

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОРОТКИХ ФРАГМЕНТОВ ДНК ПРИ ДЕЙСТВИИ ПЛОТНОИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

© 2024 г. Ю.А. Эйдельман*, **, И.В. Сальников*, С.Г. Андреев*, **, #

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина, 4, Москва, 119334, Россия

**Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Каширское шоссе, 31, Москва, 115409, Россия

#E-mail: andreev_sg@mail.ru

Поступила в редакцию 07.12.2023 г.

После доработки 07.12.2023 г.

Принята к публикации 20.12.2023 г.

Методами компьютерного моделирования исследовали образование коротких фрагментов ДНК длиной до 3 тысяч пар нуклеотидов при действии на хроматин ионов азота (линейная передача энергии, ЛПЭ 97 кэВ/мкм) и железа (190 кэВ/мкм). Облучение заряженными частицами фибрилл хроматина в виде соленидов с различными параметрами (количество нуклеосом на виток соленида, расстояние между витками, диаметр фибриллы) моделировалось методом Монте-Карло, исследовалось влияние структуры фибриллы и линейной передачи энергии на вид распределений длин фрагментов. Показано, что для всех изученных структур хроматина и линейной передачи энергии наибольшие частоты фрагментов наблюдаются в области ~100 п.н., соответствующей образованию разрывов ДНК в двух соседних витках спирали на нуклеосоме. От степени компактности структуры фибриллы зависит наличие и высота пика в области ~1000 п.н., соответствующего образованию разрывов ДНК в двух соседних витках соленида. Положение этого пика не зависит от линейной передачи энергии. Предположение о популяции фибрилл хроматина с различной структурой в облучаемой клетке позволяет количественно описать экспериментальные распределения длин радиационно-индуцированных фрагментов ДНК.

Компьютерное моделирование, метод Монте-Карло, заряженные частицы, Geant4-DNA, структура трека, повреждения ДНК, двунитевые разрывы ДНК, структура хроматина.

DOI: 10.31857/S0006302924020035, EDN: OVSJGD

Понимание количественных закономерностей и механизмов действия ионизирующего излучения на различных уровнях организации – субклеточном, клеточном, тканевом – является фундаментальной проблемой радиобиологии. Теоретические исследования, основанные на биофизических и компьютерных методах моделирования механизмов повреждений ДНК в клетке, интенсивно развиваются и приобретают роль количественного инструмента в фундаментальных и прикладных проектах [1–14]. Появление микродозиметрии как области знаний на стыке радиационной биофизики и радиобиологии привело к более глубокому изучению физико-химических процессов на молекулярном и субклеточном уровнях. На смену идеи чувствительного объема пришла концепция чувствительных мишеней сложной геометрии, отражающих реальные мишени действия радиации в клетке.

Первые работы по введению трехмерных моделей структуры хроматина в микродозиметрические исследования [1–8, 15, 16] показали плодотворность такого подхода.

Современные теоретические методы характеризуются детальным учетом физической, физико-химической и химической стадий радиобиологических процессов, а также сложными моделями клеточных структур. В работе [13] проведено моделирование повреждений ДНК и хроматина с учетом прямого, квазипрямого и косвенного действия радиации. При сравнении нескольких подходов сделан вывод о том, что неопределенности в конечных результатах разных алгоритмов остаются, и они связаны с учетом особенностей процессов превращения поглощенной энергии в повреждения ДНК и хромосом. Для протонов с разной линейной передачей энергии (ЛПЭ) в [14] выполнены расчеты повреждений ДНК и проанализирована роль параметров модели повреждений в предсказании эффективности образования однонитевых и двунитевых

Сокращения: ЛПЭ – линейная передача энергии, RMSD – средноквадратичное отклонение (Root Mean Square Displacement).

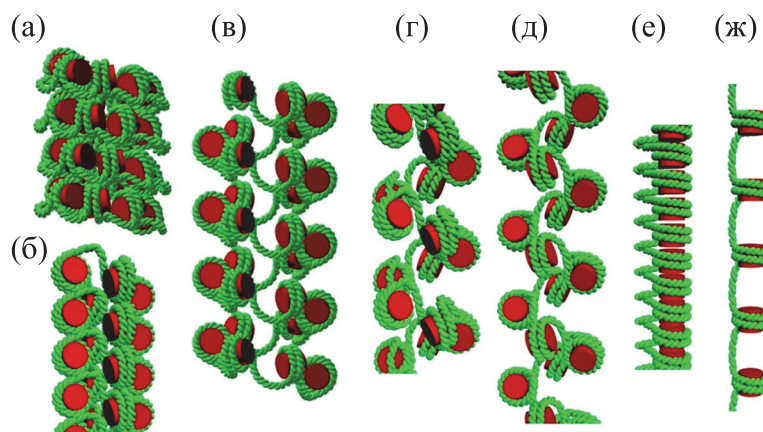


Рис. 1. Компьютерные модели фибрилл хроматина. (а)–(д) – Модели фибриллы хроматина в виде соленоида. Параметры (число нуклеосом на виток соленоида; расстояние между витками, нм; внешний диаметр соленоида, нм): (а) – 7.4-11-32, (б) – 4-11-30, (в) – 6-18-40, (г) – 5-22-30, (д) – 4-22-30. (е), (ж) – модель фибриллы в виде цепи нуклеосом. Параметры (расстояние между центрами соседних нуклеосом, нм): (е) – 7, (ж) – 18.

разрывов ДНК. Выходы двунитевых разрывов ДНК оказались чувствительны к порогу энергии индукции одностебельных разрывов ДНК и к максимальному расстоянию между одностебельными разрывами при классификации двунитевых разрывов. В работе [17] моделировались клеточные эффекты облучения протонами с энергиями 0.5–500 МэВ. Модель структуры ядра клетки была реализована в пакете TOPAS-nBio для получения спектра начальных повреждений ДНК. Кроме молекулярных повреждений, вводилась механистическая модель репарации повреждений ДНК, рассчитывались выходы дицентриков и ацентрических фрагментов. Дозовая зависимость частоты микроядер после облучения протонами хорошо согласовывалась с экспериментальными данными. В работе [11] представлены расчеты выхода двунитевых разрывов ДНК от протонов и α -частиц для модельных геометрий ядер клеток человека, заполненных плотной конденсированной фибриллой хроматина (гетерохроматином); де-конденсированной фибриллой (эухроматином); на 48% гетерохроматином и на 52% – эухроматином. Общий вывод заключался в том, что степень конденсированности хроматина является важным параметром и ее надо учитывать при моделировании индукции и репарации радиационных повреждений ДНК. В работе [12] исследовали влияние различных факторов на выход разрывов цепи ДНК и зависимость индукции разрывов от ЛПЭ излучения. Обнаружено, что вклад косвенного действия уменьшается в зависимости от ЛПЭ, так как при больших ЛПЭ активные радикалы быстро рекомбинируют друг с другом. Вклад прямого действия в выход одностебельных разрывов не зависел от ЛПЭ.

Важной характеристикой, отражающей радиационные повреждения ДНК в клетке, кроме вы-

хода полного числа двунитевых разрывов, являются распределения длин радиационно-индуцированных фрагментов ДНК [18–22]. Они обычно измеряются на масштабе длин от 10–20 тыс. пар нуклеотидов (п.н.) до 6 млн п.н. Теоретические исследования методом Монте-Карло позволили успешно прогнозировать распределения длин фрагментов ДНК и описывать экспериментальные данные в диапазоне (10 тыс. – 6 млн п.н.) [9, 21–24]. Теории, предсказывающие распределения длин коротких фрагментов (0–3 тыс. п.н.) [4–7], качественно согласовывались с экспериментальными данными для ионов железа и азота [25], но не описывали их количественно.

В данной работе роль структуры хроматина в образовании коротких фрагментов ДНК исследовалась биофизическими методами: моделированием структуры треков заряженных частиц (ионы азота и железа) и трехмерной реконструкцией структуры фибриллы. Полученные данные использовались для расчета распределений двунитевых разрывов ДНК в хроматине, подсчитывались частоты образования коротких фрагментов ДНК как функция структуры хроматина и ЛПЭ заряженных частиц. Количественное согласие между расчетными и экспериментальными распределениями достигнуто за счет введения ансамбля облучаемых структур с различной геометрией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Учитывались различные геометрии фибриллы хроматина, модели соленоида с диаметром ~ 30–40 нм и фибриллы ~ 10 нм, представляющей собой линейную цепь нуклеосом, рис. 1. Структура соленоида моделировалась аналогично [3]. Длина нуклеосомальной ДНК равна 146 п.н., длина лин-

керной ДНК, соединяющей две соседние нуклеосомы, равна 48 п.н. Варьируемые параметры структуры: количество нуклеосом на виток соленоиды (от 4 до 7.4), расстояние между центрами соседних витков (от 11 до 22 нм), внешний диаметр соленоиды (от 30 до 40 нм). Структура цепи нуклеосом рассматривалась с теми же параметрами нуклеосомы и линкера, как и в соленоиде, но с разным расстоянием между центрами соседних нуклеосом (от 7 до 18 нм). Содержание ДНК в структурах бралось равным 5.2 тыс. п.н.

Треки ионов в жидкой воде генерировались с помощью пакета Geant4-DNA с опцией G4EmDNAPhysics_option6 [26]. ЛПЭ определяли как тормозную способность, среднюю потерю энергии первичной частицы в слое микронной толщины. Начальную энергию частицы выбирали таким образом, чтобы ЛПЭ совпадала с величиной, указанной в [25]: 97 кэВ/мкм для азота и 190 кэВ/мкм для железа. Для железа получено близкое значение ЛПЭ — 195 кэВ/мкм. Ионы железа с ЛПЭ 440 кэВ/мкм в данной работе не рассматривались.

Моделирование взаимодействия треков заряженных частиц с хроматином включало расчеты методом Монте-Карло событий поглощения энергии в мишени при облучении заряженными частицами при данной дозе и определение вероятности повреждений структуры при заданном энерговыделении. Мишень, соленоид или цепь нуклеосом, ориентированная случайным образом, заключалась в виртуальный цилиндрический объем с радиусом, равным радиусу мишени (максимальное расстояние от центра мишени до ее края) плюс максимальному пробегу δ -электрона для данного трека. Определялось среднее число треков, попадающих в этот объем, как произведение флюенса на площадь мишени, и вероятность попадания различного числа треков при заданном среднем числе.

Частоты радиационных повреждений ДНК в хроматине определялись путем суперпозиции координат энерговыделений в треках с координатами мишени. При расчете частот однонитевых и двунитевых разрывов на уровне ДНК использовалась объемная модель двойной спирали и механизм прямого действия радиации [27, 28]. Нуклеотид представлялся в виде двух полуцилиндров: внешнего (радиус 1.15 нм, высота 0.34 нм) и внутреннего (радиус 0.5 нм). Внешний полуцилиндр соответствует сахаро-фосфатному остову нуклеотида и бороздкам ДНК, внутренний — соответствует азотистому основанию. Предполагалось, что, если во внешнем полуцилиндре энерговыделение превосходило величину порога E_0 , образовывался однонитевой разрыв ДНК. Если два однонитевых разрыва на разных цепях образовывались на расстоянии меньшем или равном 10 п.н.,

образовывался двунитевой разрыв. Кроме прямого действия, в данной работе также учтен вклад радикалов связанной воды в образование однонитевых разрывов. Такой механизм повреждений был назван квазипрямым [29]. В объемной модели ДНК подсчитывалось энерговыделение в слое толщиной 0.16 нм [13] вокруг внешнего полуцилиндра. Средняя поглощенная энергия на одну ионизацию, по нашим оценкам, для используемых треков составила примерно 13 эВ. Если предположить, что ионизация в гидратном слое приводит к разрыву цепи с вероятностью 1/3 [13], то порог квазипрямого действия E_1 здесь оценивался равным 39 эВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

3D-модели структуры хроматина. Учитывая неопределенность знаний о структуре хроматина в клетке, для радиационных расчетов были разработаны компьютерные трехмерные модели фибрилл хроматина с различными параметрами. Для моделей соленоидов варьировались количество нуклеосом на виток, расстояние между витками, диаметр, для линейной цепи нуклеосом — расстояние между центрами соседних нуклеосом (рис. 1). Компьютерные модели фибрилл хроматина использовались для анализа влияния структуры на распределение радиационных повреждений ДНК в хроматине.

Распределение радиационно-индуцированных фрагментов ДНК зависит от структуры хроматина и ЛПЭ. На рис. 2–5 представлены расчетные данные, характеризующие неслучайное распределение длин радиационно-индуцированных фрагментов ДНК при действии ионов азота и железа. Форма распределений различна в зависимости от структуры трека, ЛПЭ иона, структуры фибрилл хроматина.

Для исследования влияния степени компактизации хроматина на частоту образованных фрагментов ДНК были рассчитаны распределения фрагментов, индуцированных ионами железа с ЛПЭ 195 кэВ/мкм в фибриллах с различными параметрами (рис. 2). Структуры соленоидов (4-11-30, 7.4-11-32) характеризуются высокой частотой фрагментов в диапазоне длин выше ~300 п.н., растянутая фибрилла в виде цепи нуклеосом — низкой частотой. Структуры соленоидов с параметрами (4-22-30, 5-22-30, 6-18-40) — промежуточными частотами фрагментов. Пики в районе 750–1500 п.н., наблюдаемые преимущественно для компактных фибрилл, соответствуют пространственной близости локусов ДНК на соседних витках соленоидов и образованием нескольких двунитевых разрывов одним треком частицы. Рост кривой в области малых длин фрагментов ~100 п.н. (врезка на рис. 2) обусловлен

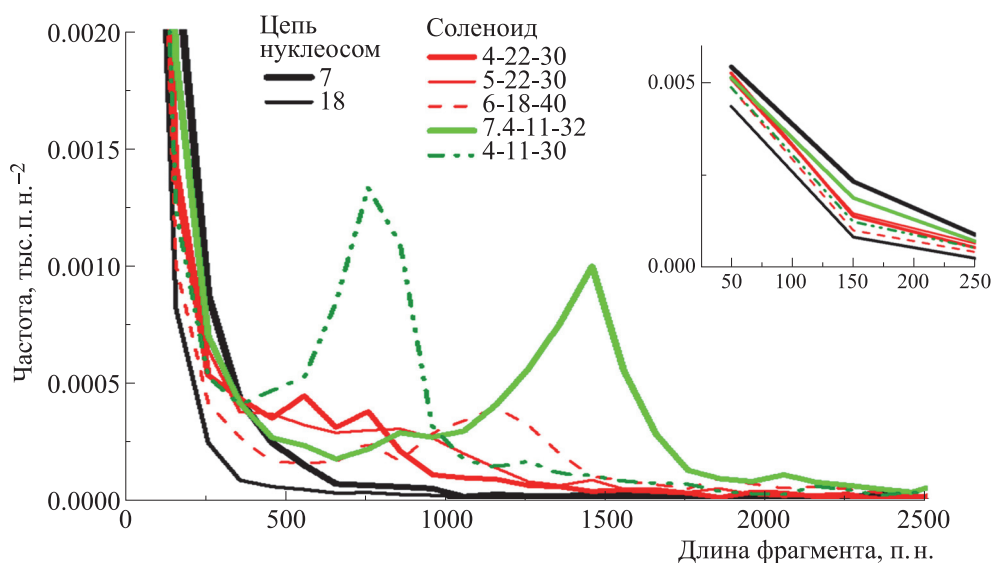


Рис. 2. Зависимость распределения длин фрагментов от структуры фибриллы. Облучение ионами железа, ЛПЭ 195 кэВ/мкм, $D = 250$ Гр. Параметры фибрилл: для цепи нуклеосом – расстояние между центрами соседних нуклеосом, нм; для соленоидальных моделей, слева направо – число нуклеосом на виток соленоида; расстояние между центрами соседних витков, нм; внешний диаметр соленоида, нм. Распределения построены с разрешением 100 п.н., точки по оси X соответствуют центрам диапазонов. $E_0 = 14$ эВ, $E_1 = 39$ эВ. На врезке – область малых длин фрагментов.

близостью нуклеотидов ДНК на соседних витках нуклеосомы и образованием нескольких двунитевых разрывов одним треком частицы.

Для более детального анализа зависимости положения пика в распределении фрагментов от различных факторов мы рассмотрели облучение одной и той же структуры ионами с разной ЛПЭ (97 кэВ/мкм и 195 кэВ/мкм). Кроме того, варьировался параметр модели E_0 , порог энергосвязывания в сахаро-фосфатном остове, при котором

образуется одонитевой разрыв. На рис. 3 представлены расчеты для двух структур фибриллы, где пик (~1000 п.н.) хорошо выражен. Расчеты показывают, что ЛПЭ и E_0 влияют на высоту пика, не изменяя его положения, как для растянутых, так и для компактных фибрилл.

При анализе экспериментальных данных по распределению радиационно-индуцированных коротких фрагментов ДНК [25] необходимо также учесть неопределенность самих данных, свя-

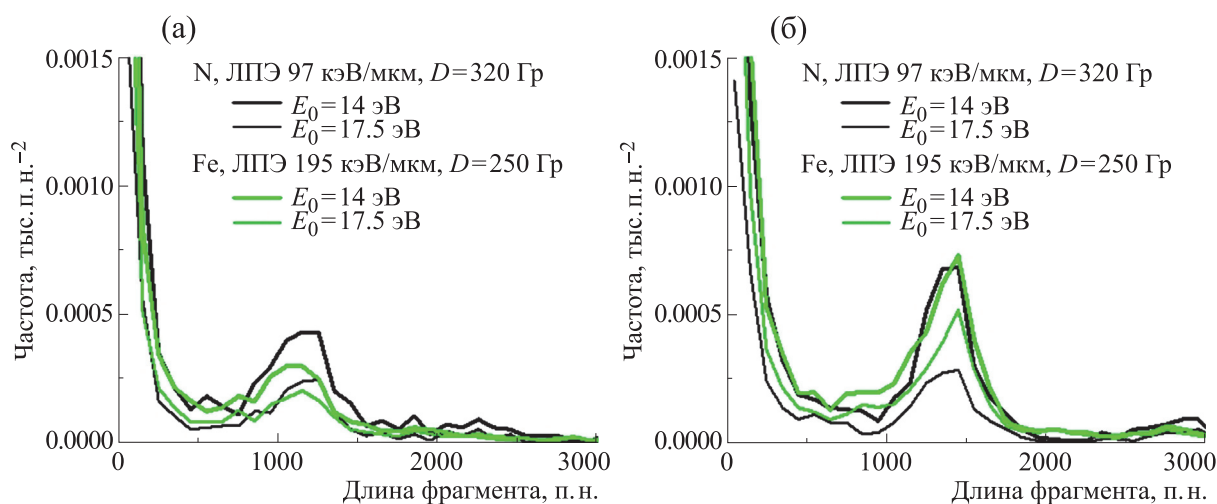


Рис. 3. Независимость положения пика в распределении длин фрагментов для различных структур от ЛПЭ и пороговой энергии E_0 : (а) – фибрилла 6-18-40; (б) – фибрилла 7.4-11-32.

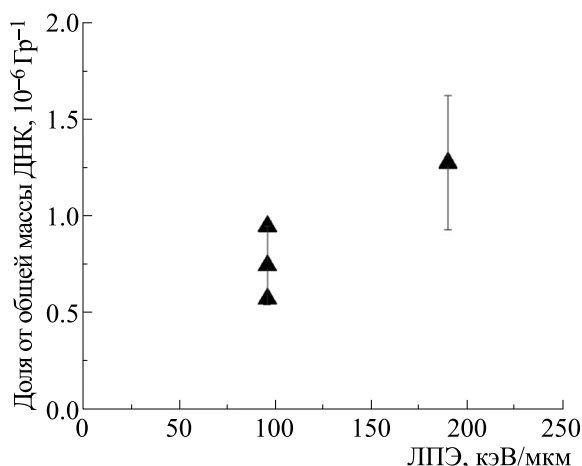


Рис. 4. Учет неопределенностей, связанных с разбросом экспериментальных данных. Точки — данные [25], массовая доля коротких фрагментов (100–2000 п.н.). Для азота с ЛПЭ 97 кэВ/мкм приведены результаты трех повторов, для железа с ЛПЭ 190 кэВ/мкм — один повтор. Погрешности на графике — как оценка неопределенности, пояснение см. в тексте.

занных с разбросом экспериментальных точек. В работе [25] не приводятся ошибки на распределениях фрагментов. Экспериментальный разброс можно оценить по графику, где представлена ЛПЭ-зависимость массовой доли коротких фрагментов в интервале 100 – 2000 п.н. [25] суммарно (рис. 4). В случае ионов азота в [25] приведены результаты для трех повторов, максимальный и минимальный из которых отличаются от среднего

на ~30% (точки на рис. 4). Предполагая, что разброс такого уровня характерен и для ионов железа, мы далее анализируем экспериментальные распределения фрагментов, откладывая везде 30% погрешность (линии на рис. 4).

При сравнении экспериментальных распределений длин фрагментов [25] для ионов с различной ЛПЭ видно, что положение пика на распределениях различно: ~700 п.н. для азота с ЛПЭ 97 кэВ/мкм и ~800–900 п.н. для железа с ЛПЭ 190 и 440 кэВ/мкм. Это противоречит результатам расчетов, показывающих, что для фибрилл хроматина положение пика в области ~1000 п.н. не зависит от ЛПЭ. Возможное объяснение заключается в том, что хроматин даже в пределах одной хромосомы представлен не одной структурой фибриллы, а разными. В клетке всегда имеет место гетерогенность структур, характеризующая вариабельность структурной организации генома на различных уровнях организации, включая уровень фибриллы хроматина [30, 31]. С учетом этого обстоятельства мы предположили, что облучение действует на популяцию фибрилл с различной структурой. Для треков ионов азота (97 кэВ/мкм) и железа (195 кэВ/мкм) были найдены комбинации структур хроматина в пропорциях, оптимизированных с экспериментальными данными по критерию минимизации среднеквадратичного отклонения (RMSD – Root Mean Square Displacement). В табл. 1 приведены комбинации структур с соответствующими параметрами и значением пороговой энергии образования однонитевого разрыва E_0 , дающие разные величины критерия близости с экспериментом RMSD совместно для

Таблица 1. Комбинации структур хроматина в популяциях, соответствующих наилучшему описанию экспериментальных данных для различных ионов и порогов энерговыделения E_0

Тип структуры	Параметры*	$E_0 = 14$ эВ		$E_0 = 15.5$ эВ		$E_0 = 17.5$ эВ	
		N, 97 кэВ/мкм	Fe, 195 кэВ/мкм	N, 97 кэВ/мкм	Fe, 195 кэВ/мкм	N, 97 кэВ/мкм	Fe, 195 кэВ/мкм
Цепь нуклеосом	7	0.20	0.66	0.07	0.58	0.01	0.42
Соленоид	4-11-30	0	0.06	0	0.10	0	0.12
	4-22-30	0.77	0.01	0.85	0.01	0.24	0.01
	5-22-30	0.01	0.01	0.04	0.01	0.65	0.07
	6-18-40	0.01	0.22	0.01	0.22	0.05	0.27
	7.4-11-32	0.01	0.04	0.03	0.08	0.05	0.11
RMSD		6.33e–5	4.82e–5	8.20e–5	4.24e–5	1.22e–4	3.99e–5
RMSD по двум частицам		5.63e–5		6.53e–5		9.10e–5	

Примечание. * — Для цепи нуклеосом приведено расстояние (в нм) между центрами соседних нуклеосом. Для соленоидов приведены (слева направо): число нуклеосом на виток соленоида; расстояние между центрами соседних витков, нм; внешний диаметр соленоида, нм.

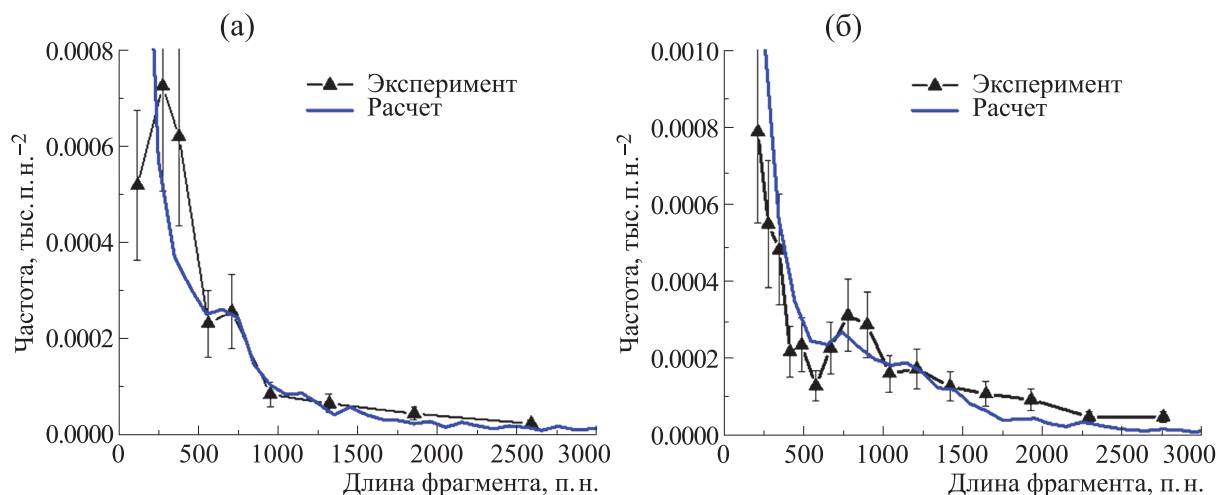


Рис. 5. Предположение о популяции фибрилл хроматина с различной структурой объясняет наблюдаемые в эксперименте распределения радиационно-индуцированных длин фрагментов: (а) — азот, ЛПЭ 97 кэВ/мкм, $D = 320$ Гр; (б) — железо, ЛПЭ 195 кэВ/мкм, $D = 250$ Гр. Расчетные результаты приведены для порога энергии $E_0 = 14$ эВ. Составы популяций (вклады различных структур фибриллы) приведены в табл. 1. Экспериментальные данные из работы [25].

ионов с разной ЛПЭ. Каждый столбец содержит состав популяции, доли различных структур фибрилл, при которых достигается наилучшее при данном E_0 согласие с экспериментом по критерию минимума RMSD. К примеру, для азота с ЛПЭ 97 кэВ/мкм при $E_0 = 14$ эВ доля цепи нуклеосом составляет 0.20, доля фибриллы 4-22-30 — 0.77 и т.д. В предпоследней строке приведены значения RMSD для данного состава популяции, в последней — значения RMSD для двух типов частиц в совокупности. Жирным шрифтом выделено наименьшее значение RMSD по всем E_0 . Наилучшее согласие достигается при $E_0 = 14$ эВ. Сравнение расчетных и экспериментальных данных приведено на рис. 5.

Данные табл. 1 и рис. 5 показывают, что учет гетерогенности облучаемых структур объясняет экспериментальные распределения длин коротких фрагментов ДНК. В области более 1.5–2 тыс. п.н. расчетные данные идут систематически ниже экспериментальных. Возможная причина расхождения может быть связана с использованием приближений. В расчетах использовались фибриллы конечной массы (~5 тыс. п.н.) и учитывались внутренние фрагменты, чтобы избежать краевых эффектов конечной длины. Для проверки этого предположения в дальнейшем необходимо выполнить расчеты для структур больших размеров.

Роль контроля. При интерпретации экспериментальных данных [25] для ионов азота остается неясной причина снижения частоты самых коротких фрагментов, порядка и менее 100 п.н. [3]. Расчеты для разных структур и треков предсказывают максимум в этой области, связанный с обра-

зованием двух и более двунитевых разрывов в нуклеосоме. Мы предположили, что причина может быть связана с вкладом контроля, т.е. спонтанных двунитевых разрывов или фрагментов, детектируемых в необлученном хроматине. В эксперименте распределение радиационно-индуцированных фрагментов определяется как разность между суммарным распределением фрагментов при облучении и распределением спонтанных фрагментов (контроль) [25] (рис. 6а). Для проверки корректности такого способа учета контроля данные, представленные в виде массы ДНК в слайсах геля (рис. 2 в работе [25]), были пересчитаны в обычный вид распределений по длинам фрагментов, суммарных вместе с контролем и отдельно контрольных (рис. 6б). Рис. 6б показывает, что суммарное распределение фрагментов при облучении, которое включает в себя распределение спонтанных фрагментов, дает, как и ожидалось, максимальную частоту фрагментов при длинах порядка и менее 100 п.н. Поскольку контрольное распределение фрагментов имеет максимум в том же диапазоне (рис. 6б), то вычитание распределения спонтанных фрагментов из суммарного распределения приводит к убыванию частот фрагментов в области малых длин фрагментов, меньших 100 п.н. (рис. 6а,б). Поэтому для случая облучения азотом с ЛПЭ 97 кэВ/мкм теоретическое распределение более адекватно отражает радиационно-индуцированные фрагменты, чем экспериментальная кривая для облучения с вычтенным контролем [25] в области малых длин фрагментов. В экспериментах с ионами железа контроль другой, и такая проблема не возникает.

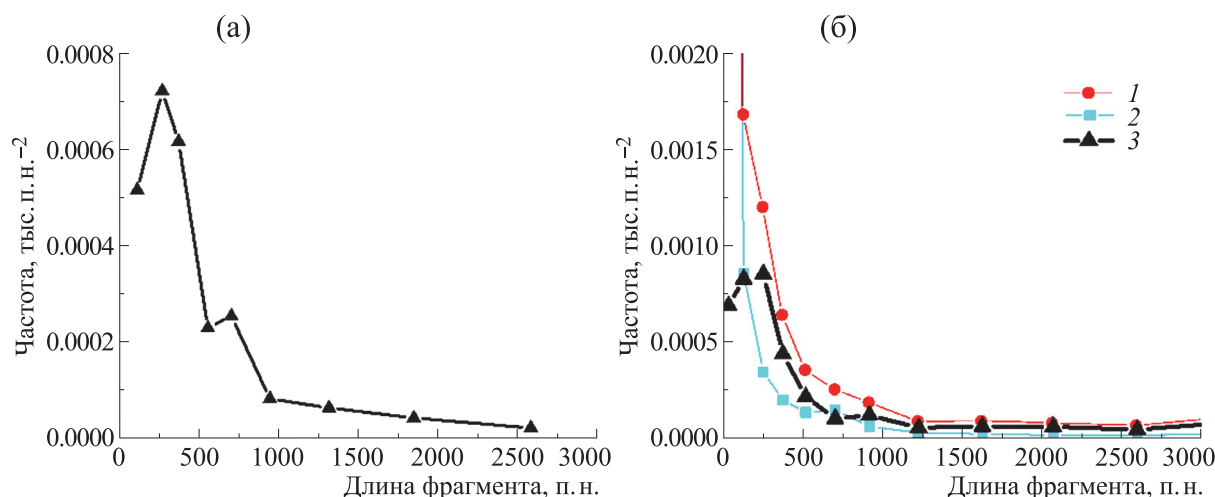


Рис. 6. Влияние спонтанных двуниевых разрывов (контроля) на вид распределения длин радиационно-индуцированных фрагментов ДНК. Ионы азота, ЛПЭ 97 кэВ/мкм, $D = 320$ Гр. Данные из работы [25]. (а) — Распределение длин радиационно-индуцированных фрагментов как разности суммарного и контрольного распределений, согласно рис. 5 из работы [25]. (б) — Пересчет из распределения по массе ДНК в слайсах геля в распределение по длинам фрагментов, проведенный в данной работе, для суммарного распределения длин фрагментов при облучении с учетом уровня спонтанных фрагментов (кривая 1); распределения спонтанных фрагментов ДНК в отсутствие облучения (кривая 2). Кривая 3 — разность двух распределений (кривая 1 минус кривая 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты показывают, что распределения длин коротких фрагментов ДНК (в интервале 0 — 3 тыс. п.н.), индуцированных облучением клеток быстрыми тяжелыми заряженными частицами, не объясняются одной определенной структурой хроматина. Структура хроматина в клетке крайне гетерогенна [31, 32], и в разных компартаментах хромосом участки фибриллярного хроматина могут находиться в различных конформациях. В данной работе исследовалась гипотеза, насколько ансамбль структур может адекватно описывать экспериментальные данные по длинам фрагментов ДНК при облучении клеток ионами азота и железа.

Компьютерное моделирование экспериментов по измерению фрагментов ДНК также показало, что спонтанные разрывы в хроматине могут влиять на форму наблюдаемых распределений длин фрагментов под действием тяжелых ионов. Теоретические исследования фрагментов ДНК, образованных плотноионизирующим излучением, проводились в ряде работ [1–14]. Тем не менее описание частот образования коротких фрагментов от ионов азота и железа [25] не было выполнено. Эксперименты не дают прямой информации о механизмах радиационной фрагментации ДНК и структуре облучаемого хроматина в клетке. Строгая интерпретация данных экспериментов по фрагментам возможна только на основе теоретической модели. В данной работе этот пробел восполнен и дано количественное объяснение данных [25].

БЛАГОДАРНОСТИ

Расчеты были проведены с использованием вычислительных мощностей Межведомственного суперкомпьютерного центра РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chepel V. Yu., Khvostunov I. K., Mirny L. A., Talyzina T. A., and Andreev S. G. Computer model of condensed chromatin fiber for radiation damage simulation. In *Abstr. Book of the Eleventh Symposium on Microdosimetry* (Gatlinburg, Tennessee, USA, 1992), p. 22.
2. Khvostunov I. K., Chepel V. Yu. and Andreev S. G. Calculation of DNA and chromatin breaks for low LET irradiation. In *Abstr. Book of the 24-th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology*, (Erfurt, Germany, 1992), p. 165.
3. Chepel V. Yu., Khvostunov I. K., Mirny L. A., Talyzina T. A., and Andreev S. G. 3-D computer modelling of chromatin fibres for radiation damage

- simulation. *Radiat. Prot. Dosim.*, **52** (1–4), 259–263 (1994). DOI: 10.1093/oxfordjournals.rpd.a082197
4. Khvostunov I. K., Andreev S. G., Pitkevich V. A., and Chepel V. Yu. Novel algorithm for analysis of DNA and chromatin damage induced by ionising radiation with different quality. In *Proc. 10th Int. Congr. Radiation Research*, Ed. by U. Hagen, D. Harder, H. Jung, and C. S. Streffer. (Wurzburg, 1995), v. 2, pp. 254–257.
5. Holley W. R. and Chatterjee A. Theoretical modeling of radiation induced damage to chromatin. In *Proc. 10th Int. Congr. Radiation Research*, Ed. by U. Hagen, D. Harder, H. Jung, and C. S. Streffer. (Wurzburg, 1995), v. 2, pp. 249–253.
6. Holley W. R. and Chatterjee A. Clusters of DNA damage induced by ionizing radiation: Formation of short DNA fragments. I. Theoretical modeling. *Radiat. Res.*, **45** (2), 188–199 (1996). DOI: 10.2307/3579174
7. Андреев С. Г., Хвостунов И. К., Спитковский Д. М. и Талызина Т. А. Биофизическое моделирование радиационных повреждений ДНК и хроматина, индуцированных излучением разного качества. *Радиационная биология. Радиоэкология*, **37** (4), 533 (1997).
8. Rydberg B., Holley W. R., Mian I. S., and Chatterjee A. Chromatin conformation in living cells: support for a zig-zag model of the 30 nm chromatin fiber. *J. Mol. Biol.*, **284** (1), 71–84 (1998). DOI: 10.1006/jmbi.1998.2150
9. Friedland W., Jacob P., Bernhardt P., Paretzke H. G., and Dingfelder M. Simulation of DNA damage after proton irradiation. *Radiat. Res.*, **159** (3), 401–410 (2003). DOI: 10.1667/0033-7587(2003)159[0401:sodap]2.0.co;2
10. Friedland W., Dingfelder M., Kunderát P., and Jakob P. Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.*, **711** (1–2), 28–40 (2011). DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2011.01.003
11. Tang N., Bueno M., Meylan S., Incerti S., Tran H. N., Vaurijoux A., Gruel G., and Villagrasa C. Influence of chromatin compaction on simulated early radiation-induced DNA damage using Geant4-DNA. *Med. Phys.*, **46** (3), 1501 (2019). DOI: 10.1002/mp.13405
12. Shin W., Sakata D., Lampe N., Belov O., Tran N. H., Petrovic I., Ristic-Fira A., Dordevic M., Bernal M. A., Bordage M. C., Francis Z., Kyriakou I., Perrot Y., Sasaki T., Villagrasa C., Guatelli S., Breton V., Emfietzoglou D., and Incerti S. A Geant4-DNA evaluation of radiation-induced DNA damage on a human fibroblast. *Cancers*, **13** (19), 4940 (2021). DOI: 10.3390/cancers13194940
13. Bertolet A., Ramos-Méndez J., McNamara A., Yoo D., Ingram S., Henthorn N., Warmenhoven J.-W., Faddegon B., Merchant M., McMahon S. J., Paganetti H., and Schuemann J. Impact of DNA geometry and scoring on Monte Carlo track-structure simulations of initial radiation-induced damage. *Radiat. Res.*, **198** (3), 207 (2022). DOI: 10.1667/RADE-21-00179.1
14. Zhu K., Wu C., Peng X., Ji X., Luo S., Liu Y., Wang X. Nanoscale calculation of proton-induced DNA damage using a chromatin geometry model with Geant4-DNA. *Int. J. Mol. Sci.*, **23** (11), 6343 (2022). DOI: 10.3390/ijms23116343
15. Khvostunov I. K. and Andreev S. G. Microdosimetric distributions for target volumes of complex topology. In *Microdosimetry: an interdisciplinary approach*, Ed. by D.T. Goodhead, P.O'Neill, and H.G. Menzel (The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1997), pp. 47–50.
16. Andreev S. G., Khvostunov I. K., Spitkovsky D. M., and Chepel V. Yu. Clustering of DNA breaks in chromatin fibre: dependence on radiation quality. In *Microdosimetry: an interdisciplinary approach*, Ed. by D. T. Goodhead, P. O'Neill, and H. G. Menzel (The Royal society of Chemistry, Cambridge, 1997), pp. 133–136.
17. Zhu H., McNamara A. L., McMahon S. J., Ramos-Mendez J., Henthorn N. T., Faddegon B., Held K. D., Perl J., Li J., Paganetti H., and Schuemann J. Cellular response to proton irradiation: A simulation study with TOPAS-nBio. *Radiat. Res.*, **194** (1), 9 (2020). DOI: 10.1667/RR15531.1
18. Newman H. C., Prise K. M., Folkard M., and Michael B. D. DNA double-strand break distributions in X-ray and alpha-particle irradiated V79 cells: evidence for non-random breakage. *Int. J. Radiat. Biol.*, **71** (4), 347 (1997). DOI: 10.1080/095530097143978
19. Stenerlow B., Høglund E., Carlsson J., and Blomquist E. Rejoining of DNA fragments produced by radiations of different linear energy transfer. *Int. J. Radiat. Biol.*, **76** (4), 549 (2000). DOI: 10.1080/095530000138565
20. Belli M., Cherubini R., Dalla Vecchia M., Dini V., Esposito G., Moschini G., Sapora O., Signoretti C., Simone G., Sorrentino E., and Tabocchini M. A. DNA fragmentation in mammalian cells exposed to various light ions. *Adv. Space Res.*, **27** (2), 393 (2001). DOI: 10.1016/s0273-1177(01)00007-2
21. Pinto M., Prise K. M., and Michael B. D. Quantification of radiation induced DNA double-strand breaks in human fibroblasts by PFGE: testing the applicability of random breakage models. *Int. J. Radiat. Biol.*, **78** (5), 375 (2002). DOI: 10.1080/09553000110110941
22. Ponomarev A. L., Cucinotta F. A., Sachs R. K., and Brenner D. J. Monte Carlo predictions of DNA fragment-size distributions for large sizes after HZE particle irradiation. *Phys. Med.*, **17**, 153 (2001).
23. Khvostunov I. K., Andreev S. G., and Yu. A. Eidelman. Biophysical analysis of radiation induced initial DNA fragmentation. *Radiat. Prot. Dosim.*, **99** (1–4), 151 (2002). DOI: 10.1093/oxfordjournals.rpd.a006748
24. Fakir H., Sachs R. K., Stenerlow B., and Hofmann W. Clusters of DNA double-strand breaks induced by different doses of nitrogen ions for various LETs: experimental measurements and theoretical analyses. *Radiat. Res.*, **166** (6), 917 (2006). DOI: 10.1667/RR0639.1
25. Rydberg B. Clusters of DNA damage induced by ionizing radiation: formation of short DNA fragments. II.

- Experimental detection. *Radiat. Res.*, **145** (2), 200 (1996). DOI: 10.2307/3579175
26. Incerti S., Kyriakou I., Bernal M. A., Bordage M. C., Francis Z., Guatelli S., Ivanchenko V., Karamitros M., Lampe N., Lee S. B., Meylan S., Min C. H., Shin W. G., Nieminen P., Sakata D., Tang N., Villagrasa C., Tran H. N., and Brown J. M. C. Geant4-DNA example applications for track structure simulations in liquid water: A report from the Geant4-DNA Project. *Med. Phys.*, e722 (2018). DOI: 10.1002/mp.13048
 27. Эйдельман Ю. А., Сальников И. В. и Андреев С. Г. Анализ неопределенностей расчетов эффективности радиационных повреждений ДНК. *Радиационная биология. Радиоэкология*, **63** (1), 34 (2023). DOI: 10.31857/S086980312301006X
 28. Charlton D. E., Nikjoo H. and Humm J. L. Calculation of initial yields of single- and double-strand breaks in cell nuclei from electrons, protons and alpha particles. *Int. J. Radiat. Biol.*, **56** (1), 1 (1989). DOI: 10.1080/09553008914551141
 29. Becker D. and Sevilla M. D. The chemical consequences of radiation damage to DNA. *Adv. Radiat. Biol.*, **17**, 121 (1993). DOI: 10.1016/B978-0-12-035417-7.50006-4
 30. Risca V. I., Denny S. K., Straight A. F., and Greenleaf W. J. Variable chromatin structure revealed by *in situ* spatially correlated DNA cleavage mapping. *Nature*, **541** (7636), 237 (2017). DOI: 10.1038/nature20781
 31. Finn E. H., Pegoraro G., Brandão H. B., Valton A.-L., Oomen M. E., Dekker J., Mirny L., and Misteli T. Extensive heterogeneity and intrinsic variation in spatial genome organization. *Cell*, **176** (6), 1502.e10 (2019). DOI: 10.1016/j.cell.2019.01.020
 32. Eidelman Y., Salnikov I., Slanina S., and Andreev S.. Chromosome folding promotes intrachromosomal aberrations under radiation- and nuclease-induced DNA breakage. *Int. J. Mol. Sci.*, **22** (22), 12186 (2021). DOI: 10.3390/ijms222212186

Computer Simulation of Short DNA Fragments Induced by HIGH-LET Charged Particles

Y.A. Eidelman*, **, I.V. Salnikov*, and S.G. Andreev*, **

*N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

**National Research Nuclear University MEPhI, Kashirskoye shosse 31, Moscow, 115409 Russia

The formation of short DNA fragments, up to 3 kbp, induced in chromatin by nitrogen (LET 97 keV/mm) and iron (LET 190 keV/mm) ions was studied by computer simulation. Chromatin models with different structure parameters and Monte Carlo track structure simulation were used to assess the impact of chromatin fiber structure and LET on the DNA fragment size distribution. For the structures modeled (different types of solenoids, a chain of nucleosomes), the fragment size distribution had a maximum in the region of ~100 bp corresponding to the formation of DNA breaks in two neighboring turns of the helix on the nucleosome. The calculation predicted the peak in the region of ~1000 bp, corresponding to the formation of DNA breaks in two neighboring turns of the solenoid, which parameters depended on the degree of compactness of the fiber and were independent of LET. The assumption was introduced of the presence of subpopulations of various chromatin structures under irradiation. It allowed to explain the experimentally observed size distributions of the short DNA fragments induced by high-LET charged particles.

Keywords: computer simulation, Monte Carlo technique, charged particles, Geant4-DNA, track structure, DNA damage, double-strand DNA breaks, chromatin structure