОБЕННОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ ДНК С ДВУМЕРНЫМИ КРИСТАЛЛАМИ БАКТЕРИАЛЬНОГО БЕЛКА DPS БАКТЕРИИ *Escherichia coli* НА ОСНОВЕ ДАННЫХ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

© 2024 г. Э. В. Терешкин^{1*}, К. Б. Терешкина¹, Н. Г. Лойко²,
В. В. Коваленко¹, Ю. Ф. Крупянский¹

¹Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова
Российской академии наук, Москва, Россия

²Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии”
Российской академии наук, Москва, Россия

*E-mail: ramm@mail.ru

Поступила в редакцию 04.04.2024;
после доработки 18.04.2024;
принята в печать 22.04.2024

В данной работе с использованием методов крупнозернистого молекулярного моделирования проводится исследование взаимодействия связывающего ДНК белка из голодающих клеток (DNA-binding protein from starved cells (Dps)) бактерии *Escherichia coli* с участками ДНК различной длины и состава. Исследованы особенности связывания ДНК в двумерных кристаллах белка Dps. С помощью методов поиска свободной энергии — термодинамического интегрирования и линейной энергии взаимодействия — определены наиболее благоприятные условия связывания ДНК и Dps.

Ключевые слова: молекулярная динамика, термодинамическое интегрирование, линейная энергия взаимодействия, взаимодействия Dps–ДНК, полноатомные модели, крупнозернистые модели, бактерия *Escherichia coli*.

DOI: 10.31857/S0207401X24120086

1. ВВЕДЕНИЕ

В природной среде бактерии постоянно подвергаются различным стрессам. Для сохранения популяции, задействуется ряд стратегий, в первую очередь направленных на сохранение генетического материала [1]. Нуклеоид бактерии *Escherichia coli* (*E. coli*) состоит из ДНК длиной 4.5 млн пар нуклеотидов (п.н.), иерархически организованной связывающими ДНК белками (nucleoid-associated proteins (NAPs)) [2]. Ими же обеспечивается защита генетического материала бактерий при любом стрессовом воздействии на протяжении всего жизненного цикла колонии. Бактериальная хромосома претерпевает глубокие топологические изменения при стрессе, меняя форму и состав в зависимости от фазы роста популяции и состояния клеток, а при длительном голодании может образовывать различные конденсированные структуры [3–6].

Одним из важнейших белков бактериальной клетки в стрессовых условиях является белок

Dps — связывающий ДНК белок голодающих клеток (DNA-binding protein from starved cells) [7]. Наибольшее количество белка Dps наблюдается в стационарной фазе роста бактериальной колонии (85–180 тыс. молекул на клетку), в то время как в логарифмической фазе его содержание значительно ниже (6–8.5 тыс. молекул) [8]. Гомологи Dps обнаруживаются у большинства бактерий и архей. Белок Dps принадлежит к семейству ферритиновых. Они играют важную роль в стабилизации ДНК, защите клетки от активных форм кислорода, а также в накоплении и хранении ионов железа [9].

В исследованиях *in vitro* показано, что белок Dps может образовать кристаллы разных пространственных форм [10–15]. Обнаружено, что присутствие ДНК не является обязательным для кристаллообразования Dps, однако значительно ускоряет процесс [16, 17]. Методами компьютерного моделирования *in silico* исследованы температурные флуктуации белка Dps [18, 19] и меха-

низмы связывания Dps с ДНК для различных ионных составов [20], в трехмерных кластерах и кристаллах [21], в присутствии малых молекул [22].

На данный момент отсутствуют точные структурные данные, подтверждающие какое-то определенное положение молекул ДНК относительно Dps. Делаются различные предположения [9], однако они не могут полностью объяснить наблюдаемые экспериментально структуры [4]. Целью данной работы было исследование двумерных кристаллов Dps бактерии *E. coli* с молекулами ДНК различной длины и состава методами молекулярной динамики.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Модели белка и ДНК

Модели белка, ДНК, ионов и неполяризуемых молекул воды строились с использованием стандартных представлений элементов силового поля MARTINI 2.1_DNA [23] и соответствующих справочников [24]. Ионы во всех системах добавлялись в такой концентрации, которая бы отвечала цитоплазматической концентрации бактерии *E. coli*.

Для изучения адсорбции длинноцепочечных ДНК на двумерную однослойную кристаллическую подложку из молекул белка Dps моделировалась последовательность из 165 п.н., используемая в экспериментальной части работы (ДНК-матрица s603) [15]: 5'-AGCGACACCGGCACTGGGCCGGTTCGCGCTCCCGCCTTCCGTGTGTTGTCGTCTCTCGGGCGTCTAAGTACGCTAGCGCACGGTAGAGCGCAATCCAAGGCTAACACCGTGCATCGATGTTGAAAGAGGCCCCCGTCTTATTACTTCAAGTCCCTGGGGT-3' (M165). Здесь и далее в скобках после последовательности ДНК указано ее условное обозначение, используемое в статье. Нанокристалл белка размером $10 \times 7 \times 1$ молекул Dps был вырезан из структуры PDB 6GCM. Размер периодической расчетной ячейки — $75.07 \times 62.76 \times 29.55$ нм³ — был выбран таким образом, чтобы моделировать структуру бесконечного периодического однослойного кристалла (белковую подложку), совпадающую с экспериментально определенной [4, 15]. Было добавлено 18972 ионов Na⁺, 100 Ca²⁺, 14500 Cl⁻ и 864860 молекул воды.

Возможность встраивания ДНК внутрь кристаллов изучалась на примере нанокристаллов из

семи молекул белка Dps и последовательностей ДНК разной длины и состава. Моделировались участок гена *yhis* (330 п.н.) бактерии *E. coli* штамма K-12 MG1655 (номер в генбанке — U00096.3), показавший в экспериментах повышенную способность к связыванию с белком Dps [25] — 5'-GCACATATTTATGGGGTGGATGATTCATGTCACGCCCCAAAATTAAGTGGAGTTCACCTAAACAGAAAGGATATAAACATCAGACAGGTTTACGTTACTATCAGGCATATCACCTCAGAATCAGATGAAACTATATAAAGAAATATCTATTATGGTTTAAATATTTGTTGATAAGGATAGTAACATGAAATGACAAAAGGTGCACTCATCCTCAGCCTTTCATTTTTGCTTGCCGCATGTAGTTCAATTCGCAAAATATCAAAGGCAATAACCAACCTGATATCAAAAAAGTTTTGTTGCTGTTTCATAACAGCCGGGGTTATATGT-3' (YHIS330), последовательность ДНК такой же длины из чередующихся остатков ATCG (ATCG330), а также указанные выше последовательности ДНК длиной 165 п.н. (M165) и 24 п.н. 5'-AAGTCGACCCTAGAGGATCTTTGT-3' (L24). В расчетную ячейку объемом $18 \cdot 10^3$ нм³ была добавлена одна молекула YHIS330 или ATCG330, две молекулы M165 или девять молекул L24. Для нейтрализации заряда белка и ДНК было добавлено соответствующее количество противоионов.

Поиск свободной энергии связывания ДНК с белковой подложкой проводили для участков длинноцепочечной ДНК длиной 24–26 п.н.: 5'-GGGTGATGGATATTCATGTCACGCG-3' (YHIS24), 5'-GGGTTTTGTCGTTGATAACTTGAGTG-3' (DPS26) и ДНК из чередующихся остатков ATCG (ATCG24). Нанокристалл белка размером $2 \times 2 \times 1$ молекул Dps был вырезан из структуры PDB 6GCM. В периодическую ячейку объемом $14.7 \times 17.7 \times 20.0$ нм³ добавлялась одна из изучаемых молекул ДНК, около 800 ионов Na⁺, 4 Ca²⁺, 600 Cl⁻ и 38000 молекул воды.

2.2. Параметры расчетов

Расчеты всех систем проводились методами классической и управляемой молекулярной динамики в программном комплексе Gromacs 5.1 [26]. Собранные системы содержали молекулы Dps, ДНК, ионы и молекулы воды. Для контроля во всех случаях моделировались также системы, не содержащие белка или ДНК. Во избежание эффекта замораживания крупнозернистых частиц

воды 10% ее молекул в системах заменяли на “воду—антифриз” [21, 27].

При подготовке систем к расчету проводилась минимизация энергии систем методом наискорейшего спуска, затем релаксация систем при постоянном объеме и постоянном давлении (суммарно в течение 200 пс). Расчеты классической молекулярной динамики систем проводились при постоянном числе частиц, давлении 1 бар и температуре 300 К (ансамбль NPT) в периодических граничных условиях. Исследовали динамику систем на временах 0.5–1 мкс с шагом интегрирования 10 фс. Температура поддерживалась с помощью термостата, в котором используется масштабирование скорости со стохастической составляющей V-rescale [28] (постоянная времени — 0.5 пс). Радиусы обрезания, равные 1.2 нм, применялись для электростатических и ван-дер-ваальсовых взаимодействий. Давление поддерживалось с помощью баростата Парринелло—Рамана (постоянная времени — 4 пс, изотермическая сжимаемость воды 4.5×10^{-5} бар⁻¹). Диэлектрическая проницаемость среды была равна 15 для обеспечения явного экранирования.

Подготовку систем к расчету методами управляемой молекулярной динамики проводили в два этапа. Первый этап совпадал с расчетами методов классической молекулярной динамики, описанными выше. Затем проводили исследование свободной энергии взаимодействия ДНК с белковой подложкой методом термодинамического интегрирования (ТИ). Методика проведения ТИ подробно описана в работе [24]. Рассчитывалась динамика поведения ДНК в растворе и в комплексе с белковой подложкой. В обоих случаях было выбрано 52 точки при переходе от полного взаимодействия ДНК с окружением до отсутствия взаимодействия. Каждая точка рассчитывалась в течение 30 нс.

Для определения термодинамических характеристик связывания ДНК с Dps наряду с методом ТИ использовался также метод поиска линейной энергии взаимодействия [29]. Для нахождения важных динамических характеристик белков и ДНК использовался метод главных компонент [30]. Анализ результатов и визуализацию проводили с помощью оригинальных модулей, а также средствами программ Gromacs и VMD.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование динамики адсорбции длинноцепочечных ДНК на поверхность сформированных двумерных кристаллов белка Dps показало, что в процессе адсорбции происходит подстраивание конформации ДНК под локальные особенности белковой подложки. Линейная ДНК, помещенная в ячейку с подложкой, начинает при этом изгибаться. Основное влияние на конформационные изменения ДНК оказывают N-концевые остатки лизина (LYS). Подложка, состоящая из 70 молекул Dps, содержит 10080 остатков LYS, из которых к N-концевым регионам (с 1-го по 20-й остаток каждого мономера Dps) относятся 2520. На рис. 1 показаны конформации ДНК после 0.6 мкс расчета. Стрелками на рис. 1в указаны места взаимодействия ДНК с остатками лизина N-концов, благодаря которым ДНК связывается с подложкой. Механизм адсорбции ДНК на поверхности двумерного кристалла зависит от его локальных свойств и главным образом определяется взаимным расположением N-концевых участков белковых молекул. Также играет роль положение ДНК относительно главных направлений кристалла. Во всех изученных системах нити ДНК распределялись на поверхности кристаллов неупорядоченно, образуя изгибы в процессе укладки.

В процессе адсорбции на белковую подложку Dps нить ДНК испытывает значительные флуктуации. Основные флуктуации, вызывающие изгибание нитей ДНК, приходится на концы олигонуклеотидов (рис. 2а). На рис. 2б приведены временные зависимости числа контактов между атомами ДНК и остатков лизина. Под контактами подразумевались сближения атомов на расстояние менее 0.6 нм. Остатки лизина были распределены на группы по номеру в первичной последовательности белка Dps. В одной субъединице белка содержится 12 остатков лизина. Соответственно, для всей подложки были выделены 12 групп по 840 остатков в каждой. Как видно из рис. 2, связывание ДНК происходит на уровне N-концевых остатков LYS 5, 8 и 10. Участие в связывании ДНК с кристаллом принимают также экспонированные наружу аминокислотные остатки LYS 27, 101, 105, 119 и 134. Кривые, соответствующие LYS 26, 48, 140, 157, не обозначены, так как число контактов между ними и ДНК близко к нулю.

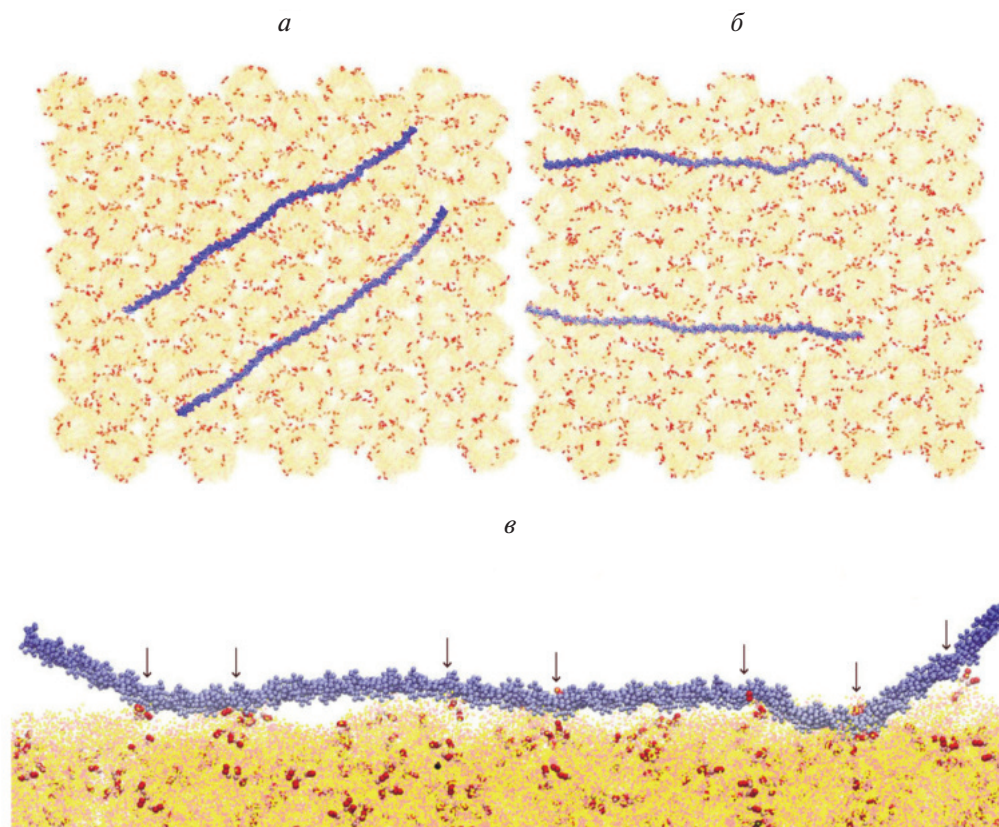


Рис. 1. Двумерный однослойный кристалл белка Dps, на котором адсорбированы молекулы ДНК (траектория движения рассчитывается на временном участке 0.6 мкс): *а, б* — вид сверху слоя при разной ориентации молекул ДНК, *в* — вид сбоку. Молекулы ДНК показаны синими тяжами, N-концевые остатки лизина — красными бусинами. Стрелками указаны места связывания ДНК N-концами белка. Молекулы воды не показаны.

Как показано в экспериментальных исследованиях, аффинность связывания ДНК с белком Dps низка относительно ряда других важных связывающих ДНК белков *E. coli* (nucleoid-associated proteins (NAPs)). Белки NAP структурируют и стабилизируют ДНК, оказывают влияние на метаболические процессы в клетке, играют важную роль в реакции на стресс, вирулентности и взаимодействии с клетками-хозяевами. К таким белкам относятся изогнутые связывающие ДНК белки типов А и В (curved DNA-binding protein (CbpA, CbpB)), фактор стимуляции инверсии (factor for inversion stimulation (Fis)), гистоноподобный нуклеоид-структурирующий белок (histone-like nucleoid structuring protein (H-NS)), низкомолекулярный U-белок (nucleoid protein (HU)) и другие белки. Аффинность связывания этих белков с ДНК убывает в следующем порядке: HU > IHF > CbpB > Fis > H-NS > CbpA > Dps [31]. При этом важно учитывать, что на участках ДНК обычно специфичными являются только один или несколько сайтов связывания для того или

иного белка, в то время как остальные сайты связывания неспецифичны, и аффинность связывания с ними ниже.

Аффинность связывания разных белков с неспецифичными участками ДНК примерно совпадает. Для белка Dps общепринята точка зрения о том, что вся ДНК связывается им неспецифично, однако в работе [25] экспериментально показано, что геномная ДНК бактерии *E. coli* связывается с Dps случайным образом. Что касается энергетических характеристик связывания ДНК с белками, то известные экспериментальные данные говорят о том, что значения свободной энергии связывания белков со специфичными участками ДНК лежат в пределах $-5 \div -12$ кДж/моль на пару нуклеотидов, в то время как энергия связывания с неспецифическими участками примерно в три раза меньше [32]. На аффинность оказывают влияние параметры среды: концентрация ионов, ионная сила раствора, pH. В работе [24] в расчетах с помощью крупнозернистых моделей взаимодействия ДНК-Dps было показано, что ионная кон-

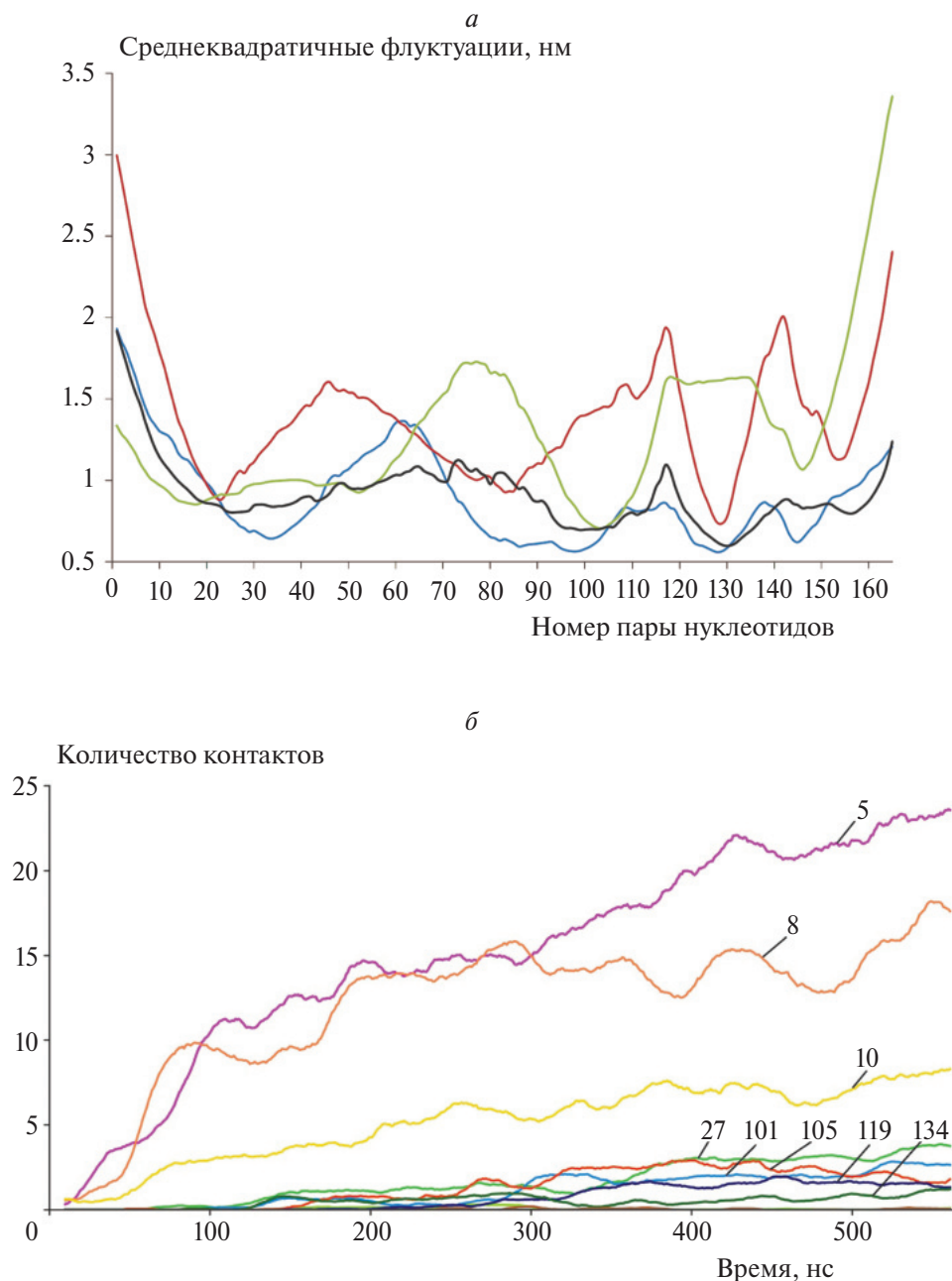


Рис. 2. *a* – Среднеквадратичные флуктуации атомов в четырёх идентичных молекулах ДНК длиной 165 п.н. M165 (каждой из молекул соответствует одна из кривых) в процессе адсорбции на различные участки 2D кристалла Dps. По оси абсцисс указаны номера пар нуклеотидов, начиная от 5'-конца ДНК; *б* – среднее количество контактов между атомами ДНК (в расчете на 100 п.н. ДНК) и остатков лизина. Числа – номера остатков лизина в первичной последовательности белка Dps.

центрация оказывает видимый эффект на свободную энергию взаимодействия. Поэтому здесь мы сосредоточились на изучении возможностей связывания ДНК различного состава в наиболее благоприятных по ионному составу системах.

Как показали расчеты, связывание молекулами белка Dps молекул ДНК позволяет нанокристаллам Dps сохранять упорядоченность в случае ги-

стоноподобных комплексов (рис. 3, слева). Нити ДНК разной длины и состава – девять молекул L24, две молекулы M165 и одна молекула YNIS330 – оказывают одинаковое влияние на эволюцию кристалла, не позволяя молекулам Dps смещаться. Линейная энергия взаимодействия, найденная как разница потенциальных энергий взаимодействия ДНК в комплексе с белком и

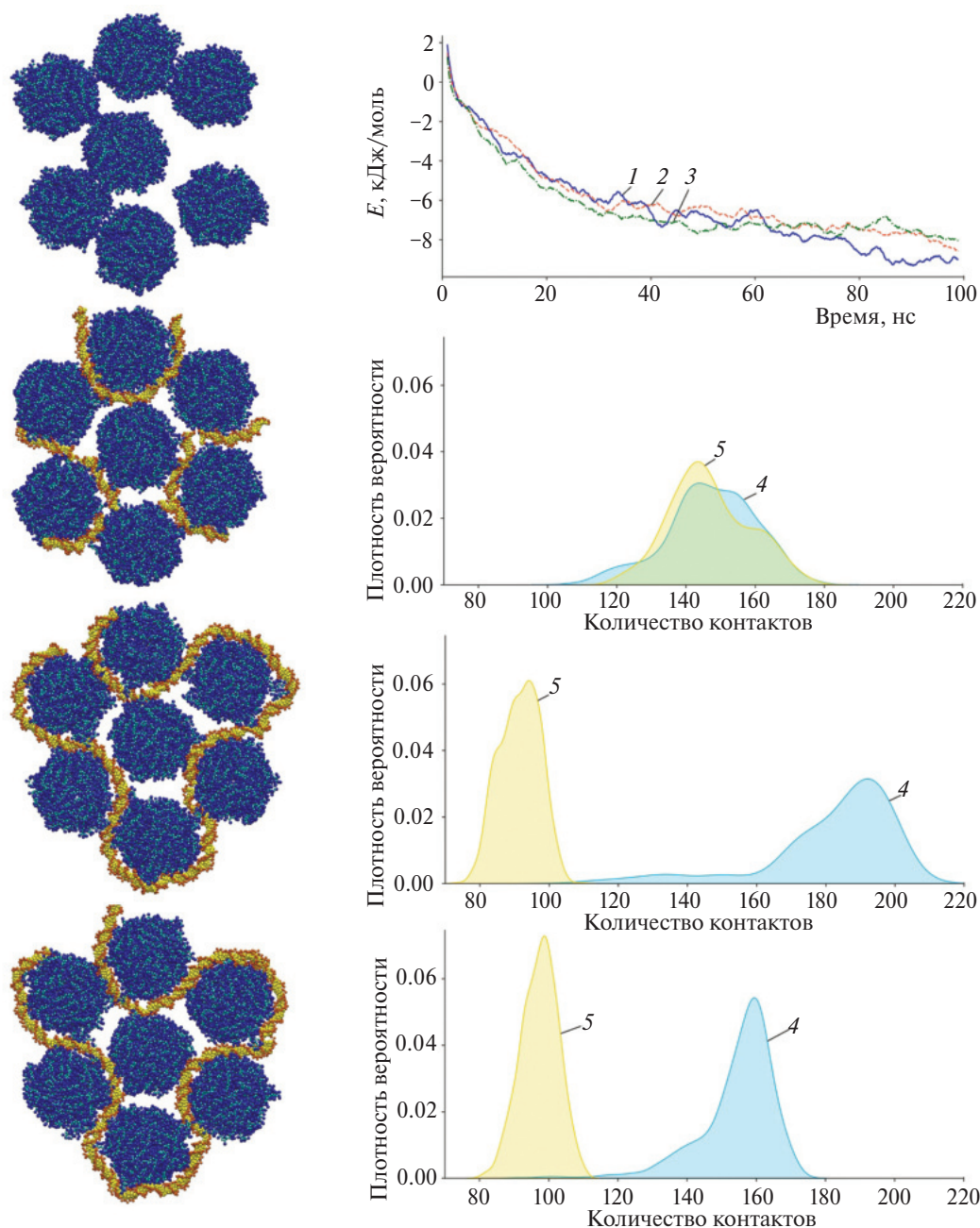


Рис. 3. Слева – структура нанокристаллов, состоящих из семи молекул белка Dps; сверху вниз: без ДНК, в присутствии ДНК длиной 24 п.н. (L24), 165 п.н. (M165) и 330 п.н. (YHIS330). Справа сверху – зависимость изменения средней энергии взаимодействия ДНК-Dps от времени для ДНК L24 (1), M165 (2) и YHIS330 (3), рассчитанная на 1 п.н. Ниже справа – распределения вероятностей для среднего количества контактов между атомами ДНК и N-концевыми остатками лизина (4), остальными остатками лизина (5), в расчете на 100 п.н. ДНК, соответствующие структурам слева.

ДНК в растворе (коэффициенты, приведенные в работе [29], взяты равными 0.5), показывает, что молекулам ДНК всех рассмотренных типов выгодно находиться внутри нанокристаллов (рис. 3, график справа сверху) при температуре 300 К. Значения свободной энергии связывания ДНК–белок (в расчете на одну пару нуклеотидов ДНК) близки и составляют $\Delta\Delta G(\text{L24}) = -(8.93 \pm 0.25)$

кДж/моль, $\Delta\Delta G(\text{M165}) = -(7.81 \pm 0.32)$ кДж/моль, $\Delta\Delta G(\text{YHIS330}) = -(7.51 \pm 0.34)$ кДж/моль. Наблюдается небольшое уменьшение по абсолютному значению $\Delta\Delta G$ при увеличении длины ДНК. Следует отметить, что основной вклад в межмолекулярные взаимодействия в крупнозернистых моделях вносят ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Отношения вкладов энергии Ван-дер-Ваальса

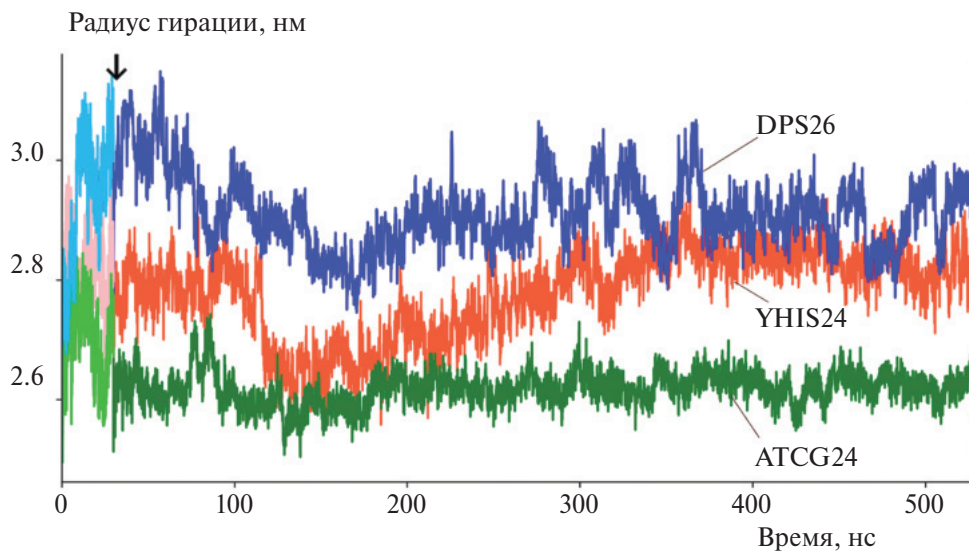


Рис. 4. Изменение радиусов гирации ДНК в зависимости от времени в воде и на двумерной белковой подложке для молекул ДНК DPS26 (26 п.н.), ATCG24 (24 п.н.) и YHIS24 (24 п.н.). Стрелкой вверх указан момент времени перехода от водного окружения к белковой подложке.

к энергии электростатического взаимодействия ДНК с другими молекулами составляют $E_{vdW}/E_{el} \approx 110\text{--}130$. Известно, что силы Ван-дер-Ваальса определяют в первую очередь аффинность связывания ДНК, но не селективность [33]. Нить ДНК всех типов (включая короткоцепочечные, в начальный момент времени линейные) в изучаемых нанокристаллах изгибалась, огибая молекулу белка. Обнаружено, что в случае короткоцепочечных ДНК N-концевые аминокислотные остатки лизина (LYS 5, 8 и 10) и остальные остатки лизина в равной степени участвуют в связывании ДНК с белком. В то время как для длинноцепочечных ДНК количество контактов между LYS 5, 8 и 10 с ДНК в 1.5–2 раза выше, чем между другими остатками лизина.

В расчетах адсорбции двуцепочечных олигонуклеотидов (24–26 п.н.) показано, что разные участки ДНК ведут себя неодинаково — как в воде, так и на 2D-подложке белка Dps. Радиусы гирации изначально линейных коротких ДНК изменяются (рис. 4) в обоих случаях. На рис. 4 до стрелки показаны радиусы гирации ДНК в воде и дальнейшее их изменение (после стрелки) радиусов гирации при адсорбции ДНК на подложку. Методом классической молекулярной динамики проведены расчеты для получения отрелаксированной структуры олигонуклеотида в воде и комплексов ДНК с подложкой. Дальнейшие расчеты методом термодинамического интегрирования выявили различия в свободных энергиях гидратации и связы-

вания, приходящихся на 1 п.н. для изученных последовательностей ДНК (табл. 1). Свободные энергии гидратации находятся в согласии с литературными данными [34] и близки для ДНК разных типов. Что касается взаимодействий молекул ДНК с белком, то для всех ДНК благоприятным оказывается положение на подложке. Наиболее благоприятным является связывание участка YHIS24 геномной ДНК бактерии *E. coli*, отмеченного в работе [25] в качестве специфичного.

5. ВЫВОДЫ

1. Расчеты, проведенные методом классической молекулярной динамики в крупнозернистом приближении, показывают, что длинноцепочечные молекулы ДНК адсорбируются на сформированные кристаллы Dps неравномерно. Механизм адсорбции зависит от локальных свойств кристалла (область N-концов, область остова) и рельефа поверхности белкового кристалла.

2. Сокристаллизация ДНК с Dps способствует образованию симметричных форм в нанокристаллах. Молекула ДНК, вне зависимости от начальной конформации, начинает огибать молекулы Dps, образуя гистоновоподобные комплексы. Линейная энергия взаимодействия показывает, что аффинность короткоцепочечных ДНК больше.

3. Расчеты олигонуклеотидов (24–26 п.н.) выявляют конформационную неоднородность разных по составу участков ДНК на белковой под-

Таблица 1. Свободные энергии гидратации ДНК (ΔG_H) и связывания ДНК с белковой подложкой ($\Delta\Delta G$) в расчете на одну пару нуклеотидов (в кДж/моль)

Модель ДНК	ΔG_H	$\Delta\Delta G$
DPS26	-155 ± 0.79	-9.17 ± 0.01
YHIS24	-154 ± 0.50	-9.88 ± 0.11
ATCG24	-154 ± 0.55	-7.76 ± 0.05

ложке. Свободная энергия взаимодействия на одну пару нуклеотидов, найденная методом термодинамического интегрирования, лежит в пределах $\Delta\Delta G \sim -7 \div -10$ кДж/моль. Аффинность больше у участка геномной ДНК, обладающего, согласно литературным данным, большей специфичностью к белку Dps.

Расчеты проведены на высокопроизводительной вычислительной системе МВС-10П Межведомственного суперкомпьютерного центра Российской академии наук (МЦ РАН).

Работа выполнена в рамках госзадания Министрства образования Российской Федерации (темы № 122040400089-6 и № 122040800164-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ткаченко А.Г. Молекулярные механизмы стрессовых ответов у микроорганизмов. Екатеринбург: УрО РАН, 2012.
2. Amemiya H.M., Schroeder J., Freddolino P.L. // *Transcription*. 2021. V. 12. № 4. P. 182. <https://doi.org/10.1080/21541264.2021.1973865>
3. Minsky A., Shimoni E., Frenkiel-Krispin D. // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2002. V. 3. № 1. P. 50. <https://doi.org/10.1038/nrm700>
4. Loiko N., Danilova Y., Moiseenko A. et al. // *PLoS One*. 2020. V. 15(10). № e0231562. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231562>
5. Крупнянский Ю.Ф. // *Хим. физика*. 2021. Т. 40. № 3. С. 60. <https://doi.org/10.31857/S0207401X21030079>
6. Крупнянский Ю.Ф., Коваленко В.В., Лойко Н.Г. и др. // *Биофизика*. 2022. Т. 67. № 4. С. 638. <https://doi.org/10.31857/S0006302922040020>
7. Almirón M., Link A.J., Furlong D., Kolter R. // *Genes Dev.* 1992. V. 6. P. 2646. <https://doi.org/10.1101/gad.6.12b.2646>
8. Karas V.O., Westerlaken I., Meyer A.S. // *J. Bacteriol.* 2015. V. 197. № 19. P. 3206. <https://doi.org/10.1128/jb.00650-15>
9. Orban K., Finkel S.E. // *J. Bacteriol.* 2022. V. 204. № e00036-22. <https://doi.org/10.1128/jb.00036-22>
10. Grant R.A., Filman D.J., Finkel S.E. et al. // *Nat. Struct. Biol.* 1998. № 5. P. 294. <https://doi.org/10.1038/nsb0498-294>
11. Frenkiel-Krispin D., Minsky A. // *J. Struct. Biol.* 2006. V. 156. P. 311. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2006.05.014>
12. Лойко Н.Г., Сузина Н.Е., Соина В.С. и др. // *Микробиология*. 2017. Т. 86. № 6. С. 703. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35516020>
13. Kovalenko V., Popov A., Santoni G. et al. // *Acta Cryst.* 2020. V. F76. P. 568. <https://doi.org/10.1107/S2053230X20012571>
14. Синицын Д.О., Лойко Н.Г., Гуларян С.К. и др. // *Хим. физика*. 2017. Т. 36. № 9. С. 59. <https://doi.org/10.1134%2FS1990793117050128>
15. Moiseenko A., Loiko N., Tereshkina K. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019. V. 517 № 3. P. 463. <https://doi.org/10.1016%2Fj.bbrc.2019.07.103>
16. Ceci P., Cellai S., Falvo E. et al. // *Nucleic Acids Res.* 2004. V. 32(19). P. 5935. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh915>
17. Minsky A., Wolf S.G., Frenkiel D. et al. // *Nature*. 1999. V. 400. P. 83. <https://doi.org/10.1038/21918>
18. Tereshkin E.V., Tereshkina K.B., Krupyanskii Y.F. // *JPCS*. 2021. V. 2056 (1). № 012016. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2056/1/012016>
19. Loiko N.G., Tereshkin E.V., Kovalenko V.V. et al. // *Microbiology*. 2023. V. 92 (1). P. S78. <https://doi.org/10.1134/S0026261723603640>
20. Tereshkin E., Tereshkina K., Loiko N. et al. // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2018. V. 37. P. 2600. <https://doi.org/10.1080/07391102.2018.1492458>
21. Терешкин Э.В., Терешкина К.Б., Коваленко В.В. и др. // *Хим. физика*. 2019. V. 38. № 40. С. 48. <https://doi.org/10.1134/S199079311905021X>
22. Терешкин Э.В., Терешкина К.Б., Лойко Н.Г. и др. // *Хим. физика*. 2023. Т. 42. № 5. С. 30. <https://doi.org/10.31857/S0207401X23050138>
23. Usitalo J.J., Ingólfsson H.I., Akhshi P. et al. // *JCTC*. 2015. V. 11. № 8. P. 3932. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00286>
24. Tereshkin E.V., Tereshkina K.B., Krupyanskii Y.F. // *Supercomput. Front. Innov.* 2022. V. 9. № 2. P. 33. <https://doi.org/10.14529/jsfi220203>
25. Antipov S.S., Tutukina M.N., Preobrazhenskaya E.V. et al. // *PLoS One*. 2017. V. 12. № e0182800. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182800>
26. Hess B., Kutzner C., van der Spoel D., Lindahl E. // *J. Chem. Theory Comput.* 2008. V. 4. P. 435. <https://doi.org/10.1021/ct700301q>
27. Hadley K.R., McCabe C. // *Mol. Simul.* 2012. V. 38. P. 671. <https://doi.org/10.1080/08927022.2012.671942>
28. Bussi G., Donadio D., Parrinello M. // *J. Chem. Phys.* 2007. V. 126(1). № 014101. <https://doi.org/10.1063/1.2408420>

29. *Aqvist J., Marelus J.* // Comb. Chem. High Throughput Screening. 2001. V. 4. P. 613.
<https://doi.org/10.2174/1386207013330661>
30. *Amadei A., Linssen A.B., Berendsen H.J.* // Proteins. 1993. V. 17. № 4. P. 412.
<https://doi.org/10.1002/prot.340170408>
31. *Azam T.A., Ishihama A.* // J. Biol. Chem. 1999. V. 274(46). P. 33105.
<https://doi.org/10.1074/jbc.274.46.33105>
32. *Jen-Jacobson L.* // Biopolymers. 1997. V. 44. P. 153.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0282\(1997\)44:2<153::AID-BIP4>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0282(1997)44:2<153::AID-BIP4>3.0.CO;2-U)
33. *Anashkina A.A.* // Biophys Rev. 2023. V. 15. P. 1007.
<https://doi.org/10.1007/s12551-023-01137-7>
34. *Miller J.L., Kollman P.A.* // Phys. Chem. 1996. V. 100. № 20. P. 8587.
<https://doi.org/10.1021/jp9605358>

PECULARITIES OF DNA BINDING TO TWO-DIMENSIONAL CRYSTALS OF BACTERIAL PROTEIN DPS FROM *Escherichia coli* BASED ON MOLECULAR DYNAMICS DATA

E. V. Tereshkin^{1*}, K. B. Tereshkina¹, N. G. Loiko², V. V. Kovalenko¹, Y. F. Krupyanskii¹

¹*Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

²*Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

*E-mail: ramm@mail.ru

In this work, using coarse-grained molecular modeling methods, the interactions of DNA-binding protein from starved cells (Dps) of the bacterium *Escherichia coli* with DNA sections of various lengths and composition were investigated. The binding features in two-dimensional crystals of the Dps protein were studied. Using free energy search methods – thermodynamic integration and linear interaction energy – the most favorable conditions for the binding of DNA and Dps were determined.

Keywords: molecular dynamics, thermodynamic integration, linear interaction energy, Dps-DNA interactions, all-atom models, coarse-grained models, *Escherichia coli*.

REFERENCES

1. A.G. Tkachenko. Molecular Mechanisms of Stress Responses in Microorganisms. Yekaterinburg: Ural Branch of RAS (2012). [in Russian].
2. H.M. Amemiya, J. Schroeder, P.L. Freddolino. *Transcription* **12**, 182 (2021).
<https://doi.org/10.1080/21541264.2021.1973865>
3. A. Minsky, E. Shimoni, D. Frenkiel-Krispin. *Nat Rev Mol Cell Biol.* **3**, 50 (2002).
<https://doi.org/10.1038/nrm700>
4. N. Loiko, Y. Danilova, A. Moiseenko et al. *PLoS One* **15**, e0231562 (2020).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231562>
5. Y.F. Krupyanskii. *Russian Journal of Physical Chemistry B.* **15**, 326 (2021).
<https://doi.org/10.31857/S0207401X21030079>
6. Y.F. Krupyanskii, V.V. Kovalenko, N.G. Loiko et al. *Biophysics* **67**(4), 638 (2022).
<https://doi.org/10.31857/S0006302922040020>
7. M. Almirón, A. J. Link, D. Furlong, R. Kolter. *Genes Dev.* **612**, 2646 (1992).
<https://doi.org/10.1101/gad.6.12b.2646>
8. V.O. Karas, I. Westerlaken, A.S. Meyer. *J. Bacteriol.* **197**, 3206 (2015).
<https://doi.org/10.1128/jb.00650-15>
9. K. Orban, S.E. Finkel. *J. Bacteriol.* **204**, e00036-22 (2022).
<https://doi.org/10.1128/jb.00036-22>
10. R.A. Grant, D.J. Filman, S.E. Finkel et al. *Nat. Struct. Biol.* **5**, 294 (1998).
<https://doi.org/10.1038/nsb0498-294>
11. D. Frenkiel-Krispin and A. Minsky. *J. Struct. Biol.* **156**, 311 (2006).
<https://doi.org/10.1016/j.jsb.2006.05.014>
12. N.G. Loiko, N.E. Suzina, V.S. Soina et al. *Microbiology* **86**, 714 (2017).
<https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35516020>
13. V. Kovalenko, A. Popov, G. Santoni et al. *Acta Cryst.* **F76**, 568 (2020).
<https://doi.org/10.1107/S2053230X20012571>
14. D.O. Sinitsyn, N.G. Loiko, S.K. Gularyan et al. *Russian Journal of Physical Chemistry B.* **11**, 833 (2017).
<https://doi.org/10.1134%2FS1990793117050128>
15. A. Moiseenko, N. Loiko, K. Tereshkina et al. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **517**, 463 (2019).
<https://doi.org/10.1016%2Fj.bbrc.2019.07.103>
16. P. Ceci, S. Cellai, E. Falvo et al. *Nucleic Acids Res.* **32**(19), 5935 (2004).
<https://doi.org/10.1093/nar/gkh915>
17. A. Minsky, S. G. Wolf, D. Frenkiel et al. *Nature* **400**, 83 (1999).
<https://doi.org/10.1038/21918>
18. E.V. Tereshkin, K.B. Tereshkina and Y.F. Krupyanskii. *JPCS* **2056**(1), 012016 (2021).
<http://dx.doi.org/10.1088/1742-6596/2056/1/012016>
19. N.G. Loiko, E.V. Tereshkin, V.V. Kovalenko et al. *Microbiology* **92**(1), S78 (2023).
<https://doi.org/10.1134/S0026261723603640>
20. E. Tereshkin, K. Tereshkina, N. Loiko et al. *J Biomol Struct Dyn.* **37**, 2600 (2018).
<http://dx.doi.org/10.1080/07391102.2018.1492458>
21. E.V. Tereshkin, K.B. Tereshkina, V.V. Kovalenko et al. *Russian Journal of Physical Chemistry B.* **13**(5), 769 (2019).
<http://dx.doi.org/10.1134/S199079311905021X>
22. E. Tereshkin, K. Tereshkina, N. Loiko et al. *Russian Journal of Physical Chemistry B.* **17**, 608 (2023).
<http://dx.doi.org/10.1134/S1990793123030132>
23. J.J. Uusitalo, H.I. Ing'olfsson, P. Akhshi, et al., *Journal of chemical theory and computation* **11**, 3932 (2015).
<https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00286>
24. E.V. Tereshkin, K.B. Tereshkina, Y.F. Krupyanskii. *Supercomputing Frontiers and Innovations* **9**, 33 (2022).
<https://doi.org/10.14529/jsfi220203>

25. S.S. Antipov, M.N. Tutukina, E.V. Preobrazhenskaya. et al., PLoS One **12**, e0182800 (2017).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182800>
26. B. Hess, C. Kutzner, D. van der Spoel, E. Lindahl. Theory Comput. **4**, 435 (2008).
<https://doi.org/10.1021/ct700301q>
27. K.R. Hadley, C. McCabe. Mol. Simul. **38**, 671 (2012).
<https://doi.org/10.1080/08927022.2012.671942>
28. G. Bussi, D. Donadio, M. Parrinello. J Chem Phys. **126**(1), 014101 (2007).
<https://doi.org/10.1063/1.2408420>
29. J. Aqvist, J. Marelius. Comb. Chem. High Throughput Screening. **4**, 613 (2001).
<https://doi.org/10.2174/1386207013330661>
30. A. Amadei, A.B. Linssen, H.J. Berendsen. Proteins. **17**(4), 412 (1993).
<https://doi.org/10.1002/prot.340170408>
31. T.A. Azam, A. Ishihama. J Biol Chem. **274**(46), 33105 (1999).
<https://doi.org/10.1074/jbc.274.46.33105>
32. L. Jen-Jacobson. Biopolymers. **44**, 153 (1997).
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0282\(1997\)44:2<153::AID-BIP4>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0282(1997)44:2<153::AID-BIP4>3.0.CO;2-U)
33. A.A. Anashkina. Biophys Rev. **15**, 1007 (2023).
<https://doi.org/10.1007/s12551-023-01137-7>
34. J.L. Miller, P.A. Kollman. Physical Chemistry **100**(20), 8587 (1996).
<https://doi.org/10.1021/jp9605358>