

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДИМЕРНОГО СВЯЗЫВАНИЯ ЛИГАНДОВ С МАЛЫМ ЖЕЛОБКОМ ДНК МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

© 2017 г. В.В. Костюков, М.А. Стародуб, М.П. Евстигнеев

Севастопольский государственный университет, 299053, Севастополь, ул. Университетская, 33

E-mail: viktor_kostukov@mail.ru

Поступила в редакцию 22.05.17 г.

После доработки 23.08.17 г.

Методами молекулярного моделирования выполнен энергетический анализ димерного комплексообразования лекситропсинов с двуспиральной ДНК. Показано, что димерные комплексы стабилизируются гидрофобными и ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями. Электростатические взаимодействия, вклады водородных связей и изменения числа степеней свободы являются дестабилизирующими. Проведено сравнение энергетики мономерного и димерного связывания.

Ключевые слова: лекситропсины, ДНК, димерное связывание, энергетические вклады.

Среди малых молекул, механизм биологической активности которых основан на связывании с двуспиральной ДНК, значительное место занимают лиганды, укладывающиеся в ее малый желобок (Minor Groove Binders, MGB) [1]. Многие из них, в первую очередь лекситропсины (рис. 1), проявляют противоопухолевое действие и широко используются в клинической практике для химиотерапии раковых заболеваний [2].

Одним из основных представителей лекситропсинов является дистамицин (DM) – природный трипептид с высокой антивирусной и антиопухолевой активностью, обусловленной ингибированием репликации и транскрипции ДНК [3]. При исследовании комплексообразования DM с ДНК было впервые обнаружено, что при концентрациях DM, существенно более высоких, чем концентрации биополимера, связывание является высококооперативным и происходит по димерному механизму (рис. 2) [3]. При димерном комплексообразовании две молекулы DM укладываются в малый желобок антипараллельно. Каждая из двух молекул лиганда образует H-связи со «своей» нитью ДНК, которая, таким образом, «узнается» отдельно.

Поэтому димерное связывание считается более эффективным по сравнению с мономерным. Во-первых, оно дает возможность различать между собой AT/TA- и GC/CG-пары оснований. Во-вторых, двойное считывание нуклеотидной последовательности является более надежным [4]. Высокая токсичность и ограниченная специфичность DM в настоящее время стимулирует поиск новых лекситропсинов также с димерным механизмом связывания [5].

До недавнего времени считалось, что димер MGB-лигандов образуется на ДНК путем последовательного связывания с ней одиночных молекул лиганда [6]. Однако недавно было впервые показано, что димер может формироваться независимо от ДНК в свободном растворе и затем связываться с ее малым желобком [5]. Данный механизм комплексообразования, по всей видимости, энтропийно более выгоден, чем последовательное связывание с ДНК двух одиночных молекул лиганда.

Анализ энергетики димерного комплексообразования MGB-лигандов с ДНК выполнен другими авторами только в трех работах [5–7], причем лишь в работе [5] достаточно подробно. Ранее нами был проведен энергетический анализ димеризации в водном растворе семи MGB-лигандов, связывающихся с ДНК по димерному механизму [8]. Были исследованы следующие лекситропсины: AR1-144 (AR), DM, тиазотропсин А (TZA) и не имеющие собственных наименований соединения PA1...PA4, синтезированные группой Дервана (P.V. Dervan) [9–11]

Сокращения: MGB-лиганды – лиганды, укладывающиеся в малый желобок ДНК, DM – дистамицин, AR – лекситропсин AR1-144, TZA – тиазотропсин, ВДВ – ван-дер-ваальсовы, Im – имидазольное кольцо, Ру – пиррольное кольцо, Tz – тиазоловое кольцо, Нр – гидроксипиррольное кольцо, β-Dp – β-аланин-диметиламинопропиламид.

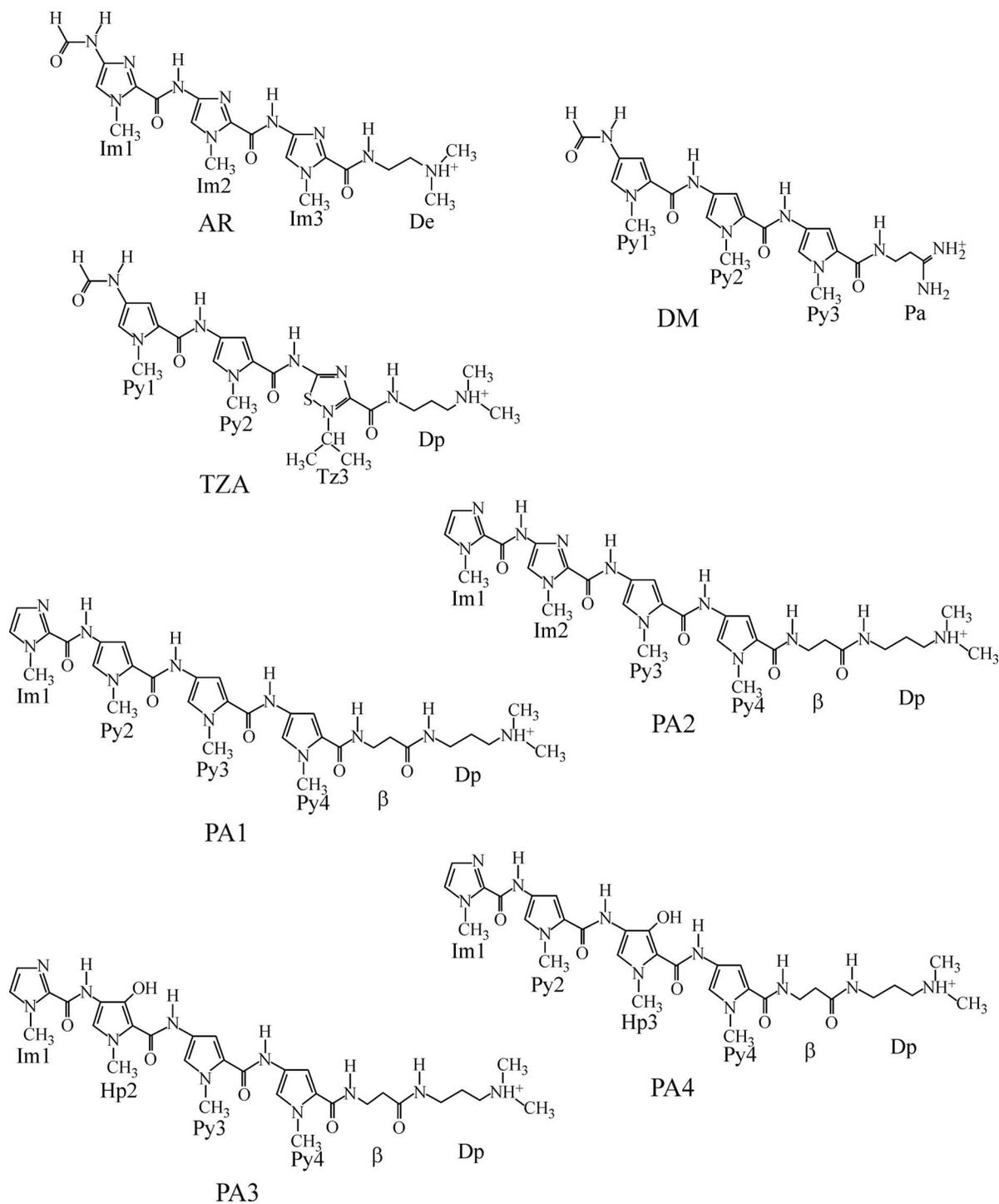


Рис. 1. Структурные формулы исследованных лекситропсинов.

(см. рис. 1). В настоящей работе изучена энергетика связывания данных димеров с двуспиральной ДНК на основании структурных данных других авторов (табл. 1) и разработанной нами ранее методики энергетического анализа [12].

МЕТОДЫ

Общий подход к энергетическому анализу. Полная энергия Гиббса ΔG_{total} реакции комплексообразования молекул в водном растворе складывается из энергетических составляющих,

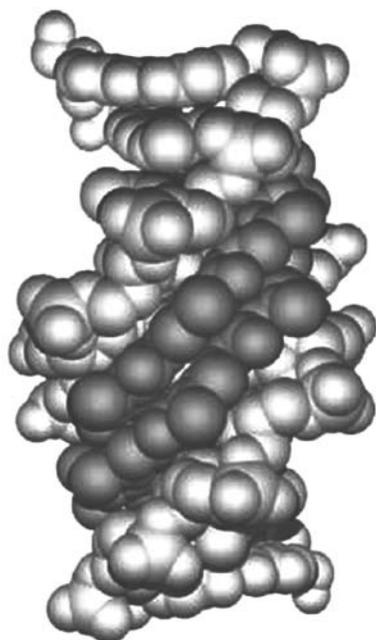


Рис. 2. Димерный комплекс дистамицина с ДНК.

обусловленных различными физическими факторами:

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G_{\text{vdw}} + \Delta G_{\text{el}} + \Delta G_{\text{hyd}} + \Delta \Delta G_{\text{HB}} + \Delta G_{\text{ndf}} \quad (1)$$

где нижние индексы означают энергетические вклады от ван-дер-ваальсовых (ВДВ), электростатических, гидрофобных взаимодействий, водородных связей и специфических факторов, обусловленных изменением числа степеней свободы, соответственно. Поскольку значительные конформационные изменения в молекулах ДНК и димерах лекситропсинов при их комплексообразовании в водном растворе отсутствуют [1–4], вычисление каждой составляющей в уравнении (1) может быть выполнено при помощи термодинамического цикла (рис. 3). Его основной особенностью является расчет сво-

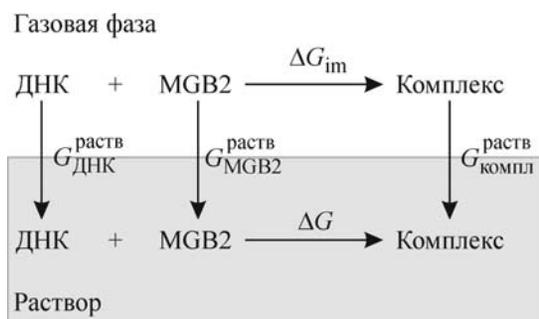


Рис. 3. Термодинамический цикл для расчета энергии димеризации молекул в водном растворе.

бодной энергии отдельно в вакууме (межмолекулярная составляющая ΔG_{im}) и в водной фазе (сольватационная составляющая ΔG_{solv}). При этом величина ΔG_{solv} вычисляется как

$$\Delta G_{\text{solv}} = G_{\text{complex}}^{\text{solv}} - G_{\text{DNA}}^{\text{solv}} - G_{\text{MGB2}}^{\text{solv}} \quad (2)$$

Молекулярная динамика. Структуры комплексов димеров MGB-лигандов AR, DM, TZA, PA1...PA4 с ДНК взяты из экспериментальных работ других авторов (см. табл. 1). Водное окружение задавалось явно в виде бокса, имеющего форму прямоугольного параллелепипеда со сторонами $54 \times 30 \times 30 \text{ \AA}$ и содержащего 1663 молекул модели TIP3P. Атомные заряды и дипольные моменты MGB-лигандов вычислены методом Мерца–Колмана на уровне теории DFT (B3LYP) с базисным набором 6-31G* в пакете Gaussian09W.

Оптимизация геометрии комплексов в водной среде выполнена путем минимизации потенциальной энергии методом сопряженных градиентов. Параметры нековалентных взаимодействий отвечали силовому полю AMBER. На первом этапе минимизации энергии были фиксированы координаты атомов лигандов для ре-

Таблица 1. Исследуемые димерные комплексы MGB-лигандов с ДНК

№	ДНК	Лиганд (пептидная последовательность)	Protein Data Bank ID	Эксперимент
1	d(GAACCGGTTTC) ₂	AR-1-144 (Im ₃)	1B0S	[13], ЯМР
2	d(GTATATAC) ₂	DM (Py ₃)	378D	[4], PCA
3	d(CGACTAGTTCG) ₂	TZA (PyPyTz)	1RMX	[14], ЯМР
4	d(CCAGATCTGG) ₂	PA1 (ImPyPyPy-β-Dp)	1CVX	[9], PCA
5	d(CCAGGCCTGG) ₂	PA2 (ImImPyPy-β-Dp)	365D	[10], PCA
6	d(CCAGTACTGG) ₂	PA3 (ImHpyPyPy-β-Dp)	407D	[11], PCA
7	d(CCAGATCTGG) ₂	PA4 (ImPyHpyPy-β-Dp)	1CVY	[9], PCA

Примечание. ЯМР – ядерный магнитный резонанс, PCA – рентгеноструктурный анализ.

лаксации молекул воды к их равновесным положениям. Вторую стадию минимизации энергии выполняли с фиксированными молекулами воды. Конечный этап оптимизации геометрии проводили без каких-либо ограничений на движения атомов системы.

После минимизации потенциальной энергии выполняли процедуру молекулярной динамики по алгоритму Verlet при постоянной температуре 298 К с использованием программы X-PLOR. Для применения временного шага 2 фс использовали ограничение движений атомов водорода с помощью процедуры SHAKE. Время эволюции для каждой системы составляло 80 пс. Координаты всех атомов сохраняли через каждую 1 пс.

Ван-дер-ваальсова энергия. ВДВ-энергию рассчитывали стандартным методом с помощью потенциала Леннард–Джонса, который неявно учитывает дисперсионную, индукционную и ориентационную составляющие, а также отталкивание электронных оболочек атомов в виде

$$G_{\text{vdw}} = \frac{A}{r^{12}} + \frac{B}{r^6}, \quad (3)$$

где r – расстояние между взаимодействующими атомами, A и B – соответственно параметры отталкивания и притяжения, зависящие от типа атомов и их химического окружения и отвечающие силовому полю AMBER, используемому при моделировании. G_{vdw} вычисляли из тра-

екторий молекулярной динамики в программе X-PLOR путем усреднения в течение последних 40 пс эволюции системы.

Электростатическая энергия. Электростатическая энергия ΔG_{el} включает в себя взаимодействия парциальных зарядов атомов лекситропсина, молекул воды и ионов соли в растворе. Расчет ΔG_{el} выполнялся путем решения нелинейного уравнения Пуассона–Больцмана с помощью программы DelPhi, широко используемой для вычисления электростатических взаимодействий в комплексах биомолекул:

$$\nabla[\varepsilon(\vec{r})\nabla\varphi(\vec{r})] - \frac{8\pi^2 I}{kT} \sinh[\varphi(\vec{r})] + \frac{4\pi\rho_{\phi}(\vec{r})}{kT} = 0, \quad (4)$$

где φ – безразмерный электростатический потенциал в данной точке в единицах kT/e ; k – постоянная Больцмана; T – абсолютная температура; ε – диэлектрическая проницаемость среды; ρ_{ϕ} – плотность фиксированных зарядов данной молекулы; I – макроскопическая ионная сила раствора (вдали от данной молекулы) (в настоящей работе принято значение $I = 0,1$ М, что соответствует стандартным физиологическим условиям); \vec{r} – радиус-вектор данной точки.

Для системы, моделируемой с помощью нелинейного уравнения Пуассона–Больцмана (4), величина G_{el} вычисляется путем объемного интегрирования:

$$G_{\text{el}} = \int \int \int \left\{ \frac{\rho_{\phi}\varphi_{\phi}}{2} + \rho_{\phi}\varphi_{\text{M}} + \frac{\rho_{\text{M}}\varphi_{\text{M}}}{2} - (\rho_{\text{M}}\varphi + kTc[2\cosh(\varphi) - 2]) \right\} dV, \quad (5)$$

где φ_{ϕ} и φ_{M} – потенциалы, создаваемые соответственно фиксированными и подвижными (ионными) зарядами, при этом $\varphi_{\phi} + \varphi_{\text{M}} = \varphi$; c – концентрация соли; ρ_{M} – плотность подвижных (ионных) зарядов.

Нелинейное уравнение Пуассона–Больцмана учитывает изменение электрических свойств ближайшей гидратной оболочки молекул при комплексообразовании, что делает этот метод наиболее предпочтительным для исследования электростатических взаимодействий в водном растворе. Гидратный слой разделяет область с низкой диэлектрической проницаемостью в объеме молекулы и растворитель с $\varepsilon_{\text{e}} = 80$. Данный метод использует неявное задание растворителя и метод конечных разностей для решения уравнения (4). Поляризуемость лигандов

учитывается также неявно путем принятия внутренней диэлектрической проницаемости молекул и их комплексов $\varepsilon_{\text{i}} = 4$. Величины ВДВ-радиусов для расчета молекулярной поверхности лигандов и их комплексов соответствовали силовому полю AMBER.

Гидрофобная энергия. Гидрофобная стабилизация комплексов является результатом вытеснения воды из объема комплекса в свободный растворитель, и, как следствие, гидрофобная энергия ΔG_{hyd} носит преимущественно энтропийный характер. При расчете гидрофобного вклада использовали стандартный эмпирический подход, основанный на существовании линейной корреляции между энергией гидрофобного растворения и изменением площади поверхности, доступной для растворителя (solvent-accessible surface area) ΔA :

$$\Delta G_{\text{hyd}} = \gamma \Delta A, \quad (6)$$

где γ – микроскопический коэффициент поверхностного натяжения, $\gamma = 50$ кал/(моль·Å²). Площадь поверхности, доступной для растворителя, определяется как геометрическое место центра пробной сферы с радиусом, равным ВДВ-радиусу кислорода воды (1,4 Å) при ее движении по поверхности, ограниченной ВДВ-поверхностями данной молекулы. Ее величину A вычисляли с использованием программы GETAREА 1.1.

Водородные связи. Энергия водородной связи включает ВДВ и электростатическую составляющие, а также специфические факторы квантово-механической природы. Необходимо различать два разных типа водородного связывания при комплексообразовании молекул в водном растворе:

1. Потеря Н-связей с водой из-за дегидратации молекулами при образовании комплекса.
2. Образование межмолекулярных Н-связей между молекулами.

Для определения Н-связей МГВ-лигандов с водной средой в настоящей работе рассчитывали среднее количество молекул воды, образующих водородные связи с гидрофильными атомами (N, O, S) исследуемых молекул (гидратационный индекс N_{solv}), в течение последних 40 пс молекулярной динамики. Наличие водородной связи фиксировали, если расстояние между электроотрицательными атомами лиганда и атомами кислорода/водорода воды не превышало 3,2/2,4 Å соответственно. Число Н-связей между молекулами лекситропсинов и ДНК в комплексах (N_{im}) определяли из анализа их пространственных структур по тем же геометрическим критериям. Оценку энергетики Н-связи с водой производили на основании эмпирического выражения

$$\Delta \Delta G_{\text{HB}} = -2,25 \cdot \Delta N_{\text{solv}}, \text{ ккал/моль}, \quad (7)$$

продемонстрировавшего в рамках уравнения (1) хорошее согласие с экспериментом для большого числа различных ДНК-связывающихся лигандов [12]. При этом энергетический вклад $\Delta \Delta G_{\text{HB}}$ имеет смысл добавки к энергии ВДВ и электростатических взаимодействий в уравнении (1), необходимый для коррекции суммарной расчетной энергии на водородное связывание с водной средой.

Специфические вклады изменения числа степеней свободы. Полный вклад ΔG_{ndf} в свободную энергию Гиббса комплексообразования молекул является суммой трех главных компонентов:

$$\Delta G_{\text{ndf}} = \Delta G_{\text{tr}} + \Delta G_{\text{rot}} + \Delta G_{\text{vib}}, \quad (8)$$

где ΔG_{tr} , ΔG_{rot} и ΔG_{vib} – соответственно изменения свободных энергий поступательных, вращательных и колебательных степеней свободы при комплексообразовании.

Составляющие ΔG_{tr} и ΔG_{rot} обусловлены потерей трех поступательных и трех вращательных степеней свободы при комплексообразовании и рассчитываются в рамках классической статистической термодинамики:

$$\Delta G_{\text{tr}} = \Delta H_{\text{tr}} - T \Delta S_{\text{tr}}, \quad \Delta G_{\text{rot}} = \Delta H_{\text{rot}} - T \Delta S_{\text{rot}}, \quad (9)$$

$$\Delta H_{\text{tr}} = \Delta H_{\text{rot}} = -\frac{3}{2}RT,$$

$$S_{\text{tr}} = R \left[\frac{5}{2} + \frac{3}{2} \ln \frac{2\pi mkT}{h^2} - \ln \frac{N_A}{V} \right],$$

$$S_{\text{rot}} = R \left[\frac{3}{2} + \frac{1}{2} \ln \pi I_x I_y I_z + \frac{3}{2} \ln \frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right],$$

где $N_A = 6,02 \cdot 10^{23}$ моль⁻¹ (число Авогадро); $V = 10^{-3}$ м³; h – постоянная Планка; m – масса молекулы; I_x, I_y, I_z – главные моменты инерции молекул или их комплексов, рассчитываемые из X-PLOR.

Компонент ΔG_{vib} соответствует изменению колебательной энергии при комплексообразовании, что приводит к формированию новых высоко- и низкочастотных колебательных мод, связанных с изменением характера колебаний химических связей (ΔG_{vib1}) и механических колебаний димера как целого в составе комплекса (ΔG_{vib2}), соответственно $\Delta G_{\text{vib}} = \Delta G_{\text{vib1}} + \Delta G_{\text{vib2}}$.

Выражения для энтропии и энтальпии колебаний первого рода (химических связей) в гармоническом приближении имеют следующий вид [8]:

$$S_{\text{vib1}} = \frac{1}{T} \sum_{j=1}^{3N-6} \left[\frac{h\nu_j}{e^{h\nu_j/kT} - 1} - kT \ln(1 - e^{-h\nu_j/kT}) \right], \quad (10)$$

$$H_{\text{vib1}} = \sum_{j=1}^{3N-6} \left(\frac{h\nu_j}{e^{h\nu_j/kT} - 1} + \frac{h\nu_j}{2} \right),$$

где N – число атомов, ν_j – частоты нормальных мод, вычисленные с помощью пакета Gaussian09W методом Dreiding.

Выражения для термодинамических параметров колебаний второго рода (механических низкочастотных) использованы в предположении, что остаточные вращательные движения димеров лекситропсинов в комплексах мало-значимы, а колебания носят гармонический характер:

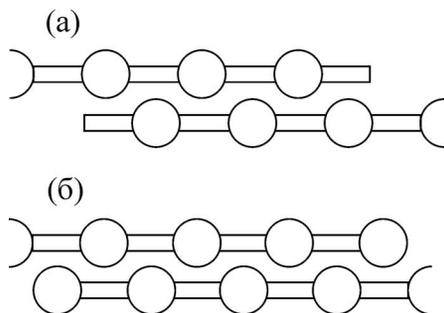


Рис. 4. Взаимное расположение молекул в димере трех- (а) и четырехнуклеотидного (б) лекситропсина.

$$H_{\text{vib}2} = RT; S_{\text{vib}2} = R \ln \frac{kT}{h\nu_r} + R. \quad (11)$$

Параметр ν_r в уравнении (10) – классическая частота механических колебаний вдоль координатных осей $r \in (x, y, z)$:

$$\nu_r = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{2K_r}{m_{\text{red}}}}, \quad (12)$$

где K_r – силовая константа, m_{red} – приведенная масса взаимодействующих молекул, определяемая как $\frac{1}{m_{\text{red}}} = \frac{1}{1} + \frac{1}{2}$.

Величина K_r может быть оценена путем квадратичной аппроксимации потенциальной энергии $U(r)$ для малых колебаний вдоль направления r :

$$U = U_0 + K_r(r-r_0)^2. \quad (13)$$

Расчет зависимости энергии межмолекулярных взаимодействий (ВДВ + электростатика) в димере $U(r)$ был выполнен в пакете X-PLOR, затем аппроксимирован уравнением (13) для получения значений K_r . Дальнейшее вычисление ν_r согласно уравнению (11) позволяет получить из уравнений (11) термодинамические параметры колебаний второго рода.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Структурная характеристика комплексов.

Результаты проведенного в настоящей работе молекулярного моделирования показывают, что структуры димеров в свободном состоянии и в составе комплексов с ДНК различаются незначительно. В димерах лекситропсина ароматическое кольцо одной молекулы всегда размещается над полярной пептидной связью другой [8]. При этом возможны два типа перекрытия между ними: зигзагообразное (stagger) и

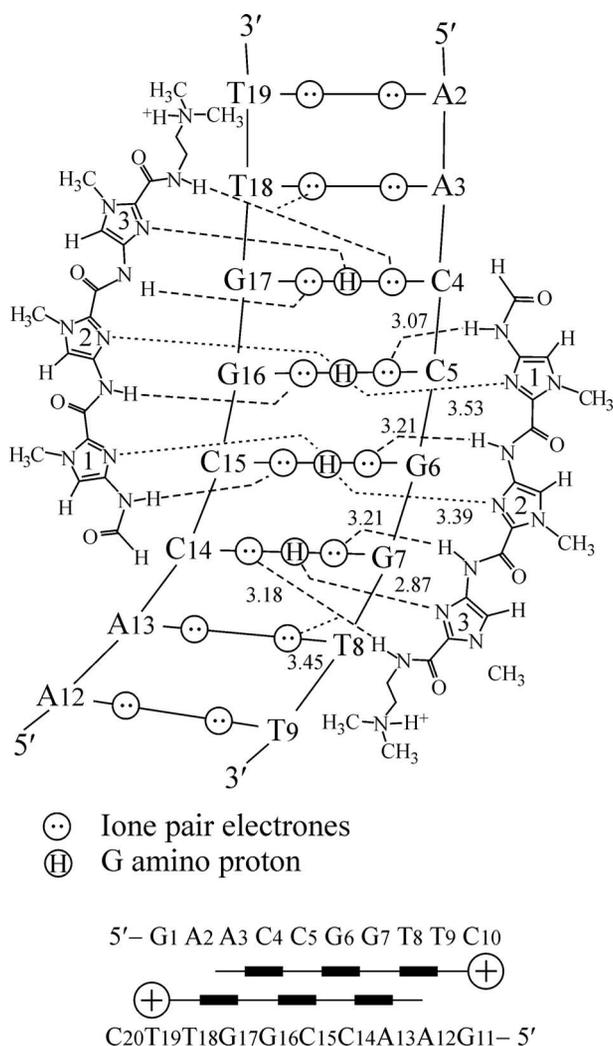


Рис. 5. Межмолекулярные Н-связи в димерном комплексе AR1-144 с додекамером ДНК [13].

максимальное. Расположение по первому типу наблюдается в димерах трехнуклеотидных молекул (AR, DM, TZA), несущих пептидную группу на N-конце, а по второму – в четырехнуклеотидных (PA1...PA4), не имеющих таковой (см. рис. 1 и 4). Согласно расчетам, конформации молекул ДНК-рецепторов также существенно не изменяются. Межмолекулярные Н-связи в комплексах определяются структурами ароматических колец лекситропсина и их специфичностью к нуклеотидным последовательностям молекул ДНК. Например, AR является чисто имидазольным (Im) трехнуклеотидным олигопептидом, поэтому образует Н-связи с азотистыми основаниями ДНК своими иминогруппами гетероциклов и пептидных связей (восемь на одну молекулу [13], рис. 5). DM – пиррольный (Py) трехнуклеотидный лекситропсин, формирующий бифуркационные Н-связи только своих пептидных

Таблица 2. Энергии ван-дер-ваальсовых взаимодействий

ДНК + димер	G_{DNA}^{solv}	G_{MGB2}^{solv}	$G_{complex}^{solv}$	ΔG_{vdw}^{solv}	ΔG_{vdw}^{im}	ΔG_{vdw}
AR	-207,8	-88,3	-210,4	85,6	-109,1	-23,5
DM	-172,6	-93,3	-171,2	94,7	-117,5	-22,8
TZA	-211,3	-101,7	-215,8	97,2	-128,1	-30,9
PA1	-184,6	-124,0	-198,0	110,7	-121,6	-10,9
PA2	-195,5	-121,9	-197,3	120,2	-139,2	-19,0
PA3	-190,5	-122,9	-215,9	97,5	-116,0	-18,5
PA4	-181,8	-120,3	-202,2	99,9	-126,3	-26,4

Таблица 3. Энергии электростатических взаимодействий

ДНК + димер	G_{DNA}^{solv}	G_{MGB2}^{solv}	$G_{complex}^{solv}$	ΔG_{el}^{solv}	ΔG_{el}^{im}	ΔG_{el}
AR	-10776,6	-1274,6	-11769,3	282,0	-275,4	6,6
DM	-7985,9	-1697,5	-9435,6	247,8	-229,3	18,5
TZA	-10804,8	-1342,8	-11866,7	280,9	-273,7	7,2
PA1	-10779,3	-1574,6	-12097,8	256,0	-232,3	23,7
PA2	-11080,4	-1451,6	-12280,8	251,2	-240,4	10,8
PA3	-10779,7	-1706,4	-12228,4	257,7	-240,8	17,0
PA4	-10784,3	-1542,2	-12061,4	265,1	-243,4	21,7

иминогрупп как с азотистыми основаниями ДНК, так и с атомами О4' дезоксирибозы (также восемь на одну молекулу [4]). TZA содержит два Ру-кольца и одно тиазоловое (Tz) кольцо, при этом межмолекулярные Н-связи образуют только Tz, а также пептидные аминокруппы (пять Н-связей на молекулу [14]). PA1 и PA2 являются четырехколечными Im-Ру-соединениями, при этом PA1 имеет одно Im-кольцо, а PA2 – два. PA3 и PA4 – также четырехколечные и содержат одно гидроксипиррольное (Hr), одно Im- и два Ру-кольца с различной последовательностью. Hr-цикл формирует Н-связь с ДНК с участием своей ОН-группы (см. рис. 1).

Энергетика взаимодействий. Энергии ВДВ-взаимодействий свободной ДНК G_{DNA}^{solv} и димеров MGB-лигандов G_{MGB2}^{solv} с водным окружением отрицательны и велики по модулю (см. табл. 2), что свидетельствует о выгоде их ВДВ-контактов с водным окружением. Однако потеря части этих контактов при комплексообразовании приводит к большой положительной величине сольватационной ВДВ энергии комплексообразования ΔG_{vdw}^{solv} . В то же время межмолекулярные контакты в комплексе ΔG_{vdw}^{im} отрицательны, т.е. энергетически выгодны, и по абсолютной величине превосходят ΔG_{vdw}^{solv} , так что полная ВДВ-энергия комплек-

сообразования ΔG_{vdw} оказывается меньше нуля, т.е. стабилизирует комплексы. При этом величины G_{MGB2}^{solv} и ΔG_{vdw}^{im} примерно вдвое превышают по модулю соответствующие значения для мономерного связывания [12]. Отметим, что величина ΔG_{vdw}^{im} для TZA (см. табл. 2) хорошо согласуется с полученным в работе [5] значением -101,5 ккал/моль.

Энергии электростатических взаимодействий с растворителем ДНК и димеров MGB-лигандов в свободном состоянии, так же как и ВДВ-сольватация, существенно меньше нуля (см. табл. 3). Это означает выгоду сольватационных электростатических взаимодействий. При комплексообразовании плотность заряда комплекса уменьшается по сравнению с исходными компонентами вследствие разноименных зарядов ДНК и димеров MGB-лигандов. Это приводит к положительной величине ΔG_{el}^{solv} , что означает энергетическую невыгодность электростатической сольватации при связывании. При этом по модулю ΔG_{el}^{solv} для всех комплексов превышает стабилизирующую комплексы энергию межмолекулярных (кулоновских) взаимодействий ΔG_{el}^{im} , что приводит к положительной (дестабилизирующей) величине полной электростатической энергии ΔG_{el} . Интересно отметить, что значения ΔG_{el}^{solv} и ΔG_{el}^{im} примерно такие же,

Таблица 4. Площади поверхностей, доступных для растворителя (\AA^2) и энергии гидрофобных взаимодействий

ДНК + димер	A_{DNA}	A_{MGB2}	A_{complex}	ΔA	ΔG_{hyd}
AR	4046,4	1314,8	3861,0	-1500,2	-75,0
DM	3349,1	1241,5	3179,8	-1410,8	-70,5
TZA	3888,1	1294,2	3716,9	-1465,4	-73,3
PA1	3978,3	1646,1	3347,3	-2277,1	-113,9
PA2	4010,3	1585,7	3825,0	-1771,0	-88,6
PA3	4044,8	1677,5	3895,7	-1826,6	-91,3
PA4	4028,1	1569,9	3808,5	-1789,5	-89,5

как и для мономерного комплексообразования, в отличие от энергий ВДВ-контактов [12]. Вероятно, это связано с существенно большим дальнедействием электростатики, чем ВДВ-взаимодействий.

Гидрофобные взаимодействия значительно стабилизируют комплексы (см. табл. 4). Поскольку они определяются изменением площадей поверхности молекул, доступных для растворителя, то, как и следовало ожидать, величины ΔG_{hyd} приблизительно вдвое выше по модулю, чем при связывании мономеров МГВ-лигандов с ДНК [12].

Энергетика разрыва части водородных связей с водным окружением при димерном связывании $\Delta \Delta G_{\text{HB}}^{\text{sol}}^{\text{ly}}$ по модулю превышает энергии формирования межмолекулярных Н-связей $\Delta \Delta G_{\text{HB}}^{\text{im}}$ (см. табл. 5), поэтому в целом вклад Н-связей $\Delta \Delta G_{\text{HB}}$ оказывается невыгодным. Так как количество Н-связей в основном зависит

от числа донорно-акцепторных центров молекул, то величины $\Delta \Delta G_{\text{HB}}^{\text{sol}}^{\text{ly}}$ и $\Delta \Delta G_{\text{HB}}^{\text{im}}$ оказываются примерно вдвое выше по абсолютной величине по сравнению с соответствующими значениями для мономерного комплексообразования [12].

Потери поступательных и вращательных степеней свободы являются преимущественно энтропийными по своей природе и дают энергетически невыгодные, положительные вклады ΔG_{tr} и ΔG_{rot} соответственно (см. табл. 6). В то же время изменение мод колебаний атомов при связывании (колебания 1 рода) является существенно невыгодным как энтальпийно ($\Delta H_{v1} > 0$), так и энтропийно ($-T\Delta S_{v1} > 0$). Последнее обстоятельство принципиально отличает димерное связывание от мономерного, для которого энтропийные вклады близки к нулю [12]. Низкочастотные остаточные колебания молекул в комплексе (колебания второго рода) энтропийно выгодны и стабилизируют комплексы

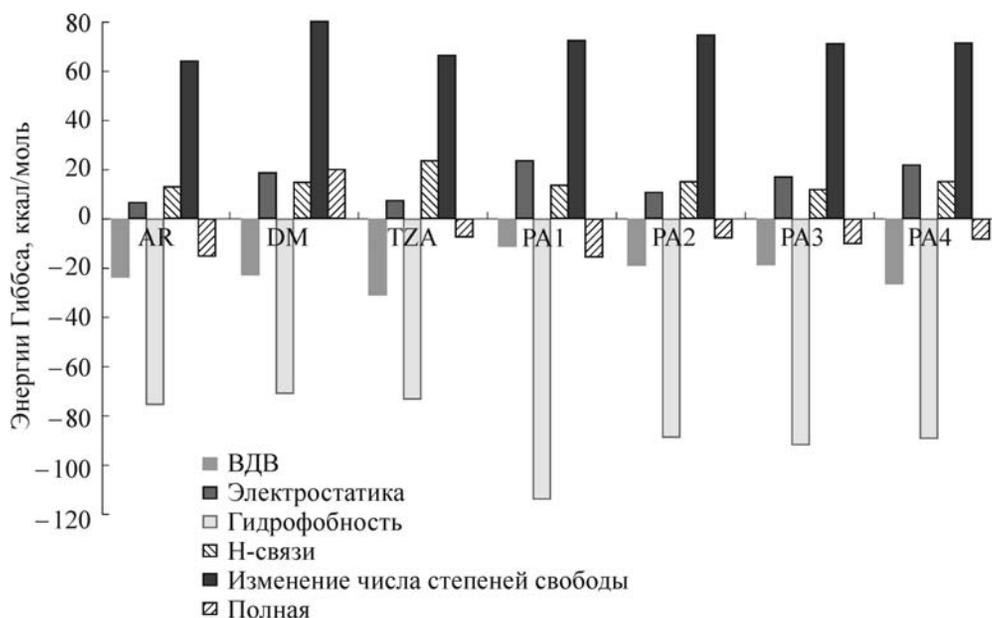
**Рис. 6.** Энергетические вклады физических факторов при димерном связывании МГВ-лигандов с ДНК.

Таблица 5. Водородные связи и их энергии (ккал/моль)

ДНК + димер	N_{DNA}^{solv}	N_{MGB2}^{solv}	$N_{complex}^{solv}$	ΔN_{HB}^{solv}	$\Delta \Delta G_{HB}^{solv}$	N_{im}	$\Delta \Delta G_{HB}^{im}$	$\Delta \Delta G_{HB}$
AR	162,1	17,4	157,8	-21,7	48,9	16	-36,0	12,9
DM	129,9	24,4	127,8	-26,5	59,6	16	-36,0	23,6
TZA	162,4	16,6	154,6	-24,4	54,9	10	-22,5	14,4
PA1	157,9	23,6	161,5	-20,0	45,0	14	-31,5	13,5
PA2	161,3	24,3	161,0	-24,6	55,3	18	-40,5	14,8
PA3	157,6	26,9	163,4	-21,1	47,5	16	-36,0	11,5
PA4	159,1	25,3	161,8	-22,6	50,8	16	-36,0	14,8

Таблица 6. Энергетические вклады изменений числа степеней свободы

ДНК + димер	Поступательные			Вращательные			Колебательные первого рода			Колебательные второго рода			Суммарный ΔG_{ndf}		
	ΔH_{tr}	$-T\Delta S_{tr}$	ΔG_{tr}	ΔH_{rot}	$-T\Delta S_{rot}$	ΔG_{rot}	ΔH_{v1}	$-T\Delta S_{v1}$	ΔG_{v1}	ΔH_{v2}	$-T\Delta S_{v2}$	ΔG_{v2}	ΔH_{ndf}	$-T\Delta S_{ndf}$	ΔG_{ndf}
AR		13,7	12,8		12,4	11,5	39,5	8,2	47,7		-9,8	-8,0	39,5	24,5	64,0
DM		13,7	12,8		12,5	11,6	53,8	10,2	63,9		-10,0	-8,2	53,8	26,3	80,1
TZA		13,8	12,9		12,6	11,7	39,9	9,4	49,4		-9,5	-7,7	39,9	26,4	66,3
PA1	-0,9	13,9	13,1	-0,9	13,2	12,3	47,5	7,4	54,9	1,8	-9,6	-7,9	47,5	24,9	72,4
PA2		13,9	13,1		13,1	12,2	43,1	13,7	56,8		-9,6	-7,8	43,1	31,2	74,3
PA3		14,0	13,1		13,2	12,3	47,9	6,1	54,0		-9,7	-8,0	47,9	23,5	71,4
PA4		14,0	13,1		13,1	12,2	38,3	15,6	54,0		-9,7	-7,9	38,3	32,9	71,3

Таблица 7. Энергетические вклады физических факторов при димерном комплексообразовании лекситроп-синов с ДНК в водном растворе (ккал/моль)

ДНК + димер	ΔG_{vdw}	ΔG_{el}	ΔG_{hyd}	$\Delta \Delta G_{HB}$	ΔG_{ndf}	ΔG_{total}	ΔG_{exp} [ссылка]
AR	-23,5	6,6	-75,0	12,9	64,0	-15,0	-
DM	-22,8	18,5	-70,5	23,6	80,1	28,9	-10,5 [7]
TZA	-30,9	7,2	-73,3	14,4	66,3	2,3	-10,2 [5]
PA1	-10,9	23,7	-113,9	13,5	72,4	-15,2	-
PA2	-19,0	10,8	-88,6	14,8	74,3	-7,7	-
PA3	-18,5	17,0	-91,3	11,5	71,4	-9,9	-
PA4	-26,4	21,7	-89,5	14,8	71,3	-8,1	-

($\Delta G_{v2} < 0$). В целом энергетический вклад изменения степеней свободы невыгоден как энтальпийно, так и энтропийно и значительно дестабилизирует комплексы ($\Delta G_{ndf} > 0$).

ВЫВОДЫ

Стабилизирующими димерные комплексы MGB-лигандов с ДНК являются гидрофобные и, в меньшей мере, ВДВ-контакты, а дестабилизирующими – вклады изменения степеней свободы (основной) и Н-связей и электростатики (в среднем примерно в равной степени). Сравнительный анализ компонентов полной расчет-

ной энергии Гиббса ΔG_{total} (табл. 7) осложняется различными нуклеотидными последовательностями ДНК-рецепторов для разных лекситроп-синов, а также различной длиной последних (см. табл. 1). Отличие от исследованной нами ранее энергетики мономерного связывания [12] заключается в больших по модулю энергетических вклады, при этом знаки вкладов одинаковы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. L. Kopka, C. Yoon, D. S. Goodsell, et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA **82**, 1376 (1985).

2. P. B. Dervan, *Bioorg. Med. Chem.* **9**, 2215, (2001).
3. J. G. Pelton and D. E. Wemmer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 5723 (1989).
4. S. N. Mitra, M. C. Wahl, and M. Sundaralingam, *Acta Crystallogr. Sect. D* **55**, 602 (1999).
5. W. Treesuwan, K. Wittayanarakul, N. G. Anthony, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11**, 10682, (2009).
6. L. Wang, A. Kumar, D. W. Boykin, et al., *J. Mol. Biol.* **317**, 361, (2002).
7. J. Lah and G. Vesnaver, *J. Mol. Biol.* **342**, 73 (2004).
8. V. V. Kostjukov, Yu. G. Miloserdova, O. A. Shram, et al., *Ukr. J. Phys.* **5**, 461 (2014).
9. C. L. Kielkopf, R. E. Bremer, S. White, et al., *J. Mol. Biol.* **295**, 557 (2000).
10. C. L. Kielkopf, E. E. Baird, P. B. Dervan, et al., *Nat. Struct. Biol.* **5**, 104 (1998).
11. C. L. Kielkopf, S. White, J. W. Szewczyk, et al., *Science* **282**, 111 (1998).
12. V. V. Kostjukov, A. A. Hernandez Santiago, F. R. Rodriguez, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **14**, 5588 (2012).
13. X.-L. Yang, C. Kaenzig, M. Lee, et al., *Eur. J. Biochem.* **263**, 646 (1999).
14. N. G. Anthony, B. F. Johnston, A. I. Khalaf, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 11338 (2004).

Energetic Analysis of Dimeric Binding of Ligands to the DNA Minor Groove by Molecular Modeling Methods

V.V. Kostjukov, M.A. Starodub, and M.P. Evstigneev

Sevastopol State University, ul. Universitetskaya 33, Sevastopol, 299053 Russia

An energetic analysis of the formation of lexitropsins with double-stranded DNA – dimeric complex was performed by molecular modeling methods. It is shown that dimeric complexes are stabilized by hydrophobic and van der Waals interactions. Electrostatic interactions, the contributions of hydrogen bonds and changes of a number of degrees of freedom are destabilizing. A comparison of the energetics of monomeric and dimeric binding was made.

Keywords: lexitropsins, DNA, dimeric binding, energetic contributions