

0-790944

Учреждение Российской академии наук Институт химической физики
им. Н.Н. Семенова РАН

На правах рукописи

Кикоть Ирина Павловна



ПОСТРОЕНИЕ КРУПНОЗЕРНИСТОЙ МОДЕЛИ ДНК И ЕЕ
ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ И
ТЕПЛОВЫХ СВОЙСТВ

Специальность 02.00.06 — высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Москва 2011

Работа выполнена в лаборатории 1638 (физики и механики полимеров)
Института химической физики им. Н.Н.Семенова РАН.

Научный руководитель: кандидат физико-математических наук,
Мазо Михаил Абрамович.

Официальные оппоненты: доктор физико-математических наук
Василевская Валентина Владимировна

доктор физико-математических наук, профессор
Турусов Роберт Алексеевич

Ведущая организация: Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова, биологический факультет

Защита диссертации состоится 15 декабря 2011 года в 11 часов 00 минут
на заседании диссертационного совета Д.002.012.01 при ИХФ РАН по адресу:
119334, Москва, Ленинский пр-т, д. 38, актовый зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИХФ РАН.

Автореферат разослан 11 ноября 2011 года.

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА КГУ



0000688375

Учёный секретарь диссертационного
совета,
канд хим. наук

Т. А. Ладыгина

1 Общая характеристика работы

Исследованию структуры и подвижности ДНК всегда уделялось большое внимание в связи с ее биологической функцией, а в последние годы - еще и благодаря развитию новых технологических направлений, в которых молекулы ДНК используются для создания многофункциональных гибридных материалов. На сегодняшний день одним из наиболее эффективных инструментов для изучения нуклеиновых кислот является полноатомное молекулярно-динамическое (МД) моделирование, которое позволяет наиболее подробно учитывать высокую конформационную подвижность этих сложных молекул. В рамках этого подхода каждый атом рассматривается как классическая точечная частица, при этом взаимодействие между ними описывается при помощи потенциалов, полученных и параметризованных на основе квантово-химических расчетов и согласованных с экспериментальными данными. Наиболее широко применяются два силовых поля – AMBER и CHARMM27, которые хорошо зарекомендовали себя не только при изучении структуры и подвижности отдельных фрагментов ДНК, но и при исследовании их взаимодействия с другими молекулами, в том числе с белками.

Однако при использовании такого полноатомного моделирования современная техника позволяет рассматривать лишь небольшие, не более 30 пар оснований, фрагменты молекул ДНК на временах порядка сотен нс (наиболее продолжительный расчет на сегодня - это моделирование 12 пар оснований в течении 1.2 мкс). В последние годы с целью уменьшения вычислительных затрат при молекулярно-динамическом моделировании биомолекул достаточно широко и успешно используется приближение, в котором молекулы растворителя не рассматриваются в явном виде. Вместо этого растворитель заменяется сплошной средой с определенной диэлектрической проницаемостью и ионной силой. Использование неявного представления растворителя привело к существенной экономии вычислительных ресурсов, что позволило моделировать поведение молекул большего размера на временах порядка нескольких нс. Однако даже в этом случае расчет кольцевой ДНК размером 147 пар оснований в течении 5 нс занял 115 часов на 128 процессорах.

Таким образом, полноатомные модели либо малоэффективны, либо вообще не применимы при анализе существенно более протяженных молекул или таких важных как для биологии, так и для нанотехнологии процессов, которые протекают на значительно больших временах: плавление ДНК, А-В переходы, поведение под механической нагрузкой, прохождение ДНК через мембраны. В этих случаях обычно используются различные крупнозернистые модели, которые обеспечивают упрощенное описание молекулы. В таких моделях азотистые основания, как правило, представляются сферическими или эллиптическими частицами, хотя предлагались и другие представления. Но столь сильное огрубление не позволяет с необходимой точностью воспроиз-

вести и взаимодействие частиц, и локальную подвижность ДНК, тем самым ограничивая применимость таких методов для анализа внутримолекулярных перестроек, исследования тепловых и механических свойств молекул, а также влияния локальных возбуждений на ее структуру.

В данной работе описано построение новой крупно-зернистой модели, в ходе которого выбор зерен и определение вида и параметров потенциалов проводились на основе анализа полноатомной модели молекулы ДНК, а огрубление выполнялось таким образом, чтобы исключить из рассмотрения высокочастотные валентные колебания, но как можно точнее воспроизвести низкочастотную внутримолекулярную подвижность. Для построенной модели показано, что ее использование позволяет получать надежные данные о тепловых и механических свойствах достаточно протяженных молекул.

Цель работы: 1. Построение крупнозернистой модели, которая, с одной стороны, учитывает основные типы подвижности и хорошо воспроизводит динамику молекулы ДНК, а с другой стороны, является достаточно эффективной и позволяет моделировать протяженные фрагменты ДНК на больших временных масштабах. 2. Исследование механических и тепловых свойств молекулы ДНК в рамках построенной модели.

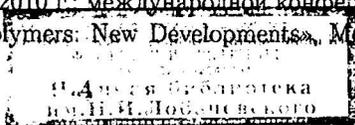
Научная новизна результатов:

1. Предложена новая крупнозернистая модель, построение которой опирается на подробный анализ подвижности сахаро-фосфатного остова.
2. Впервые рассчитана теплопроводность одиночной молекулы ДНК.
3. Предложено новое объяснение характера зависимости силы от деформации молекулы ДНК при ее растяжении.
4. Предложены новые методы учета электростатических взаимодействий заряженных частиц в сплошной среде.

Практическая значимость работы: представленная модель реализована в виде компьютерной программы и используется для расчетов долговременной динамики протяженных (до 1000 пар оснований) фрагментов ДНК, которые могут быть полезны для теоретических исследований, а также при создании ДНК-содержащих наноструктур. Кроме того, рассчитаны механические и тепловые свойства молекулы ДНК, которые важны при ее использовании в нанотехнологии. Полученные выражения для электростатической энергии могут быть полезны при численном моделировании полимеров в растворах.

Публикации: на основе результатов данной диссертационной работы опубликовано 21 печатных работ, из которых 3 статьи в рецензируемых научных журналах, 7 статей в трудах конференций и 11 тезисов докладов.

Апробация работы: основные результаты работы были доложены на международных ежегодных конференциях «Advanced problems in mechanics», Saint-Petersburg, Repino, 2009, 2010 г.; международной конференции «Theory and Computer Simulation of Polymers: New Developments», Moscow, 2010; на



мировом конгрессе 43rd IUPAC World Polymer Congress Polymer Science in the Service of Society, Glasgow, UK, 2011; XVI Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов», Москва, 2009; на Первой российской конференции «Проблемы механики и акустики сред с микро- и наноструктурой: наномех-2009» Н.-Новгород, 2009 г.; на 2-ой Всероссийской школе-семинаре «Наноструктуры, моделирование, анализ и управление», Москва, 2009 г.; на XVI Всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем», Яльчик, 2009; на II Всероссийской конференции «Многомасштабное моделирование процессов и структур в нанотехнологиях», Москва, 2009 г.; на Пятой Всероссийской Каргинской Конференции «Полимеры - 2010», Москва, 2010 г.; на XV Симпозиуме по межмолекулярному взаимодействию и конформациям молекул, Петрозаводск, 2010 г.; на X Всероссийском съезде по фундаментальным проблемам теоретической и прикладной механики, Нижний Новгород, 2011; на ежегодных конференциях Отдела полимеров и композиционных материалов ИХФ РАН, Москва, 2009, 2010, 2011 г.

Структура и объем диссертации: диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и содержит 110 страниц, включает 28 рисунков и список литературы из 102 наименований.

2 Краткое содержание глав

2.1 Первая глава

Первая глава содержит обзор литературы до теме диссертации. Первый параграф посвящен обзору существующих крупнозернистых моделей; для самых известных и широко используемых моделей приводится краткое их описание и методика выбора зерен и получения потенциалов. Также в первой главе проводится анализ литературных данных, посвященных разным типам подвижности остова. Эти данные основываются на кристаллографических данных о волокнах ДНК и на полноатомном молекулярно-динамическом моделировании фрагментов двойной спирали. Для сахаро-фосфатного остова выделяют три основных типа подвижности, описываемых изменением торсионных углов: 1) изменение конформации сахара (количественная характеристика - псевдоротационный угол); 2) согласованное изменение торсионных углов остова α и γ ; 3) согласованное изменение углов остова ζ и ϵ . Кроме того, приведены литературные данные по раскрытиям оснований: даны оценки энергии раскрытия оснований, в одной из работ построен профиль энергии при раскрытии оснований, приводятся данные об изменении структуры сахаро-фосфатного остова при раскрытии оснований. В последнем параграфе этой главы дан обзор существующих методов неявного учета растворителя: описаны быстрые упрощенные методы, связанные с использованием обобщенной

формулы Борна, и более медленные, но более точные методы, связанные с решением уравнения Пуассона.

2.2 Вторая глава

В случае неявного учета растворителя макромолекула в растворе моделируется как область с одним значением диэлектрической проницаемости внутри пространства с другим значением диэлектрической проницаемости. При этом на границе области эта величина может меняться как плавным образом, так и скачкообразно.

Рассмотрим сначала подход, при котором диэлектрическая проницаемость меняется скачкообразно. Разумеется, для области произвольной формы электростатическую задачу невозможно решить аналитически, однако точное аналитическое решение было найдено для сферы в 1934 г Д.Кирквудом в виде ряда. Взаимодействие двух заряженных частиц внутри сферы радиуса R , находящихся на расстояниях r_i, r_j от центра и образующих между собой угол с вершиной в центре сферы величиной θ , можно вычислить по следующей формуле :

$$U = \frac{q_i q_j}{\epsilon_{in} |\vec{r}_i - \vec{r}_j|} - \left(\frac{1}{\epsilon_{in}} - \frac{1}{\epsilon_{out}} \right) \frac{1}{R} \sum_{l=0}^{\infty} \frac{r_i^l r_j^l P_l(\cos \theta)}{R^{2l} \left(1 + \frac{l}{l+1} \frac{\epsilon_{in}}{\epsilon_{out}} \right)}, \quad (1)$$

где P_l - многочлены Лежандра.

В данной работе была рассмотрена слабдеформированная сфера. В этом случае для деформации определенного вида (соответствующего вытянутой форме) в рамках теории приближений можно найти для поправки первого порядка аналитическое выражение в виде ряда. А именно, энергия взаимодействия двух зарядов (один из которых считается источником поля, а другой - пробным) может быть вычислена как

$$\psi(r, \theta) = \frac{q}{\epsilon_{in} |\vec{r} - \vec{r}_0|} + \varphi_0(r, \theta) + \delta \varphi_1(r, \theta), \quad \varphi_1(r, \theta) = \sum_{n=0}^{\infty} A_n r^n P_n(\cos \theta) \quad (2)$$

где коэффициенты A_n вычисляются через радиус сферы R , расстояние от заряда-источника до её центра r_0 и значения диэлектрической проницаемости с помощью формул, приведенных в диссертации. Здесь δ - малый параметр, описывающий деформацию сферы. Легко видеть, что в полученном выражении первые два слагаемых являются нулевым приближением, соответствующим идеальной сфере, и совпадают с суммой (1).

Однако выражение (2), равно как и исходный ряд Кирквуда (1), малоприменимо в реальных задачах. Связано это с тем, что данные ряды сходятся

очень медленно, особенно когда оба заряда близки к границе. Как было показано в диссертации, путем разложения коэффициентов ряда A_n по степеням n можно выделить из него несколько слагаемых, которые суммируются аналитически, после чего оставшийся ряд сходится быстро. Было получено выражение следующего вида:

$$\begin{aligned} \varphi_1(r, \theta) &= \sum_{n=0}^{\infty} (A'_n + A''_n) r^n P_n(\cos \theta) = \\ &= \frac{q}{R \varepsilon_{out}} \left(\frac{1}{\beta} - 1 \right) \left(-a_1 \frac{t(t-x)}{\sqrt{1-2xt+t^2}^3} + a_0 \frac{1}{\sqrt{1-2xt+t^2}} + \right. \\ &\quad \left. + a_{-1} \frac{1}{t} \ln \frac{(t-x+\sqrt{1-2xt+t^2})}{1-x} \right) - \\ &- \frac{q}{2R} \left(\frac{r_0^2}{R^2} + \frac{R^2}{r_0^2} \right) \left(b_0 \frac{1}{\sqrt{1-2xt+t^2}} + b_{-1} \frac{1}{t} \ln \frac{(t-x+\sqrt{1-2xt+t^2})}{1-x} \right) + \\ &\quad + \sum_{n=0}^{\infty} t^n O\left(\frac{1}{n^2}\right) P_n(\cos \theta), \quad (3) \end{aligned}$$

где $x = \cos \theta$, $t = r_0 r / R^2$. Коэффициенты a_i , b_i , а также коэффициенты ряда являются константами; формулы, по которым они вычисляются, приведены в тексте диссертации. Медленная сходимость исходного ряда связана с тем, что полученные слагаемые имеют особенность при $t \rightarrow 1$, $\theta \rightarrow 0$. Коэффициенты оставшегося ряда убывают с ростом n как $O(\frac{1}{n^2})$, поэтому сам ряд сходится достаточно быстро.

Скачкообразное изменение диэлектрической проницаемости приводит к разрыву нормальной составляющей напряженности электрического поля на границе. Поэтому распространение получил и другой подход, в котором диэлектрическая проницаемость $\varepsilon(\vec{r})$ изменяется непрерывно и гладко от значения ε_{in} внутри молекулы до значения ε_{out} на большом расстоянии от нее. Впервые этот подход последовательно описан в 2010 г в работе М.В. Базилевского и др. В этой работе предполагается, что при условии непрерывного и гладкого изменения диэлектрической проницаемости выполняется «D-G» теорема, которая утверждает, что вектор электрического смещения $\vec{D} = \varepsilon(\vec{r}) \vec{E}$ совпадает с напряженностью электрического поля, которое создавали бы эти заряды, находясь в вакууме. Однако на самом деле вычисляемое таким образом поле $\vec{E} = -\frac{\nabla \varphi_0}{\varepsilon(\vec{r})}$ не является точным решением электростатической задачи, поскольку для него невыполнено уравнение Максвелла: $rot \vec{E} \neq 0$. Тем не менее результаты вычислений этим методом неплохо согласуются с результатами численного решения уравнения Пуассона. На самом деле такое

упрощенное выражение является только первым приближением к истинному решению, которое удовлетворяет уравнениям Максвелла.

Предположим, что имеется молекула субстрата, помещенного в раствор. Плотность распределения заряда внутри этой молекулы ρ_0 (заданная функция), а диэлектрическая проницаемость равна 1. Окружающий раствор имеет диэлектрическую проницаемость ϵ_{out} , но переход на границе субстрата сглаживается. Для того, чтобы построить схему для расчета свободной энергии сольватации, запишем полный потенциал в виде:

$$\psi = \frac{\psi_0}{\epsilon} + \phi, \quad (4)$$

где ψ_0 является потенциалом поля, которое создавалось бы в отсутствие диэлектрика. Введем вспомогательный вектор \vec{B} , который определяется следующим образом:

$$\nabla \times \vec{B} = \frac{\psi_0 \nabla \epsilon}{\epsilon} - \epsilon \nabla \phi.$$

Система основных уравнений электростатики сводится к интегральному уравнению на вектор \vec{B} . Один из возможных путей решения этого интегрального уравнения связан с представлением вектора \vec{B} в виде суммы $\vec{B} = \vec{B}_1 + \vec{B}_2 + \vec{B}_3 + \dots$, в которой ротор каждого последующего слагаемого существенно меньше ротора предыдущего. При этом считается, что $\nabla \epsilon$ и $rot \vec{B}_1$ имеют одинаковый (первый) порядок малости. Исходя из предположения, что $\nabla \times \vec{B}$ мало по сравнению с $\nabla \psi_0$, первый член ряда может быть выбран следующим образом:

$$\nabla \times \vec{B}_1 = \frac{1}{4\pi} \int \left[\vec{\nabla} \frac{1}{|r - r'|}, -\frac{\nabla' \epsilon \times \nabla' \psi_0}{\epsilon} \right] d^3 r'. \quad (5)$$

Следующие члены ряда можно получить по следующей рекуррентной формуле:

$$\vec{\nabla} \times \vec{B}_{n+1} = \frac{1}{4\pi} \int \frac{\left[\frac{\nabla' \epsilon \times (\nabla' \times \vec{B}_n), r - r' \right]}{|r - r'|^3} d^3 r'. \quad (6)$$

Используя это соотношение, можно найти вектор $\vec{\nabla} \times \vec{B}$. Тогда можно выразить плотность связанных зарядов через этот вектор из уравнения $div \vec{E} = 4\pi(\rho + \rho_0)$:

$$\rho = \frac{1}{4\pi} \left(\frac{\vec{\nabla} \psi_0 \cdot \vec{\nabla} \epsilon}{\epsilon^2} + \vec{\nabla} \cdot \left(\frac{\vec{\nabla} \times B}{\epsilon} \right) \right) = \frac{1}{4\pi} \frac{\vec{\nabla} \epsilon}{\epsilon^2} \cdot (\vec{\nabla} \psi_0 - \vec{\nabla} \times \vec{B}). \quad (7)$$

Далее полярная составляющая свободной энергии растворения может быть вычислена по следующей известной формуле:

$$G_{solv} = \int \frac{\rho_0(\vec{r}) \rho(\vec{r}')}{|r - r'|} d^3 r' d^3 r. \quad (8)$$

Полученные выражения (3, 7-8) могут использоваться при моделировании заряженных биомолекул для более точного по сравнению с существующими методами вычисления электростатической энергии.

2.3 Третья глава

В данной главе обсуждается построение достаточно простой и эффективной с вычислительной точки зрения крупнозернистой модели, которая воспроизводила бы двухспиральную структуру молекулы ДНК, тепловые флуктуации около положения равновесия при комнатной температуре, механические свойства молекулы ДНК, а также обеспечивала бы возможность моделирования раскрытия оснований и сопутствующих изменений структуры.

Для удобства точками локализации зерен являлись отдельно взятые атомы, рассматриваемые в полноатомном подходе. Выбор зерен был сделан таким образом, чтобы была возможность воспроизвести основные виды подвижности сахаро-фосфатного остова. Именно в связи с этим появилась необходимость моделировать рибозное кольцо не одним зерном, а двумя, расположенными на атомах $C3'$ и $C1'$. Еще одно зерно было введено для фосфатных групп, которые являются важным структурным элементом и несут на себе существенный электростатический заряд. Азотистые основания, в отличие от остова, являются достаточно жесткими, плоскими структурными образованиями, поэтому они описываются тремя зернами. Таким образом, минимальное количество зерен, достаточное для наших целей, - шесть зерен на нуклеотид.

Широко известно, что рибозное кольцо имеет две устойчивых конформации, которые соответствуют значениям псевдоротационного угла порядка 20^0 (характерное для А-формы) и порядка 160^0 (характерное для В-формы). Если рассмотреть тетраэдр $P_1 - C3' - C1' - P_2$ (где $C1'$ и $C3'$ принадлежат сахарному кольцу, которое находится между двумя атомами соседними атомами фосфора P_1 - со стороны $5'$ конца и P_2 - со стороны $3'$ конца), из анализа полноатомных МД траекторий можно увидеть, что эта геометрическая структура имеет два устойчивых положения, которые как раз и соответствуют двум устойчивым положениям рибозы.

Таким образом, из рассмотрения полноатомных МД траекторий, а также кристаллографических данных, был сделан вывод о том, что для сахаро-фосфатного остова существует две устойчивых конфигурации, которые соответствуют разным значениям псевдоротационного угла (т.е. разным конформациям сахарного кольца). Эти конфигурации остова характерны соответственно для В-формы и А-формы ДНК, однако, как показал детальный анализ динамики двойной спирали, локально при комнатной температуре даже в устойчивой форме могут возникать нехарактерные для этой формы конфигурации В крупнозернистом представлении изменению псевдоротационного угла и сопряженной с ним перестройке сахаро-фосфатного остова соответ-

ствует изменение формы тетраэдра с вершинами в атомах $P_1-C3'-C1'-P_2$, а именно изменение расстояний между атомами $P_1-C3'-P_2$. Таким образом, в рамках нашей модели рибозная подвижность остова может быть реализована через существование двух устойчивых положений для этого тетраэдра.

Проведенный анализ показал, что характерной чертой динамики сахарофосфатного остова является наличие двух устойчивых конфигураций, соответствующих двум разным конформациям сахарного кольца. Однако на данном этапе построения модели предполагалось, что все потенциалы имеют один минимум, двухъямные потенциалы отсутствуют. Ниже дано подробное описание такой модели и показано, что при некоторых условиях она дает приемлемые результаты.

Опишем кратко взаимодействия в системе. Первую группу взаимодействий составляют «валентные взаимодействия». Для удобства потенциалы этих взаимодействий в данной модели имеют простую форму, часто используемую в различных силовых полях. Энергия деформации валентной связи описывается потенциалом вида:

$$U_{\alpha\beta}(\mathbf{x}_1, \mathbf{x}_2) = \frac{1}{2}K_{\alpha\beta}(|\mathbf{x}_2 - \mathbf{x}_1| - R_{\alpha\beta})^2, \quad (9)$$

где $\alpha\beta$ обозначают тип взаимодействующих частиц (например, P и C3), параметр $R_{\alpha\beta}$ - равновесная длина, параметр $K_{\alpha\beta}$ - жесткость связи. Энергия деформации валентных углов описывается потенциалом вида

$$U_a(\theta) = \epsilon_a(\cos \theta - \cos \theta_a)^2,$$

а энергия деформации двугранных углов имеет форму

$$U_t = \epsilon_t(1 - \cos(\phi - \phi_0)).$$

Для выбора параметров этих взаимодействий использовалось несколько методов. Во-первых, это анализ траекторий полноатомной МД. Во-вторых, это рассмотрение отдельного фрагмента в рамках полноатомного силового поля. Оба эти метода позволяют оценить параметры валентных взаимодействий. Впоследствии параметры были несколько подкорректированы по результатам тестовых МД расчетов. Зерна, которые участвуют в валентных взаимодействиях, показаны на рис. 1.

Кроме валентных взаимодействий, зерна остова участвуют еще в дальнедействующих взаимодействиях - электростатических и ван дер Ваальсовых. Электростатические взаимодействия фосфатов учитываются в рамках обобщенного приближения Борна по формуле:

$$\Delta G_{solv} \approx -\frac{1}{2} \left(1 - \frac{\exp(-0.73\kappa f)}{\epsilon_{out}} \right) \frac{q_i q_j}{f(r_{ij}, R_i, R_j)}, \quad (10)$$

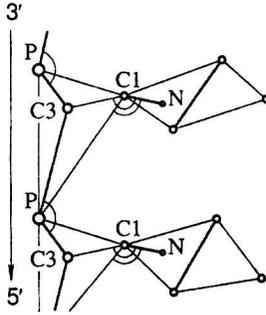


Рис. 1: Зерна, участвующие в валентных взаимодействиях. Линии обозначают валентные (гармонические связи), дугами отмечены валентные углы, жирными линиями отмечены оси вращения для торсионных потенциалов. Гликозидная связь, вращение около которой азотистых оснований является важной чертой их динамики, задается линией C1-N, где N – атом N9 на основаниях A,G и атом N1 на основаниях T,C (никакого зерна не сосредоточено на этом атоме, его координаты вычисляются из положения трех зерен, определяющих плоскость основания).

где ϵ_{out} - диэлектрическая проницаемость воды, r_{ij} - расстояния между зарядами, R_i так называемый *эффективный радиус Борна* частицы i , а $f = \left[r_{ij}^2 + R_i R_j \exp(-r_{ij}^2/4R_i R_j) \right]^{\frac{1}{2}}$.

Ван дер Ваальсовы взаимодействия вычисляются для всех P и C3 зерен, которые принадлежат разным нитям, по формуле

$$U_{ij}(r) = \epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r - d_{ij}} \right)^6 - 1 \right]^2 - \epsilon_{ij}, \quad i, j = P, C3,$$

где r - расстояние между взаимодействующими частицами, $\epsilon_{ij} = \sqrt{\epsilon_i \epsilon_j}$, $d_{ij} = d_i + d_j$, $\sigma_{ij} = \sigma_i + \sigma_j$, энергетические параметры $\epsilon_P = 0.01\text{eV}$, $\epsilon_{C3} = 0.005\text{eV}$, диаметры $d_P = 2.4\text{\AA}$, $d_{C3} = 2\text{\AA}$, параметр $\sigma_P = 1.6\text{\AA}$, $\sigma_{C3} = 1.9\text{\AA}$.

Отдельного рассмотрения требует моделирование взаимодействия азотистых оснований. Известно, что зависимость свойств фрагмента ДНК от его нуклеотидного состава имеет решающее значение для биологической функции ДНК. В связи с этим необходимо было как можно точнее учесть стэкинг-взаимодействие и водородные связи между комплементарными нуклеотидами. Первоначально предполагалось, что взаимодействие азотистых оснований будет моделироваться парными взаимодействиями зерен остова. Однако, несмотря на многочисленные попытки, найти такие парные потенциалы, которые бы воспроизводили основные особенности взаимодействия азотистых

оснований, не удалось; связано это с тем, что энергия взаимодействия азотистых оснований как функция их взаимного расположения существенно отличается для разных типов нуклеотидов. В связи с этим использовалась следующая стратегия, позволяющая оставить три частицы, но вместе с тем в точности воспроизвести взаимодействие оснований: поскольку азотистые основания являются достаточно твердыми, плоскими структурными образованиями, то по координатам трех частиц можно вычислить координаты всех исходных атомов, а далее воспользоваться известными полноатомными потенциалами. Конечно, такой способ учета является более затратным с вычислительной точки зрения, однако это компенсируется точностью расчетов.

Азотистые оснований участвуют в трех видах взаимодействий: взаимодействия внутри одного основания, взаимодействия комплементарных оснований и взаимодействия оснований из разных цепочек. Взаимодействие зерен внутри одного основания в рамках нашей модели сводится к потенциалу специального вида, который удерживает четыре зерна - $C1'$ и три зерна основания - вблизи одной плоскости, а попарные расстояния - вблизи фиксированных значений. Параметры этих взаимодействий были взяты из анализа динамики в рамках полноатомной модели.

Взаимодействия между нуклеотидами вычисляются с помощью полноатомных потенциалов из системы AMBER. Обозначим набор координат трех выбранных зерен через X_n , где n - номер основания. Можно посчитать координаты всех исходных атомов на основании: $r_1(X_n), r_2(X_n), \dots$. Тогда взаимодействие комплементарных оснований можно записать следующим образом:

$$E_{hb} = \sum_n V_{XY}(X_n, Y_n) = \sum_n U_{AMBER}(r_1(X_n), r_2(X_n), \dots, r_1(Y_n), r_2(Y_n), \dots).$$

где $V_{XY}(X_n, Y_n)$ - потенциал взаимодействия между основанием X ($X=A, T, G, C$) и комплементарным ему основанием Y ($Y=A, T, G, C$).

Главный вклад во взаимодействие комплементарных оснований дают только атомы, примыкающие к донорам/акцепторам водородной связи - см. рис. 2 (а и б). Поэтому здесь можно сократить число атомов, участвующих во взаимодействии. Обозначим такой сокращенный потенциал через $V_{XY}^*(X_n, Y_n)$. Тогда

$$E_{hb} = \sum_n V_{XY}^*(X_n, Y_n).$$

Взаимодействие между двумя соседними парами оснований выражается следующим образом:

$$E_{st} = \sum_n V_{XY}(X_n, X_{n+1}) + V_{XY}^*(X_n, Y_{n+1}) + V_{XY}(Y_n, Y_{n+1}) + V_{XY}^*(Y_n, X_{n+1}).$$

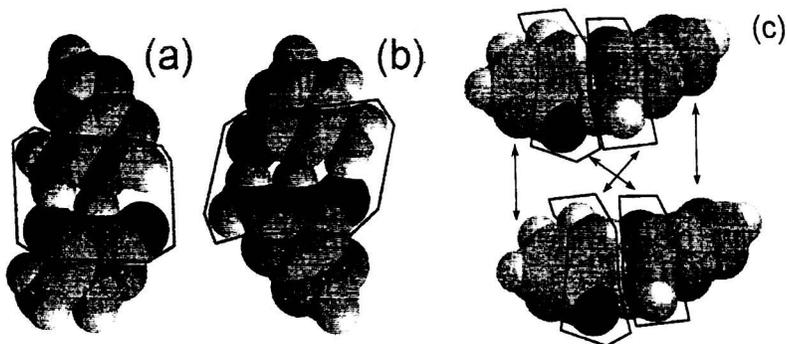


Рис. 2: Вид пары оснований (а) АТ, (b) GC (выделены атомы, который дают наибольший вклад во взаимодействие оснований) и (с) двух соседних пар оснований. Стрелками показаны те части азотистых оснований, взаимодействие которых учитывается: для оснований из разных нитей вклад во взаимодействие дают только атомы, ближайšie к водородной связи, для соседних оснований вдоль одной цепи все атомы учитываются.

Атомы, взаимодействие которых учитывается при вычислении взаимодействия между соседними парами оснований, показаны на рис. 2 (с).

Было показано, что данная модель с хорошей точностью воспроизводит структуру двойной спирали ДНК и тепловые флуктуации около положения равновесия. Расчеты показали, что в равновесном состоянии, соответствующем минимуму энергии, комплексы молекул polyA-polyT и polyG-polyC образуют двухспиральные структуры с углами закрутки $\Delta\varphi_0 = 38.3^\circ$ для polyG-polyC и $\Delta\varphi_0 = 37.90$ для polyA-polyT и шагом спирали 3.34 Å и 3.23 Å соответственно, что с хорошей точностью согласуется с «каноническими» данными для кристаллографических структур ДНК: $\Delta\varphi = 34 - 36^\circ$, и $\Delta z = 3.4$ Å.

В качестве тестовой структуры для детального сравнения предлагаемой модели с полноатомной при комнатной температуре был выбран додекамер Дикерсона $d(\text{CGCGAATTCGCG})_2$. В рамках полноатомной модели был проведен расчет длиной 10 нс при температуре 300К. Аналогичный расчет был проведен и на основе крупнозернистой модели. Обычно для оценки близости структур молекул, полученных в результате численного моделирования при реальной температуре, когда наблюдается интенсивная молекулярная подвижность, используется параметр d , который равен усредненному по всем атомам молекулы среднеквадратичному отклонению (RMSd) частиц от их положения в другой структуре. На рис. 3а показана зависимость от времени среднеквадратичного отклонения от начальной структуры в крупнозернистой модели, которое невелико, что свидетельствует об ее устойчивости во времени. Если сравнить полученную RMSd зависимость для крупнозер-

нистой модели с RMSd для полноатомной (рис. 3б), то видно, что в полноатомной модели наблюдаются несколько большие амплитуды флуктуаций частиц: среднее значение RMSd в первом случае 2 \AA , в то время как для полноатомной модели близко к 3 \AA . Тем не менее, обе структуры весьма близки (рис. 3с).

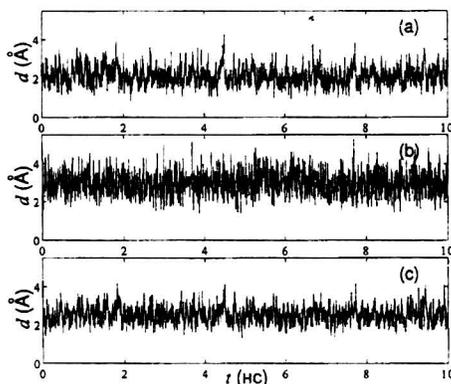


Рис. 3: Зависимость от времени среднеквадратичного отклонения: а) для крупнозернистой модели, от исходной структуры; б) для полноатомной модели, от исходной структуры (отклонение вычислялось только для атомов, на которых сосредоточены зерна крупнозернистой модели); в) для крупнозернистой модели, от кристаллографической структуры В-формы ДНК .

Для более детального сравнения полноатомной и крупнозернистой моделей для них была исследована динамика межатомных расстояний, плоских и торсионных углов. Как показали расчеты, средние значения этих величин были близки, отклонения, как правило, не превышали несколько процентов. Однако для некоторых торсионных углов наблюдались и существенные отличия. Кроме того, флуктуации рассматриваемых величин крупнозернистой модели, как правило, были меньшими, что опять свидетельствует о несколько меньшей внутримолекулярной подвижности по сравнению с полноатомной. Это может быть связано с тем, что в данной модели пренебрегается существованием второго устойчивого положения остова.

Таким образом, на основе детального анализа подвижности сахара-фосфатного остова была построена крупнозернистая модель ДНК, которая воспроизводит структуру двойной спирали ДНК как при нулевой, так и при комнатной температуре. Температурные флуктуации около положения равновесия тоже близки к соответствующим величинам в полноатомной модели. Можно отметить, что общая подвижность в крупнозернистой модели несколько ниже, чем в полноатомной. В качестве возможных причин можно

указать следующие: во-первых, на данном этапе разработки модели не учитывалось существование второго устойчивого положения сахаро-фосфатного остова; во-вторых, оценки для коэффициентов жесткости получались рассмотрением отдельных фрагментов двойной спирали, поэтому при учете всех потенциалов одновременно эффективная жесткость оказывается несколько завышенной.

2.4 Четвертая глава

Эта глава посвящена изучению механических и тепловых свойств молекулы ДНК в рамках предлагаемой крупнозернистой модели.

Вначале рассмотрено растяжение однородной молекулы ДНК при нулевой температуре. Это растяжение реализовано минимизацией энергии однородной спирали при фиксированном значении длины одного звена (т.е. одной пары оснований), которое постепенно увеличивается. Таким образом можно получить зависимость энергии деформации одного звена от его длины: эта зависимость оказалась невыпуклой. Невыпуклость потенциала одного звена приводит к тому, что в некотором диапазоне растяжений достаточно длинной цепочки энергетически более выгодно не однородное растяжение, когда все звенья растянуты одинаково, а двухфазное, когда часть зерен является слабо растянутой, а часть - сильно. При этом удлинение цепочки происходит за счет увеличения доли сильно растянутых звеньев, поэтому в этом диапазоне растяжений сила остается постоянной, образуется так называемое плато на диаграмме сила-растяжение, которое неоднократно наблюдалось в экспериментах.

Следующим шагом в исследовании растяжения было моделирование растяжения при комнатной температуре. Выяснилось, что температурные флуктуации качественно не меняют поведение молекулы при растяжении (рис. 4).

Наличие плато в зависимости напряжения цепи от ее удлинения наблюдалось во многих экспериментах по растяжению макромолекулы ДНК; при этом плато наблюдалось при $1.1 < \Delta z / \Delta z_0 < 1.7$. Взяв $\Delta z_0 = 3.34 \text{ \AA}$, получаем экспериментальную оценку области плато $3.67 \text{ \AA} < \Delta z < 5.68 \text{ \AA}$, что довольно близко к полученным нами в рамках крупнозернистой модели значениям $4.18 \text{ \AA} < \Delta z < 5.86 \text{ \AA}$. Величина силы, при которой происходит переход, $0.2 \text{ эВ/\AA} = 320 \text{ пН}$. Заметим, что эта величина должна зависеть от последовательности пар оснований.

Вычисленная в рамках крупнозернистой модели продольная жесткость молекулы ДНК вблизи положения равновесия оказалась несколько выше, чем жесткость, измеренная в экспериментах. Это можно объяснить тем, что, во-первых, в экспериментальных работах исследовалось растяжение довольно длинных фрагментов ДНК - порядка 36000 пар оснований, среди которых

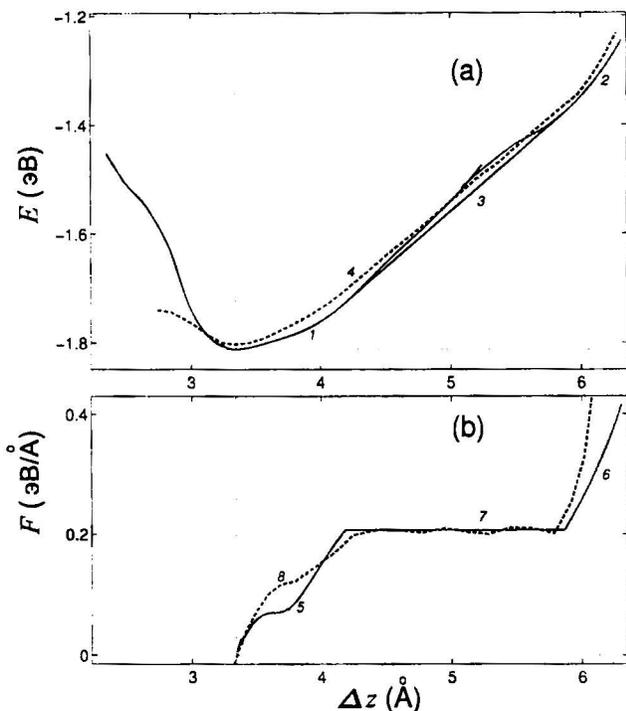


Рис. 4: Зависимость (а) энергии основного состояния E и (б) напряжения цепи $F = dE/d\Delta z$ от продольного шага основного состояния двойной спирали поли-G ДНК. Кривые 1, 2, 3, 5, 6, 7 дают зависимости при $T = 0\text{K}$, а кривые 4 и 8 (пунктирные линии) – зависимости при $T = 300\text{K}$.

встречаются дсфекты и расплавленные участки, наличие которых может существенно уменьшать жесткость. Во-вторых, жесткость молекулы ДНК в рамках крупнозернистой модели вычислялась для идеальной спирали при нулевой температуре, поэтому жесткость, измеренная в ходе эксперимента, может быть меньше. В-третьих, как уже отмечалось, в данной модели по сравнению с полноатомным представлением несколько занижена общая внутримолекулярная подвижность, что в некоторой мере сказалось и на механических свойствах.

Кроме того, были построены дисперсионные кривые, которые позволили вычислить скорость продольного и крутильного звука. Величина крутильного звука $v_t = 850$ м/с, величина продольного звука $v_l = 1790$ м/с. Полученная оценка продольной скорости звука согласуется с экспериментальным значением скорости звука в волокнах ДНК: $v = 1900$ м/с. В работе, посвященной

нахождению крутильной скорости звука, приводится оценка этой скорости звука $v_t = 600$ м/с. Отличие на 20% полученного нами значения $v_t = 850$ м/с от экспериментальных оценок представляется вполне допустимым.

При использовании двойной спирали ДНК в некоторых областях нанотехнологии становятся важны ее тепловые свойства, такие как теплопроводность и теплоемкость. Для численного моделирования теплопереноса вдоль двойной спирали ДНК рассматривалась цепочка фиксированной длины с концами, помещенными в два отдельных термостата с различными температурами. Чтобы посчитать коэффициент теплопроводности, необходимо численно посчитать тепловой поток через каждое звено двойной спирали. Для локального продольного теплового потока была получена следующая формула:

$$j_n = (P_{1,n}, \dot{\mathbf{u}}_{n-1}) - (P_{3,n-1}, \dot{\mathbf{u}}_n), \quad (11)$$

где \mathbf{u}_n - набор координат зерен n -ого звена, $P(\mathbf{u}_{n-1}, \mathbf{u}_n, \mathbf{u}_{n+1})$ - потенциальная энергия взаимодействия n -ого звена с соседними. $P_{j,n} = P_j(\mathbf{u}_{n-1}, \mathbf{u}_n, \mathbf{u}_{n-1})$, $j = 1, 2, 3$. Для прямого численного моделирования теплопереноса вдоль двойной спирали рассматривалась конечная двойная спираль длины $N\Delta_z$ с фиксированными продольными смещениями конечных фосфорных групп. Поместим первые N_+ = 20 звеньев в термостат температуры $T_+ = 310$ К, а последние $N_- = 20$ звеньев - в термостат температуры $T_- = 290$ К. После некоторого времени интегрирования t_0 , величина которого зависит от длины цепи, в спирали образуется температурный градиент и постоянный поток энергии. В установившемся режиме тепловой поток через каждое поперечное сечение спирали в ее центральной части должен быть тем же самым, т.е. $J_n \equiv J$, для $n = N_- - 1, \dots, N - N_-$. В центральной части цепи образуется линейный градиент распределения температуры, поэтому можно определить коэффициент теплопроводности как

$$\kappa(N - N_+ - N_-) = \frac{(N - N_+ - N_- - 1)J}{(T_{N_+1} - T_{N-N_-})S}, \quad (12)$$

где $S = \pi R^2$ - площадь поперечного сечения двойной спирали, $R = 8 \text{ \AA}$ - радиус спирали по атомам фосфора. При таком подходе вычисление теплопроводности сводится к нахождению предельного значения

$$\kappa = \lim_{N \rightarrow \infty} \kappa(N).$$

Численное моделирование теплопереноса показало, что при отсутствии дальнедействующих взаимодействий при $N = 60$ ($N - N_+ - N_- = 20$) коэффициент теплопроводности $\kappa = 0.26$ Вт/мК, при $N = 80$ ($N - N_+ - N_- = 40$) $\kappa = 0.29$ Вт/мК, при $N = 120$ ($N - N_+ - N_- = 80$) $\kappa = 0.27$ Вт/мК, а при $N = 200$ ($N - N_+ - N_- = 20$) $\kappa = 0.28$ Вт/мК. Те же самые значения

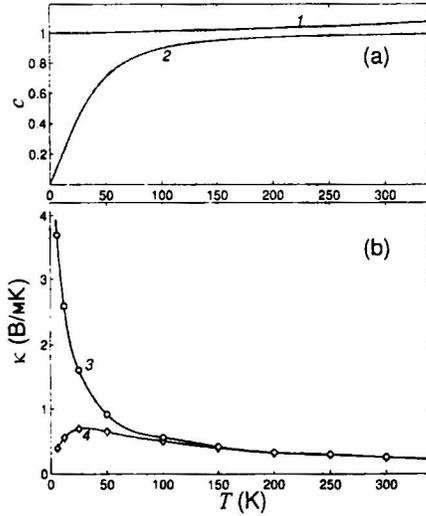


Рис. 5: (а) Зависимость безразмерной теплоемкости $c(T)$ и $c_q(T)$ от температуры (кривые 1 и 2, соответственно); (б) теплопроводность $\kappa(T)$ и $\kappa_q(T)$ (кривые 3 и 4, соответственно) двойной спирали ДНК. Зависимости $c(T)$ и $\kappa(T)$ были получены в рамках классической молекулярно-динамической модели, в то время как $c_q(T)$ и $\kappa_q(T)$ были вычислены в рамках полуклассического подхода.

получаются и при учете дальнедействующих взаимодействий, отсюда можно заключить, что вклад этих взаимодействий в теплоперенос пренебрежимо мал.

Кроме того, были вычислены температурные зависимости теплоемкости и теплопроводности (см. рис. 5). Эти вычисления показывают, что теплоперенос в ДНК появляется в основном благодаря распространению низкочастотных фононов (с частотами $\omega < 175 \text{ см}^{-1}$), т.е. мягких низкочастотных волн. Такие колебания существенно связаны с деформацией ориентационных углов.

Таким образом, двойная спираль однородной поли-Г ДНК имеют конечную теплопроводность $\kappa = 0.3 \text{ Вт/мК}$, которая не зависит от длины образца. Этот факт четко отличает двойную спираль ДНК от существенно жестких углеродных нанотрубок и нанолент. Отметим, что двойная спираль с неоднородной (произвольной) последовательностью оснований будет иметь меньшее значение коэффициента теплопроводности, так как наличие неоднородностей приводит к дополнительному рассеянию на них фононов. Поэтому двойная спираль молекулы ДНК с любой последовательностью оснований будет иметь

теплопроводность $\kappa \leq 0.3$ Вт/мК, более чем в 2 раза меньшую, чем теплопроводность воды 0.6 Вт/мК, т.е. макромолекула ДНК по отношению к окружающему ее раствору является теплоизолятором.

Выводы

1. Получено аналитическое выражение для взаимодействия зарядов внутри слабодеформированной сферы и итерационная схема решения электростатической задачи, которая позволяет получить точное решение. Полученные выражения могут использоваться при моделировании заряженных биомолекул для более точного по сравнению с существующими методами вычисления электростатической энергии.

2. Проведен подробный анализ подвижности сахаро-фосфатного остова молекулы ДНК в рамках полноатомной модели, который позволил получить дополнительные данные о структуре и динамике двойной спирали ДНК. В частности, был найден набор геометрических параметров, изменение которых коррелирует с переключением рибозного кольца.

3. Предложена новая крупнозернистая модель молекулы ДНК. Сравнение результатов моделирования с полноатомным подходом и экспериментальными данными показало, что она с хорошей точностью воспроизводит двухспиральную структуру ДНК и ее подвижность при низкой и комнатной температурах. Вычисленные в рамках модели продольная и крутильная жесткости и скорости звука находятся в разумном согласии с экспериментом. Кроме того, данная модель является достаточно эффективной с вычислительной точки зрения. Таким образом, предлагаемая крупнозернистая модель может быть использована для анализа динамики протяженных (порядка 1000 пар оснований) фрагментов ДНК. Данная модель реализована в виде компьютерной программы, опубликованной в свободном доступе сети Интернет (<http://people.cs.vt.edu/onufriev/~software~onufriev/software>).

4. Предложено новое объяснение для структурного перехода, наблюдающегося в экспериментах по растяжению одичных полимерных молекул. Численные расчеты с использованием крупнозернистой модели показали, что именно такой механизм реализуется при растяжении молекулы ДНК.

5. Моделирование теплопереноса вдоль двойной спирали показало, что молекула ДНК имеет конечную теплопроводность, которая не зависит от ее длины. Впервые была получена оценка величины коэффициента теплопроводности: $\kappa = 0.3$ Вт/мК, которая оказалась примерно в 2 раза меньше теплопроводности воды. Полученный характер зависимости теплоемкости и теплопроводности от температуры показывает, что теплоперенос в ДНК появляется в основном благодаря распространению низкочастотных фононов (с частотами $\omega < 175$ см⁻¹), т.е. мягких низкочастотных волн.

Список публикаций автора по теме диссертации

Статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК:

1. В.Л. Голо, Е.И.Кац, И.П.Кикоть "Влияние дипольных сил на структуру жидкокристаллических фаз ДНК". - Письма в ЖЭТФ 2006, т. 84, вып. 5, стр. 334-338.

2. И. П. Кикоть, А. В. Савин, Е. А. Зубова, М. А. Мазо, Е. Б. Гусарова, Л. И. Маневич, А. В. Онуфриев. Новая крупнозернистая модель ДНК. - Биофизика 2011, т. 56, No. 3, стр. 396-402.

3. Alexander V. Savin, Mikhail A. Mazo, Irina P. Kikot, Leonid I. Manevitch, and Alexey V. Onufriev. Heat conductivity of the DNA double helix. - Phys. Rev. B 2011, v. 83, 245406.

Прочие публикации:

4. Е.А. Зубова, М.А. Мазо, А.В. Савин, И.П. Кикоть, Н.А. Ковалева, Л.И. Маневич, А.В. Онуфриев «Крупнозернистая модель для анализа структурных переходов в молекуле ДНК» Сборник статей XVI Всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем» Яльчик-2009, Часть 3, стр. 19.

5. Е.А. Зубова, М.А. Мазо, Н.А. Ковалева, И.П. Кикоть, А.В. Онуфриев, Л.И. Маневич «Крупнозернистая модель ДНК: новая методика построения». Наноструктуры: математическая физика и моделирование 2010, т. 2(1), стр. 97.

6. И.П.Кикоть, А.В.Савин. Моделирование растяжения молекулы ДНК в рамках крупнозернистой модели. Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, 2011, No 4 (2), стр. 454–456.

7. И.П. Кикоть «Подвижность остова ДНК», Материалы докладов XVI Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» [электронный ресурс] М., Издательство МГУ, 2009.[Адрес ресурса в сети интернет <http://www.lomoncosov-msu.ru/2009/>]

8. Кикоть И.П., Зубова Е.А., Мазо М.А., Савин А.В., Ковалева Н.А., Гусарова Е.Б., Маневич Л.И., Онуфриев А.В. Модификация новой крупнозернистой модели ДНК. Сборник трудов XI Научной конференции отдела полимеров и композиционных материалов Института химической физики им. Н.Н.Семенова РАН. Москва, 2010. стр. 35-37.

9.Кикоть И.П., Савин А.В. Растяжение одиночной молекулы ДНК. Сборник трудов XII Научной конференции отдела полимеров и композиционных материалов Института химической физики им. Н.Н.Семенова РАН. Москва, 2011. стр. 31-34.

10. I.P.Kikot, E.A.Zubova, M.A.Mazo, N.A.Kovaleva, L.I.Manevitch. About constructing the new coarse-grained DNA model. Proceedings of XXXVIII Summer School - Conference "Advanced Problems in Mechanics July 1-5, 2010, St. Petersburg, Russia, p.299.

11. Е.А. Зубова, М.А. Мазо, А.В. Савин, И.П. Кикоть, Н.А. Ковалева, Е.Б.

Гусарова, Л.И. Маневич, А.В. Онуфриев «Модификация новой крупнозернистой модели ДНК». сборник трудов конференции «Полимеры-2010», Москва: ИХФ РАН, 2010, стр. 35-37.

12. И.П.Кикоть, Е.А.Зубова, М.А.Мазо, Л.И.Маневич «Анализ подвижности остова молекулы ДНК», сборник тезисов конференции «Полимеры-2009», стр. 45-47.

13. Е.А. Зубова, М.А. Мазо, А.В. Савин, И.П. Кикоть, Н.А. Ковалева, Л.И. Маневич, А.В. Онуфриев «К построению крупнозернистой модели ДНК», сборник тезисов конференции «Полимеры-2009», стр. 38-40.

14. E. Zubova, M. Mazo, A. Savin, I. Kikot, N. Kovaleva, E. Gusarova, L. Manevitch, A. Onufriev «DNA intramolecular mobility as basis for constructing new coarse-grained model». Book of abstracts of XXXVII Summer School-Conference "Advanced Problems in Mechanics" 30 June-5 July, 2009, St. Petersburg, Russia, p.90.

15. Е.А. Зубова, М.А. Мазо, А.В. Савин, И.П. Кикоть, Н.А. Ковалева, Е.Б. Гусарова, Л.И. Маневич, А.В. Онуфриев «Новая крупнозернистая модель ДНК». Тезисы Первой российской конференции «Проблемы механики и акустики сред с микро- и наноструктурой: наномех-2009» Н.-Новгород, 21-23 сентября 2009 г.

16. Зубова Е.А., Мазо М.А. Савин А.В. Кикоть И.П. Ковалева Н.А. Гусарова Е.Б. Маневич Л.И. Онуфриев А.В. «Крупнозернистая модель ДНК». Тезисы II Всероссийской конференции ММПСН-2009. «Многомасштабное моделирование процессов и структур в нанотехнологиях». Москва, МИФИ, 27-29 мая 2009 г., 250-251.

17. I. Kikot, E. Zubova, M. Mazo, N. Kovaleva, L. Manevitch, A. Onufriev. New coarse-grained DNA model for analysis of mechanical properties. Macro2010: 43rd IUPAC World Polymer Congress Polymer Science in the Service of Society. Glasgow. UK, 11-16 July 2010, H26-P26.

18. I.Kikot, E.Zubova, M. Mazo, A. Savin, N. Kovaleva, L.Manevitch, A. Onufriev. New coarse-grain model for analysis of localized nonlinear excitations in DNA. International Workshop «Theory and Computer Simulation of Polymers: New Developments» (May 31 – June 6, 2010, Moscow, Russia), p. 72.

19. Кикоть И.П., Зубова Е.А., Мазо М.А., Савин А.В., Ковалева Н.А., Гусарова Е.Б., Маневич Л.И., Онуфриев А.В. Анализ нелинейных возбуждений на основе новой крупнозернистой модели ДНК. Пятая Всероссийская Каргинская Конференция "Полимеры - 2010 Москва, 21 июня – 25 июня 2010 г., стендовый доклад, электронный носитель (тезисы) http://www.kargin.msu.ru/-zip/C5/s/490_1.pdf

20. И.П. Кикоть, М.А. Мазо, А.В. Савин, Е.Б. Гусарова, Л.И. Маневич, А.В. Онуфриев. Анализ температуры плавления новой крупно- зернистой модели ДНК. XV Симпозиум по межмолекулярному взаимодействию и конформациям молекул 14-18 июня 2010 года, Петрозаводск. Тезисы докладов, с. 51

(Институт биологии Карельского научного центра РАН)

21. Кикоть И.П., Мазо М.А., Савин А.В. Изучение механических свойств ДНК с помощью крупнозернистой модели. Тезисы XVIII конференции «Математика. Компьютер. Образование», 24-29 января 2011 года, Пущино. стр. 69.

Подписано в печать: 09.11.2011

Заказ № 6222 Тираж - 70 экз.

Печать трафаретная.

Типография «11-й ФОРМАТ»

ИНН 7726330900

115230, Москва, Варшавское ш., 36

(499) 788-78-56

www.autoreferat.ru