

Streszczenie

Tytuł pracy doktorskiej: *Badanie oddziaływania niekanonicznych form telomerowych fragmentów DNA z nanorurkami węglowymi przy zastosowaniu metod dynamiki molekularnej*

Autor: Patrycja Obara

Niniejsza praca przedstawia wyniki teoretycznych badań, opartych na symulacjach dynamiką molekularną, układów złożonych z telomerowych fragmentów nici DNA, tworzących niekanoniczne formy, tj. i-motif i G-quadrupleks, oraz z jednościennych nanorurek węglowych. Wykonane badania miały na celu wyjaśnienie jak oddziaływanie wymienionych niekanonicznych struktur DNA z nanorurkami węglowymi może wpływać na stabilność struktury przestrzennej i-motifu, której formowanie obserwuje się *in vitro* w pH kwaśnym. Inicjacją do przeprowadzenia poniższych badań były doniesienia literaturowe, sugerujące indukowanie i stabilizację i-motifu również w pH obojętnym dzięki obecności sfunkcjonalizowanych nanorurek węglowych. Stąd też w poniższych badaniach przeanalizowano możliwości formowania i termodynamicznej stabilności i-motifu w sytuacji bezpośredniego oddziaływania z nanorurkami węglowymi o różnych rozmiarach i funkcjonalizacji. I-motif był badany w wersji sprotonowanej odpowiadającej środowisku kwaśnemu oraz w wersji niesprotonowanej czyli odpowiadającej pH neutralnemu. Dodatkowo i-motif badany był w jego najprostszej formie zawierającej 22 zasady, jak również w sytuacji bardziej zbliżonej do naturalnej czyli w obecności dupleksu DNA, w którym wytworzone zostały obie formy niekanoniczne: i-motif oraz G-quadrupleks.

Z wykonanych w zaprezentowanej poniżej pracy obliczeń wynika, że nanorurki węglowe nie zwiększają stabilności i-motifu, gdy nie zawiera on sprotonowanych cytozyn (pH obojętne). Odwrotnie, zaobserwowano nawet szybsze niszczenie struktury i-motif w wyniku jego adsorpcji na powierzchni nanorurki węglowej. Równocześnie i-motif zarówno w stanie sprotonowanym jak i natywnym dość silnie adsorbuje się na powierzchni sfunkcjonalizowanej nanorurki.

Kolejną obserwacją jest to, że odpowiednio sfunkcjonalizowana nanorurka (guaniną) w sposób specyficzny atakuje strukturę telomerowego DNA, tzn. kieruje się swoim czołem w miejsce tworzenia się G-quadrupleksu i i-motifu. Natomiast inne grupy funkcyjne powodują, że sfunkcjonalizowana nanorurka węglowa przemieszcza się

swobodnie bez specyficznej lokalizacji w obrębie niekanonicznych form DNA. Ta obserwacja może być wykorzystana do ukierunkowanego ataku w te fragmenty DNA.

W pracy zbadano również możliwość bezpośredniej protonacji cytozyn przez nanorurki funkcjonalizowane grupami karboksylowymi. Wyniki tych obliczeń, opartych na kwantowochemicznym wyznaczeniu ścieżek reakcji doprowadziły do stwierdzenia, że taki proces nie jest możliwy. Natomiast jest wysoce prawdopodobne, że nanorurki mogą lokalnie obniżać pH przez dysocjację grup karboksylowych i to może prowadzić do protonacji cytozyn.

W przeprowadzonych badaniach wykazano również, że i-motif jest stabilizowany przez obecność G-quadrupleksu w komplementarnej nici DNA w środowisku pH neutralnego, zaś w pH kwaśnym obie struktury niekanoniczne mogą współistnieć.

Uzyskane w pracy wyniki mają duże znaczenie w poszerzeniu wiedzy o właściwościach niekanonicznych form DNA oraz ich interakcji z nanorurkami węglowymi.

Summary

PhD thesis title: Study of the interaction of non-canonical forms of telomeric DNA fragments with carbon nanotubes using molecular dynamics methods

Author: Patrycja Obara

This work presents the results of theoretical research based on molecular dynamics simulations, systems composed of telomeric DNA strands forming non-canonical forms, i.e. i-motif and G-quadruplex, and of single-wall carbon nanotubes. The conducted research was aimed at explaining how the interaction of the above-mentioned non-canonical DNA structures with carbon nanotubes can influence the stability of the i-motif spatial structure, the formation of which is observed *in vitro* at acidic pH. The following research was initiated by literature reports suggesting the induction and stabilization of i-motif even at neutral pH due to the presence of functionalized carbon nanotubes. Hence, in the following studies, the possibilities of forming and thermodynamic stability of the i-motif in the situation of direct interaction with carbon nanotubes of various sizes and functionalization were analyzed. I-motif was tested in the protonated version corresponding to the acidic environment and in the non-protonated version, i.e. corresponding to the neutral pH, in addition, the i-motif was tested in its simplest form containing 22 bases as well as in a situation more similar to the actual one, i.e. in the presence of a DNA duplex in which they were produced both non-canonical forms: i-motif and G-quadruplex.

The calculations made in the work presented below show that carbon nanotubes do not increase the stability of the i-motif when it does not contain protonated cytosines (neutral pH). Conversely, even faster destruction of the i-motif structure was observed as a result of its adsorption on the surface of the carbon nanotube. At the same time, i-motif, both in protonated and native state, adsorbs quite strongly on the surface of the functionalized nanotube.

Another observation is that a properly functionalized nanotube (guanine) specifically attacks the structure of telomeric DNA, i.e. it directs its tip towards the point of formation of G-quadruplex and i-motif within the duplex. On the other hand, other functional groups cause the functionalized carbon nanotube to move freely without specific localization within the non-canonical forms of DNA. This observation can be used to target these DNA fragments by functionalized carbon nanotubes.

The study also investigated the possibility of direct protonation of cytosines by nanotubes functionalized with carboxyl groups. The results of these calculations based on quantum chemical determination of reaction pathway led to the conclusion that such a process is not possible. However, it is highly likely that nanotubes can locally lower the pH by dissociating carboxyl groups and this may lead to protonation of cytosines.

The conducted studies also showed that i-motif is stabilized by the presence of G-quadruplex in a complementary DNA strand in a neutral pH environment, and both non-canonical structures can coexist in acidic pH.

The results obtained in the study are of great importance in expanding the knowledge about the properties of non-canonical forms of DNA and their interaction with carbon nanotubes.