



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• *Экспериментальные и теоретические статьи*  
•*Experimental and theoretical articles*•

Биолог. журн. Армении, 3 (65), 2013

## МЕТОД МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ В ИССЛЕДОВАНИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БРОМИСТОГО ЭТИДИЯ С ДНК

Г.Р. ВАРДАПЕТЯН, Л.С. УНАНЯН

*Российско-Армянский (Славянский) университет,  
Институт математики и высоких технологий  
hvardapetyan@mail.ru, lhunanyan@mail.ru*

Методом молекулярной динамики изучено взаимодействие бромистого этидия (БЭ) с молекулой ДНК. Рассчитаны пространственные и энергетические параметры связывания ДНК-БЭ. Проведен сравнительный анализ экспериментально выявленных параметров связывания разными методами и параметров ММД.

*ДНК – БЭ – константа связывания (K) – ММД*

Աստիճանաբար է բրոմական էթիդիումի (ԲԷ) և ԴՆԹ-ի մոլեկուլի փոխազդեցությունը՝ մոլեկուլային դինամիկայի մեթոդի օգնությամբ: Հաշվարկված են փոխազդեցության տարածական և էներգիական ցուցանիշները: Կատարված է մոլեկուլային դինամիկայի մեթոդի և այլ մեթոդների օգնությամբ ստացված տվյալների համեմատական վերլուծություն:

*ԴՆԹ – ԲԷ – կապման հաստատուն (K) – ՄՄԴ*

The interaction of ethidium bromide (EB) with the DNA by the method of molecular dynamics was studied. The geometric and energy parameters of DNA-ethidium bromide connectivity had been calculated. A comparative analysis of the experimentally identified connectivity parameters by different methods and parameters MMD had been carried out.

*DNA – EB – connectivity constant (K) – MMD*

Как известно, ДНК в клетке окружена молекулами различной природы и в процессе реализации биологических функций может образовать с этими соединениями комплексы различной природы. Из них наиболее важное значение имеют биологически активные природные соединения различной природы, а также лекарственные препараты. При этом возможны взаимодействия как ковалентными, так и нековалентными способами. В связи с этим, исследование способов и параметров связывания лигандов различной природы с ДНК является одной из важнейших задач современной молекулярной биологии. Исследование параметров связывания известными биофизическими и физико-химическими методами является достаточно трудоемким процессом, зависящим от чувствительности аппаратуры и условий эксперимента.

В основе методов молекулярной динамики (ММД) лежит модельное представление о многоатомной молекулярной системе, в которой все атомы представляют собой материальные точки [6, 7, 24]. Этот метод позволяет вычислить траектории как атомов, так и полимерных цепей. Также дает



$$\Delta G_{entr} = \Delta G_{tr} + \Delta G_{rot} + \Delta G_{vibr}, \quad (2)$$

$$\Delta G_{hyd} = \sigma \cdot \Delta A \quad \sigma = 50 \text{ кал}/(\text{моль} \cdot \text{Å}^2), \quad (3)$$

где  $\gamma$  – микроскопический коэффициент поверхностного натяжения ( $\gamma = 50 \text{ кал}/(\text{моль} \cdot \text{Å}^2)$ ).

Для определения константы связывания БЭ с ДНК было использовано следующее уравнение:

$$K = \exp\left(-\frac{\Delta G_{total}}{RT}\right), \quad (4)$$

где  $\Delta G_{total}$  – тотальная энергия взаимодействия,  $R$  – газовая постоянная,  $T$  – абсолютная температура,  $K$  – константа связывания.

**Результаты и обсуждение.** Для проведения симуляции взаимодействия БЭ с ДНК и выявления возможных сайтов связывания был использован метод “слепой способ”, описывающий энергетически выгодные точки возможного взаимодействия [16, 17]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что число мест связывания на 26 пар равно 9. Это означает, что одна молекула БЭ в среднем приходится на 2.9 пар оснований. Были рассчитаны параметры конкретных сайтов связывания и процесса интеркаляции. Причем пространственная ориентация БЭ осуществлялась при  $0^0$  и при  $180^0$  относительно плоскости пар оснований.

В результате симуляции были получены пространственные и энергетические параметры процесса интеркаляции. Как предполагалось, молекула БЭ была встроена в плоскость между парами оснований, при этом дистанция между парами изменялась (параметры приведены в табл. 1).

**Табл. 1.** Пространственные параметры интеркаляции  
( $r$  – дистанция,  $\varphi$  – угол взаимодействия,  $\theta$  – торсионный угол взаимодействия).

Пространственная ориентация БЭ	$r$ (Å <sup>0</sup> )	$\varphi$ ( <sup>0</sup> )	$\theta$ ( <sup>0</sup> )
$3^{\circ}-5^{\circ}_0$	6.94-6.58	0.02	0.01
$3^{\circ}-5^{\circ}_{180}$	6.83-6.69	0.03	0.02
Сред.кв.откл. от оси ДНК $_0$	0.046	0	0
Сред.кв.откл. от оси ДНК $_{180}$	0.050	0	0

**Табл. 2.** Энергетические параметры интеркаляции

N	Пространственная ориентация БЭ	Взаимодействие, КДж/моль	Межмолекулярные внутри радиуса (SR – короткая дистанция)	Межмолекулярные вне радиуса (LR – длинная дистанция)
1.	$0^0$	Кулоновские	-40	-
		Ван-дер-Ваальс	-163	- 6.10
2.	$180^0$	Кулоновские	-47	-
		Ван-дер-Ваальс	-165	-6.12

Из табл. 1 и 2 видно, что при интеркаляции пространственная ориентация молекулы почти не влияет на основные параметры этого процесса.

Используя уравнение (1), была рассчитана тотальная энергия взаимодействия, что составило -6.1 Ккал/моль.

Для выявления параметров взаимодействия важным критерием является и константа связывания лиганда на макромолекуле. С использованием уравнения (4) была получена константа связывания БЭ на молекуле ДНК  $K = 99.7 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ , что согласуется с литературными данными [3, 4, 8, 11, 19, 26].

В табл. 3 приведены константы связывания ( $K$ ) и число пар оснований, с которыми связывается одна молекула лиганда ( $n$ ), полученные методами абсорбционной спектроскопии [8, 11, 26], флуоресцентной спектроскопии [11, 26], методом магнитного пинцета [19] и результаты, полученные с помощью ММД.

**Табл. 3.** Сравнительные параметры  $K$  и  $n$ , полученные разными методами

N	Параметры	Экспериментально			ММД
		[8, 11, 26]	[11, 26]	[19]	
1.	Константа связывания ( $K$ )	$112 \cdot 10^4$	$130 \cdot 10^4$	$130 \cdot 10^4$	$99.7 \cdot 10^4$
2.	Число пар оснований ( $n$ )	$\approx 2.4$	$\approx 3.0$	$\approx 1.9$	$\approx 2.9$

Наряду с вышеперечисленными методами, ММД может использоваться для выявления и расчета типов и параметров связывания как биологически активных природных соединений различной природы, так и лекарственных препаратов с клеточными структурами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вардеванян П.О., Карапетян Р. А. и др., Конкуренентность связывания бромистого этидия и Hoechst 33258 с ДНК// НАНАД, 107, 2, с. 193-198, 2007.
2. Вардеванян П.О., Антонян А.П. и др. Особенности связывания EtBr и HOECHST 33258 с ДНК различного GC-содержания, Биолог. журн. Армении, 61, 2, с.21-26, 2009.
3. Вардеванян П.О., Антонян А.П. Изучение комплексов ДНК с лигандами различной природы, Биол. журн. Арм., 62, 3, с. 50-58, 2010.
4. Вардеванян П.О., Карапетян Р. А. и др. Взаимодействие нековалентно связывающихся лигандов с ДНК, НАНАД, 111, 4, с. 352-358, 2010.
5. Карапетян А.Т., Вардеванян П.О. и др. Влияние двух способов связывания лигандов на параметры перехода спираль-клубок, Биополимеры и Клетка, 5, 5, с. 38-43, 1989.
6. Шноль Э.Э., Гривцов А.Г. и др., Метод молекулярной динамики в физической химии, М., Наука, 1996.
7. Allen M.P., Tildesley D.J., Computer Simulation of Liquids, Oxford: Clarendon Press, 2002.
8. Arakelyan V.B., Sarkisyan G.S. et al. The analysis of experimental data of DNA EtBr complexes within the rangies of low fillings. Int. conf & DAAD Alumni seminar "Biotechnology and Health-2", pp 10-15, 2008.
9. Chaires J.B. Energetics of Drug-DNA Interactions. Biopolymers, 44, p. 201-215, 1997.
10. Cheng H.-P. Cluster-surface collisions: Characteristics of Xe55- and C20-Si[111] surface bombardment, J. Chem. Phys., 111, 16, p. 7583-7592, 1999.
11. Chitre A.V., Korgankar K.S. Binding of Ethidium Bromide and Quinacrine Hydrochloride to Nucleic Acids and Reconstituted Nucleohistones, Biochem. J., 179, p. 213-219, 1979.
12. Da Silva S., Vranken A., Laue W. ACPYPE - AnteChamber PYthon Parser interface E. Manuscript to be submitted.
13. Hajduk, S.L. in Progress in Molecular and Subcellular Biology, Springer-Verlag, 6, p. 158-200, 1978.
14. Hess B., Kutzner C., Van der Spoel D., Lindah L. GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation. E. J. Chem. Theory Comput, 4, p. 435-447, 2008.
15. Hornak V., Abel R., et al. Comparison of Multiple Amber Force Fields and Development of Improved Protein Backbone Parameters PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics 65, p. 712-725, 2006.

16. <http://autodock.scripps.edu/resources/adt>.
17. <http://vina.scripps.edu/>.
18. Lane A.N., Jenkins T.C. Thermodynamics of nucleic acids and their interactions with ligands. Quarterly Reviews of Biophysics, 33, 3, p. 255–306, 2000.
19. Lipfert J, Klijnhout S, Dekker N.H. Torsional sensing of small-molecule binding using magnetic tweezers, Nucleic Acids Res., 38, 20, p.7122-7132, 2010.
20. Macke T., Svrcek-Seiler W.A. et al. Generation of Models for "Unusual" DNA and RNA: A Computer Language for Structural Exploration Updated, 2012.
21. Marvin /Marvin was used for drawing, displaying and characterizing chemical structures, substructures and reactions, Marvin 5.8.0, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>), 2012.
22. Pettersen E., Goddard T., Huang C., et al. UCSF Chimera-a visualization system for exploratory research and analysis, J. Comput Chem., 25, 13, p.1605-1612, 2004.
23. Qi L., Young W. L., Sinnott S. B. Effect of surface reactivity on the nucleation of hydrocarbon thin film through molecular-cluster beam deposition. Surf. Sci. 426, p. 83, 1999.
24. Stillinger 1999. F.H., Weber Th. A. Computer simulation of local order in condensed phases of silicon Phys. Rev. B., 31, 8. p. 5262-5271, 1985.
25. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., et al. Some Aspects of DNA-EtBr Interaction Peculiarities. Advances in Gene Technology: The Genome and Beyond – Structural Biology for Medicine (Proceedings of the 2002 Miami Nature Biotechnology Winter Symposium) The Scientific World, 2, S2, p.144-145, 2002.
26. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P. et al. The binding of ethidium bromide with DNA: interaction with single- and double-stranded structures, exp. and mol. medicine, 35, 6, pp. 527-533, 2003.
27. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., et al., Complex-formation of Ethidium Bromide with poly[d(A-T)], poly[d(A-T)], J. Biomol. Struct. Dyn., 22, 4, p.465-470, 2005.
28. Vardevanyan P.O. Karapetyan R.A. et al. Peculiarities of complex-formation of Ethidium bromide and Hoechst 33258 with DNA under influence of non thermal electromagnetic millimeter waves, Biolog. Jour. of Armenia, 64, 3, p.102-108, 2012.
29. Wang J., Wolf R., Caldwell J., et al., Development and testing of a general AMBER force field. J. of Comput. Chem., 25, p. 1157-1174, 2004
30. Wang J., Wang W., Kollman P., Case D. Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations, J. of Mol. Graph. and Mod., 25, pp. 247-260, 2006
31. Waring, M. J., Complex formation between ethidium bromide and nucleic acids, J. Mol. Biol. 13, p. 269-282, 1965.
32. Waring, M.J. DNA modification and cancer, Annu. Rev. Biochem., 50, p. 159-191, 1981.
33. Wilson, W.D., Jones, R.L. in Advances in Pharmacology and Chemotherapy, Academic, 18, p. 117-222, 1981.

Поступила 10.04.2013