



## تعیین انرژی آزاد انحلال نوکلئوبازهای پیریمیدینی و پورینی به روش شبیه سازی مولکولی

سپیده کتابی\*

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق (قیامدشت)، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، قیامدشت، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۸۹/۱۰/۲۰، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۸۹/۱۱/۲۳، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۸۹/۱۲/۱۶

### چکیده

بازهای DNA در محلول به روش شبیه سازی مونت کارلو مورد مطالعه قرار گرفته اند و نهایتاً انرژی آزاد انحلال آدنین، گوانین، سیتوزین و تیمین در آب و توابع توزیع شعاعی این مولکولها محاسبه شده اند. نتایج نشان داده است که گوانین دارای بیشترین انرژی آزاد انحلال در آب است. همچنین محاسبه توابع توزیع شعاعی نشان داده است که N7 و N6 آدنین و گوانین و N3 در سیتوزین و N3 و O4 در تیمین فعالترین سایت ها در این مولکولها برای برقراری پیوندهای هیدروژنی یا برهم کنش بایونها هستند.

واژگان کلیدی: شبیه سازی مونت کارلو- انرژی آزاد- انحلال- آدنین- گوانین- سیتوزین- تیمین.

### ۱. مقدمه

زمینه است. از آنجا که به حالت گازی بازهای DNA به سختی می توان دست یافت بنابراین تعیین گرمای انحلال این بازها از طریق آزمایشات تجربی بسیار مشکل است. به همین دلیل استفاده از روشهای محاسباتی در این زمینه بسیار مفید است. مطالعه نظری بازهای DNA بیشتر در فاز گازی مطالعه شده است. به عنوان مثال برهمکنش بازهای DNA با یونهای فلزی با استفاده از محاسبات مکانیک کوانتومی انجام شده است [۲۰]. مطالعه آنها در فاز حلال و در شرایطی مشابه با شرایط آزمایشگاهی با روشهای مکانیک کوانتومی بسیار مشکل و نیازمند کامپیوترهای

موجودات زنده حاوی اطلاعاتی هستند که فعالیت های بیولوژیکی آنها را کنترل می کنند. این اطلاعات در داکسی ریبونوکلیک، DNA، ذخیره شده است و بنابراین مولکولهای وابسته به DNA مهمترین مولکولها در زندگی موجودات زنده هستند. برهم کنش بین مولکولهای حل شده و حلال در بسیاری از فرآیندهای شیمیایی و بیوشیمیایی نقش اساسی بازی می کند. در بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی آب نیز حضور دارد و بنابراین انحلال بازهای DNA یکی از موضوعات مهم و قابل بحث در این

\* عهده دار مکاتبات: سپیده کتابی

نشانی: تهران- جاده خاوران- شهرک قیامدشت- خیابان شهید باهنر- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق (قیامدشت)

تلفن: ۰۲۱-۲۳۵۸۴۹۱۱ پست الکترونیک: E-mail: sepidehketabi@yahoo.com

## ۲. روش های محاسباتی

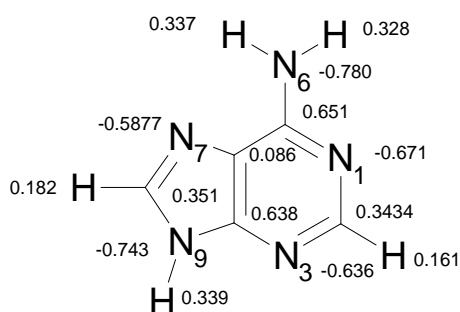
### ۱-۲. بخش مکانیک کوانتومی

گروهی از نوکلئوبازها دارای یک حلقه و گروه دیگر دو حلقه ای هستند. بازهای یک حلقه ای که مشتق از پیریمیدین هستند به بازهای پیریمیدینی و بازهای دو حلقه ای که مشتق از پورین اند به بازهای پورینی معروف هستند. آدنین و گوانین از مشتقات پورینی و سیتوزین و تیمین در DNA و اوراسیل در RNA از مشتقات پیریمیدینی هستند.

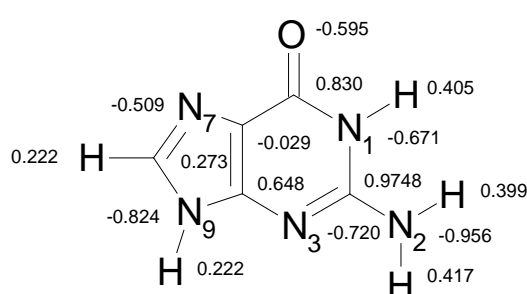
ابتدا ساختار هندسی آدنین، گوانین، سیتوزین و تیمین به روش محاسبه آغازین (ab initio) بهینه شده اند. محاسبات مکانیک کوانتومی این بازها با استفاده از نرم افزار گوسین ۹۸ [۴] و تابع پایه  $6-31+G^*$  [۵] در فاز گازی انجام شده است. مقادیر بارهای جزئی آنها که در مرحله بعد به کار می رود، از محاسبات مکانیک کوانتومی بدست آمده اند و در (شکل ۱) نشان داده شده اند.

بسیار قوی است. در حقیقت برای آنکه این سیستمها بصورت غیر تجربی مورد مطالعه قرار گیرند و نتایجی قابل مقایسه با نتایج آزمایشگاهی بدست آورند، بهترین روشها، روش های شبیه سازی کامپیوتری است. پوهوریل (Pohorille) و همکارانش [۳] جفت بازهای اسیدهای نوکلئیک را به روش شبیه سازی مونت کارلو مورد مطالعه قرار داده اند. آنها پس از محاسبه انرژی پیکربندی نهایی حاصل از اپتیمایز حلال خالص (تراکلرید کربن)، مولکول باز حل شده را در داخل حلال قرار داده و انرژی آن را پس از بهینه سازی محاسبه کرده اند.

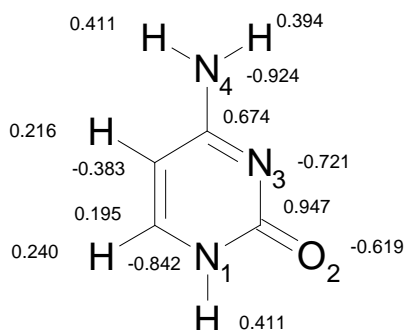
در این تحقیق ابتدا ساختار نوکلئوبازها با استفاده از محاسبات کوانتومی بهینه شده و سپس با استفاده از روش شبیه سازی مونت کارلو بازهای DNA در آب را مورد بررسی قرار داده ایم. بنابراین این کار تحقیقاتی در واقع شامل دو بخش مکانیک کوانتومی و مکانیک مولکولی است.



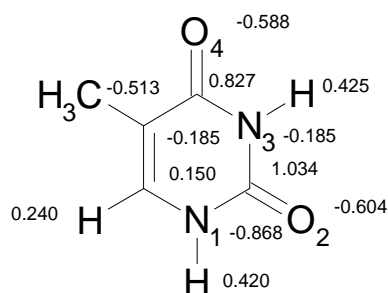
Adenine



Guanine



Cytosine



Thymine

شکل ۱- بارهای جزئی محاسبه شده هر یک از اتم های باز های DNA.

## ۲-۲. بخش مکانیک مولکولی

مهمترین بخش یک شبیه سازی کامپیوتری، انتخاب تابع پتانسیل مناسب است. انرژی پتانسیل کل یک سیستم شیمیایی مجموع انرژی پتانسیل داخلی،  $E_{\text{internal}}$ ، و انرژی پتانسیل خارجی،  $E_{\text{external}}$ ، است.

$$E_{\text{total}} = E_{\text{internal}} + E_{\text{external}} \quad (1)$$

انرژی پتانسیل کل برای مولکولهای کوچک را می توان تنها شامل سهم  $E_{\text{external}}$  در نظر گرفت. بهترین تابع پتانسیل بین مولکولی برای سیستمهای قطبی را مجموعی از دو سهم لنارد جونز و کولنی بین هسته ها در نظر می گیریم. انرژی های بر همکنش بین هسته ها را با استفاده از تقریب جفتی (pair wise) پتانسیل محاسبه می کنیم.

مدل پتانسیل مورد استفاده برای حلال (آب) مدل TIP3 می باشد [۶ و ۷]. این مدل یک مدل سه سایتی است و مکانهای

بر همکنش بر روی اکسیژن و هیدروژنها قرار دارند. پارامترهای TIP3 قبلا تعیین شده اند [۶] و در (جدول-۱) فهرست شده اند. مدل پتانسیل مورد استفاده برای بازهای DNA مدل OPLS می باشد که تغییر یافته مدل TIPS است. مدل OPLS دارای پارامترهایی است که برای حالت مایع تنظیم شده اند و یکی از مناسب ترین مدل ها برای مطالعه مایعات از جمله الکل ها، آمین ها، هیدروکربنهای آلیفاتیک و آروماتیک ترکیبات سولفور اترها و ... است.

تابع پتانسیل OPLS، مشابه مدل TIP3، مجموع جمله های لنارد جونز و کولنی متمرکز بر روی هسته هاست:

$$E_{ij}^{AB} = (q_i q_j \epsilon^2 / r_{ij} + A_{ij} / r_{ij}^{12} - C_{ij} / r_{ij}^6) \quad (2)$$

پارامترهای OPLS برای بازهای DNA [۸] در (جدول-۲) فهرست شده اند.

جدول ۱- پارامترهای TIP3 برای آب.

Site	q	$10^{-3} A^2$ kcalÅ <sup>12</sup> /mol	$C^2$ kcalÅ <sup>6</sup> /mol
O	-۰/۸۳۴	۵۸۲/۰	۵۹۵/۰
H	۰/۴۱۷	۰/۰	۰/۰

جدول ۲- پارامترهای OPLS برای بازهای اسیدهای نوکلئیک.

atom	$\sigma$ , Å	$\epsilon$ , kcal/mol
O	۲/۹۶	۰/۲۱۰
N	۳/۲۵	۰/۱۷۰
C in C=O	۳/۷۵	۰/۱۰۵
Other C	۳/۵۰	۰/۰۸۰
H on N	۰/۰۰	۰/۰۰۰
H on C	۲/۵۰	۰/۰۵۰

چرخش و  $dr$  میزان جابجایی ها هستند. با توجه به این جدول میزان جابجایی  $12 \text{ \AA}$  و میزان چرخش ۱۵ درجه انتخاب شد.

### ۳. نتایج و بحث

فرآیند انحلال مولکول حل شده، باز DNA، در آب را میتوان بصورت زیر در نظر گرفت:



تغییر انرژی کل،  $\Delta E_{\text{total}}$  ( kcal/mol) را میتوان مجموع انرژی های حل شده- حلال، حلال - حلال، و انرژی های درون مولکولی، در نظر گرفت.

در قسمت اول تحقیق همانطور که گفته شد ابتدا بازهای DNA در فاز گازی بهینه شدند و سپس در آب قرار گرفتند. ساختار آنها و موقعیت اتمهایشان تا انتهای شبیه سازی ثابت در نظر گرفته شده است. بنابراین  $E_{\text{int}}$  در طی فرآیند شبیه سازی مونت کارلو تغییری نمی کند.

به منظور شبیه سازی مولکولی نوکس بازها در آب، ساختارهای بهینه شده در داخل معکبی از حلال قرار می گیرد. به این ترتیب که در پیکربندی آب مایع حفره ای ایجاد می شود و هر یک از بازهای DNA در آن قرار می گیرند. مولکولهای حلال به طریقی خارج می شوند که حجم و شکل حفره تقریباً برابر با حجم و شکل ماده حل شونده باشد. مکان و ساختار مولکول حل شده تا پایان شبیه سای ثابت نگهداشته می شود. این ساختار پیکر بندی ابتدایی است. سپس مراحل متروپولیس مونت کارلو به اجرا گذاشته شده است. در تمامی مراحل شرایط مرزی، قطع پتانسیل (cut off) کروی به اندازه نصف بعد جعبه و نمونه برداری متروپولیس (metropolis sampling) به کار رفته است. پس از تولید چند صد هزار پیکر بندی نهایتاً سیستم به تعادل می رسد و بهینه می گردد. میزان جابجایی ها و چرخش ها طوری تعیین شده است که حدوداً ۵۰٪ پیکر بندی ها پذیرفته شود. میزان جابجایی ها و چرخش ها در (جدول ۳) فهرست شده است. NSTEP میزان کل پیکر بندی های تولید شده،  $N_{\text{ac}}$  میزان پیکر بندی های پذیرفته شده،  $d\theta$  میزان

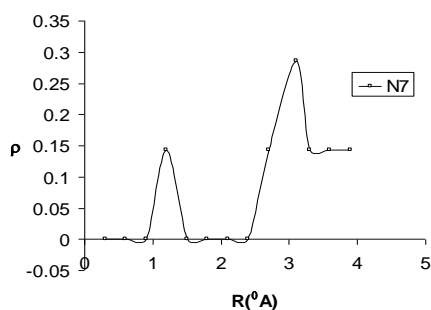
جدول ۳- میزان پذیرش پیکربندی ها در چرخش ها و جابجایی های مختلف.

Base	NSTEP	$N_{\text{ac}}$	$d\theta(\text{deg})$	$dr(\text{\AA})$
Adenine	$10^5$	۸۱۹۱۹	۵	۰/۰۴
Adenine	$10^5$	۶۳۹۲۹	۱۰	۰/۱
Adenine	$10^5$	۵۴۱۳۶	۱۵	۰/۱۲
Adenine	$10^6$	۵۳۷۳۲۰	۱۵	۰/۱۲
Guanine	$10^6$	۵۳۷۳۳۶	۱۵	۰/۱۲
Cytosine	$10^6$	۵۳۶۴۹۲	۱۵	۰/۱۲
thymine	$10^6$	۵۴۰۰۹۷	۱۵	۰/۱۲

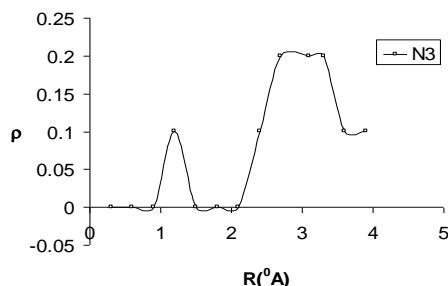
جدول ۴- خلاصه نتایج اجرای مونت کارلو.

solute	N	NSTEP	$NSTEP_{\text{av}}$	$\Delta A_{\text{sol}}$
Adenine	۳۴۵	۱۰۰۰۰۰	۵۰۰۰۰	-۳۹/۲۸۴
Guanine	۳۴۲	۱۰۰۰۰۰	۵۰۰۰۰	-۴۷/۹۹۲۳
Cytosine	۳۴۳	۱۰۰۰۰۰	۵۰۰۰۰	-۴۰/۵۷۸۶
Thymine	۳۴۲	۱۰۰۰۰۰	۵۰۰۰۰	-۴۰/۶۳۰۸

گوانین، N4 سیتوزین و N3 تیمین دارای بلندترین قله هستند. در همه بازهای DNA دومین لایه کوئوردیناسیون در فاصله حدود  $3\text{\AA}$  واقع شده است. (جدول-۵) نشان می‌دهد که بلندترین قله دوم برای آدنین و گوانین مربوط به N7 است که به ترتیب در  $3/3\text{\AA}$  و  $3\text{\AA}$  واقع شده است. برای سیتوزین بلندترین قله دوم مربوط به N3 است که در  $3/51\text{\AA}$  آنگسترمی است و برای تیمین مربوط به N1 در  $3/3\text{\AA}$  آنگسترمی می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که N6 و N7 در آدنین و گوانین، N3 در سیتوزین و N3 و O4 در تیمین هیدروفلیک‌ترین اتمها در این بازها هستند. این بدان معناست که این سایت‌ها فعالترین سایت‌ها در این مولکولها هستند و این قابلیت را دارند که در پیوند هیدروژنی یا برهمکنش با یونهای فلزی شرکت کنند. این نتایج توافق خوبی با نتایج تجربی دارد. به عنوان نمونه در مدل واتسون-کریک برای پیوند هیدروژنی بین جفت بازها، برهمکنش بین N6 و N7 آدنین با N3 و O4 تیمین در نظر گرفته می‌شود. همچنین نتایج تجربی نشان می‌دهد که بهترین سایت برای پروتونه شدن آدنین و گوانین اتم N7، برای سیتوزین اتم N3 و برای تیمین N3 یا O4 است [۱۰].



شکل ۲- نمودار تابع توزیع شعاعی بین N7 آدنین و آب.



شکل ۳- نمودار تابع توزیع شعاعی بین N3 سیتوزین و آب.

تفاوت انرژی آزاد بین دو حالت ۱ و ۲ از یک سیستم با استفاده از مکانیک آماری کلاسیکی بصورت معادله زیر بدست آمده است [۹]:

$$A_2 - A_1 = -RT \ln \langle \exp [-(E_2 - E_1)/RT] \rangle \quad (4)$$

$(E_2 - E_1)$  تفاوت انرژی درونی بین دو حالت ۱ و ۲ سیستم است و  $\langle \rangle$  نشان دهنده میانگین مجموعه‌ای است. نتایج محاسبات در (جدول-۴) فهرست شده است.  $\Delta A_{sol}$  میانگین انرژی آزاد انحلال محاسبه شده در طی شبیه‌سازی مونت کارلو، N تعداد مولکولهای حلال، NSTEP تعداد کل مراحل مونت کارلو و NSTEP<sub>av</sub> تعداد پیکر بندی‌های عملی است که در محاسبه میانگین مجموعه‌ای هر اجرای برنامه به کار می‌رود.

نتایج نشان می‌دهد که گوانین پایدارترین باز DNA در آب است. (جدول-۴) نشان می‌دهد که انرژی آزاد در طی انحلال بازهای DNA در آب به ترتیب زیر است:

آدنین > سیتوزین > تیمین > گوانین

می‌دانیم که انحلال مولکولهای قطبی در حلالهای قطبی بیشتر است که نتایج محاسبات ما کاملاً با این مسئله سازگار است. توابع توزیع شعاعی بین مولکولهای آب و هر سایت از مولکول حل شده در پیوند هیدروژنی و برهمکنش آن سایت با یونها اهمیت دارد. بنابراین توابع توزیع شعاعی را بین مولکولهای آب و N1، N3، N7، N6 آدنین و N1، N3، N7، O6 گوانین، N3، N4، O2 سیتوزین و N1، N3، O4، O2 تیمین محاسبه نموده ایم. نتایج در (جدول-۵) آورده شده‌اند. در فاصله کمتر از  $4\text{\AA}$ ، دو لایه کوئوردیناسیون مولکولهای آب در اطراف هر سایت وجود دارد.  $\rho_1$  اولین لایه کوئوردیناسیون است که در فاصله  $r_1$  واقع شده است و  $\rho_2$  لایه کوئوردیناسیون دوم است که در فاصله  $r_2$  قرار گرفته است. (شکلای-۲ و ۳) RDFS را برای برخی از بازهای DNA نشان می‌دهند. همه نمودارهای تابع توزیع شعاعی دارای دو قله هستند که مربوط به اولین و دومین لایه حلال می‌باشند. اولین قله همه سایت‌های همه بازها در  $1/2\text{\AA}$  واقع شده است. N6 و N7 آدنین، O6

جدول ۵- مقادیر RDFS بین سایتهای بازهای DNA و آب.

Site	$r_1$ (Å)	$\rho_1$	$r_2$ (Å)	$\rho_2$
<b>Adenine</b>				
N7	۱/۲۰	۰/۱۴۲۹	۳/۳۰	۰/۸۵۷۳
N1	۱/۲۰	۰/۱۰۰۰	۲/۸۵	۰/۹۰۰۰
N3	۱/۲۰	۰/۱۱۱۱	۳/۱۵	۰/۸۸۸۸
N6	۱/۲۰	۰/۲۲۲۲	۳/۴۵	۰/۷۷۷۷
<b>Guanine</b>				
N7	۱/۲۰	۰/۰۹۰۹	۳/۰۰	۱/۰۹۰۸
N1	۱/۲۰	۰/۱۱۱۱	۳/۱۵	۰/۸۸۸۸
N3	۱/۲۰	۰/۱۱۱۱	۳/۰۰	۰/۸۸۸۸
O6	۱/۲۰	۰/۱۶۶۷	۳/۰۰	۰/۸۳۳۴
<b>Cytosine</b>				
N3	۱/۲۰	۰/۱۰۰۰	۳/۱۵	۰/۹۰۰۰
N4	۱/۲۰	۰/۲۰۰۰	۲/۷۰	۰/۸۰۰۰
O2	۱/۲۰	۰/۱۲۵۰	۲/۹۰	۰/۸۷۵۰
<b>Thymine</b>				
N1	۱/۲۰	۰/۰۸۳۳	۳/۳۰	۰/۹۱۶۶
N3	۱/۲۰	۰/۱۴۲۹	۲/۸۵	۰/۸۵۷۲
O2	۱/۲۰	۰/۱۲۵۰	۲/۸۵	۰/۷۵۰۰
O4	۱/۲۰	۰/۱۲۵	۳/۰۰	۰/۸۷۵۰

## ۴. نتیجه گیری

محاسبات نشان داد که انرژی آزاد انحلال گوانین از سایر بازهای DNA بیشتر است. همچنین از محاسبه تابع توزیع شعاعی مکانهای فعال این بازها تعیین شدند.  $N_6$  و  $N_7$  آدنین و گوانین، برای سیتوزین اتم  $N_3$  سیتوزین و برای تیمین  $N_3$  یا  $O_4$  است.

## ۵. مراجع

- [3] A. Pohorille, S.K. Burt and R.D. Mac Elory, *J. Am. Chem. Soc.*, 106 (1984) 402.
- [4] Gaussian 98, Revision A.7, Frisch MJ et al, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, (1998).
- [5] T. Clark, J. Chandrasekhar, G.W. Spitznagel and P.V.R. Schlegel, *J. Comp. Chem.*, 4 (1983) 294.
- [6] W.L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.*, 103 (1981) 335.
- [7] W. Jorgansen and C.J. Swenson., *J. Am. Chem. Soc.*, 107 (1985) 1489.
- [8] J. Pranata, S.G. Wierschke and W.L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.*, 113 (1991) 2810.
- [9] D.L. Beveridge and F. M. Di Cupua, *Ann. Rev. Biophys. Chem.*, 18 (1989) 431.
- [10] M. Izatt, J. Christensen and J. Rytting, *Chem. Rev.*, 5 (1971) 439.

[1] M. Monajjemi, R. Ghiasi, S. Ketabi, H. Pasdar and F. Mollaamin, *J. Chem. Res.*, 71 (2004) 11.

[2] M. Monajjemi, R. Ghiasi, S. Ketabi, H. Pasdar, F. Mollaamin, F. Asaddian, B. Chahkandi and M. Karimkhani, *Int. Elec. J. Mol. Des.*, 2 (2003) 741.