

# Связывание производного актиноцина с фрагментами ДНК: моделирование методом Монте Карло

А. В. Шестопалова

Институт радиофизики и электроники им. А. Я. Усикова НАН Украины  
Ул. Акад. Проскуры, 12, Харьков, 61085, Украина

shestop@ire.kharkov.ua

---

*Методом Монте Карло проведено компьютерное моделирование взаимодействия фрагментов ДНК и производного актиноцина (ActII) с учетом водного окружения. Получены низкоэнергетические молекулярные структуры, соответствующие наиболее вероятным типам взаимодействия — связыванию ActII в малом желобке и интеркаляции ActII в GC-сайт с разной стехиометрией комплексов. Показано, что стабильность комплексов обусловлена Ван-дер-Ваальсовыми и электростатическими взаимодействиями, а также взаимодействием с водным окружением, молекулы которого вносят дополнительную стабилизацию за счет образования мостиков между донорско-акцепторными группами фрагментов ДНК и лигандов. Определены возможные размеры мест связывания ActII в малом желобке ДНК, составляющие 3—4 пары нуклеотидов (п. н.) на молекулу лиганда. При интеркаляции молекул ActII в GC-сайт размеры мест связывания очевидно больше 4 п. н. на молекулу лиганда. Полученные результаты согласуются с данными экспериментальных исследований.*

---

*Ключевые слова: фрагменты ДНК, производное актиноцина, комплексообразование, метод Монте Карло, размеры мест связывания, гидратация, межмолекулярные взаимодействия.*

---

**Введение.** При изучении процессов молекулярного узнавания и комплексообразования нуклеиновых кислот (НК) с биологически активными веществами (БАВ) в первую очередь необходимо определить 1) локализацию возможных мест связывания и их размеры; 2) структуры сайтов и энергетических параметров связывания, а также 3) наиболее вероятные молекулярные модели комплексов.

Одним из самых распространенных методов выявления мест связывания лигандов с НК являются спектрофотометрические исследования растворов НК и БАВ в УФ- и видимой областях. Для детального анализа типов и структуры образующихся комплексов получают кривые титрования

(концентрационные зависимости спектров поглощения смесей), отражающие спектральные изменения в каждой исследуемой системе. Такие концентрационные зависимости для смесей НК—БАВ могут быть использованы при вычислении констант и мест связывания [1, 2].

Многие лиганды, взаимодействующие с НК, образуют два основных типа комплексов: связывание в желобках двойной спирали НК и интеркаляция, или встраивание плоских гетероциклических хромофоров между плоскостями соседних пар нуклеотидов НК. Величины мест связывания при интеркаляции, как правило, невелики. Интеркалирующие лиганды могут быть разделены от одной до четырех пар нуклеотидов [3]. При связывании лигандов в бороздках ДНК размеры мест связыва-

ния больше, чем при интеркаляции, и составляют 3—6 пар нуклеотидов (п. н.) и более в зависимости от структуры лиганда [4].

Экспериментальные исследования молекулярных механизмов комплексообразования аналога противоопухолевого антибиотика актиномицина D (актиноцил-бис(2-диметиламинопропил-амин) — ActII с природными ДНК показали возможность образования двух типов комплексов [5, 6]. Первый из них можно интерпретировать как внешнее связывание лиганда в малой или большой бороздках ДНК, а второй — как интеркаляцию.

Спектрофотометрическим исследованием комплексообразования ActII с тремя различными образцами ДНК, отличающимися AT/GC-составом, и последующим численным анализом результатов установлено, что величина места связывания для первого типа комплекса (связывание в желобках) одинакова для всех изученных систем, равна ~3 п. н. на молекулу ActII и практически не зависит от содержания GC-пар [7].

Для второго типа комплексов оптимальные величины мест связывания возрастают с уменьшением содержания GC-пар, тогда как соответствующие константы связывания существенно не изменяются. Авторы полагают, что эти данные свидетельствуют о GC-специфичности связывания ActII и, вероятно, интеркаляции между двумя соседними GC-парами. При анализе результатов также определено, что размер места связывания для этого типа комплекса обратно пропорционален величине, равной вероятности нахождения рядом двух GC-пар, и составляет 3,2 для ДНК<sub>М. lys.</sub> (GC ~76 %), 6 для ДНК<sub>thym.</sub> (GC ~42 %), 12 для ДНК<sub>Cl. perf.</sub> (GC ~28 %). Таким образом, в системах ActII—ДНК присутствуют два типа комплексов, образующихся на разных сайтах и отличающихся величиной мест связывания [7].

Более детальные представления о вероятных структурах комплексов ActII—ДНК можно получить с помощью компьютерного моделирования, используя в качестве необходимой информации данные рентгеноструктурного анализа структуры комплексов фрагментов ДНК и лигандов и данные спектрофотометрии для конкретной системы ActII—ДНК.

В данной работе приведены результаты компьютерного моделирования комплексов ActII с разными фрагментами ДНК по двум возможным типам связывания. Основные задачи исследования заклю-

чались в построении моделей комплексов с соотношением лиганд:НК 1:1 и 2:1 и оценке размеров мест связывания для двух типов комплексов. С помощью методов Монте Карло, молекулярного докинга и молекулярной динамики нами показана возможность образования стабильных комплексов ActII и нескольких фрагментов ДНК для двух различных типов связывания 1:1 [8—10]. Компьютерное моделирование позволило получить структуры, соответствующие минимуму энергии (или наиболее вероятным равновесным состояниям систем ActII—фрагмент ДНК), и оценить роль водного окружения в процессе комплексообразования.

Материалы и методы. Для выбора оптимальных молекулярных моделей гидратированных комплексов ActII и ДНК методом Монте Карло в работе проведено компьютерное моделирование взаимодействия двух различных фрагментов ДНК и ActII с учетом водного окружения. Вычислены энергетические и структурные характеристики и получены мгновенные конфигурации, необходимые для построения молекулярных моделей и гидратного окружения исследуемых комплексов.

Применение метода Монте Карло для изучения гидратации малых молекул, фрагментов нуклеиновых кислот и их компонентов подробно описано в литературе [11, 12]. В этом исследовании расчеты выполнены в каноническом ( $N, V, T$ ) ансамбле в рамках алгоритма Метрополиса [13]. В каждой системе количество молекул воды составляло 800, температура систем — 298 К.

Для расчета энергий взаимодействия использовали полуэмпирические атом-атомные потенциальные функции, предложенные Полтевым и соавт. [14, 15]. Полная энергия взаимодействия в системе представляет собой сумму энергий взаимодействия вода—вода, вода—ДНК, вода—лиганд, ДНК—лиганд и лиганд—лиганд. Энергия взаимодействия вода—вода аппроксимируется атом-атомной потенциальной функцией типа 1-6- $\exp$  [14]:

$$U_{ij} = \sum [C_{ij} q_i q_j / r_{ij} - A_{ij} r_{ij}^{-6} + B_{ij} \exp(-D_{ij} r_{ij})]. \quad (1)$$

Параметры этой функции выбраны так, чтобы воспроизводились энергии гексагональной кристаллической решетки льда и силовые постоянные водородных (H) связей льда. Используемая модель молекулы воды и выбранный тип потенциальной функции удовлетворительно воспроизводят термодинамические и структурные параметры жидкой

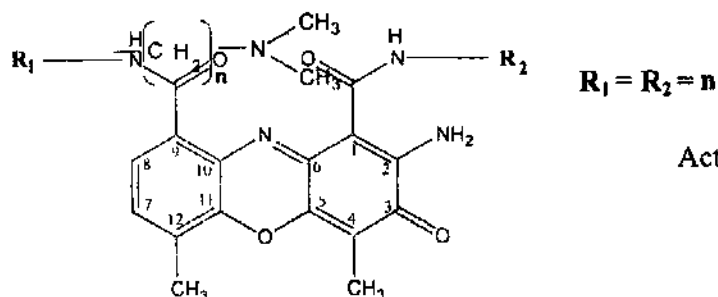
Act II:  $n = 2$ 

Рис. 1. Структурная формула молекулы актиноцил-бис(2-диметиламинопропиламина) — ActII

воды и водных растворов, полученные экспериментально.

Энергии взаимодействий вода—ДНК, вода—лиганд, ДНК—лиганд и лиганд—лиганд аппроксимируются атом-атомными потенциальными функциями типа 1-6-12 [14, 15]:

$$U_{ij} = \sum [C_{ij} q_i q_j / r_{ij} + A_{ij} r_{ij}^{-12} - B_{ij} r_{ij}^{-6}]. \quad (2)$$

Параметры этих потенциальных функций выбраны так, чтобы воспроизводились длины Н-связей между молекулами воды и компонентами НК, а также экспериментально определенные положения молекул воды в кристаллогидратах оснований, нуклеозидов, нуклеотидов и некоторых лигандов.

В качестве граничных условий использовано кластерное приближение [16], при котором системе помещали в сферу с жесткими отражательными стенками так, чтобы центр масс раствора совпадал с центром сферы. Сначала в центре сферы находились лишь молекулы воды с энергетически наиболее выгодной структурой, полученной с помощью предварительно выполненного моделирования кластера из 800 молекул воды. Радиус сферы выбирали равным радиусу сферы, полученному для такой структуры воды, — 24,5 Å. Далее радиус сферы был увеличен на величину, необходимую для молекул воды, вытесняющихся комплексом из водной «капли» при помещении комплекса в центр сферы. В настоящей работе радиус увеличен до 40,5 Å. Число элементарных конфигураций, выполняемых для получения равновесного состояния водного кластера, составляло  $(4-6) \cdot 10^6$ , для расчета энергетических характеристик выполняли еще  $(4-6) \cdot 10^6$  элементарных конфигураций.

Энергетические и структурные характеристики систем, содержащих ActII, фрагменты ДНК и их комплексы в водных кластерах, вычислены по аналогичной схеме. Вначале для получения равновес-

ного состояния выполняли  $32 \cdot 10^6$  элементарных испытаний, затем рассчитывали термодинамические параметры системы на равновесном участке, для чего генерировали еще  $32 \cdot 10^6$  элементарных испытаний. Статистическую ошибку, возникающую из-за ограниченного числа конфигураций, оценивали методом контрольных функций. При этом весь набор элементарных конфигураций делили на конечное число интервалов. Для каждого интервала вычисляли значения термодинамических величин (в данной работе — это полная энергия системы) и рассчитывали среднеквадратичные отклонения, не превышающие  $\pm 0,005$ .

Заряды на атомах фрагментов нуклеиновых кислот взяты из работ [17]. Координаты и заряды на атомах ActII (рис. 1) получены методом *ab initio* HF/3-21G(p) с помощью программы GAMESS из программного пакета GAMESS (US) QC [18] в адаптированной для WINNT версии (Granovsky A. A., [www http://classic.chem.msu.su/gran/gamess/index.html](http://classic.chem.msu.su/gran/gamess/index.html)).

Фрагменты нуклеиновых кислот в растворе при физиологических условиях заряжены отрицательно из-за полной ионизации фосфатных групп. Нейтрализация заряда на фосфатных группах осуществляется за счет противоионов — ионов  $\text{Na}^+$ . В представленных расчетах противоионы, необходимые для нейтрализации фосфатных групп, в явном виде не учтены, но заряды на фосфатных группах рассчитаны так, чтобы сохранить условия электронейтральности. Такое приближение используют при конформационном анализе нуклеиновых кислот и их фрагментов [17] и при изучении гидратации ди- и олигонуклеотидов методом Монте Карло [19].

**Результаты и обсуждение.** В статье рассмотрены два возможных типа комплексов, которые могут образовывать производные актиноцина согласно экспериментальным данным [5—8]. Это встраивание молекул лиганда в малый желобок двойной

спирали и интеркалирование лигандов между плоскостями GC-пар двойной спирали ДНК. В качестве стартовых конфигураций выбраны координаты комплексов, полученные методом рентгеноструктурного анализа 1) фрагмента ДНК 5'-d(CCAACGTTGG)<sub>2</sub> и двух молекул антрамицина, образующих комплекс по типу внешнего связывания в малой бороздке ДНК (NDB индекс: GDJB29, PDB индекс: 274D) [20] и 2) фрагмента ДНК и двух молекул N-цианометил-N-(2-метоксиэтил)-дауномицина, интеркалирующих в GC-сайты фрагмента ДНК 5'-d(CGATCG)<sub>2</sub> (NDB индекс: dd0017-NDB, PDB индекс: 482D) [21]. Конфигурация фрагментов нуклеиновых кислот в процессе расчетов оставалась фиксированной; положение лигандов в комплексах изменялось в рамках алгоритма Метрополиса. Такая процедура аналогична выполнению процедуры жесткого докинга с явным учетом молекул растворителя.

При изучении возможных размеров мест связывания ActII с фрагментами ДНК вначале рассмотрено связывание одной молекулы лиганда в предполагаемом сайте связывания. Для этого молекулу ActII помещали в положение, которое занимала одна из молекул антрамицина (малый желобок фрагмента 5'-d(CCAACGTTGG)<sub>2</sub>) или хромофор одной из молекул N-цианометил-N-(2-метоксиэтил)-дауномицина (интеркалирование в один из GC-сайтов, фрагмент 5'-d(CGATCG)<sub>2</sub>). Такую процедуру выполняли для каждого из двух возможных размещений лиганда обоих комплексов с последующей оптимизацией геометрии комплексов сначала в вакуумном приближении в рамках алгоритма Метрополиса, а затем моделировали оптимизированную структуру в водном кластере.

При исследовании комплексов с соотношением лиганд:ДНК 2:1 обе молекулы ActII помещали в положения, которые занимали молекулы лигандов в кристаллографических комплексах с фрагментами ДНК. Затем оптимизировали геометрию комплексов в вакуумном приближении и полученный комплекс помещали в кластер из 800 молекул воды.

В таблице представлены результаты вычисления энергетических и структурных характеристик всех изученных систем.

Анализ приведенных результатов прежде всего показывает, что образование всех рассмотренных комплексов энергетически выгодно. Это позволяет сделать вывод о возможности формирования комп-

лексов фрагментов ДНК как с одной, так и с двумя молекулами ActII, расположенными в сайтах связывания, имеющих выбранные размеры. Необходимо отметить, что при исследовании связывания метиленового голубого в малом желобке ДНК, выполненного с помощью молекулярного докинга и метода Монте Карло для получения низкоэнергетических конформаций комплексов, вычислены энергии взаимодействия лиганда с фрагментом ДНК, имеющие значения от -200,1 до -177,8 ккал/моль [22]. Эти величины согласуются с вычисленными в нашем моделировании значениями энергий взаимодействия ActII с фрагментами ДНК ( ${}^{++}U_{\text{ДНК-ActII}}$ , таблица) в пересчете на молекулу лиганда. Такое соответствие свидетельствует об адекватности используемого нами метода и параметров моделирования, выбранных для исследования систем фрагмент ДНК—ActII.

Если проанализировать набор мгновенных конфигураций комплексов, полученных на равновесном участке моделирования, то можно оценить размеры места связывания. При связывании в малой бороздке две молекулы ActII занимают порядка трех пар оснований и разделены еще тремя п. н. (рис. 2, а). При этом энергии взаимодействия обеих молекул лиганда с фрагментом отличаются незначительно ( $U_{\text{ДНК-ActII}}$ ,  ${}^{++}U_{\text{ДНК-ActII}}$ , таблица), но величины энергии взаимодействия между молекулами ActII ( $U_{\text{ActII-ActII}}$ , таблица) свидетельствует об отталкивании молекул ActII.

Для комплекса с интеркалированными лигандами можно сделать такие же выводы. Необходимо отметить, что энергия взаимодействия между молекулами ActII ( $U_{\text{ActII-ActII}}$ , таблица) для этого типа комплекса существенно выше, то есть больше отталкивание лигандов. Очевидно, размеры мест связывания, используемые в моделировании, несколько меньше, чем необходимо для уменьшения расталкивания между положительно заряженными боковыми цепями лигандов. Действительно, молекулы интеркалируют в GC-сайты, разделенные 2 п. н., и еще 2 п. н. формируют границы сайтов связывания, то есть размер места связывания для этого типа комплекса можно оценить в 4 п. н. (рис. 3, а). Согласно экспериментальным данным [7], величина места связывания для ActII при интеркаляции составляет от 6 до 12 п. н. для ДНК с высоким содержанием GC-пар. Большие положительные значения энергии  $U_{\text{ActII-ActII}}$  могут также свидетельствовать о некооперативности связывания

Энергетические и структурные характеристики систем, содержащих различные комплексы фрагментов ДНК и лиганда (ActII) в водном кластере

Система	$U_{TOT}/l$	$^+U_{ДНК-ActII}$	$^{++}U_{ДНК-ActII}$	$U_{ActII-ActII}$
5'-d(CCAACGTTGG) <sub>2</sub> + 2ActII (комплекс 2:1, рис. 2, а)	-10,211±0,005	-33,9:-16,7(1)+-17,2(2)	-339,0:-167,0+-172,0	45,2
5'-d(CCAACGTTGG) <sub>2</sub> + ActII (комплекс 1:1, рис. 2, б)	-10,001±0,005	-16,1	-161,0	—
5'-d(CCAACGTTGG) <sub>2</sub> + ActII (комплекс 1:1, рис. 2, в)	-10,015±0,005	-20,4	-204,0	—
5'-d(CGATCG) <sub>2</sub> + 2ActII (комплекс 2:1, рис. 3, а)	-9,804±0,005	-41,5:-20,1(1)+-21,4(2)	-332,0:-160,8+-171,2	72,7
5'-d(CGATCG) <sub>2</sub> + ActII (комплекс 1:1, рис. 3, б)	-9,545±0,005	-20,8	-166,4	—
5'-d(CGATCG) <sub>2</sub> + ActII (комплекс 1:1, рис. 3, в)	-9,620±0,005	-23,1	-184,8	—
ActII	-8,623±0,005	—	—	—
5'-d(CCAACGTTGG) <sub>2</sub>	-9,788±0,005	—	—	—
5'-d(CGATCG) <sub>2</sub>	-9,315±0,005	—	—	—
H <sub>2</sub> O (800)	-8,530±0,005	—	—	—

Система	$U_w-ДНК$	$U_w-ActII$	$U_{WW}/l$	$N_{H_2O}$
5'-d(CCAACGTTGG) <sub>2</sub> + 2ActII (комплекс 2:1, рис. 2, а)	-1869,5	-132,5(1); -107,7(2)	-7,146	156(11)*; 14; (7+7)**
5'-d(CCAACGTTGG) <sub>2</sub> + ActII (комплекс 1:1, рис. 2, б)	-1917,3	-120,7	-7,261	167(5)*; 7
5'-d(CCAACGTTGG) <sub>2</sub> + ActII (комплекс 1:1, рис. 2, в)	-1937,6	-133,4	-7,171	165(4)*; 7
5'-d(CGATCG) <sub>2</sub> + 2ActII (комплекс 2:1, рис. 3, а)	-1259,9	-172,1(1); -152,3(2)	-7,520	101(12)*; 20; (10+10)**
5'-d(CGATCG) <sub>2</sub> + ActII (комплекс 1:1, рис. 3, б)	-1309,9	-160,4	-7,543	111(4)*; 9
5'-d(CGATCG) <sub>2</sub> + ActII (комплекс 1:1, рис. 3, в)	-1248,1	-163,25	-7,591	93(5)*; 8
ActII	—	-194,0	-8,380	8
5'-d(CCAACGTTGG) <sub>2</sub>	-1991,5	—	-7,299	171
5'-d(CGATCG) <sub>2</sub>	-1303,9	—	-7,685	102
H <sub>2</sub> O (800)	—	—	-8,530	—

Примечание. Использованы следующие обозначения:  $U_{TOT}/l$  — полные энергии взаимодействия в системах (на молекулу воды);  $U_{WW}/l$  — энергии взаимодействия вода—вода (на молекулу воды); энергии взаимодействия:  $U_{wДНК}$  — фрагмент ДНК—вода и  $U_{wActII}$  — ActII—вода (на всю систему);  $U_{ДНК-ActII}$  — фрагмент ДНК—ActII (на пару оснований);  $U_{ActII-ActII}$  — ActII—ActII (на молекулу лиганда);  $N_{H_2O}$  — число молекул воды, образующих Н-связи с фрагментами ДНК или ActII; + — на пару оснований; ++ — на молекулу лиганда; \*число молекул воды, занимающих мостиковое положение между группами фрагмента ДНК и ActII; \*\*число молекул воды, образующих водородные связи с каждой из молекул ActII.

ActII с ДНК для комплекса по типу интеркаляции. В экспериментальных исследованиях фактор кооперативности (или параметр, характеризующий взаимодействие лиганд—лиганд) оценивали на основе анализа спектрофотометрических данных, вследствие чего показано, что интеркаляция явля-

ется некооперативным, а связыванием в желобке — слабокооперативным процессами [7, 8].

Рассмотрим особенности различных типов комплексов. Связывание каждой из молекул ActII в малом желобке фрагмента ДНК происходит с отличающимися значениями энергий взаимодействия

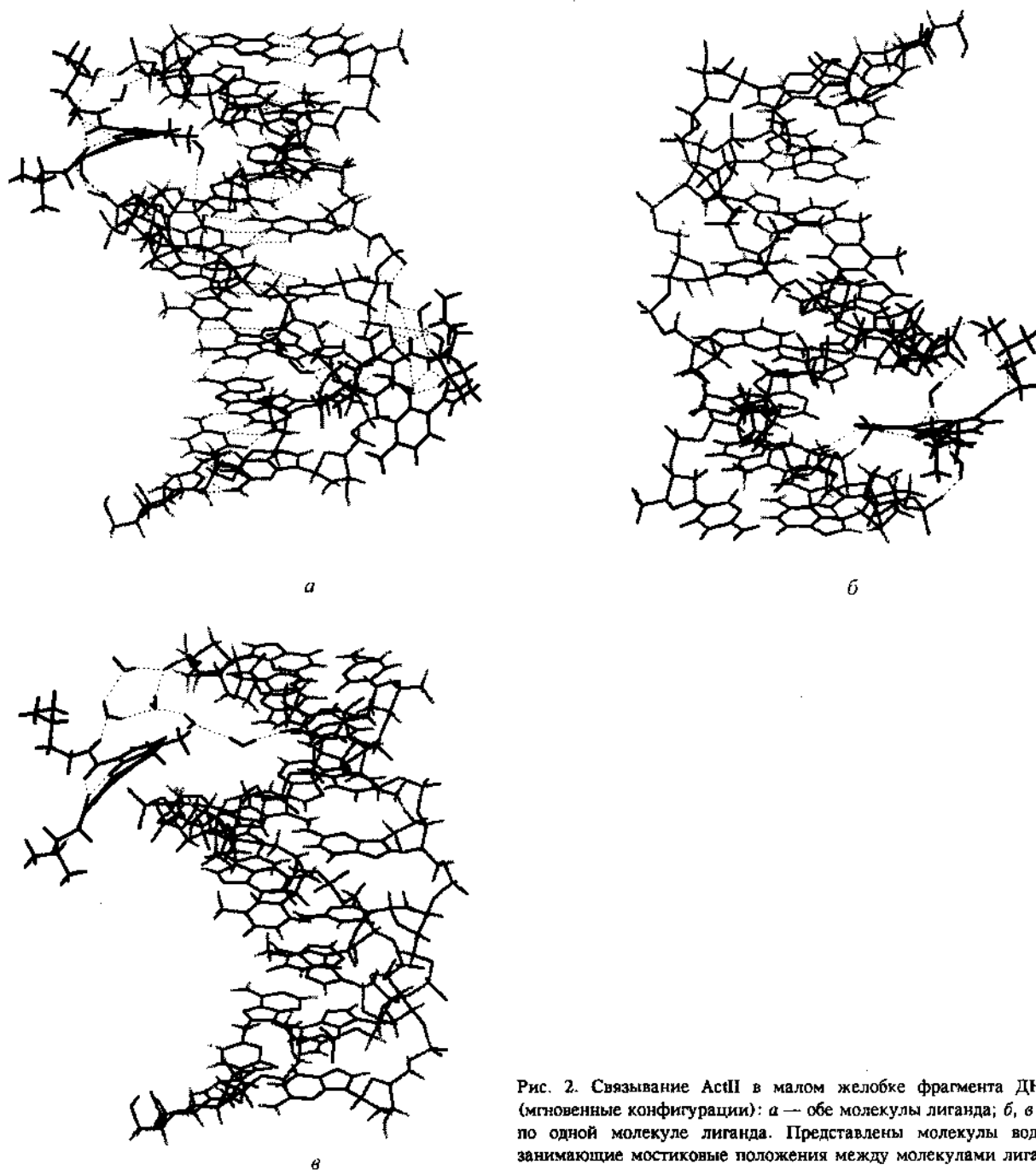


Рис. 2. Связывание ActII в малом желобке фрагмента ДНК (мгновенные конфигурации): а — обе молекулы лиганда; б, в — по одной молекуле лиганда. Представлены молекулы воды, занимающие мостиковые положения между молекулами лиганда и фрагментом ДНК. Водородные связи показаны пунктиром

фрагмент ДНК—лиганд ( $U_{\text{ДНК-ActII}}$ , таблица). Разность составляет приблизительно 4 ккал/моль. При одновременном связывании обеих молекул ActII в желобке энергии взаимодействия каждой из них с фрагментом ДНК отличаются меньше.

Анализ мгновенных конфигураций трех комплексов этого типа связывания позволяет опреде-

лить Н-связи, образующиеся между аминогруппой хромофора лиганда и С=О группой тимина (рис. 2, б). Этот факт может объяснить наблюдаемое различие в значениях  $U_{\text{ДНК-ActII}}$ , приблизительно равное энергии одной Н-связи. При образовании комплекса 2:1 Н-связей между донорно-акцепторными группами фрагмента ДНК и молекул лигандов не

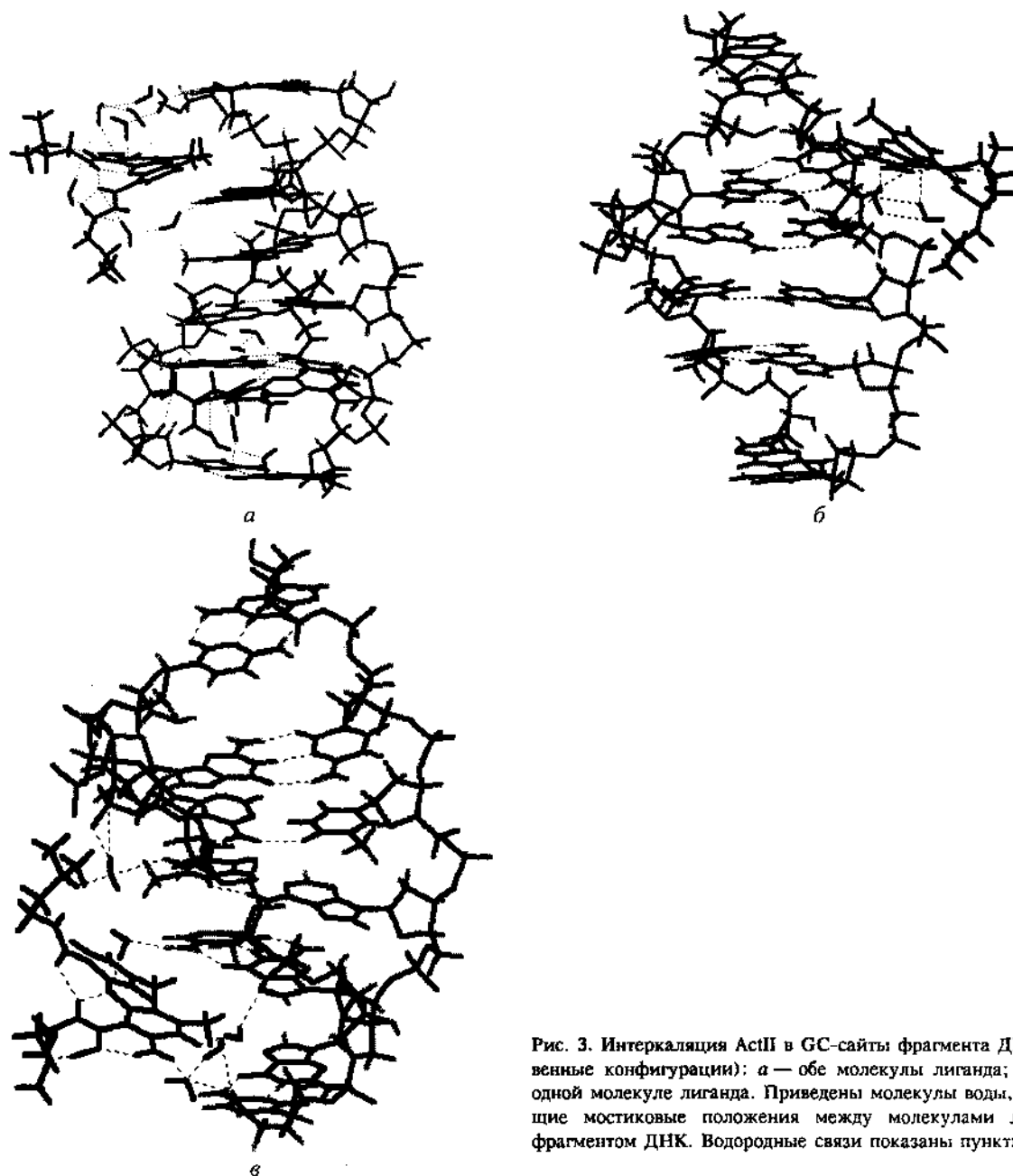


Рис. 3. Интеркаляция ActII в GC-сайты фрагмента ДНК (мгновенные конфигурации): а — обе молекулы лиганда; б, в — по одной молекуле лиганда. Приведены молекулы воды, занимающие мостиковые положения между молекулами лиганда и фрагментом ДНК. Водородные связи показаны пунктиром

обнаружено. Если сравнить связывание одной молекулы ActII с другим фрагментом ДНК —  $5'$ -d(CGCGTTAACGCG)<sub>2</sub> [6, 8], то можно отметить хорошее совпадение величин энергий взаимодействия лиганда с ДНК ( $U_{\text{ДНК-ActII}}$ ). Эта величина составляет  $-17,5$  ккал/моль на пару оснований для системы  $5'$ -d(CGCGTTAACGCG)<sub>2</sub>—ActII, что близко к значениям  $U_{\text{ДНК-ActII}}$  для различных положений молекулы ActII при связывании с фрагментом  $5'$ -d(CCAACGTTGG)<sub>2</sub> как для комплексов 1:1, так и комплекса 2:1. При этом связывание второй моле-

кулы ActII в малом желобке практически не влияет на энергию связывания второй молекулы (таблица). Эти результаты позволяют предположить 1) адекватность размера места связывания, используемого в этой работе при моделировании такого типа комплекса при соотношении лиганд—ДНК 2:1 и 2) неспецифичность связывания ActII в малом желобке. Минимальный размер места связывания для комплекса при расположении молекулы ActII в малом желобке, определенный экспериментально, составляет 3 п. н. [6, 7]. В модели комплекса 2:1,

полученном здесь с помощью компьютерного моделирования, две молекулы ActII расположены в малом желобке на расстоянии 3—4 п. н. вдоль оси спирали (рис. 2, а).

Интеркаляция одной молекулы ActII также существенно не влияет на встраивание следующей молекулы во второй GC-сайт фрагмента 5'-d(CGA-TCC)<sub>2</sub> (таблица,  $^+U_{\text{ДНК-ActII}}$ ), но эти значения приблизительно на 10 ккал/моль меньше (по абсолютной величине), чем значение энергии взаимодействия одной молекулы ActII с GC-сайтом большего фрагмента ДНК — 5'-d(GAAGCTTC)<sub>2</sub> [6, 8], составляющее -30,2 ккал/моль на пару оснований (или -241,2 ккал/моль на молекулу лиганда). Анализ мгновенных структур комплексов показывает, что Н-связей в сайте связывания молекулы ActII не образуют, не наблюдается и значительного перекрытия плоскости хромофоров ActII с плоскостями оснований в сайтах связывания для всех комплексов, изученных в настоящей работе. При встраивании одной молекулы ActII в центральный GC-сайт фрагмента 5'-d(GAAGCTTC)<sub>2</sub>, наоборот, отмечено и существенное перекрытие ароматических систем лиганда и оснований, и образование 2—3 Н-связей между донорно-акцепторными группами ActII и фрагмента ДНК [6, 8]. Подобные различия можно объяснить несколькими причинами.

Как упоминалось выше, здесь выбран слишком маленький размер места связывания для лигандов, что вызвало значительное расталкивание между положительно заряженными молекулами лиганда и, очевидно, повлияло на их расположение в сайтах связывания. Кроме того, определенное влияние на формирование такой структуры комплекса, по видимому, оказывают концевые эффекты, поскольку в комплексе 2:1 сайты связывания расположены на концах фрагмента ДНК, а также нуклеотидный состав и последовательность оснований фрагмента ДНК. Поэтому можно сделать предположение о более высокой специфичности комплекса по типу интеркаляции по сравнению со связыванием ActII в малом желобке.

Из анализа всех рассмотренных комплексов следует, что их стабильность определяется Ван-дер-Ваальсовыми и электростатическими взаимодействиями. В то же время электростатические взаимодействия, вероятно, вносят и дестабилизирующий вклад. Электростатические взаимодействия между положительно заряженными боковыми цепями лиганда и отрицательно заряженными фос-

фатными группами фрагментов ДНК стабилизируют комплекс, тогда как взаимодействие между этими же структурными компонентами двух лигандов дестабилизируют их. Определенный вклад в комплексообразование вносят молекулы воды. Анализ энергий взаимодействия комплексов и их компонентов с водой (энергии взаимодействия  $U_{\text{водн}}$ ,  $U_{\text{ActII}}$ ,  $U_{\text{WW/1}}$ ), а также структурные характеристики водного окружения комплексов (число молекул воды, образующих Н-связи с фрагментами ДНК и/или лигандами  $N_{\text{Нб}}$ , таблица) показывают, что происходит значительная перестройка гидратного окружения фрагментов ДНК и лиганда при их связывании. Для сравнения в таблице приведены аналогичные данные, полученные при моделировании систем, содержащих только фрагменты ДНК или молекулу лиганда в водных кластерах (800 молекул воды) и чистого водного кластера.

В сайтах связывания для всех типов комплексов обнаружены молекулы воды, занимающие мостиковые положения между донорно-акцепторными группами лиганда и фрагмента ДНК (рис. 2, 3). Молекулы воды занимают мостиковые положения между С=О и NH<sub>2</sub>-группами хромофора ActII и группами сахаро-фосфатного остова и оснований: С=О группой тимина и атомом N1 аденина при связывании каждой из молекул ActII в малом желобке. При интеркаляции двух молекул ActII в сайтах связывания найдены молекулы воды, занимающие мостиковые положения между группами сахаро-фосфатного остова, NH<sub>2</sub>-группой цитозина и N7 атомом гуанина фрагмента ДНК и С=О и аминокгруппами хромофора ActII.

Выводы. Методом компьютерного моделирования получены низкоэнергетические структуры комплексов ActII с фрагментами ДНК, которые могут представлять собой наиболее вероятные молекулярные модели двух различных типов комплексов — связывания ActII в малом желобке и интеркаляции ActII в GC-сайт со стехиометрией 1:1 и 2:1. Показано, что энергетическая стабильность комплексов обусловлена Ван-дер-Ваальсовыми, электростатическими взаимодействиями и взаимодействием с растворителем. Молекулы воды, занимая мостиковые положения между донорно-акцепторными группами фрагментов ДНК и молекулами лиганда, вносят дополнительную стабилизацию в образование комплексов. Используемые в моделях комплексов размеры мест связывания более адекватны для случая связывания ActII в малом желобке и состав-



ляют 3—4 п. н. на молекулу лиганда. Для комплекса по типу интеркаляции размеры мест связывания, вероятно, должны быть больше, чем выбранные для моделирования, то есть более 4 п. н. на молекулу лиганда.

A. V. Shestopalova

The binding of actinocin derivative with DNA fragments (Monte Carlo simulation)

#### Summary

The computer simulations of the interaction of DNA fragments and actinocin derivative (ActII) with ligand—target ratio 1:1 and 2:1 were carried out by a Monte Carlo method taking into account water environment. Low-energy molecular structures corresponding to the most probable models of two types of complexes — binding of ActII in minor groove and intercalation of ActII into GC-site with different complex stoichiometry were obtained. The energetic and structural parameters of the complex formation were calculated. The stability of investigated complexes was conditioned by Van der Waals and electrostatic interactions as well as by the interaction with a solvent. The water molecules contribute to the stabilization of complexes due to the formation of water bridges between donor—acceptor groups of DNA fragments and ligands. Possible sizes of ActII binding sites in the minor groove were determined. They equaled 3—4 b. p. per the ligand molecule. The sizes of binding sites of intercalating ActII molecules into GC-site are obviously bigger than 4 b. p. per the ligand molecule. The results obtained are in agreement with the experimental data.

Keywords: DNA fragments, actinocin derivative, complexation, Monte Carlo method, size of binding site, hydration.

Г. В. Шестопалова

Зв'язування актиноцинового похідного з фрагментами ДНК: моделювання методом Монте Карло

#### Резюме

Методом Монте Карло виконано комп'ютерне моделювання взаємодії фрагментів ДНК та похідного актиноцину (ActII) при співвідношенні ліганд—мішень 1:1 і 2:1 з урахуванням водного оточення. Отримано низькоенергетичні молекулярні структури, що відповідають найвірогіднішим типам взаємодії — зв'язуванню ActII у малому жолобі та інтеркаляції ActII у GC-сайт з різною стехіометрією комплексів. Показано, що стабільність комплексів обумовлена Ван-дер-Ваальсовими та електростатичними взаємодіями, а також взаємодією з водним оточенням, молекули якого вносять додаткову стабілізацію за рахунок утворення містків між донорно-акцепторними групами фрагментів ДНК і лігандів. Визначено можливі розміри місць зв'язування ActII у малому жолобі, які дорівнюють 3—4 парам нуклеотидів (п. н.) на молекулу ліганда. При інтеркаляції молекул ActII в GC-сайт розміри місць зв'язування очевидно більші за 4 п. н. на молекулу ліганда. Такі результати збігаються з даними експериментальних досліджень.

Ключові слова: фрагменти ДНК, похідне актиноцину, комплексотворення, метод Монте Карло, розмір місць зв'язування, гідратація, міжмолекулярні взаємодії.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Круглова Е. Б. Сравнение эффектов связывания активных катионных красителей с ДНК в видимой и УФ областях // Вісн. Харківськ. ун-ту, № 525, Біофіз. вісн.—2001.—Вип. 1 (8).—С. 27—33.
2. Круглова Е. Б., Большух Т. В., Гладковская Н. А., Близнюк Ю. Н. Связывание антибиотиков актиноцинового ряда с матрицей полифосфата // Біополімери і клітина.—2005.—21, № 3.—С. 358—364.
3. Fox K. R., Webster R., Phelps R. J., Fokt I., Priebe W. Sequence selective binding of bis-daunorubicin WP631 to DNA // Eur. J. Biochem.—2004.—271.—P. 3556—3566.
4. Chaires J. B. Drug-DNA interactions // Curr. Opin. Struct. Biol.—1998.—8.—P. 314—320.
5. Круглова Е. Б., Малеев В. Я., Глибин Е. Н., Веселков А. Н. Физические механизмы взаимодействия производных актиноцина с ДНК. 6. Спектрофотометрическое исследование комплексов ДНК с производными актиноцина с разной длиной метиленовых цепей. // Вісн. Харківськ. ун-ту, № 560, Біофіз. вісн.—2002.—Вип. 1 (10).—С. 20—29.
6. Maleev V. Ya., Semenov M. A., Kruglova E. B. A spectroscopic and calorimetric study of DNA complexation with a new series of actinocin derivatives (ActII-ActV) // Anti-cancer drug design: biological and biophysical aspects of synthetic phenoxazone derivatives / Eds A. N. Veselkov, D. D. Davis.—Sevastopol: SEVNTU press, 2002.—P. 47—125.
7. Круглова Е. Б., Гладковская Н. А., Малеев В. Я. Использование метода спектрофотометрического анализа для вычисления термодинамических параметров связывания в системах актиноциновые производные—ДНК // Биофизика.—2005.—50.—С. 253—264.
8. Maleev V. Ya., Semenov M. A., Kruglova E. B., Bolbukh T. V., Gasan A. I., Bereznyak E. G., Shestopalova A. V. Spectroscopic and calorimetric study of DNA interaction with a new series of actinocin derivatives // J. Mol. Struct.—2003.—645.—P. 145—158.
9. Андиченко Д. Б., Березняк Е. Г., Шестопалова А. В., Малеев В. Я. Изучение молекулярных механизмов взаимодействия кофеина и производных актиноцина с ДНК методом молекулярной динамики. II. Роль различных факторов при образовании комплекса ДНК—лиганд // Вісн. Харківськ. ун-ту, № 593, Біофіз. вісн.—2003.—Вип. 1 (12).—С. 13—19.
10. Miroshnychenko K. V., Shestopalova A. V. Flexible docking of DNA fragments and actinocin derivatives // J. Mol. Simul.—2005.—31.—P. 567—574.
11. Danilov V. I., Zheltovsky N. V., Slyusarchuk O. N., Poltev V. I., Alderfer J. L. The study of the stability of Watson-Crick nucleic acid base pairs in water and dimethyl sulfoxide: computer simulation by the Monte Carlo method // J. Biomol. Struct. and Dyn.—1997.—15.—P. 69—80.
12. Alderfer J. L., Danilov V. I., Poltev V. I., Slyusarchuk O. N. A study of the hydration of deoxydinucleoside monophosphates containing thymine, uracil and its 5-halogen derivatives: Monte Carlo simulation // J. Biomol. Struct. and Dyn.—1999.—16.—P. 1107—1117.
13. Metropolis N., Rosenbluth A. W., Rosenbluth M. N., Teller A. N., Teller E. Equation of state calculations by fast computing machines // J. Chem. Phys.—1953.—21.—P. 1087—1092.
14. Poltev V. I., Malenkov G. G., Gonzalez E. J., Teplukhin A. V., Rein R., Shibata M., Miller J. H. Modeling DNA hydration: comparison of calculated and experimental hydra-

- tion properties of nucleic acid bases // *J. Biomol. Struct. and Dyn.*—1996.—13.—P. 717—726.
15. *Teplukhin A. V., Malenkov G. G., Poltev V. I.* Monte Carlo simulation of DNA fragment hydration in the presence of alkaline cations using novel atom-atom potential functions // *J. Biomol. Struct. and Dyn.*—1998.—16.—P. 289—300.
  16. *Abraham F. F.* Monte Carlo simulation of physical clusters of water molecules // *J. Chem. Phys.*—1974.—61.—P. 1221—1225
  17. *Журкин В. Б., Полтев В. И., Флорентьев В. Л.* Атом-атомные потенциальные функции для конформационных расчетов нуклеиновых кислот // *Молекуляр. биология.*—1980.—14.—С. 1116—1130.
  18. *Schmidt M. W., Baldridge K. K., Boatz J. A., Elbert S. T., Gordon M. S., Jensen J. H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K. A., Su S. J., Windus T. L., Dupuis M., Montgomery J. A.* GAMESS // *J. Comput. Chem.*—1993.—14.—P. 1347—1363.
  19. *Subramanian P. S., Beveridge D. L.* A theoretical study of the aqueous hydration of canonical B d(CGCGAATTCGCG): Monte Carlo simulation and comparison with crystallographic ordered water sites // *J. Biomol. Struct. and Dyn.*—1989.—6.—P. 1093—1122.
  20. *Kopka M. L., Goodsell D. S., Baikalov I., Grzeskowiak K., Cascio D., Dickerson R. E.* Crystal structure of a covalent DNA-drug adduct: anthramycin bound to C-C-A-A-C-G-T-T-G-G, and a molecular explanation of specificity // *Biochemistry.*—1994.—33.—P. 13593—13601.
  21. *Saminadin P., Dauntant A., Mondon M., D'estaintot B. L., Courseille C., Precigoux G.* Release of the cyano moiety in the crystal structure of N-cyanomethyl-N-(2-methoxyethyl)-daunomycin complexed with D(CGATCG) // *Eur. J. Biochem.*—2000.—267.—P. 457—468.
  22. *Rohs R., Bloch I., Sklenar H., Shakked Z.* Molecular flexibility in *ab initio* drug docking to DNA binding-site and binding-mode transitions in all-atom Monte Carlo simulations // *Nucl. Acids Res.*—2005.—33.—P. 7048—7057.

УДК 577.32

Надійшла до редакції 12.07.06