

P19-2009-81

Х. Т. Холмуродов^{1,2,*}, О. Н. Медведкина², С. А. Муравьева²,
А. С. Чулкова², Н. А. Шастова²

МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НАНОКЛАСТЕРОВ ЗОЛОТА
С ФРАГМЕНТОМ ДНК
В ГЕКСАГОНАЛЬНОЙ ГЕОМЕТРИИ

Направлено в журнал «Российские нанотехнологии»

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

²Международный университет природы, общества и человека «Дубна»,
Дубна

*E-mail: mirzo@jinr.ru

Холмуродов Х. Т. и др.

P19-2009-81

Молекулярно-динамическое моделирование взаимодействия нанокластеров золота с фрагментом ДНК в гексагональной геометрии

Целью настоящей работы является оценка динамических конформационных изменений в системе ДНК + наночастицы золота при различных напряженностях кулоновских полей вокруг цепочки ДНК, создаваемых в процессе формирования нанокластеров. МД-моделирование процессов взаимодействия ДНК с наночастицами золота проводилось в водном растворе. Вычислены диффузионные коэффициенты и построены анимационные картинки динамических процессов. Получены структурные функции радиального распределения атомов ДНК, взаимодействующих с частицами золота.

Работа выполнена в Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна, 2009

Kholmurodov Kh. T. et al.

P19-2009-81

Molecular Dynamics Simulations of Interactions of Gold Nanoparticles with DNA Fragment under Hexagonal Geometry

The analysis of molecular dynamics (MD) of interactions of gold nanoparticles with a DNA fragment under hexagonal geometry has been carried out. The aim of the present work was to estimate the dynamical conformation changes in the system of DNA + gold nanoparticles for the various strength of Coulomb field around the DNA molecule, created in the process of nanocluster formation. The MD simulation of the interaction processes of DNA chain with gold nanoparticles has been carried out in water solution. The diffusion coefficients are calculated and the animation pictures of the dynamical conformation changes are obtained. The structural radial distribution functions have been built for the DNA atoms interacting with gold nanoparticles.

The investigation has been performed at the Laboratory of Radiation Biology, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna, 2009

ВВЕДЕНИЕ

В современной медицине золото применяется для диагностики и лечения онкологических заболеваний. Помимо достаточно распространенной химиотерапии, в которой используются коллоидные растворы нанозолота, сегодня существует совершенно новый современный метод, которым предусмотрено введение в опухолевую ткань микроскопических золотых нанокапсул и воздействие на них инфракрасными лучами или СВЧ-излучением [1–3]. После введения в организм препарата наночастицы золота оседают на раковых клетках. Тогда на них воздействуют СВЧ-излучением. Золото — хороший теплопроводник, и клетки нагреваются в тысячу раз быстрее здоровых тканей. Таким образом, злокачественное образование разрушается. Важно отметить, что только раковые клетки погибают, а здоровая ткань остается неповрежденной. Действие излучения при этом составляет одну миллиардную долю секунды, и вносимая энергия такова, что когда она проходит по здоровым клеткам, они не нагреваются. Наночастицы золота и их конъюгаты с антигенами способны влиять на функциональное состояние животных клеток: стимулировать дыхательную активность макрофагов и работу митохондриальных ферментов. Разработаны технологии получения наночастиц благородных металлов с плазмонным резонансом, биоконъюгаты которых с узнающими молекулами-зондами могут быть основой для биоспецифических меток, превосходящих по оптическим характеристикам флуоресцентные в геномных биочипах [4–6].

На протяжении ряда лет радиобиологи Объединенного института ядерных исследований (ОИЯИ), Дубна, развивают методы так называемой мишенной терапии рака, то есть использования специфических носителей, которые бы избирательно связывались с раковыми клетками, доставляя туда вещества, повреждающие эти клетки. Ими могут быть радионуклиды, которые имитируют различные ионизирующие частицы (бета или альфа), либо лекарственные средства, которые такими носителями доставляются непосредственно к раковым клеткам (например, клеткам меланомы — пигментная меланома человека). Созданы соединения с радионуклидом (который, естественно, получается на ускорителе) — астатом-211, являющимся чистым излучателем. И альфа-частицы, обладающие высокой поражающей способностью, селективно доставлялись этими носителями в раковые клетки и повреждали их.

Подход с использованием драгоценных наночастиц и СВЧ-излучения, в отличие от других методов лечения раковых заболеваний, позволит излечиться с меньшими потерями для организма [7].

В настоящей работе проведено молекулярно-динамическое (МД) моделирование процессов взаимодействия нанокластеров золота с фрагментом ДНК. ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) хорошо известна как молекула, несущая в себе всю генетическую информацию, необходимую для построения и функционирования живого организма. Объем содержащейся информации определяет необычайно большую длину цепи ДНК — 3 м, а помещается она в клетку только потому, что очень тонкая, ее диаметр всего $2 \cdot 10^{-9}$ м. Уже разработаны способы манипуляции атомами и нанокластерами некоторых металлов, магнетиков и полупроводников с использованием молекул ДНК. Характерное свойство нанокристаллов полупроводников — интенсивная люминесценция в ответ на облучение с определенной частотой. Поскольку опухоли выращивают дополнительные кровеносные сосуды и система этих сосудов очень пористая и разветвленная, нанокристаллики накапливаются в основном в них и люминесценция пораженных участков существенно сильнее. Такой процесс визуализации злокачественного образования называют пассивным. Другой путь — активный — использует нанокластеры, химически связанные с биологическими молекулами типа антител, пептидов, белков или ДНК. В этом случае нанокластеры активно накапливаются именно в опухоли, фиксируя ее местоположение [3–9].

Молекулярные механизмы и процессы взаимодействия наночастиц с ДНК или белковыми структурами с учетом вышеизложенного — исключительно важная и в то же время малоизученная область исследований. Целью настоящей работы является оценка молекулярной динамики конформационных изменений в системе ДНК + наночастицы золота при различных напряженностях кулоновских полей вокруг цепочки ДНК и условиях формирования нанокластеров. МД-моделирование процессов взаимодействия ДНК с наночастицами золота проводилось в водном растворе. Вычислены диффузионные коэффициенты и построены анимационные картинки динамических процессов. Построены структурные функции радиального распределения цепочки ДНК с атомами золота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данной работе моделировался фрагмент ДНК в активном растворе из частиц золота и воды. Равновесная конфигурация молекулярной системы ДНК + наночастицы золота + вода приведена на рис. 1, *а, б*. Для МД-моделирования использовали программный пакет DL_POLY, разработанный группой молекулярного моделирования в Лаборатории Даресбари, Англия, для моде-

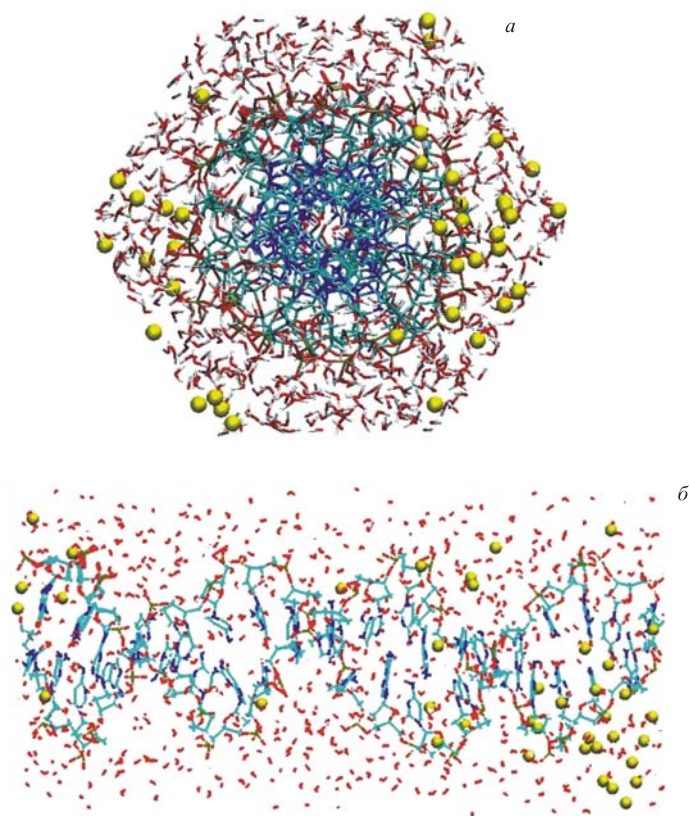


Рис. 1. Конфигурация молекулы ДНК в растворе воды с частицами золота (*a* — вид сверху, *б* — вид сбоку)

лирования конденсированных фаз (проект CCP5). Код DL_POLY представляет собой программный пакет многоцелевого назначения для МД-расчетов; его авторами являются У. Смит, Т. Р. Форестор и И. Т. Тодоров [10]. Мы использовали версию 2.19 кода DL_POLY, а начальная геометрия молекулы ДНК задана согласно конфигурациям из базы данных пакета (http://www.cse.scitech.ac.uk/ccg/software/DL_POLY/). Начальная конфигурация исходной системы была построена с помощью встроенного интерфейса пакета DL_POLY, содержащего множество утилит для визуализации и анализа результатов.

Начальная конфигурация молекулярной системы ДНК + раствор (водная среда + частицы золота) релаксировалась при граничных условиях гексагональной призмы по пространственным направлениям. Процесс МД-вычисления начинается после доведения системы до энергетически минимизирован-

ных состояний при $T = 300$ К. Для контроля значения температуры системы в течение всего процесса моделирования (от десяти до сотен тысяч шагов по времени) был применен термостат Нозэ–Хувера (NVT-ансамбль); параметр релаксации термостата — 0,05 пс [10, 11]. Шаг интегрирования ньютоновских уравнений движения равен 1 фс. Вычисления длин химических связей молекул проводились на базе алгоритма Shake с точностью 10^{-8} . В МД-моделировании число атомов в молекуле ДНК было равно 1260; топология силового поля ДНК учитывает все ее возможные химические связи (ординарные и двойные, угловые и торсионные (дигедральные)). Молекула воды представляет собой 3-сайтовое жесткое тело; общее число атомов водного раствора равно примерно 1000, а число атомов золота было равно 40.

Полная конфигурационная энергия МД-модели представляет собой сумму внутримолекулярной валентной энергии $E_{\text{вал}}$ и энергии невалентных взаимодействий $E_{\text{нв}}$:

$$E = E_{\text{вал}} + E_{\text{нв}}.$$

При этом энергия валентных взаимодействий $E_{\text{вал}}$ задается соотношением

$$E_{\text{вал}} = E_{\text{вмс}} + E_{\text{угл}} + E_{\text{торс}} + E_{\text{инв}},$$

где $E_{\text{вмс}}$ — энергия внутримолекулярной связи, $E_{\text{угл}}$ — энергия угловой связи, $E_{\text{торс}}$ — торсионная энергия и $E_{\text{инв}}$ — инверсионная энергия, а энергия невалентных взаимодействий состоит из вандерваальсовой (ВДВ), электростатической и энергии водородных связей:

$$E_{\text{нв}} = E_{\text{ВДВ}} + E_{\text{эл}} + E_{\text{вс}}.$$

Активный раствор из воды и добавленных нами атомов золота подвергался различным условиям моделирования с варьированием при этом эффектов кулоновских взаимодействий для атомов золота. МД-моделирование проводилось при всех допустимых значениях зарядового числа (q) золота от 0 до 1 с шагом 0,1 (см. табл. 1).

В табл. 1 приведены значения массы и заряда частиц, используемых в МД-моделировании. Здесь $m_e = 1,66 \cdot 10^{-27}$ кг — атомная единица массы (а. е. м.), $e = 1,6 \times 10^{-19}$ Кл — заряд протона.

В МД-моделировании был использован потенциал, описывающий силовое поле молекулы ДНК в активном растворе: потенциал вандерваальсовых взаимодействий был выбран как 12-6. Параметры взаимодействия и функциональные формы потенциалов приведены в табл. 2.

При компьютерном МД-моделировании рассматривалась динамика системы при NVT-ансамбле. При данном ансамбле энергия системы оставалась постоянной. Изначально температура была задана, и при данном ансамбле она не возрастает, а колеблется вокруг заданного значения — 300 К. Энергия

Таблица 1. Значения массы и заряда частиц в системе ДНК–раствор

Атом	Массовое число (m_e , а.е.м.)	Зарядовое число q (e , заряд протона)
P3	3,97380	1,16590
O2	15,99940	-0,77610
C3	12,01100	-0,00690
H	1,00800	0,07540
N2	14,00670	-0,57250
Au	196,9665	0,1; 0,2, ..., 1

Таблица 2. Функциональная форма и параметры потенциала для атомных пар

Атомная пара	Потенциал	Функциональная форма	Параметры	A	B
P3–Au	12-6	$U(r) = \left(\frac{A}{r^{12}}\right) - \left(\frac{B}{r^6}\right)$	A, B	607263,0	537,753
O2–Au				49906,7	117,423
C3–Au				233167,0	242,343
H–Au				32513,3	57,9368
N2–Au				184346,0	199,084

системы сохраняется в течение всего процесса моделирования (от десяти до сотен тысяч шагов по времени) в ансамбле NVT. Для вычисления электростатических взаимодействий был применен так называемый алгоритм SPME (Smoothed Particle Mesh Ewald) [11], который является модификацией стандартного метода Эвалда для вычисления электростатических (кулоновских) сил. Граничные условия гексагональной призмы и электростатических взаимодействий по методу SPME использованы с точностью 10^{-6} . Результаты моделирования и трехмерные изображения молекулярной системы анализировали с помощью программных пакетов VMD [12] и MOLMOL [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние кулоновских полей, создаваемых частицами золота вокруг цепочки ДНК, изучалось путем варьирования зарядового числа атомов золота в пределах от $q = 0$ (нейтральные частицы золота) до $q = 1$ (заряженные частицы золота) с шагом по заряду 0,1 в единицах заряда протона. Расчеты выполнялись на коротких шкалах времен в NVE-ансамбле (несколько десятков тысяч шагов по времени) и на субнаносекундном интервале (сотни тысяч шагов) с контролем температуры системы в фиксированном физиологическом значении.

Динамика при различных кулоновских полях (NVE-ансамбль)

На рис. 2 *a, б* представлены значения температуры и полной энергии системы для зарядовых чисел $q = 0, 0,1, 0,2, \dots, 1$ атомов золота. Пунктирными линиями для сравнения на рис. 2, *a, б* приведены результаты расчетов без атомов золота, лишь ДНК + водный раствор. После стадии релаксации системы (1000 шагов по времени) все кривые температуры-энергии выходят на прямые, что свидетельствует о достижении системы равновесных состояний. Далее, из рис. 2, *a, б* видно, что варьирование значений зарядового числа атомов зо-

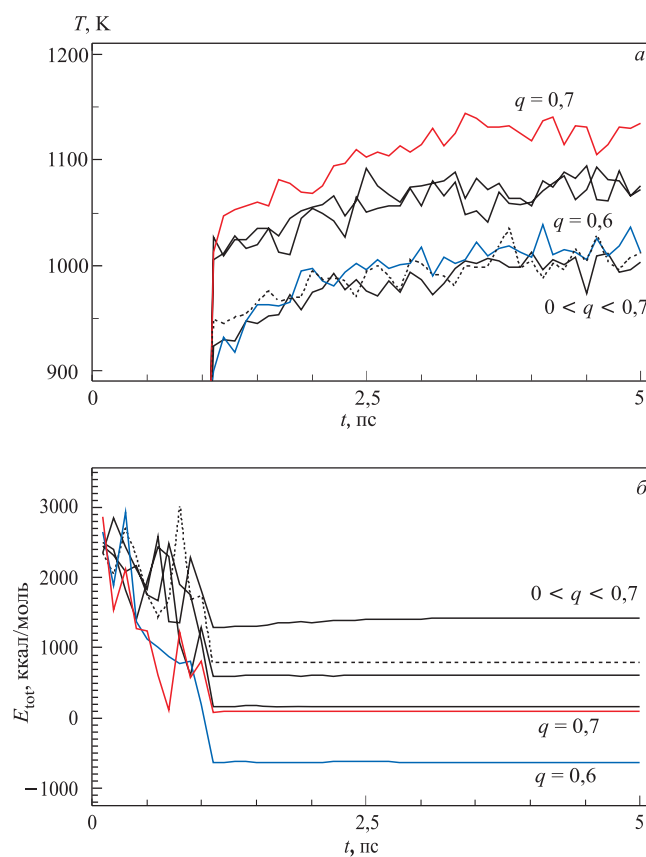


Рис. 2. Температура (*a*) и полная энергия (*б*) системы для различных значений зарядового числа молекул раствора (ансамбль NVE)

лота приводит к существенному изменению полной энергии системы, причем около значений $q = 0,7$ мы наблюдаем порог. Этот порог связан с насыщением вклада кулоновского потенциала в полную энергию системы; значение $q = 0,7$ разумно отождествлять в молекулярно-динамическом отношении с оптимальным зарядом наночастиц золота. На базе результатов рис. 2, *a, б* дальнейшие расчеты выполнялись в более длинных шкалах времен с контролем температуры системы.

Динамика в субнаносекундном интервале (NVT-ансамбль)

Динамика температуры и полной энергии системы. На рис. 3, *a, б* представлены значения температуры и полной энергии системы при значениях $q = 0,1$ и $0,7$ зарядового числа, варьирующей силовое кулоновское поле вокруг молекулы ДНК и водного раствора. На рис. 3, *a* хорошо видно, что температура системы отвечает строго одному и тому же фиксированному зна-

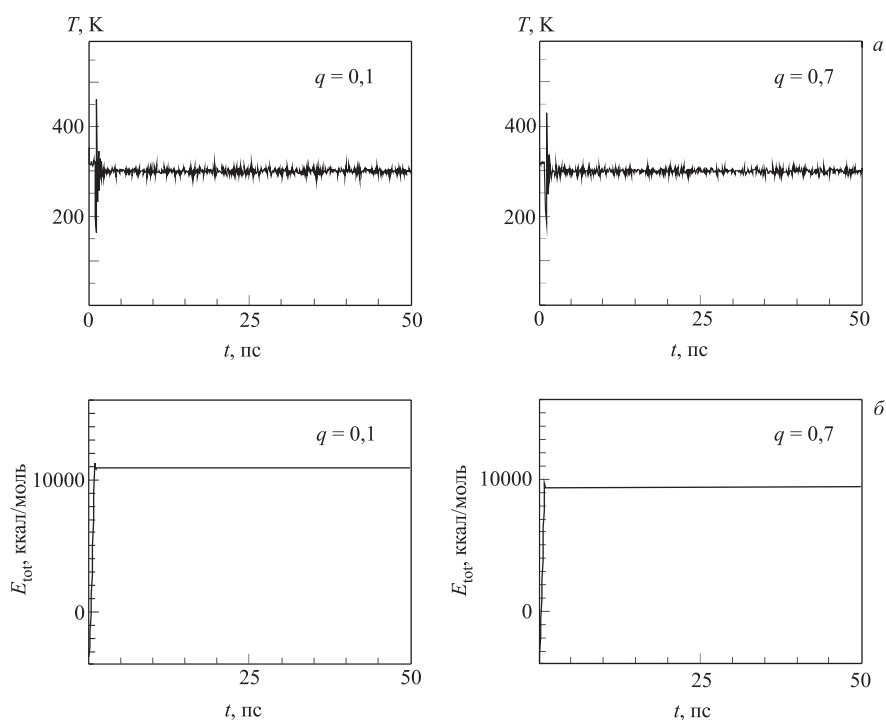


Рис. 3. Температура (*a*) и полная энергия (*б*) системы для различных значений зарядового числа молекул раствора в субнаносекундном интервале (ансамбль NVT)

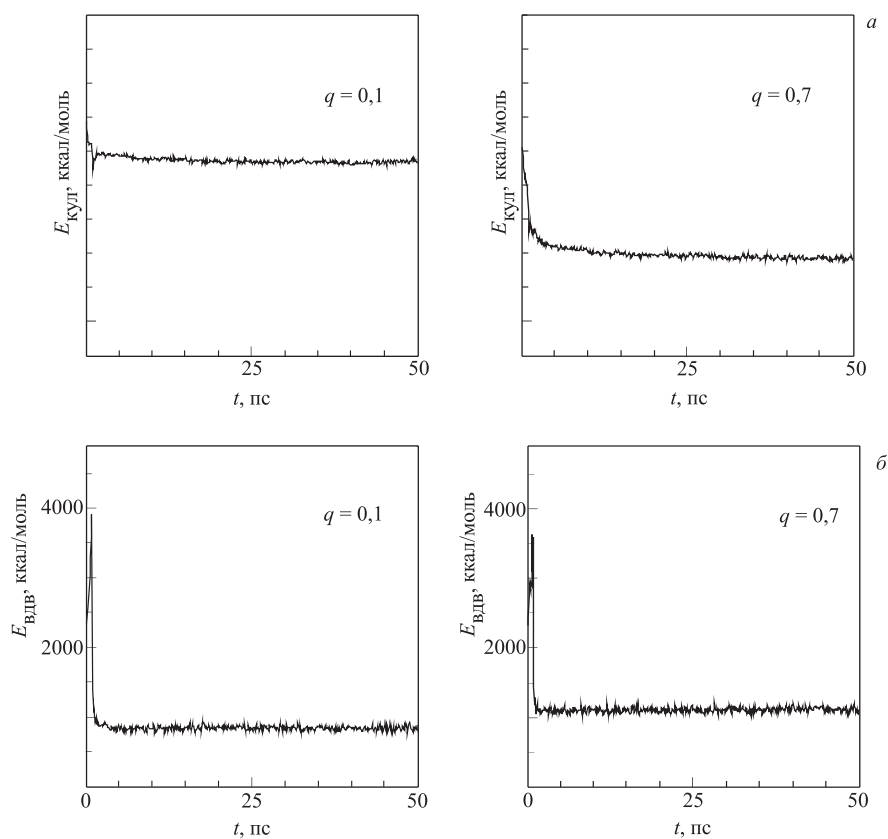


Рис. 4. Энергия несвязанных кулоновских (а) и вандерваальсовых (б) взаимодействий

чению $T = 300$ К; при этом мы имеем разные равновесные значения полной энергии. Данные рис. 3, б указывают на возрастание вклада электростатических взаимодействий в полную энергию системы.

Энергия несвязанных (кулоновских и ВДВ) взаимодействий. Результаты расчетов для энергии несвязанных (кулоновских и вандерваальсовых) взаимодействий представлены на рис. 4, а, б. На рис. 4, а мы отчетливо наблюдаем существенное изменение энергии кулоновских полей с ростом зарядового числа атомов золота. С другой стороны, эти изменения приводят к перестройке вандерваальсовых взаимодействий в системе. Несмотря на слабость этого эффекта (ср. рис. 4, а, б) сам факт корреляции кулоновских и вандерваальсовых взаимодействий является существенно важным в смысле динамических изменений на длительном интервале конформационных перестроек биологических структур.

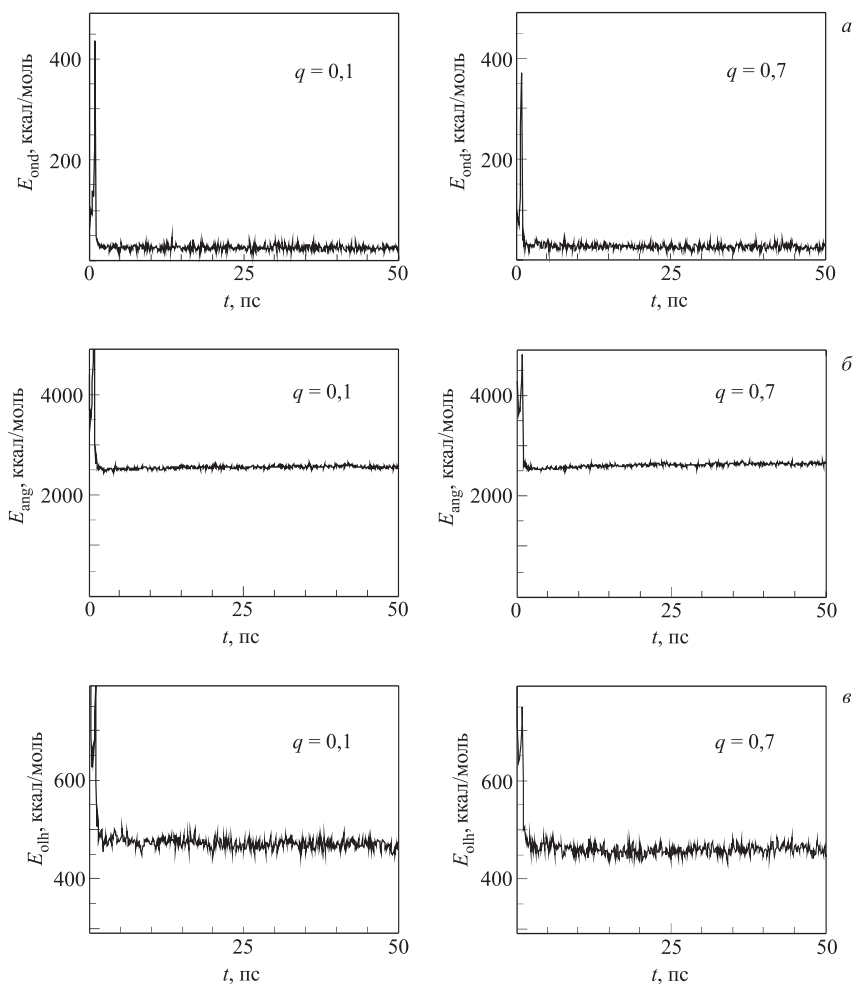


Рис. 5. Энергия валентных химических связей (а), угловых (б) и дигедральных (в) взаимодействий

Энергия валентных (химических связей, угловых и торсионных (дигедральных) взаимодействий). На рис. 5, а–в приведены результаты по связанным валентным взаимодействиям при изменении кулоновского потенциала (зарядового числа) атомов золота. Нетрудно видеть, что почти все три типа энергии (валентных химических связей (а), угловых (б) и дигедральных (в) взаимодействий) не подвержены каким-нибудь заметным изменениям. Данный факт говорит о том, что структура ДНК даже при сильных электрических по-

лях сохраняет химические связи. Скорее всего, это свидетельствует о строгой упорядоченности внутренней структуры молекулы ДНК. Усиление кулоновских полей может привести лишь к конформационным изменениям молекулы ДНК, а не к разрыву самой цепочки или к образованию химических связей.

Коэффициент диффузии. В табл.3 представлены значения параметров коэффициента диффузии для различных атомов при соответствующих потенциалах. С ростом кулоновского потенциала (зарядового числа атомов золота) коэффициент диффузии для атомов цепочки ДНК увеличивается, что подчеркивает ее значительные конформационные перестройки. Следует отметить, что подобные изменения могут свидетельствовать о переходе вещества в другую фазу. С другой стороны, для атомов золота наблюдается другая зависимость: с увеличением кулоновского потенциала их коэффициент диффузии уменьшается. Это объясняется тем, что атомы золота начинают вступать в сильные взаимодействия с молекулой ДНК и плотно окружают ее. Результаты для наглядности представлены на рис. 6.

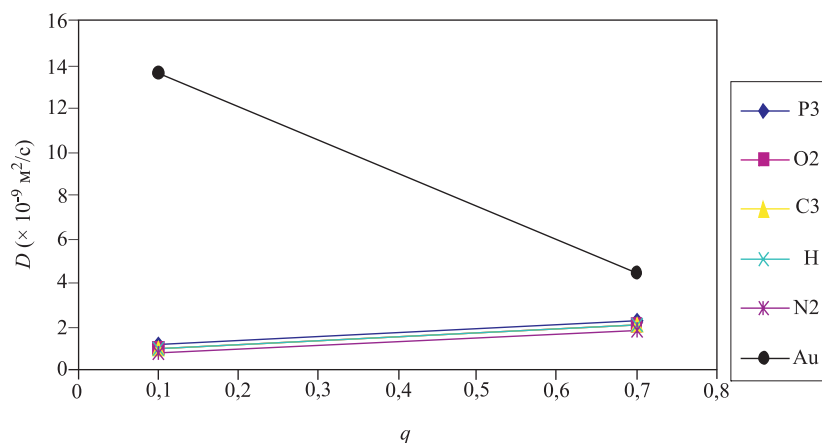


Рис. 6. График зависимости коэффициента диффузии от потенциала

Таблица 3. Значение коэффициентов диффузии при значениях $q = 0,1$ и $0,7$

Атом	Коэффициент диффузии, $D(\times 10^{-9} \text{ м}^2), q = 0,1$	Коэффициент диффузии, $D(\times 10^{-9} \text{ м}^2), q = 0,7$
P3	1,2293	2,2337
O2	0,9923	2,0295
C3	0,9845	2,0482
H	1,0023	2,0116
N2	0,7880	1,8165
Au	13,577	4,4322

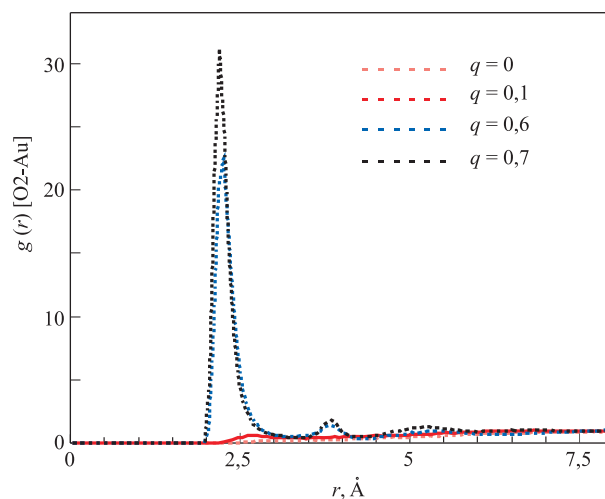


Рис. 7. График функций радиального распределения пары атомов O2-Au в зависимости от зарядового числа q

Функция радиального распределения. Центральную роль в молекулярном моделировании играет функция радиального распределения (ФРР). Она измеряет, как атомы организуют себя около других атомов, и она пропорциональна вероятности нахождения двух атомов, разделенных расстоянием $r \pm Dr$. Поведение ФРР зависит от состояния вещества (плотности и температуры). Отметим, что график ФРР для жидкостей имеет промежуточный вид между тем, что характерно для кристаллов, и тем, что — для газов; для жидкости появляются второй и третий пики, и они выглядят более сглаженными. Для твердых тел график ФРР имеет вид ломаных кривых; для газов — вид одного широкого плато.

По результатам МД-моделирования для ДНК в активном растворе из наночастиц золота и воды были построены графики функций радиального распределения для нескольких ключевых атомных пар в системе ДНК–золото. На рис. 7 представлен график ФРР (функций радиального распределения) для атомной пары O2-Au в зависимости от зарядового числа q . На графике с увеличением зарядового числа атомов золота с $q = 0,1$ до $0,7$ мы наблюдаем резкое увеличение амплитудного пика ФРР. Иными словами, происходит активное взаимодействие атомов золота с молекулой ДНК. С ростом кулоновских полей (зарядовых чисел атомов золота), создаваемых атомами золота вокруг цепочки ДНК, возникают четко очерченные вторые и третьи пики в графике ФРР. Возникновение дополнительных пиков ФРР (структурной упорядоченности) подтверждает вычисления и для остальных атомных пар в

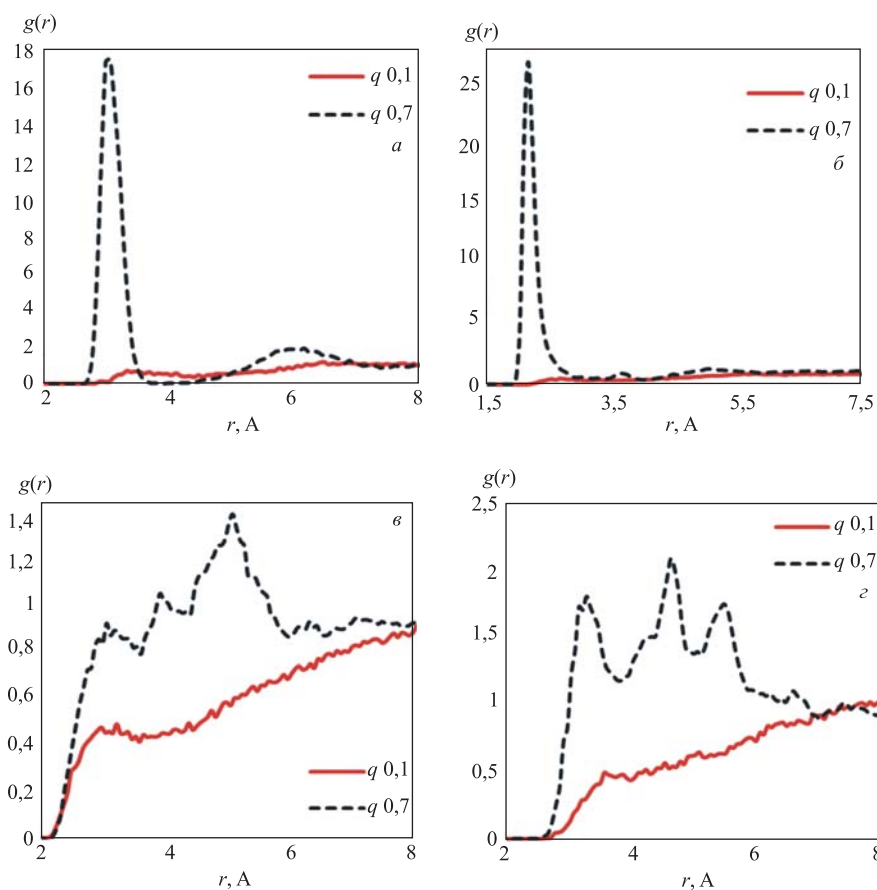


Рис. 8. График функции радиального распределения атомов при $q = 0,1$ и $0,7$ для пар а) P3-Au, б) O2-Au, e) H-Au, з) C3-Au

системе ДНК-золото. Рис. 8, а, б иллюстрируют зависимости ФРР для $q = 0,1$ и $0,7$ по нескольким выборочным атомным парам: а) P3-Au, б) O2-Au, e) H-Au и з) C3-Au. Нетрудно видеть, что результаты для ФРР при значении зарядового числа $q = 0,1$ значительно отличаются от результатов при $q = 0,7$. Значительное изменение параметра кулоновского взаимодействия полностью изменяет структуру системы.

На рис. 9 и 10 представлены последовательные конфигурации (snapshots), построенные соответственно для $q = 0,1$ и $0,7$ при временах $t = 0$ (а), $t = 25$ пс (б) и $t = 50$ пс (e). Стартовав с совершенно одинаковых состояний (см. рис. 9, а и 10, а) мы, тем не менее, имеем для цепочки ДНК и распреде-

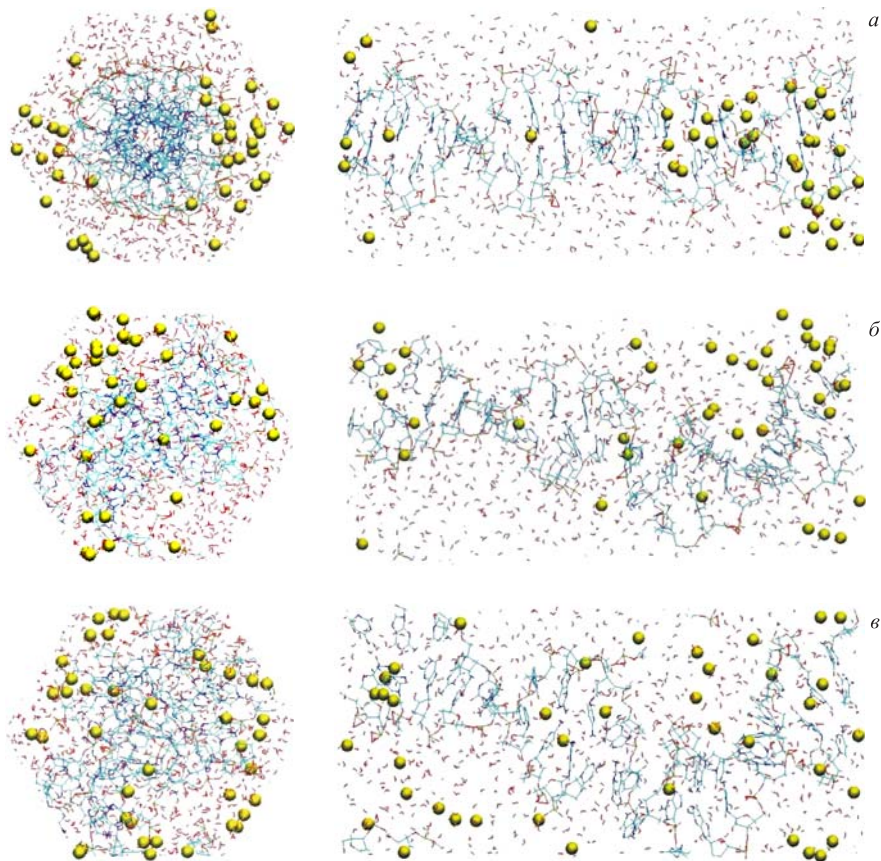


Рис. 9. Три последовательные конфигурации системы при $q = 0,1$ (вид сверху — слева, вид сбоку — справа); а) $t = 0$, б) $t = 25$ пс, в) $t = 50$ пс

ления атомов золота разные финальные конфигурации. На рис. 9, в ($q = 0,1$) видно, что атомы золота в итоге распределяются вокруг молекулы ДНК почти равномерно и однородно, что свидетельствует об отсутствии каких-нибудь эффективных обменов; в то же время противоположную картину демонстрирует рис. 10, в ($q = 0,7$). Эти результаты коррелируются с данными по ФРП, описанными выше; а именно, при сильных кулоновских полях мы имеем сильную упорядоченность в структуре молекулы ДНК. Более того, это приводит к «компактной упаковке» цепочки ДНК вокруг ее оси. Таким образом, мы имеем четкую картину процесса кластеризации атомов золота вокруг молекулы ДНК, управляющего конформационными структурными изменениями в системе.

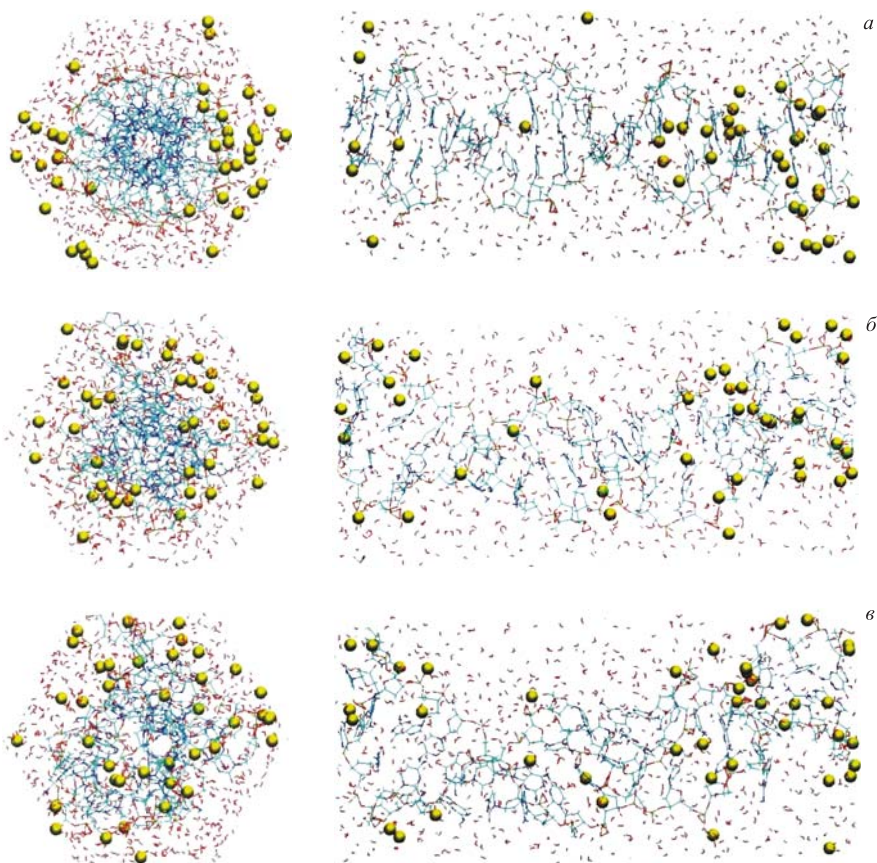


Рис. 10. Три последовательные конфигурации системы при $q = 0,7$ (вид сверху — слева, вид сбоку — справа); а) $t = 0$, б) $t = 25$ пс, в) $t = 50$ пс

ЛИТЕРАТУРА

1. *Стид Дж. В., Этвуд Дж. Л.* Супрамолекулярная химия. В 2-х т. М.: Академкнига, 2007.
2. *Штыков С. Н., Русанова Т. Ю.* Наноматериалы и нанотехнологии в химических и биохимических сенсорах: возможности и области применения // Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). 2008. Т. LI, № 2. С. 92–100.
3. *Zharov V. P., Letfullin R. R., Galitovskaya E. N.* // J. Phys. D: Appl. Phys. 2005. V. 38. P. 2571.

4. *Zharov V., Kim J., Curiel D., Everts M.* Self-Assembling Nanoclusters in Living Systems: Application for Integrated Photothermal Nanodiagnostics and Nanotherapy // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. V. 1, Issue 4. P. 326–345.
5. *Emily S.* A Novel Nanosensor Could Be Used for Skin-Based Glucose Sensing. *Technology Review*, Published by MIT, January 26, 2009; <http://www.technologyreview.com/biomedicine/22014/>
6. Российский электронный нано журнал, 25.05.2009; http://nanojournal.ru/events.aspx?cat_id=223&d_no=1192
7. *Красавин Е. А.* Радиационная биология ускоренных тяжелых ионов // Международная конференция «Чтения, посвященные В. И. Корогодину и В. А. Шевченко», Дубна–Москва, 12–13 января 2009 г.
8. *Филлипович Ю. Б.* Основы биохимии. М.: Высшая школа, 1985.
9. *Рубин А. Б.* Биофизика. М.: Выш. шк., 1987.
10. *Smith W., Forester T.* // *J. Molec. Graphics*. 1996. V. 14, No. 136. P. 3.
11. *Smith W., Forester T. R., Todorov I. T.* THE DL POLY 2 USER MANUAL, STFC Daresbury Laboratory Daresbury, Warrington WA4 4AD Cheshire, UK, Version 2.19, April 2008.
12. *Humphrey W., Dalke A., Schulten K.* VMD — Visual Molecular Dynamics // *J. Molec. Graphics*. 1996. V. 14, No. 1. P. 33–38.
13. *Koradi R., Billeter M., Wuthrich K.* MOLMOL: a Program for Display and Analysis of Macromolecular Structures // *J. Molec. Graphics*. 1996. V. 14, P. 51–55.

Получено 1 июня 2009 г.

Редактор *М. И. Зарубина*

Подписано в печать 19.08.2009.

Формат 60 × 90/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 1,12. Уч.-изд. л. 1,39. Тираж 220 экз. Заказ № 56690.

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований
141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6.

E-mail: publish@jinr.ru

www.jinr.ru/publish/