

Молекулярно-динамическое моделирование ДНК дуплекса с присоединенными тритильными радикалами

Кадцын Евгений Дмитриевич, Аникеенко Алексей Владимирович, Медведев Николай Николаевич

Научное содержание работы

Присоединение спиновых и флуоресцентных меток – популярный способ исследования структуры биомолекул. Сигнал от таких меток может быть зарегистрирован с помощью различных экспериментальных техник. Однако в литературе практически не поднимался вопрос о влиянии таких меток на структуру биомолекулы. Очевидно, экспериментально ответить на данный вопрос невозможно – подобное исследование можно провести только с помощью молекулярной динамики.

В последнее время в экспериментах стали активно использоваться тритильные (триарилметильные) радикалы (рис. 1). Они значительно превосходят прочие по времени жизни. Однако он, в то же время, является значительно более тяжелым, поэтому влияние его на структуру макромолекул должно быть более сильным.

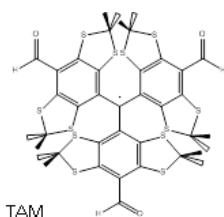


Рис. 1: структура тритильного радикала

Мы провели полноатомное молекулярно-динамическое моделирование ДНК-дуплекса из десяти пар оснований с присоединенными к 5'-концам тритильными радикалами (рис.2). Радикалы крепились к концам дуплекса через пиперазиновый линкер (рис.3). Для данной системы экспериментально было получено распределение между центрами спиновой плотности в работе [1]. Параметризация молекулярного комплекса проводилась в пакете AmberTools14. Она состояла из квантово-химического моделирования радикала с присоединенным линкером в пакете Gaussian03, параметризации их в поле сил GAFF утилитой AntechAmber, приписывании зарядов с помощью процедуры resp, генерировании и параметризации дуплекса в поле сил Amber14, связывании радикалов с дуплексом и генерировании совместных параметров с помощью утилиты LEaP. Так же проводилось добавление противоионов натрия и растворение системы в боксе размера 7.2x8.0x8.3 нм³ После этого утилитой ACPure полученная для Amber топология переводилась в формат GROMACS.



Рис. 2: схематичная структура моделируемого комплекса

Кроме того, была получена модель для дуплекса, не содержащего радикалов.

Далее проводилось молекулярно-динамическое моделирование в пакете GROMACS 4.6 при температурах 280К и 300К. Длина МД траекторий составляла 2мкс. Использовался термостат Парринелло-Рамана и термостат v-rescale. Количество молекул воды 15236.

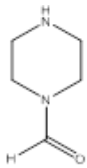


Рис. 3: структура пиперазинового линкера

Для описания структуры молекулы была рассчитана зависимость от времени расстояния между центрами тритильных радикалов, а так же между центрами радикалов и центром дуплекса (рис. 4, 5). На данной зависимости можно выделить три режима, соответствующие трем, выделенным нами, типам конформаций комплекса. Наиболее долгие промежутки времени расстояние между центрами радикалов составляет около 4.8нм. При этом реализуются «нормальные» конформации, в которых радикалы закрывают концы дуплекса. Предположительно такие конформации стабилизированы водородной связью между радикалом и 3'-концом дуплекса. Так же на зависимости расстояния от времени видны резкие выбросы. Время жезни системы в таких состояниях составляет несколько наносекунд. Данный тип конформаций мы назвали «экстремальными», поскольку в них реализуются наибольшие и наименьшие расстояния между радикалами. Природа этих выбросов одинакова – торсионный поворот в линкере. При небольшом повороте радикал отворачивается в сторону от центра дуплекса и расстояние между радикалами возрастает. Однако при дальнейшем повороте, напротив, радикал уже приближается к центру дуплекса и расстояние между радикалами уменьшается. Наконец, можно наблюдать моменты траектории, когда расстояние между радикалами меньше, чем 4.8 нм, однако существующие достаточно долго (десятки и сотни нс). Детальный анализ показывает, что при этом происходит частичное расплетание самого дуплекса – раскрытие концевых пар оснований – и радикалы несколько «опускаются», занимая место этой пары. Такую группу конформаций мы назвали «дефектной».

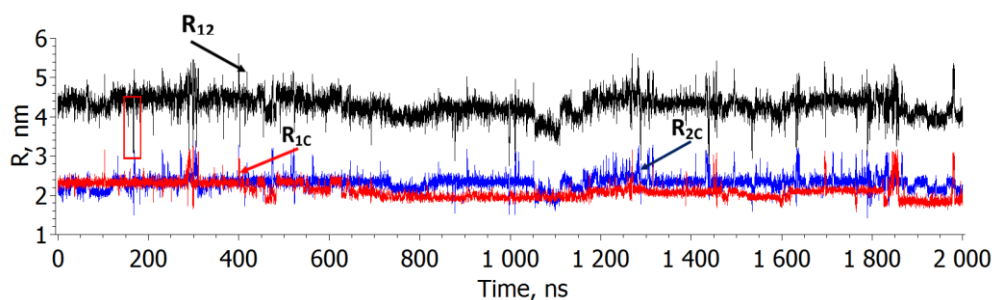
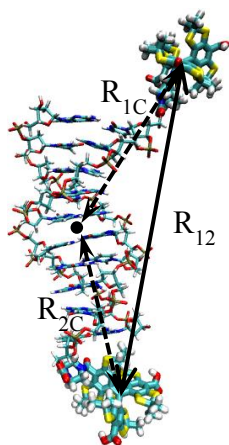


Рис.4: выделенные расстояния

Рис. 5: зависимость расстояний от времени

Мы так же построили распределение расстояния между центрами радикалов (рис. 6). Оно достаточно хорошо совпадает с распределением, полученным экспериментально [1].

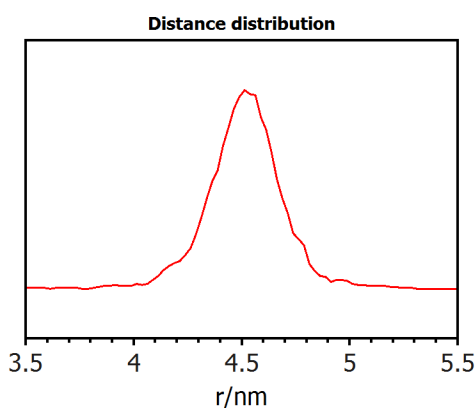


Рис. 6: распределение расстояний между центрами тритильных радикалов

Зависимость от времени расстояний между центрами радикалов и центром дуплекса подтверждает эту картину.

Для более детального изучения «дефектных» конформаций была так же построена зависимость расстояния между концевыми парами оснований, а так же между концевыми парами оснований и центром дуплекса. Рассмотрение этих зависимостей подтверждает описанную картину – можно видеть, что действительно в «дефектных» конформациях сильно изменяется расстояние между парами оснований.

Для ответа на вопрос, является ли наличие «дефектных» конформаций следствием присутствия радикала, было так же проведено моделирование дуплекса без радикала. Очевидно, для него невозможно выделить подобные группы конформаций, однако можно построить зависимость от времени расстояния между концевыми парами оснований. На этой зависимости видно, что частичное расплетание имеет место так же и в отсутствие радикала. Отсюда мы заключаем, что поведение дуплекса в присутствии и в отсутствие радикала качественно одинаково. Таким образом, заметного влияния метки на структуру биомолекулы нет даже в случае достаточно тяжелого тритильного радикала.

Моделирование этих систем при более низкой температуре подтверждает эти выводы: все группы конформаций проявляются для дуплекса с радикалами, частичное расплетание имеет место как с, так и без радикала.

Молекулярно-динамическое моделирование систем, содержащих такое количество частиц (~15000 молекул, ~50000 атомов) в настоящее время крайне затруднительно проводить на локальных компьютерах, в связи с этим авторы выражают огромную признательность кластеру НГУ за возможность проведения исследования.

Результаты работы опубликованы в статье Kadtsyn, E. D., Anikeenko, A. V., & Medvedev, N. N. (2016). Molecular dynamics simulation of a DNA duplex labeled with triarylmethyl spin radicals. *Journal of Molecular Liquids*, 221, 489-496.