

УДК 536.77:577.113

Д.А. Бешнова, аспирант*Севастопольский национальный технический университет**ул. Университетская 33, г. Севастополь, Украина, 99053**E-mail: dasha_beshnova@mail.ru***ЗАВИСИМОСТЬ СВОБОДНОЙ ЭНЕРГИИ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ЛИГАНДОВ С ДНК ОТ ДЛИНЫ МОЛЕКУЛЫ ДНК И КОЛИЧЕСТВА СВЯЗАННЫХ ЛИГАНДОВ**

В настоящей работе проведена оценка вклада потери трансляционных и ротационных степеней свободы в суммарную энергию комплексообразования ароматических интеркаляторов с ДНК. Предложенный в работе подход позволил впервые проанализировать зависимость свободной энергии Гиббса от длины молекулы ДНК и количества связанных с решеткой лигандов с учетом вклада факторов энтропийной природы.

Ключевые слова: трансляционные и ротационные степени свободы, комплексообразование.

Введение

Ряд современных лекарственных препаратов, в частности, те, которые используются в антираковой химиотерапии, изготавливаются на основе ароматических соединений общей структурной особенностью которых является наличие плоского ароматического хромофора. Известно, что для многих соединений такого типа (например, антибиотики дауномицин, актиномицин D и др.) ключевым моментом их биологического действия является интеркаляция в ядерную ДНК с последующим нарушением жизненно важных клеточных процессов. Поскольку интеркаляция в большинстве случаев обратима, медико-биологический эффект ароматических интеркаляторов коррелирует с равновесными/кинетическими параметрами связывания с ДНК [1]. Таким образом, детальная информация о параметрах связывания с ДНК ароматических интеркаляторов играет большую роль в понимании механизмов медико-биологического действия ароматических лекарственных средств, и в реализации стратегии направленной модификации структуры таких молекул с целью оптимизации химиотерапевтического индекса.

В настоящее время существует множество моделей, позволяющих с достаточной степенью точности на основании экспериментальных данных определять равновесную константу или свободную энергию комплексообразования, и учитывающих статистические эффекты распределения лигандов по решетке [2]. Основным недостатком таких моделей является неучет факторов чисто энтропийной природы, проанализированных в работе [3] для частного случая 1:1 комплекса, и могущих влиять на изменение свободной энергии реакций комплексообразования в системе лиганд-ДНК.

Целью настоящей работы является получение аналитических выражений для определения свободной энергии комплексообразования как функции числа нуклеотидов (N) и количества связанных с полимером лигандов (i) с учетом вклада факторов энтропийной природы.

Результаты и обсуждение

Анализ факторов, определяющих зависимость свободной энергии комплексообразования от длины олигонуклеотида ДНК и числа связанных лигандов.

Комплексообразование лигандов с ДНК в общем случае подчиняется следующей схеме последовательного связывания:



где K_i – равновесная константа образования комплекса i :НК (НК-нуклеиновая кислота).

В работе [4] показано, что основными энтропийными факторами, определяющими зависимость свободной энергии Гиббса (ΔG) реакций комплексообразования низкомолекулярных соединений, является потеря трансляционных и ротационных степеней свободы молекул при образовании молекулярных комплексов. Таким образом, изменение свободной энергии при образовании комплекса i :НК можно представить в виде:

$$\Delta G_{\text{tot}}^i = \Delta G_{\text{rot}}^i + \Delta G_{\text{tr}}^i, \quad (2)$$

где ΔG_{rot}^i и ΔG_{tr}^i – изменение ротационной и трансляционной составляющих свободной энергии.

Для вычисления ΔG_{rot}^i и ΔG_{tr}^i воспользуемся известными выражениями:

$$\Delta G_{\text{rot}}^i = \Delta H_{\text{rot}} - T\Delta S_{\text{rot}}^i, \quad \Delta G_{\text{tr}}^i = \Delta H_{\text{tr}} - T\Delta S_{\text{tr}}^i, \quad (3)$$

где ΔS_{rot}^i , ΔS_{tr}^i – изменение ротацонной и трансляционной энтропии при образовании комплекса, соответственно, $\Delta H_{rot} = \Delta H_{tr} = -\frac{3}{2}RT$ – энтальпийный эквивалент потери ротацонных и трансляционных степеней свободы, соответственно. Проанализируем составляющие ΔS_{tr}^i и ΔS_{rot}^i .

Потеря трансляционных степеней свободы.

Величина ΔS_{tr} может быть найдена из уравнения Сакуре-Тетроде [5]:

$$S_{tr} = R \left(\ln \frac{V}{N_A} + \ln \left(\frac{2\pi mkT}{h^2} \right)^{\frac{3}{2}} + \frac{5}{2} \right), \quad (4)$$

позволяющего вычислить молярную трансляционную энтропию вещества, содержащего $N_A = 6.02 \cdot 10^{23}$ моль⁻¹ молекул массы m и занимающего объем $V = 10^{-3}$ м³; k и h – постоянные Больцмана и Планка, соответственно; T – абсолютная температура.

Из (4) может быть записано выражение для энтропии комплекса $L^i N$:

$$S_{tr}^{L^i N} = R \left(\ln \frac{V}{N_A} + \ln \left(\frac{2\pi(i \cdot m_L + M_N)kT}{h^2} \right)^{\frac{3}{2}} + \frac{5}{2} \right), \quad (5)$$

где m_L – масса лиганда, M_N – масса молекулы ДНК.

Тогда изменение трансляционной энтропии в реакции (1) принимает вид:

$$\begin{aligned} \Delta S_{tr}^i &= S_{tr}^{L^i N} - S_{tr}^{L^{i-1} N} - S_{tr}^L, \\ \Delta S_{tr}^i &= R \left(\ln \frac{V}{N_A} + \ln \left(\frac{2\pi(m_L i + M_N)kT}{h^2} \right)^{\frac{3}{2}} + \frac{5}{2} \right) - R \left(\ln \frac{V}{N_A} + \ln \left(\frac{2\pi(m_L(i-1) + M_N)kT}{h^2} \right)^{\frac{3}{2}} + \frac{5}{2} \right) - \\ &- R \left(\ln \frac{V}{N_A} + \ln \left(\frac{2\pi m_L kT}{h^2} \right)^{\frac{3}{2}} + \frac{5}{2} \right). \end{aligned}$$

Преобразовывая данную формулу, приходим к выражению вида:

$$\Delta S_{tr}^i = -R \left(\ln \frac{V}{N_A} + \frac{5}{2} \right) - \frac{3}{2} R \ln \left(\frac{2\pi kT}{h^2} \right) + \frac{3}{2} R \ln \left(\frac{m_L i + M_N}{m_L(m_L(i-1) + M_N)} \right).$$

Учитывая, что $M_N = m_1 \cdot N$, где m_1 – масса мономера НК (пары оснований), запишем окончательное выражение для изменения трансляционной энтропии:

$$\Delta S_{tr}^i = -R \left(\ln \frac{V}{N_A} + \frac{5}{2} + \frac{3}{2} \ln \frac{2\pi kT}{h^2} \right) + \frac{3}{2} R \ln \left(\frac{1}{m_L} + \frac{1}{m_L(i-1) + m_1 N} \right). \quad (6)$$

В случае полимерной ДНК ($N \rightarrow \infty$):

$$\begin{aligned} \Delta S_{tr}^{poly} &= \lim_{N \rightarrow \infty} \left[-R \left(\ln \frac{V}{N_A} + \frac{5}{2} + \frac{3}{2} \ln \frac{2\pi kT}{h^2} \right) + \frac{3}{2} R \ln \left(\frac{1}{m_L} + \frac{1}{m_L(i-1) + m_1 N} \right) \right] = \\ &= -R \left(\ln \frac{V}{N_A} + \frac{5}{2} + \frac{3}{2} \ln \frac{2\pi kT}{h^2} \right) - \frac{3}{2} R \ln(m_L). \end{aligned} \quad (7)$$

Потеря ротацонных степеней свободы.

Выражение для расчета ротацонной энтропии вытекает из общих принципов статистической термодинамики [5]:

$$S_{rot} = R \left(\frac{3}{2} + \frac{1}{2} \ln \pi I_x I_y I_z + \frac{3}{2} \ln \frac{8\pi^2 kT}{h^2} - \ln \sigma \right), \quad (8)$$

где I_x , I_y , I_z – моменты инерции относительно главных осей инерции рассматриваемого объекта, σ – параметр симметрии, который в данной работе положим равным единице $\sigma = 1$, что справедливо для несимметричных объектов.

Согласно схеме реакции (1), изменение ротационной энтропии будет иметь вид:

$$\Delta S_{rot}^i = S_{rot}^{L^i N} - S_{rot}^{L^{i-1} N} - S_{rot}^L, \quad (9)$$

Запишем выражения для определения $S_{rot}^{L^i N}$, $S_{rot}^{L^{i-1} N}$ и S_{rot}^L :

$$\begin{aligned} S_{rot}^{L^i N} &= R \left(\frac{3}{2} + \frac{1}{2} \ln \pi I_x^{L^i N} I_y^{L^i N} I_z^{L^i N} + \frac{3}{2} \ln \frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) \\ S_{rot}^{L^{i-1} N} &= R \left(\frac{3}{2} + \frac{1}{2} \ln \pi I_x^{L^{i-1} N} I_y^{L^{i-1} N} I_z^{L^{i-1} N} + \frac{3}{2} \ln \frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right), \\ S_{rot}^L &= R \left(\frac{3}{2} + \frac{1}{2} \ln \pi I_x^L I_y^L I_z^L + \frac{3}{2} \ln \frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) \end{aligned} \quad (10)$$

где I_x^L, I_y^L, I_z^L ; $I_x^{L^i N}, I_y^{L^i N}, I_z^{L^i N}$ – моменты инерции относительно главных осей молекулы лиганда и комплекса лиганд-ДНК, соответственно. Дальнейший анализ требует вывода формул для моментов инерции i :НК комплексов в явном виде.

Молекулу ДНК можно представить в виде жесткого стержня длиной L и массой M_N . Запишем формулу для определения моментов инерции ДНК относительно ее главных осей:

$$I_x^N = I_y^N = \frac{1}{12} M_N L^2 = \frac{1}{12} m_1 d^2 N^3, \quad I_z^N = I_z^1 N, \quad (11)$$

где d – расстояние между парами оснований вдоль оси z , I_z^1 – момент инерции пары оснований относительно оси z .

Моменты инерции комплекса i :НК определим как сумму момента инерции несвязанной лигандом молекулы ДНК и среднего момента инерции лигандов, которые могут произвольным образом распределяться по всей длине нуклеотидной последовательности:

$$I_x^{L^i N} = I_x^N + \langle I_x^{L^i} \rangle, \quad I_y^{L^i N} = I_y^N + \langle I_y^{L^i} \rangle, \quad I_z^{L^i N} = I_z^N + \langle I_z^{L^i} \rangle. \quad (12)$$

Поскольку лиганд может занимать любой из N доступных для интеркаляции сайтов с одинаковой вероятностью, то его средний момент инерции можно представить в виде:

$$\begin{aligned} \langle I_x^{L^1} \rangle &= 2 \frac{1}{\frac{N}{2} d} \int_0^{\frac{N}{2} d} (I_x^L + m_L l^2) dl = 2 I_x^L + \frac{1}{6} m_L (Nd)^2 \\ \langle I_y^{L^1} \rangle &= 2 I_y^L + \frac{1}{6} m_L (Nd)^2 \\ \langle I_z^{L^1} \rangle &= I_z^L. \end{aligned} \quad (13)$$

Для случая i интеркалированных лигандов:

$$\begin{aligned} \langle I_x^{L^i} \rangle &= i \cdot \langle I_x^{L^1} \rangle = 2i I_x^L + \frac{1}{6} i m_L (Nd)^2 \\ \langle I_y^{L^i} \rangle &= i \cdot \langle I_y^{L^1} \rangle = 2i I_y^L + \frac{1}{6} i m_L (Nd)^2 \\ \langle I_z^{L^i} \rangle &= i I_z^L. \end{aligned} \quad (14)$$

Уравнения (11) и (14) подставим в (12):

$$\begin{aligned} I_x^{L^i N} &= I_x^N + \langle I_x^{L^i} \rangle = \frac{1}{12} m_1 d^2 N^3 + 2i I_x^L + \frac{1}{6} i m_L (Nd)^2 \\ I_y^{L^i N} &= I_y^N + \langle I_y^{L^i} \rangle = \frac{1}{12} m_1 d^2 N^3 + 2i I_y^L + \frac{1}{6} i m_L (Nd)^2 \\ I_z^{L^i N} &= I_z^N + \langle I_z^{L^i} \rangle = I_z^1 N + i I_z^L. \end{aligned} \quad (15)$$

На основани (15) перепишем формулу (10):

$$S_{rot}^{L^i N} = R \left(\frac{3}{2} + \frac{3}{2} \ln \frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) + \frac{1}{2} R \ln \left[\pi \left(\frac{1}{12} m_1 d^2 N^3 + 2iI_x^L + \frac{1}{6} im_L (Nd)^2 \right) \times \right. \\ \left. \times \left(\frac{1}{12} m_1 d^2 N^3 + 2iI_y^L + \frac{1}{6} im_L (Nd)^2 \right) \cdot (I_z^1 N + iI_z^L) \right] \\ S_{rot}^{L^{i-1} N} = R \left(\frac{3}{2} + \frac{3}{2} \ln \frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) + \frac{1}{2} R \ln \left[\pi \left(\frac{1}{12} m_1 d^2 N^3 + 2(i-1)I_x^L + \frac{1}{6} (i-1)m_L (Nd)^2 \right) \times \right. \\ \left. \times \left(\frac{1}{12} m_1 d^2 N^3 + 2(i-1)I_y^L + \frac{1}{6} (i-1)m_L (Nd)^2 \right) \cdot (I_z^1 N + (i-1)I_z^L) \right] \\ S_{rot}^L = R \left(\frac{3}{2} + \frac{1}{2} \ln \pi I_x^L I_y^L I_z^L + \frac{3}{2} \ln \frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right)$$

Подставим данное выражение в формулу (9):

$$\Delta S_{rot}^i = -R \left(\frac{3}{2} + \frac{3}{2} \ln \left(\frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) \right) + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{\frac{1}{12} m_1 N^3 d^2 + 2iI_x^L + \frac{1}{6} im_L N^2 d^2}{\frac{1}{12} m_1 N^3 d^2 + 2(i-1)I_x^L + \frac{1}{6} (i-1)m_L N^2 d^2} \right] + \\ + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{\frac{1}{12} m_1 N^3 d^2 + 2iI_y^L + \frac{1}{6} im_L N^2 d^2}{\frac{1}{12} m_1 N^3 d^2 + 2(i-1)I_y^L + \frac{1}{6} (i-1)m_L N^2 d^2} \right] + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{I_z^1 N + iI_z^L}{I_z^1 N + (i-1)I_z^L} \right] - \frac{1}{2} R \ln (\pi I_x^L I_y^L I_z^L).$$

Преобразовывая данную формулу, приходим к выражению вида:

$$\Delta S_{rot}^i = -R \left(\frac{3}{2} + \frac{3}{2} \ln \left(\frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) \right) + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{N + 2i \frac{m_L}{m_1} + \frac{24iI_x^L}{m_1 (Nd)^2}}{N + 2(i-1) \frac{m_L}{m_1} + \frac{24(i-1)I_x^L}{m_1 (Nd)^2}} \right] + \\ + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{N + 2i \frac{m_L}{m_1} + \frac{24iI_y^L}{m_1 (Nd)^2}}{N + 2(i-1) \frac{m_L}{m_1} + \frac{24(i-1)I_y^L}{m_1 (Nd)^2}} \right] + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{I_z^1 N + iI_z^L}{I_z^1 N + (i-1)I_z^L} \right] - \frac{1}{2} R \ln (\pi I_x^L I_y^L I_z^L). \quad (16)$$

В случае полимерной ДНК ($N \rightarrow \infty$):

$$\Delta S_{rot}^{poly} = -R \left(\frac{3}{2} + \frac{3}{2} \ln \left(\frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) \right) - \frac{1}{2} R \ln (\pi I_x^L I_y^L I_z^L). \quad (17)$$

Общее выражение для изменения свободной энергии с учетом потери трансляционных и ротационных степеней свободы при комплексообразовании.

Подставляя выражения (3),(6),(16) в (2), определим изменение свободной энергии при образовании комплекса i :НК:

$$\Delta G_{rot}^i = -3RT - T \left[-R \left(\ln \frac{V}{N_A} + 4 + \frac{3}{2} \ln \left(\frac{2\pi kT}{h^2} \right) + \frac{3}{2} \ln \left(\frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) \right) + \frac{3}{2} R \ln \left(\frac{1}{m_L} + \frac{1}{m_L(i-1) + m_1 N} \right) + \right. \\ + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{N + 2i \frac{m_L}{m_1} + \frac{24iI_x^L}{m_1 (Nd)^2}}{N + 2(i-1) \frac{m_L}{m_1} + \frac{24(i-1)I_x^L}{m_1 (Nd)^2}} \right] + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{N + 2i \frac{m_L}{m_1} + \frac{24iI_y^L}{m_1 (Nd)^2}}{N + 2(i-1) \frac{m_L}{m_1} + \frac{24(i-1)I_y^L}{m_1 (Nd)^2}} \right] + \\ \left. + \frac{1}{2} R \ln \left(\frac{I_z^1 N + iI_z^L}{I_z^1 N + (i-1)I_z^L} \right) - \frac{1}{2} R \ln (\pi I_x^L I_y^L I_z^L) \right]. \quad (18)$$

Для полимерной ДНК:

$$\Delta G_{\text{trot}}^{\text{poly}} = -3RT + T \left[R \left(\ln \frac{V}{N_A} + 4 + \frac{3}{2} \ln \frac{2\pi kT}{h^2} + \frac{3}{2} \ln \left(\frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) \right) + \frac{3}{2} R \ln(m_L) + \frac{1}{2} R \ln(\pi I_x^L I_y^L I_z^L) \right]. \quad (19)$$

Перепишем формулу (18) для случая, когда с молекулой ДНК связывается один лиганд ($i = 1$):

$$\Delta G_{\text{trot}}^{i=1} = -3RT - T \left[-R \left(\ln \frac{V}{N_A} + 4 + \frac{3}{2} \ln \left(\frac{2\pi kT}{h^2} \right) + \frac{3}{2} \ln \left(\frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) \right) + \frac{3}{2} R \ln \left(\frac{1}{m_L} + \frac{1}{m_1 N} \right) + \right. \\ \left. + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{N + 2 \frac{m_L}{m_1} + \frac{24 I_x^L}{m_1 (Nd)^2}}{N} \right] + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{N + 2 \frac{m_L}{m_1} + \frac{24 I_y^L}{m_1 (Nd)^2}}{N} \right] + \right. \\ \left. + \frac{1}{2} R \ln \left(\frac{I_z^L N + I_z^L}{I_z^L N} \right) - \frac{1}{2} R \ln(\pi I_x^L I_y^L I_z^L) \right]. \quad (20)$$

В случае если с ДНК связывается максимально возможное число лигандов ($i = N$):

$$\Delta G_{\text{trot}}^{i=N} = -3RT - T \left[-R \left(\ln \frac{V}{N_A} + 4 + \frac{3}{2} \ln \left(\frac{2\pi kT}{h^2} \right) + \frac{3}{2} \ln \left(\frac{8\pi^2 kT}{h^2} \right) \right) + \frac{3}{2} R \ln \left(\frac{1}{m_L} + \frac{1}{m_L (N-1) + m_1 N} \right) + \right. \\ \left. + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{N + 2N \frac{m_L}{m_1} + \frac{24 I_x^L}{m_1 Nd^2}}{N + 2(N-1) \frac{m_L}{m_1} + \frac{24(N-1) I_x^L}{m_1 (Nd)^2}} \right] + \frac{1}{2} R \ln \left[\frac{N + 2N \frac{m_L}{m_1} + \frac{24 I_y^L}{m_1 Nd^2}}{N + 2(N-1) \frac{m_L}{m_1} + \frac{24(N-1) I_y^L}{m_1 (Nd)^2}} \right] + \right. \\ \left. + \frac{1}{2} R \ln \left(\frac{I_z^L N + I_z^L N}{I_z^L N + I_z^L (N-1)} \right) - \frac{1}{2} R \ln(\pi I_x^L I_y^L I_z^L) \right]. \quad (21)$$

Зависимость свободной энергии комплексообразования ароматических интеркаляторов с ДНК от длины молекулы ДНК и числа связанных лигандов.

В настоящей работе исследовано комплексообразование ароматических биологически активных соединений: мутагенов профлавина (PF) и бромистого этидия (EB), противоопухолевых антибиотиков новатрона (NOV), дауномицина (DAU), ногаламицина ((NOG) и актиномицина D (AMD) с молекулой ДНК различной длины.

Выясним зависимость свободной энергии комплексообразования от числа лигандов, связанных с молекулой ДНК. Для этого, согласно формулам (20) и (21), рассчитаем разность свободных энергий комплексов при максимальном и минимальном заполнении ДНК лигандом. Анализ расчетных значений, представленных в таблице 1, позволяет заключить, что максимальная величина разброса расчетных значений свободных энергий $\Delta G_{\text{trot}}^{i=N} - \Delta G_{\text{trot}}^{i=1}$ для всех исследованных систем, обусловленная введением энтропийного фактора, становится равной или меньшей типичной погрешности экспериментального определения ΔG (~ 2 кДж/моль), начиная с соответствующих значений N в строках, выделенных в таблице 1 для каждого лиганда жирным. Это свидетельствует о том, что процесс заполнения ДНК лигандом перестает быть статистически значимым, следовательно, в анализе комплексообразования в системе лиганд-ДНК, начиная с 12-мера ДНК, можно использовать выражение (20) и 1:НК комплекс.

Таблица 1 – Разность величин свободных энергий комплексов N:НК и 1:НК

$\Delta G_{\text{trot}}^{i=N} - \Delta G_{\text{trot}}^{i=1}$, кДж/моль						
Комплекс	PF+ДНК	EB+ДНК	NOV+ДНК	DAU+ДНК	NOG+ДНК	AMD+ДНК
$N = 4$	0,8	1,5	2,4	2,5	3,8	5,6
$N = 6$	0,6	1,0	1,6	1,7	2,6	3,9
$N = 8$	0,4	0,8	1,2	1,3	2,0	3,1
$N = 10$	0,3	0,7	1,0	1,0	1,6	2,5
$N = 12$	0,3	0,6	0,8	0,9	1,3	2,1

Для анализа зависимости свободной энергии образования комплекса 1:НК от длины N молекулы ДНК рассчитаем разность энергий комплексов лиганд-полимерная ДНК и лиганд-ДНК при конечном N с использованием соотношений (19),(20). Из таблицы 2 следует, что разброс значений $\Delta G_{\text{trout}}^{\text{poly}} - \Delta G_{\text{trout}}^{i=1}$ по всем системам становится соизмеримым и меньшим экспериментальной погрешности 2 кДж/моль, начиная со значений N в строках, выделенных в таблице 2 для каждого лиганда жирным. Это означает, что выражение для свободной энергии полимерной ДНК (19) оказывается справедливым и для анализа связывания лигандов с короткими последовательностями молекул нуклеиновых кислот. В то же время разброс осредненного по всем лигандам значения $\langle \Delta G_{\text{trout}}^{\text{poly}} \rangle$ (таблица 3) сравним с разбросом аналогично осредненной экспериментальной энергией $\langle \Delta G_{\text{exp}} \rangle$. Следовательно, $\Delta G_{\text{trout}}^{\text{poly}}$ имеет статистически значимую зависимость от типа лиганда (его массы и моментов инерции) и ее расчет в энергетическом анализе комплексообразования лигандов с ДНК должен всегда проводиться в явном виде.

Таблица 2 – Разность величин свободных энергий комплексов лиганд-полимерная ДНК и комплекса лиганд-ДНК при конечном N

$\Delta G_{\text{trout}}^{\text{poly}} - \Delta G_{\text{trout}}^{i=1}$, кДж/моль						
Комплекс	PF-ДНК	ЕВ-ДНК	NOV-ДНК	DAU-ДНК	NOG-ДНК	AMD-ДНК
$N=4$	1,7	2,7	3,7	3,8	5,4	7,2
$N=6$	1,1	1,8	2,4	2,5	3,6	5,0
$N=8$	0,9	1,3	1,8	1,9	2,7	3,8
$N=10$	0,7	1,1	1,4	1,5	2,1	3,1
$N=12$	0,6	0,9	1,2	1,3	1,8	2,6
$N=14$	0,5	0,8	1,0	1,1	1,6	2,3

Таблица 3 – Расчетные значения энтропийной составляющей $\Delta G_{\text{trout}}^{\text{poly}}$ свободной энергии комплексообразования лигандов с полимерной ДНК

Комплекс	$\Delta G_{\text{trout}}^{\text{poly}}$, кДж/моль	ΔG_{exp} , кДж/моль
PF-ДНК	77,6	25,1 [6]
ЕВ-ДНК	83,0	39,8 [7]
NOV-ДНК	87,8	39,8 [8]
DAU-ДНК	87,7	37,7 [7]
NOG-ДНК	92,0	33,5 [9]
AMD-ДНК	95,8	39,8 [10]
Среднее	87,3±6,3	36,0±6,0

Выводы

В настоящей работе получено аналитическое выражение для оценки вклада потери трансляционных и ротационных степеней свободы молекул (ΔG_{trout}) в суммарную энергию комплексообразования в системе лиганд-ДНК. Проанализирована зависимость ΔG_{trout} от длины молекулы ДНК и числа связанных с ней лигандов. В целом, проведенные оценки позволяют утверждать о допустимости использования стандартной модели 1:НК комплексообразования и упрощенной формулы (19) для расчета ΔG_{trout} не только для полимерной ДНК, но и олигонуклеотидов. В то же время энергетический эквивалент потери трансляционных и ротационных степеней свободы вносит статистически значимый вклад в суммарную энергию комплексообразования, и должен учитываться при энергетическом анализе связывания лигандов с ДНК.

Перспективой дальнейших исследований является использование полученных в настоящей работе результатов для полного энергетического анализа процессов комплексообразования с ДНК различных классов лигандов.

Библиографический список использованной литературы

1. Pullman B. Molecular mechanisms of specificity in DNA-antitumor drug interactions / B. Pullman // *Advances in Drug Res.* — 1989. — Vol. 18. — P. 2–112.
2. Lohman T.M. Thermodynamics of ligand-nucleic acid interactions / T.M. Lohman, D.P. Mascotti // *Methods Enzymol.* — 1992. — Vol. 212. — P. 400–424.

3. Kostjukov V.V. Partition of thermodynamic energies of drug-DNA complexation / V.V. Kostjukov, N.M. Khomytova, M.P. Evstigneev // *Biopolymers*. — 2009. — Vol. 91. — P. 773–790.
4. Beshnova D.A. Profiles of equilibrium constants for self-association of aromatic molecules / D.A. Beshnova, A.O. Lantushenko, D.B. Davies [et al.] // *J. Chem. Phys.* — 2009. — Vol. 130. — P. 165105–165105-7.
5. Maczek A. *Statistical Thermodynamics* / A. Maczek. — Oxford: Oxford University Press, 1998. — 92 p.
6. Aslanoglu M. Electrochemical and Spectroscopic Studies of the Interaction of Proflavine with DNA / M. Aslanoglu // *Analyt. Sci.* — 2006. — Vol. 22. — P. 439–443.
7. Breslauer K.J. Enthalpy-entropy compensations in drug-DNA binding studies / K.J. Breslauer, D.P. Remeta, W.-Y. Chou // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1987. — Vol. 84. — P. 8922–8926.
8. Wang S. Investigation on the interaction of DNA and electroactive ligands using a rapid electrochemical method / S. Wang, T. Peng, C. F. Yang // *J. Biochem. Biophys. Methods*. — 2003. — Vol. 55. — P. 191–204.
9. Piehler J. Label-free monitoring of DNA–Ligand interactions / J. Piehler, A. Brecht, G. Gauglitz // *Analyt. Biochem.* — 1997. — Vol. 249. — P. 94–102.
10. Cheng F.-M. Binding of Actinomycin D to single-stranded DNA of sequence motifs d(TGTCT_nG) and d(TGT_nGTCT) / F.-M. Cheng, F. Sha, K.-Sh.Chin [et al.] // *Biophysical J.* — 2003. — Vol. 84. — P. 432–439.

Поступила в редакцію 18.05.2010 г.

Бешнова Д.О. Залежність вільної енергії комплексоутворення лігандів з днк від довжини молекули днк та кількості зв'язаних лігандів

У даній роботі запропоновано методику оцінки внеску трансляційних і ротаційних ступенів свободи молекул у сумарну енергію комплексоутворення ароматичних інтеркаляторів з ДНК. Запропонований в роботі підхід дозволив вперше проаналізувати залежність вільної енергії Гіббса від розміру молекули ДНК і кількості зв'язаних з решіткою лігандів з урахуванням внеску факторів ентропійної природи.

Ключові слова: трансляційні та ротаційні ступені свободи, комплексоутворення.

Beshnova D.A. Dependence of free energy of ligand-dna complexation on the DNA length and number of bound ligands

A method for estimating the contribution of loss of translational and rotational degrees of freedom to the total energy of complexation of aromatic intercalators with the DNA is developed in this work. The suggested approach has enabled to analyze, for the first time, the dependence of the Gibb's free energy from the length of the DNA molecule and the number of lattice-bound ligands taking into account the contribution of entropic factors.

Keywords: translational and rotational degrees of freedom, complexation.

