

5. Monte-Carlo-Simulationen von DNA-Dekameren mit alternierenden AT und GC Basensequenzen

Die Untersuchung der sequenzspezifischen Struktur und Flexibilität von Nukleinsäuren stellt die wesentliche Anwendung und zugleich einen Leistungstest des in Kap. 4 vorgestellten Monte-Carlo-Algorithmus dar. Daher werden in diesem Kapitel zunächst die Equilibrierungen der MC-Simulationen und der Einfluß der Startkonfiguration auf die Resultate diskutiert. Darüberhinaus werden die für die gewählten Modellsysteme erhaltenen Resultate besonders im Hinblick auf die Sequenzspezifität der Nukleinsäurestrukturen dargestellt. Schließlich werden die Bewegungen der expliziten Gegenionen analysiert und die Kondensation der Ionen an der DNA diskutiert.

Als Modellsysteme werden DNA-Dekamere, also Polynukleotid-Duplexe mit 10 Basenpaaren, gewählt, deren Basen alternierende Sequenzen aufweisen:



Die Basensequenzen dieser beiden DNA-Dekamere weisen eine palindrome Symmetrie auf, weshalb sie als Modellsysteme von besonderem Interesse sind. Die einzelnen Basen bzw. Nukleotide werden im folgenden von der Purinbase R1 am 5'-Ende des ersten Stranges bis zur Pyrimidinbase Y10 am 3'-Ende und dann von der Pyrimidinbase Y11 am 3'-Ende des zweiten Stranges bis zur Purinbase R20 am 5'-Ende nummeriert. Aufgrund der palindromen Basensequenz sind die beiden Stränge vollkommen identisch, so daß im Rahmen dieser Symmetrie R1 mit R20 bis Y10 mit Y11 miteinander korrespondieren. Die Nukleotid- bzw. Basenschritte werden wie die Basen bzw. Nukleotide nummeriert, wobei die Bezeichnung der Nukleotid- und Basenschritte immer als 5'-3'-Schritt erfolgt. Die untersuchten Modellsysteme besitzen an den 3'-Enden keine Phosphatgruppen und werden durch jeweils 18 explizite Natrium-Ionen neutralisiert. Neben diesen Gegenionen werden den Systemen keine weiteren Ionen hinzugefügt, so daß die Salzkonzentration gleich Null ist.

Diese beiden Modellsysteme mit alternierenden Basensequenzen sind von großem Interesse, weil sie auf der Ebene der Primärstruktur zwar mit alternierenden Basensequenzen einfach strukturiert sind, ihre 3D-Strukturen aber noch weitgehend unbekannt sind. Sowohl für DNA mit alternierender AT als auch mit alternierender GC Basensequenz existieren bisher keine röntgenkristallographisch bestimmten Strukturen. Lediglich für Hexamere mit alternierender GC Basensequenz wurden bisher NMR-Strukturdaten publiziert [45]. Eine Ausnahme bildet die Z-DNA, die eine GC alternierende Basensequenz aufweist, sich aber nur bei sehr hohen Salzkonzentrationen ausbildet [5]. Dennoch sind

die in den Modellsystemen enthaltenen Dinukleotidschritte in vielen experimentell untersuchten Strukturen vorhanden, weshalb einerseits ein Vergleich mit experimentellen Daten [38, 39] möglich ist und andererseits eine detaillierte Untersuchung der sequenzspezifischen Struktur und Flexibilität der Modellsysteme von Interesse auch für andere Nukleinsäuresysteme ist.

5.1. Equilibrierung der MC-Simulationen

Eine notwendige Bedingung für die Relevanz von Simulationsdaten ist bei MC-Simulationen wie bei MD-Simulationen das Erreichen einer Equilibrierung. Nur die nach dem Erreichen der Equilibrierung erhobenen Daten sind von der Wahl der Startkonfiguration und der Startparameter der Simulation unbeeinflusst und können somit Informationen über das in der Simulation untersuchte System liefern. Dabei muß sich die Equilibrierung unter der Nebenbedingung eines effektiven MC-Samplings einstellen, denn eine Beschränkung des MC-Samplings durch Zwangsbedingungen kann nur zu einer Equilibrierung unter Zwangsbedingungen führen und somit lediglich eingeschränkte Informationen über das untersuchte System liefern.

Das Erreichen der Equilibrierung von MC-Simulationen zeichnet sich durch eine konstante mittlere Gesamtenergie des Systems und konstante Mittelwerte struktureller Parameter aus. Die Equilibrierung der Gesamtenergie E_{tot} nach 4.20 ist in Abb. 5.1 im Verlauf des MC-Samplings dargestellt. Dabei sind die das MC-Sampling charakterisierenden momentanen Energien E_{tot} in Intervallen von jeweils 10.000 MC-Makrozyklen geglättet worden, da sonst ein starkes Rauschen die Bewertung einer Feinstruktur dieses Energieverlaufes verhindert hätte. Die mittleren Energien $\langle E_{tot} \rangle$ sind als während der MC-Simulation akkumulierte Werte dargestellt.

Der Verlauf der akkumulierten mittleren Energien für die MC-Simulationen sowohl des DNA-Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$ als auch des DNA-Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ deutet auf eine Equilibrierung nach den ersten $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen hin, denn danach ist die mittlere Energie weitgehend konstant. Die in Abb. 5.1 a.) dargestellte mittlere Energie des DNA-Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$ steigt zwar zunächst noch ein wenig an, stellt aber den bereits erreichten

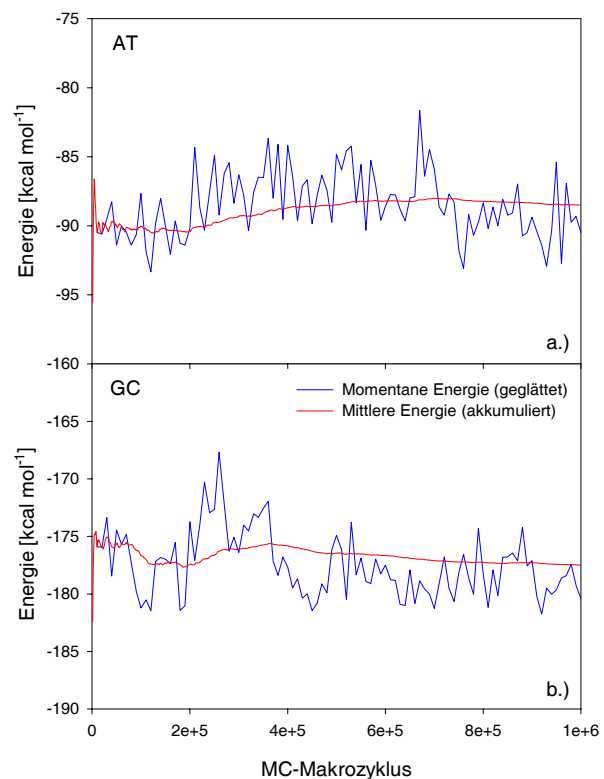


Abb. 5.1.: Momentane, in Intervallen von jeweils 10.000 Makrozyklen geglättete Gesamtenergie und akkumulierte mittlere Energie der Dekamere a.) $[(dA - dT)_5]_2$ und b.) $[(dG - dC)_5]_2$

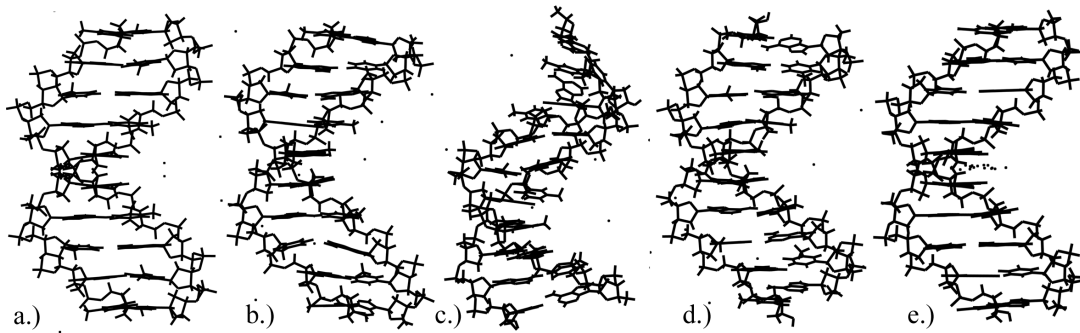


Abb. 5.2.: MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dA - dT)_5]_2$: a.) Startkonfiguration, Schnappschüsse nach b.) $2 \cdot 10^5$, c.) $6,7 \cdot 10^5$ und d.) 10^6 Makrozyklen, e.) mittlere Struktur für den equilibrierten Bereich von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen

Mittelwert wieder ein. Die das MC-Sampling charakterisierende momentane Energie deutet darauf hin, daß im Bereich von $4 \cdot 10^5 - 7 \cdot 10^5$ Makrozyklen vermehrt Strukturen mit höheren Energien generiert werden. Eine Auswertung der Trajektorien zeigt, daß in diesem Bereich etwas häufiger als im übrigen Verlauf eine energetisch ungünstige AA-Stapelung von zwei Adeninen benachbarter Basenpaare erfolgt, die zu einer Deformation des Nukleinsäure-Rückgrats führt, da die in Stapelwechselwirkung tretenden Adenine den gegenüberliegenden DNA-Strängen angehören. In dem in Abb. 5.2 b.) dargestellten Schnappschuß nach $2 \cdot 10^5$ Makrozyklen deutet sich eine AA-Stapelung im unteren Bereich an, während in dem in Abb. 5.2 c.) dargestellten Schnappschuß nach $6,7 \cdot 10^5$ Makrozyklen eine AA-Stapelung mit einer extremen Deformation der Helixarchitektur ausgeprägt ist. Für das DNA-Dekamer $[(dA-dT)_5]_2$ stellt sich nach 10^6 Makrozyklen eine mittlere Energie von $\langle E_{tot} \rangle = -88,5$ kcal/mol ein, während das geglättete MC-Sampling zwischen Werten von -82 kcal/mol bis -94 kcal/mol erfolgt. Da der momentane Energieverlauf von einem zum nächsten Makrozyklus einen deutlich veränderten Wert zeigen kann, ist dieser Bereich durch die Glättung in Intervallen von jeweils 10.000 Makrozyklen stark beeinflusst, denn das MC-Sampling erreichte Energiewerte zwischen -60 kcal/mol bis -114 kcal/mol. Die Fluktuation der Gesamtenergie nach 4.24 beträgt dabei für dieses Dekamer 8,5 kcal/mol.

Die in Abb. 5.1 b.) dargestellte mittlere Energie des DNA-Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ bleibt ebenfalls nach den ersten $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen weitgehend konstant und sinkt noch etwas ab, weil die MC-Simulation im Bereich von $2 \cdot 10^5 - 4 \cdot 10^5$ Makrozyklen einen Ausflug zu energetisch ungünstigeren Strukturen machte. Die in diesem Bereich generierten Strukturen weisen große negative X-Displacements und größere Inclinationen der Basen auf, so daß sie der A-DNA strukturell nahe kommen. Außerdem wurde in diesem Bereich in der Mitte des Dekamers ein α/γ -Flip generiert, der zur Deformation des einen Nukleinsäure-Rückgrats und Störung der Stapelwechselwirkung der beiden Basenpaare führte, zwischen denen er aufgetreten ist. Eine solche A-ähnliche Konformation mit einem α/γ -Flip zwischen dem 6. und 7. Nukleotid ist in Abb. 5.3 b.) als Schnappschuß nach $2,3 \cdot 10^5$ Makrozyklen dargestellt. Für das DNA-Dekamer $[(dG-dC)_5]_2$ stellt sich nach 10^6 Makrozyklen eine mittlere Energie von $\langle E_{tot} \rangle = -177,5$ kcal/mol ein, wobei dieser Wert im Vergleich zum DNA-Dekamer $[(dA-dT)_5]_2$ deshalb deutlich geringer ist, weil GC Basenpaarungen aufgrund der stärkeren Wasserstoffbrücken-Wechselwirkung stabilisierender als AT Basenpaare

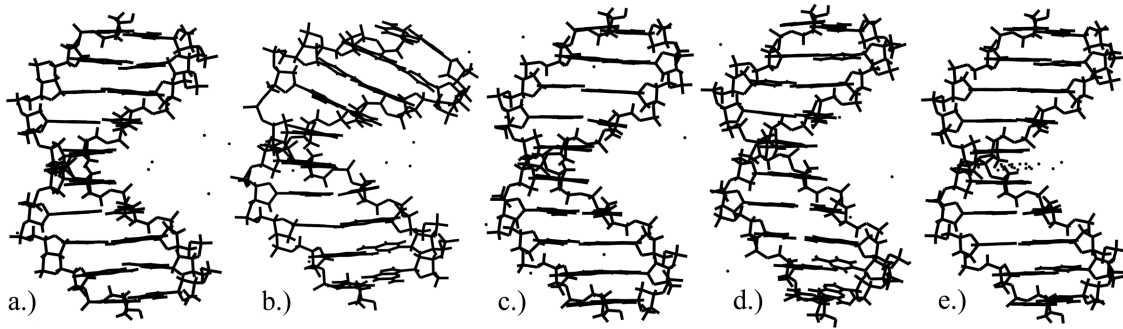


Abb. 5.3.: MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dG - dC)_5]_2$: a.) Startkonfiguration, Schnappschüsse nach b.) $2,3 \cdot 10^5$, c.) $8 \cdot 10^5$ und d.) 10^6 Makrozyklen, e.) mittlere Struktur für den equilibrierten Bereich von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen

wirken. Das geglättete MC-Sampling erfolgt zwischen Werten von -167 kcal/mol bis -182 kcal/mol, wobei auch diese Werte von der Glättung in Abb. 5.1 b.) beeinflusst sind, denn eigentlich erreicht das MC-Sampling Energiewerte zwischen -146 kcal/mol und -200 kcal/mol. Das MC-Sampling führt bei diesem Dekamer zu einer Fluktuation der Gesamtenergie nach Gleichung 4.24 von $8,6$ kcal/mol.

Damit kann insgesamt eingeschätzt werden, daß bei einem sehr effektiven MC-Sampling für beide DNA-Dekamere die Gesamtenergien E_{tot} nach $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen gut equilibriert sind. Diese Beurteilung gilt es nun, durch die Analyse momentaner Werte und akkumulierter Mittelwerte charakteristischer struktureller Parameter zu überprüfen. Dazu sind das X-Displacement und die Inclination der Basen in Abb. 5.4, die Phase des Zuckers und der Glykosidwinkel χ der Nukleotide in Abb. 5.5 sowie der Rise und Twist der Basenschritte in der Abb. 5.6 dargestellt. In den Abbn. 5.4- 5.6 sind die Werte der aufgrund der palindromen Symmetrie der Basensequenzen zueinander symmetrischen Basen, Basenschritte bzw. Nukleotide in jeweils derselben Farbe dargestellt. Eine Equilibrierung zeichnet sich durch konstante Mittelwerte der strukturellen Parameter aus, sollte aber auch zu einer zunehmenden Angleichung der Parameter der aufgrund der palindromen Basensequenz zueinander symmetrischen Einheiten führen.

Der geglättete Verlauf des X-Displacements während des MC-Samplings zeigt für das AT alternierende Dekamer in Abb. 5.4 a.) Ausflüge in Bereiche von 1 \AA bis zu $-5,8 \text{ \AA}$ und somit über den gesamten Bereich von der D-Form über die B-Form zur A-Form der DNA. Dabei sind die Werte der einzelnen Basen miteinander korreliert, so daß in der Tat von Ausflügen der B-DNA in Richtung der beiden extremen Konfigurationen, nämlich der D-DNA mit positiven X-Displacements und der A-DNA mit großen negativen X-Displacements, gesprochen werden kann, denn eine korrelierte Verschiebung der Werte aller Basen gemeinsam deutet auf die Veränderung der Helixarchitektur hin. Das X-Displacement im geglätteten MC-Sampling macht für das GC alternierende Dekamer in Abb. 5.4 c.) hingegen nur einen signifikanten Ausflug bei ca. $2,3 \cdot 10^5$ Makrozyklen bis zu $-5,5 \text{ \AA}$ in Richtung A-Form, der als Schnappschuß in Abb. 5.3 b.) dargestellt ist. Ansonsten erfolgt das MC-Sampling im Bereich der B-Form zwischen Werten für das X-Displacement von 0 bis -4 \AA . Die in Abb. 5.4 b.) für das AT und in Abb. 5.4 d.) für das GC alternierende Dekamer dargestellten akkumulierten Mittelwerte des X-Displacements zeigen, daß eine Equilibrierung beider Simulationen nach $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen erreicht wird. Auffällig ist dabei, daß die

5. Monte-Carlo-Simulationen von DNA-Dekameren mit alternierenden Sequenzen

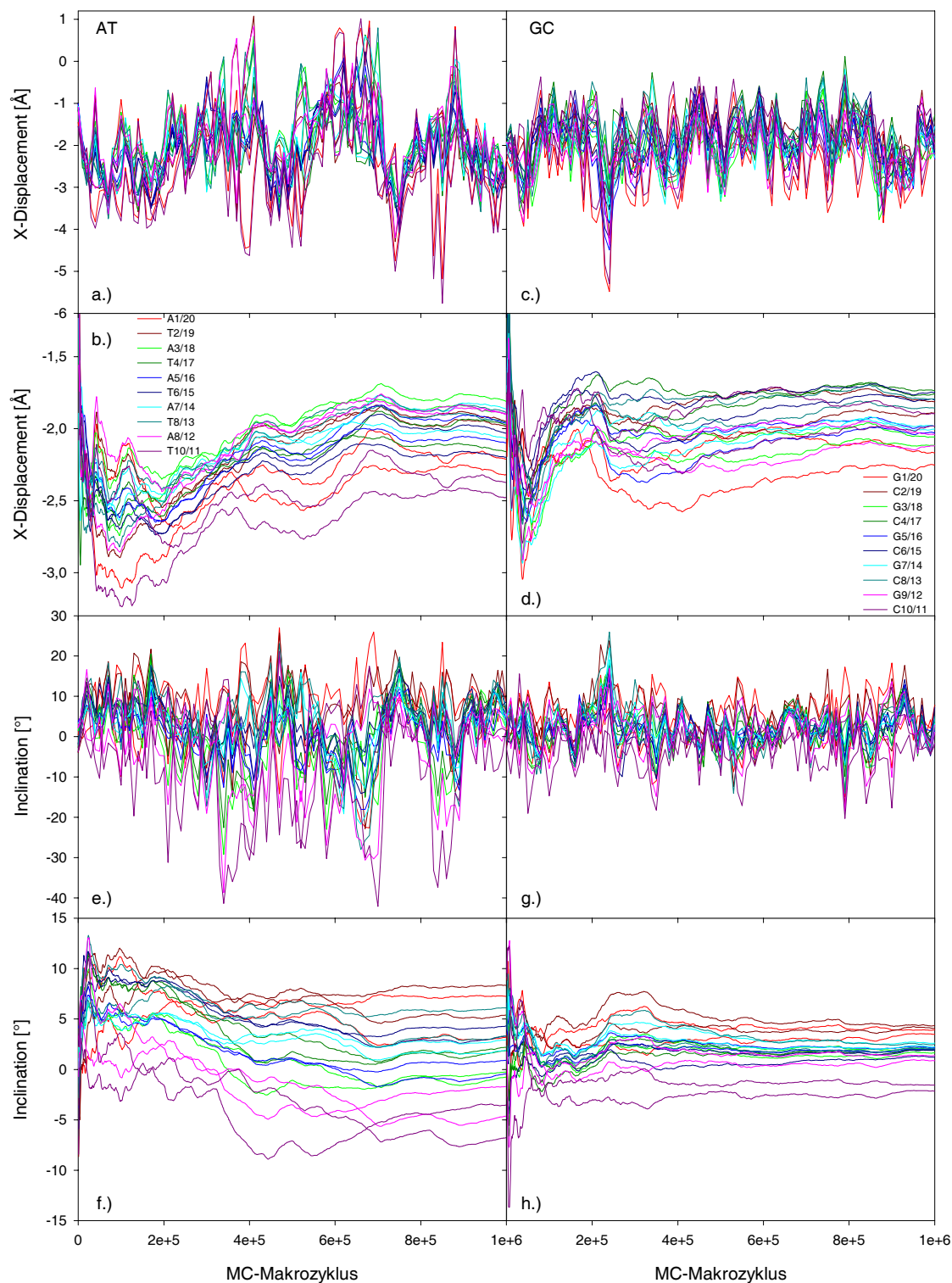


Abb. 5.4.: MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$: a.) momentanes, geglättetes und b.) akkumuliertes mittleres X-Displacement, e.) momentane, geglättete und f.) akkumulierte mittlere Inclination; MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$: c.) momentanes, geglättetes und d.) akkumuliertes mittleres X-Displacement, g.) momentane, geglättete und h.) akkumulierte mittlere Inclination

Basen an den Rändern beider Dekamere größere negative X-Displacements aufweisen. Außerdem könnte die MC-Simulation des GC alternierenden Dekamers als equilibriert bereits nach $3 \cdot 10^5$ Makrozyklen bewertet werden. Diese Beobachtung korrespondiert mit der größeren Beweglichkeit der Basen des Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$ im Vergleich zum Dekamer $[(dG-dC)_5]_2$, die aus den Abbn. 5.4 a.) und c.) ersichtlich wird.

Die Abbn. 5.4 e.) und g.) des geglätteten Verlaufs der Inclination verdeutlichen die Antikorrelation zwischen dem X-Displacement und der Inclination. In Bereichen wie beispielsweise um die $5 \cdot 10^5$ Makrozyklen in Abb. 5.4 e.), in denen das AT alternierende Dekamer Ausflüge in Richtung großer negativer X-Displacements macht, zeigt die Inclination Werte über 20° . Und auch das GC alternierende Dekamer macht einen solchen, bereits diskutierten und in Abb. 5.3 b.) dargestellten Ausflug zu großen negativen X-Displacements und Inclinationen, die Werte über 20° erreichen, bei $2,3 \cdot 10^5$ Makrozyklen. Das in Abb. 5.4 a.) dargestellte X-Displacement des AT alternierenden Dekamers erreichte im Gegensatz zum GC alternierenden Dekamer auch positive Werte bis zu 1 \AA . Diese Ausflüge sind antikorreliert mit in Abb. 5.4 e.) dargestellten Ausflügen der Inclination zu negativen Werten von bis zu -40° , so daß auch der geglättete Verlauf der Inclination hier auf Ausflüge in Richtung der D-Form hinweist. Wie bereits beim geglätteten Verlauf des X-Displacements sind auch die in den Abbn. 5.4 e.) und g.) dargestellten Inclinationen der einzelnen Basen bei den Ausflügen der B-Form in Richtung der A-Form mit großen negativen X-Displacements und positiven Inclinationen sowie in Richtung der D-Form mit positiven X-Displacements und negativen Inclinationen miteinander korreliert, so daß von konzertierten Veränderungen der Helixarchitektur ausgegangen werden kann. Neben diesen Ausflügen ist das MC-Sampling auch für die Inclination effizient, denn es erreicht für das Dekamer $[(dG-dC)_5]_2$ Werte im geglätteten Verlauf zwischen -20° und 27° und für das Dekamer $[(dA-dT)_5]_2$ sogar Werte zwischen -40° und 28° . Die Equilibrierungskurven 5.4 f.) und h.) zeigen ebenfalls eine gute Equilibrierung ab $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen, wobei die Equilibrierungskurven der Basen an den Rändern beider Dekamere sich von den anderen Basen separieren und auch wegen der größeren Beweglichkeit schlechter equilibrieren. Insgesamt liegen die nicht am Rande liegenden Basen des Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ bei sehr ähnlichen Werten, wohingegen die Thyminine zu größeren mittleren Inclinationen neigen als die Adenine. Zudem nähern sich die Equilibrierungskurven der aufgrund der palindromen Basensequenz zueinander symmetrischen Basen in den Abbn. 5.4 b.) und d.) sowie 5.4 f.) und h.) im Verlauf der Simulationen zunehmend an.

Der geglättete Verlauf der Phase des Zuckers zeigt wie bereits beim X-Displacement und der Inclination eine in Abb. 5.5 a.) dargestellte größere Flexibilität des AT alternierenden Dekamers im Vergleich zu dem in Abb. 5.5 c.) gezeigten MC-Sampling der Phase des GC alternierenden Dekamers. Der geglättete Verlauf der Phase erreicht für das Dekamer $[(dA-dT)_5]_2$ in Abb. 5.5 a.) Werte zwischen 45° und 180° , wohingegen die geglättete Phase des Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ in Abb. 5.5 c.) Werte zwischen 55° und 190° erreicht, wobei die MC-Samplings bei beiden Dekameren im wesentlichen bei Phasen im Bereich der C2'-endo-Zuckerfaltung stattfinden und nur kurze Ausflüge in den Bereich der C3'-endo-Zuckerfaltung zu beobachten sind, für die allerdings bei dem AT alternierenden Dekamer eine größere Häufigkeit und ein Erreichen kleinerer Phasen als beim GC alternierenden Dekamer zu verzeichnen sind. Außerdem dringen die Phasen der Nukleotide an den Rändern beider Dekamere eher in den Bereich der

5. Monte-Carlo-Simulationen von DNA-Dekameren mit alternierenden Sequenzen

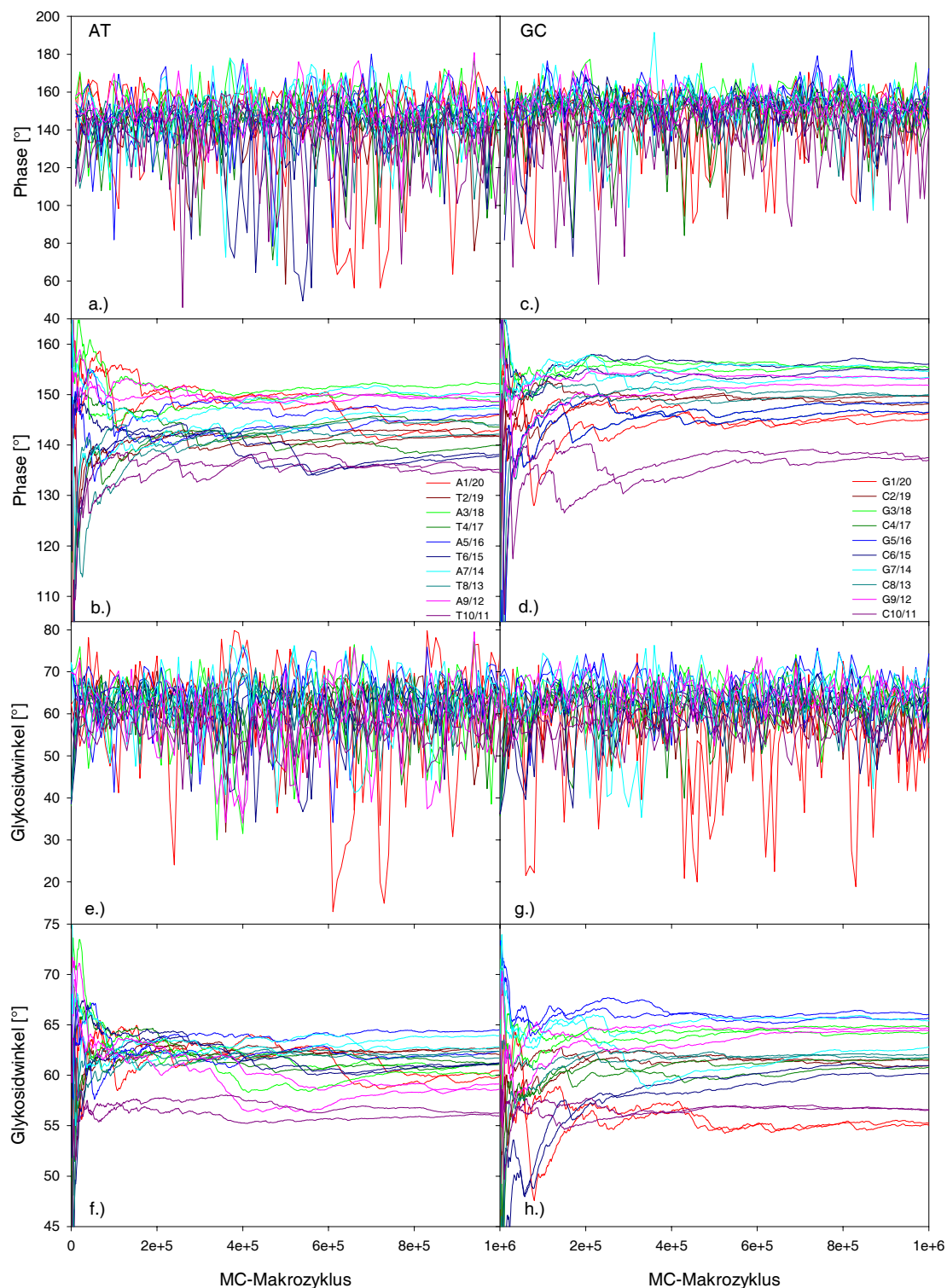


Abb. 5.5.: MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dA - dT)_5]_2$: a.) momentane, geglättete und b.) akkumulierte mittlere Phase, e.) momentaner, geglätteter und f.) akkumulierter mittlerer Glykosidwinkel; MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dG - dC)_5]_2$: c.) momentane, geglättete und d.) akkumulierte mittlere Phase, g.) momentaner, geglätteter und h.) akkumulierter mittlerer Glykosidwinkel

C3'-endo-Zuckerfaltung vor, was auf der höheren Flexibilität der Nukleotide an den Rändern beruht und in den Abbn. 5.5 b.) und d.) zu geringeren Mittelwerten der Phasen der Pyrimidinbasen enthaltenden Nukleotide Y10 und Y11 an den Rändern führt. Ansonsten zeigen auch die akkumulierten Mittelwerte der Phasen in den Abbn. 5.5 b.) und d.) eine gute Equilibrierung nach $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen. Die Mittelwerte der Phasen liegen beim AT alternierenden Dekamer dabei bei etwas kleineren Werten im Vergleich zum GC alternierenden Dekamer.

Die in den Abbn. 5.5 e.) und g.) dargestellten geglätteten MC-Sampling-Verläufe der Glykosidwinkel zeigen mit großer Auffälligkeit die größere Variabilität auch der Glykosidwinkel der randständigen Nukleotide beider Dekamere, denn die Purinbasen enthaltenden Nukleotide R1 und R20 erreichen Werte für den Glykosidwinkel bis zu 12° beim AT und 18° beim GC alternierenden Dekamer. Das übrige geglättete MC-Sampling erfolgt zwischen Werten des Glykosidwinkels von 30° bis 80° beim AT und 35° bis 76° beim GC alternierenden Dekamer, so daß auch die Glykosidwinkel des Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$ mit einer höheren Variabilität eine größere Flexibilität dieses Dekamers im Vergleich zum Dekamer $[(dG-dC)_5]_2$ anzeigen. Die Equilibrierungskurven der Glykosidwinkel in den Abbn. 5.5 f.) und h.) belegen wiederum eine gute Equilibrierung ab $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen. Auch die Mittelwerte der Glykosidwinkel der Nukleotide an den Rändern der Dekamere sind aufgrund geringerer Werte separiert. Außerdem auffällig in Abb. 5.5 h.) ist eine Diskriminierung der Glykosidwinkel von Purin- bzw. Pyrimidinbasen enthaltenden Nukleotiden, denn die akkumulierten mittleren Glykosidwinkel der Purinbasen enthaltenden Nukleotide liegen mit ca. 66° etwa 5° über den akkumulierten mittleren Glykosidwinkeln von ca. 61° der Pyrimidinbasen enthaltenden Nukleotide.

In den Abbn. 5.6 a.) und c.) sind die geglätteten MC-Sampling-Verläufe des helikalen Parameters Rise der individuellen Basenschritte der beiden Dekamere dargestellt. Beim Vergleich der Rise-Werte des AT alternierenden Dekamers in Abb. 5.6 a.) mit den Werten des GC alternierenden Dekamers fällt zuerst wiederum die größere Flexibilität des Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$ auf, denn das geglättete MC-Sampling erreicht Rise-Werte von 2,5 bis 5,4 Å, wohingegen die geglätteten Rise-Werte des Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ lediglich zwischen Werten von 2,5 bis 4,1 Å variieren. Auch der geglättete Verlauf 5.6 c.) der Rise-Werte deutet den in Abb. 5.3 b.) als Schnappschuß nach $2,3 \cdot 10^5$ Makrozyklen dargestellten Ausflug des GC alternierenden Dekamers in Richtung der A-Form wie die verschiedenen Ausflüge des AT alternierenden Dekamers in Richtung der A- und der D-Form an. Ausflüge in Richtung der D-Form sind oft mit der Ausbildung von AA-Stapelwechselwirkungen und der Verengung der kleinen Furche verbunden. Die in den Abbn. 5.3 b.) und c.) gezeigten Schnappschüsse des eine AA-Stapelwechselwirkung ausbildenden AT alternierenden Dekamers gehen einher mit einer in Abb. 5.6 a.) deutlich werdenden Vergrößerung des Rise in der Umgebung dieser AA-Stapelwechselwirkungen. Die Equilibrierungskurven in Abb. 5.6 b.) sind von mehrfach wiederkehrenden AA-Stapelwechselwirkungen in den Randbereichen des AT alternierenden Dekamers beeinflusst, denn diese Basenschritte gelangen zu größeren mittleren Rise-Werten. Trotzdem zeigen die Equilibrierungskurven in den Abbn. 5.6 b.) und d.) für das AT und das GC alternierende Dekamer eine Equilibrierung nach $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen, wobei die geringere Flexibilität des GC alternierenden Dekamers zu einer schnelleren und besseren Equilibrierung führt.

Auch die in den Abbn. 5.6 e.) und g.) dargestellten, geglätteten MC-Sampling-Verläufe

5. Monte-Carlo-Simulationen von DNA-Dekameren mit alternierenden Sequenzen

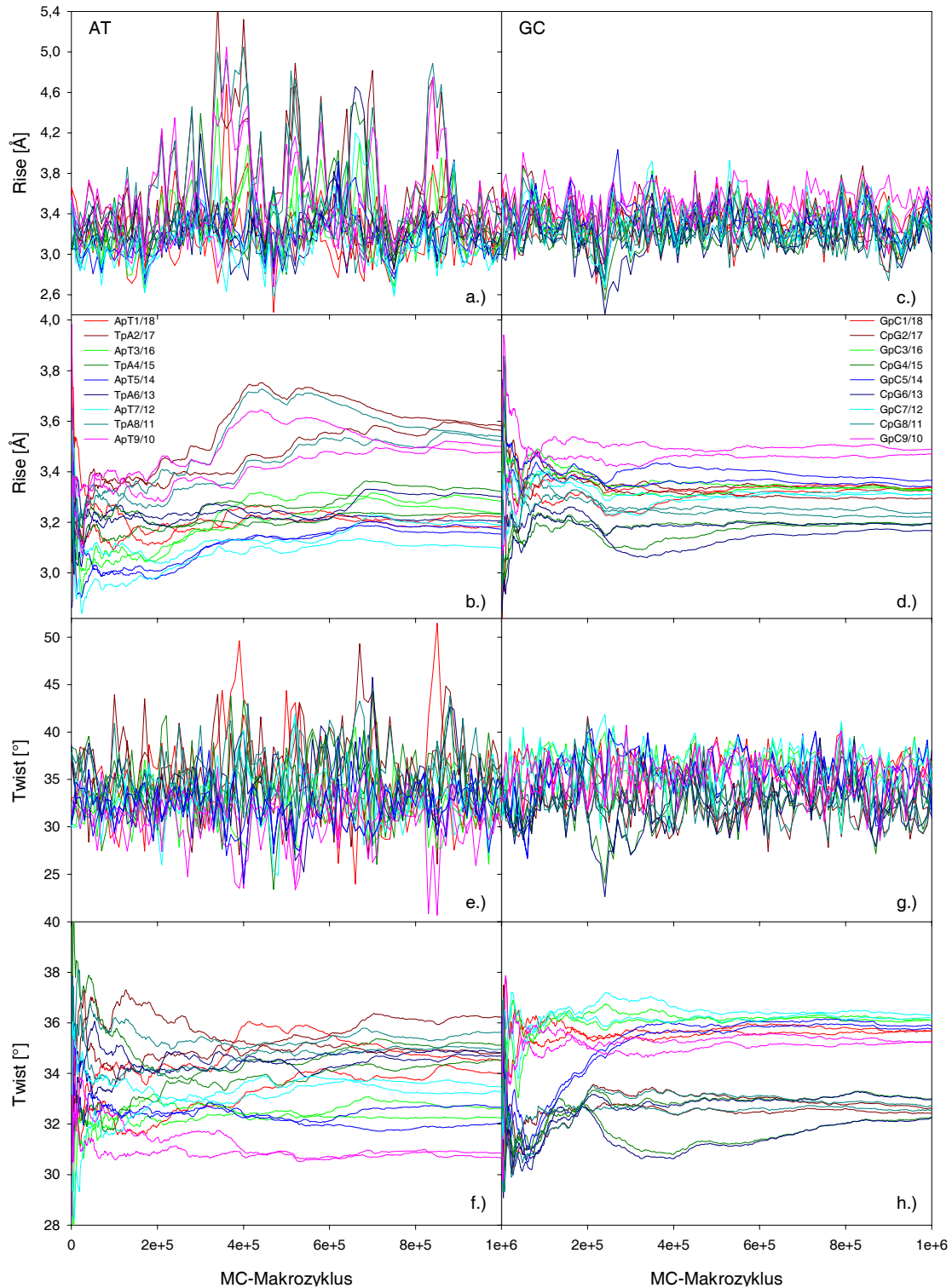


Abb. 5.6.: MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$: a.) momentaner, geglätteter und b.) akkumulierter mittlerer Rise, e.) momentaner, geglätteter und f.) akkumulierter mittlerer Twist; MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$: c.) momentaner, geglätteter und d.) akkumulierter mittlerer Rise, g.) momentaner, geglätteter und h.) akkumulierter mittlerer Twist

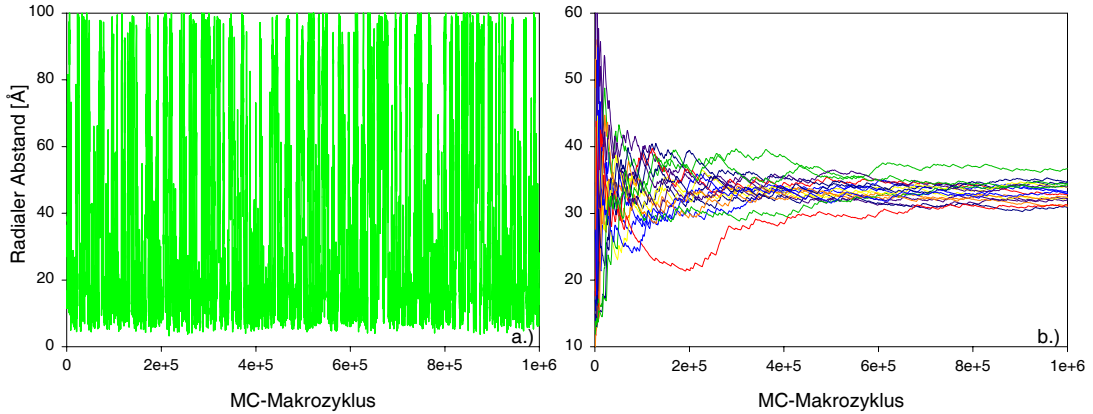


Abb. 5.7.: *Bewegungen der expliziten Gegenionen bei der MC-Simulation des Dekamers $[(dG - dC)_5]_2$: a.) momentaner radialer Abstand eines individuellen Ions (aufgetragen in Intervallen von jeweils 100 Makrozyklen nach der Equilibrierung im Bereich von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen) und b.) akkumulierter mittlerer radialer Abstand aller Ionen von der helikalen Achse des Dekamers*

des helikalen Parameters Twist der individuellen Basenschritte bestätigen die für alle anderen Variablen gemachte Aussage, daß das Dekamer $[(dA-dT)_5]_2$ eine höhere Flexibilität als das Dekamer $[(dG-dC)_5]_2$ besitzt. Der geglättete Twist variiert zwischen 21° und 52° für das AT und zwischen 23° und 43° für das GC alternierende Dekamer. Ausflüge des Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$ in Richtung D-Form sind mit hohen Twist-Werten verbunden, wohingegen Ausflüge in Richtung A-Form zu kleineren Twist-Werten führen. Der mit dem Ausflug des Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ nach $2,3 \cdot 10^5$ Makrozyklen in Richtung A-Form verbundene und in Abb. 5.3 b.) deutliche α/γ -Flip zwischen dem 6. und 7. Nukleotid ist mit der in Abb. 5.6 g.) ersichtlichen Verringerung des Twists zwischen den Basen dieser beiden Nukleotide, also dem Twist des Basenschrittes CpG6, verbunden. Damit einher geht die Verringerung des Twists zwischen den mit den Basen des 6. und 7. Nukleotids des ersten DNA-Stranges Wasserstoffbrückenpaarungen eingehenden Basen des zweiten DNA-Stranges, also des Twists des Basenschrittes CpG15. Die vorübergehende Verringerung des Twists dieser beiden Basenschritte wirkt sich in den in Abb. 5.6 h.) dargestellten Equilibrierungskurven aus, verzögert aber lediglich die Equilibrierung um ca. $2 \cdot 10^5$ Makrozyklen. Ansonsten zeigen die in den Abbn. 5.6 f.) und h.) dargestellten Equilibrierungskurven ebenfalls eine gute Equilibrierung nach $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen, wobei die Twist-Werte, an denen randständige Basen beteiligt sind, wiederum etwas schlechter equilibrieren. Auffällig in Abb. 5.6 ist, daß nach der Equilibrierung die mittleren Twist-Werte der CpG-Basenschritte mit ca. 36° durch ungefähr 3° deutlich von den Twist-Werten der GpC-Basenschritte mit ca. 33° diskriminiert werden.

Nachdem die Equilibrierung der Gesamtenergie und wichtiger struktureller Parameter diskutiert und beurteilt worden ist, soll schließlich die Equilibrierung der Ionenbewegungen betrachtet werden. Einen Eindruck des sehr effektiven MC-Samplings hinsichtlich der Ionenbewegungen vermittelt Abb. 5.7 a.), in der der momentane radiale Abstand eines einzigen individuellen Ions in Intervallen von 100 Makrozyklen aufgetragen ist. Aus Abb. 5.7 a.) wird ersichtlich, daß das Ion sich sehr oft von der DNA zur Grenzfläche des in Kap. 4.1.5 beschriebenen, die Beweglichkeit der

Ionen beschränkenden Zylinders und zurück bewegt. Dabei deutet sich eine längere Aufenthaltsdauer an der DNA-Oberfläche im Vergleich zum übrigen Raum an, die als Kondensation der Gegenionen an der DNA bewertet werden kann. Die in der Abb. 5.7 b.) dargestellten akkumulierten Mittelwerte der radialen Abstände der 18 expliziten Gegenionen von der helikalen Achse zeigen wie die strukturellen Parameter der DNA eine gute Equilibrierung ab $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen. Der mittlere radiale Abstand der Ionen stellt sich bei ca. 31 bis 36 Å ein, wobei die Fluktuationen der radialen Abstände mit 28 bis 30 Å vergleichsweise groß sind.

Die Untersuchung der Equilibrierung läßt die Schlußfolgerung zu, daß die MC-Simulationen von molekularen Systemen in der Größenordnung von DNA-Dekameren mit dem in Kap. 4 diskutierten MC-Algorithmus nach $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen als gut equilibriert betrachtet werden können. Diese Equilibrierung der Systeme äußert sich energetisch und strukturell. Des weiteren sind auch die Ionenbewegungen equilibriert. Insgesamt ist das Dekamer $[(dA-dT)_5]_2$ deutlich flexibler als das Dekamer $[(dG-dC)_5]_2$, wodurch das Erreichen der Equilibrierung als etwas retardiert bewertet werden könnte. Zurückzuführen ist die höhere Flexibilität des AT gegenüber dem GC alternierenden Dekamer auf die schwächeren Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungen in AT- gegenüber GC-Basenpaaren, denn eine höhere Flexibilität der Basenpaarung verursacht eine höhere Flexibilität der gesamten Konfiguration.

5.2. Unabhängigkeit von der Startkonfiguration

Nachdem die Equilibrierung der MC-Simulationen von DNA-Dekameren diskutiert worden ist, soll der Einfluß der Startkonfiguration auf die Resultate der MC-Simulation untersucht werden. Dazu werden zwei MC-Simulationen chemisch identischer Moleküle, und zwar CG alternierender DNA-Dekamere, mit sich deutlich unterscheidenden Startkonfigurationen durchgeführt. Die eine in Abb. 5.8 a.) dargestellte Startkonfiguration besitzt die Struktureigenschaften einer B-DNA, wohingegen die andere in Abb. 5.8 b.) dargestellte Startkonfiguration zwischen den beiden zentralen Basenpaaren G5-C14 und G6-C16 eine Bindungstasche für einen interkalierenden Liganden besitzt. Diese Struktur ist die Target-DNA-Konformation eines durch Energieminimierung generierten und in Kap. 6 vorgestellten Methylenblau-DNA-Komplexes. Von der B-Form der Startkonfiguration in Abb. 5.8 a.) unterscheiden die deformierte Startkonfiguration in Abb. 5.8 b.) einige wesentliche strukturelle Parameter: Der Rise zwischen dem 5. und 6. Basenpaar besitzt in bezug zu einer in Analogie zum Curves-Algorithmus [13, 14] berechneten besten linearen Achse dieses Dekamers mit 6,4 Å fast einen im Vergleich zur B-DNA verdoppelten Wert, der die Interkalation des Liganden ermöglicht und damit zu einem Längenzuwachs des DNA-Dekamers führt. Der Twist ist an dieser Bindungstasche auf einen Wert von $8,2^\circ$ verringert, so daß das Dekamer ein Unwinding gegenüber der B-Form zeigt. Außerdem zeigen die Zucker der Cytosine enthaltenden, die Bindungstasche flankierenden Nukleotide C5 und C16 mit Phasen von $23,4^\circ$ eine C3'-endo-Zuckerfaltung im Gegensatz zu der in B-DNA vorherrschenden C2'-endo-Zuckerfaltung. Schließlich werden in beiden DNA-Strängen zwischen den die Bindungsstelle generierenden Nukleotiden C5-G6 und C16-G15 α/γ -Flips mit Werten für $\alpha = -171,4^\circ$ und $\gamma = -166,6^\circ$ beobachtet.

Die MC-Simulation der extremen Startkonfiguration in Abb. 5.8 b.) mit einer Bin-

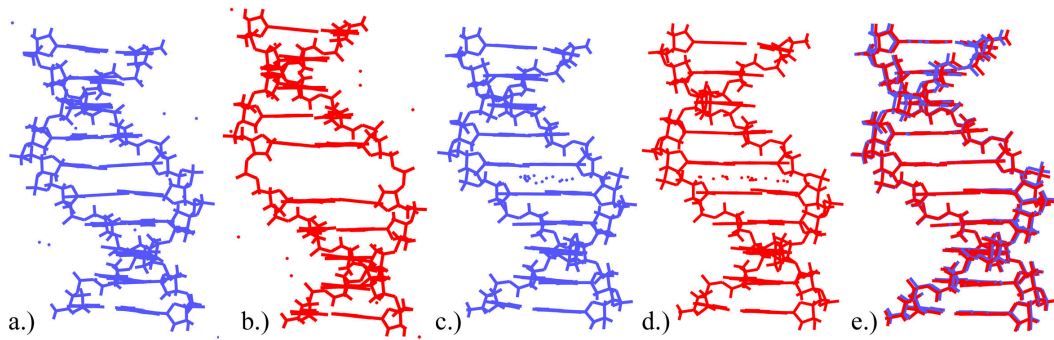


Abb. 5.8.: MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dC - dG)_5]_2$ mit unterschiedlichen Startkonfigurationen a.) in B-Form und b.) mit Bindungstasche; mittlere Strukturen für den equilibrierten Bereich von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen für die Startkonfigurationen c.) in B-Form und d.) mit Bindungstasche; e.) Überlagerung der mittleren Strukturen beider Startkonfigurationen

dungstasche zwischen den zentralen Basenpaaren führt bereits nach 4000 Makrozyklen zur Korrektur des Rise-Wertes, der für den equilibrierten Bereich der Simulation von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen Mittelwerte von 3,15 Å für den CpG5- und 3,21 Å für den CpG15-Basenschritt erreicht, wohingegen diese Mittelwerte beim Start von der B-Form in Abb. 5.8 a.) 3,20 Å für den CpG5- und 3,19 Å für den CpG15-Basenschritt betragen. Nach dem Rise werden die Phasen der im C3'-endo-Faltungsmodus befindlichen Zucker korrigiert. Nachdem die Zucker der Nukleotide C5 und C16 länger im O1'-endo-Faltungsmodus verweilen und mehrfach zum C3'-endo-Faltungsmodus zurückkehren, stabilisieren sich C2'-endo- und benachbarte Faltungsmodi nach ca. 30.000 Makrozyklen. Im Bereich von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen liegen die Mittelwerte der Phasen der Nukleotide C5 und C16 mit $148,0^\circ$ bzw. $149,3^\circ$ etwas unter den Mittelwerten beim Start von der B-DNA mit $153,2^\circ$ bzw. $153,0^\circ$. Der Twist an der zentralen Bindungstasche steigt in den ersten 10^5 Makrozyklen auf Werte um die 20° . Das Unwinding wird allerdings durch den α/γ -Flip konserviert. Der α/γ -Flip zwischen den Nukleotiden G15 und C16 im zweiten DNA-Strang wird nach $1,06 \cdot 10^5$ Makrozyklen korrigiert, wohingegen der andere α/γ -Flip zwischen den Nukleotiden C5 und G6 im ersten DNA-Strang erst nach $5,5 \cdot 10^5$ Makrozyklen die in B-Form vorherrschende Konformation annimmt. Die Mittelwerte der Torsionswinkel α zwischen den zentralen Nukleotiden betragen für den Bereich nach Korrektur beider α/γ -Flips, also von $5,5 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen $-71,8^\circ$ im ersten und $-71,2^\circ$ im zweiten DNA-Strang im Vergleich zu $-71,2^\circ$ bzw. $-71,4^\circ$ beim Start von der B-Form. Eine ähnlich gute Übereinstimmung zeigen die Mittelwerte für den Torsionswinkel γ mit $53,3^\circ$ im ersten und $54,2^\circ$ im zweiten DNA-Strang im Vergleich zu $53,5^\circ$ bzw. $53,2^\circ$ beim Start der MC-Simulation von der B-Form. Der Twist kann nach der Konformationsänderung der Torsionswinkel zur Beseitigung des Unwindings beitragen. Die Twists für den equilibrierten Bereich der Simulation von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen nehmen beim Start von der Konfiguration in Abb. 5.8 b.) mit Bindungstasche schließlich Mittelwerte von $32,97^\circ$ für den CpG5- und $33,02^\circ$ für den CpG15-Basenschritt an und befinden sich damit in sehr guter Übereinstimmung mit den entsprechenden Mittelwerten von $33,00^\circ$ für den CpG5- und $33,14^\circ$ für den CpG15-Basenschritt beim Start von der in Abb. 5.8 a.) dargestellten Konfiguration in B-Form.

Die diskutierten strukturellen Parameter zeigen bereits, daß sich die durch Mittelung

der kartesischen Atomkoordinaten für den equilibrierten Bereich von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen berechneten mittleren Strukturen sehr ähnlich sind. Diese mittleren Strukturen sind für die Startkonfiguration in B-Form in Abb. 5.8 c.) und für die Startkonfiguration mit der beschriebenen Bindungstasche zwischen den zentralen Basenpaaren in Abb. 5.8 d.) dargestellt. Die strukturelle Ähnlichkeit der beiden mittleren Strukturen trotz sehr unterschiedlicher Startkonfigurationen wird in den Abbn. 5.8 c.) und d.) deutlich. Es fällt weiterhin auf, daß alle 18 expliziten Gegenionen sich jeweils in der Ebene zwischen den mittleren Basenpaaren befinden. Diese Tatsache unterstützt die These gut equilibrierter Ionenbewegungen. Wenn die in einem Zylinder mit einem Radius von 100 Å frei beweglichen Ionen in der mittleren Struktur nah beieinander und im Zentrum der Struktur liegen, bedeutet dies, daß sich die Ionen während des MC-Samplings im Zylinder nahezu gleichverteilt bewegt haben.

Die beiden in den Abbn. 5.8 c.) und d.) dargestellten, mittleren Strukturen der unterschiedlichen Startkonfigurationen sind in Abb. 5.8 e.) überlagert worden. Die Überlagerung demonstriert nochmals die weitgehende strukturelle Ähnlichkeit, die sich in einem RMSD-Wert von 0,20 Å ausdrückt. Bei diesem geringen RMSD-Wert kann nahezu von der Gleichheit beider Strukturen gesprochen werden. Zudem beträgt die mittlere Energie beim Start von der extremen Konformation mit Bindungstasche nach Korrektur auch des zweiten α/γ -Flips, also im Bereich von $5,5 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen, -176,2 kcal/mol, wohingegen die mittlere Energie für den Start der MC-Simulation von der B-Form-Konfiguration in diesem Bereich einen Wert von -176,4 kcal/mol annimmt. Auch bei diesen mittleren Energien kann im Rahmen der Fehlertoleranzen von Gleichheit gesprochen werden, so daß damit die Unabhängigkeit der Resultate der MC-Simulationen von der Startkonfiguration gezeigt werden konnte.

5.3. Sequenzspezifische Konformation und Flexibilität von DNA-Dekameren mit alternierenden AT und GC Basensequenzen

Die MC-Simulationen der DNA-Dekamere $[(dA-dT)_5]_2$ und $[(dG-dC)_5]_2$ sind, wie in Kap. 5.1 gezeigt wurde, nach $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen gut equilibriert, so daß die Daten des MC-Samplings im Bereich von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen hinsichtlich der Sequenzspezifität der Konformation und Flexibilität beider DNA-Dekamere analysiert werden können. Dazu wurden in den Abbn. 5.9 und 5.11 Mittelwerte wichtiger struktureller Parameter in Form von Boxplots für die individuellen Basen, Nukleotide bzw. Basenschritte dargestellt. In den Boxplots markieren Linien die Mediane (50%-Quantile), und die Kastenränder werden von den 1. und 3. Quartilen (25%- und 75%-Quantile) gebildet. Fehlerkreuze bei den 10%- und 90%-Quantilen markieren den Bereich derjenigen Werte, die nicht als Ausreißer einzuordnen sind. Punkte kennzeichnen schließlich die 5%- und 95%-Quantile, und alle weiteren Ausreißer sind nicht dargestellt. In den Tabn. 5.1 und 5.3 sind strukturelle Parameter der in den Abbn. 5.2 e.) und 5.3 e.) dargestellten mittleren Strukturen angegeben. Die Mittelwerte struktureller Parameter aller Konformationen des beim MC-Sampling im equilibrierten Bereich von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen generierten statistischen Ensembles können einschließlich der Fluktuationen den Tabn. 5.1-5.4 entnommen werden.

Den Boxplots der strukturellen Parameter X-Displacement, Tip, Phase und Glykosid-

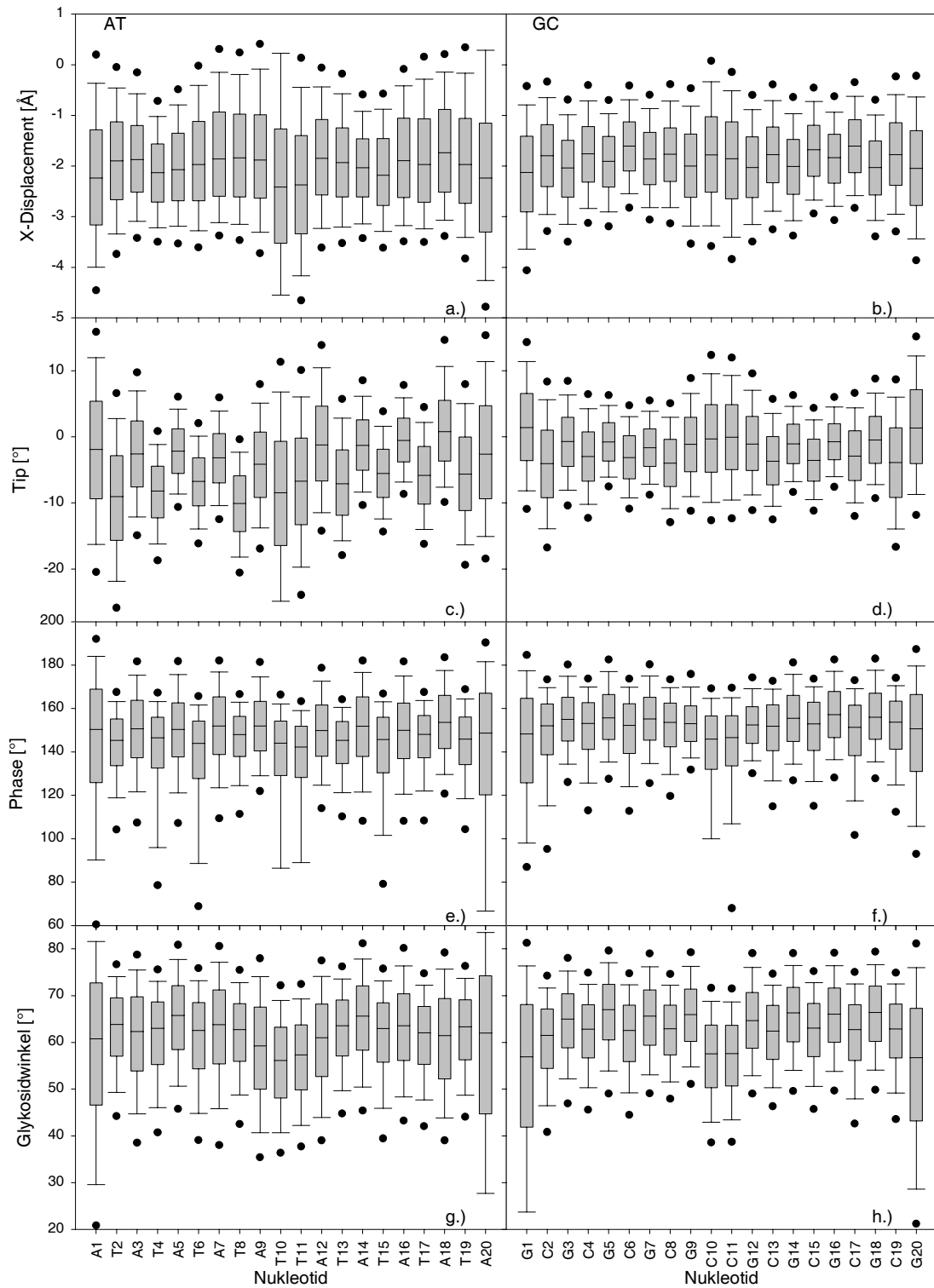


Abb. 5.9.: MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dA - dT)_5]_2$: Boxplots a.) des X-Displacements, c.) des Tips, e.) der Phase des Zuckers und g.) des Glykosidwinkels; MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dG - dC)_5]_2$: Boxplots b.) des X-Displacements, d.) des Tips, f.) der Phase des Zuckers und h.) des Glykosidwinkels

winkel in Abb. 5.9 kann eindeutig die Sequenzspezifität der Dekamerkonformationen entnommen werden. Die Boxplots des X-Displacements des Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ in Abb. 5.9 b.) zeigen eine eindeutige Sequenzabhängigkeit als die Boxplots des X-Displacements des Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$ in Abb. 5.9 a.), da die Konformation des AT alternierenden Dekamers flexibler ist und wiederholte AA-Stapelwechselwirkungen die Sequenzspezifität der Konformation überlagern. Die geringere Flexibilität des GC alternierenden Dekamers wird in Abb. 5.9 durch die dargestellten Quantile verdeutlicht. Die Fluktuationen des X-Displacements liegen nach Tab. 5.1 für das AT bei ca. 1 Å und für das GC alternierende Dekamer bei ca. 0,8 Å. Die Sequenzspezifität des X-Displacements des Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ demonstrieren auch die Mittelwerte in Tab. 5.1, die für Guanine bei ca. -2,0 Å und für Cytosine dagegen bei ca. -1,7 Å liegen. Neben der Sequenzspezifität unterliegen die Werte der Basen R1, Y10, Y11 und R20 an den Rändern der Dekamere Randeffekten, die durch größere Fluktuationen eine höhere Beweglichkeit anzeigen.

Die den Tip charakterisierenden Boxplots in den Abbn. 5.9 c.) und d.) demonstrieren für beide DNA-Dekamere eine eindeutige Sequenzabhängigkeit, die auch in den Mittelwerten in Tab. 5.1 deutlich wird. Den Thyminen mit ca. -7° und den Cytosinen mit ca. $-3,5^\circ$ können größere negative mittlere Tip-Werte als den Adeninen mit ca. -2° und den Guaninen mit ca. -1° zugeordnet werden. Die in Tab. 5.1 angegebenen Werte der Inclination und des Tip spiegeln beim GC alternierenden Dekamer die Symmetrie des Systems wider, wohingegen beim AT alternierenden Dekamer gerade die Symmetrie dieser Werte aufgrund der wiederholt auftretenden AA-Stapelwechselwirkungen beeinträchtigt wird.

Bei den Boxplots der Phasen in den Abbn. 5.9 e.) und f.) fällt neben der wiederum deutlichen Sequenzspezifität auf, daß die 10%-Quantile der Pyrimidinbasen enthaltenden Nukleotide vier- bis fünfmal weiter von den Medianen entfernt liegen als die 90%-Quantile. Darin äußert sich die größere Flexibilität der Zuckerringe der Pyrimidinbasen enthaltenden Nukleotide, denn diese Zucker unternehmen wiederholte Ausflüge zu kleinen Phasen, die dem C3'-endo-Faltungsmodus zugeordnet werden können. Diese Ausflüge werden durch Phasenspektren der einzelnen Zuckerkonformationen in den Abbn. 5.10 a.) und c.) verdeutlicht. Außerdem wird in den Abbn. 5.9 e.) und f.) ersichtlich, daß die Zucker der Purinbasen enthaltenden Nukleotide im Mittel höhere Phasen aufweisen als die Zucker der Pyrimidinbasen enthaltenden Nukleotide. Die Mittelwerte der Phasen liegen laut Tab. 5.2 für Nukleotide mit Adeninen bei ca. 148° , mit Thyminen bei ca. 140° , mit Guaninen bei ca. 154° und mit Cytosinen bei ca. 149° . Die größeren Phasen der Zucker im GC gegenüber dem AT alternierenden Dekamer äußern sich in Abb. 5.10 in einer Verschiebung der Phasenspektren. In Tab. 5.2 wird die sequenzspezifische Flexibilität durch geringere Fluktuationen der Phase von Purinbasen im Vergleich zu Pyrimidinbasen enthaltenden Nukleotiden deutlich. Die sich auch auf die Flexibilität der Zuckerkonformationen auswirkenden Randeffekte sind in den Phasenspektren in Abb. 5.10 erkennbar. Außerdem sind in Abb. 5.10 die aufgrund der palindromen Basensequenz zueinander symmetrischen Zucker gleichfarbig dargestellt, so daß die gute Equilibrierung in den Phasenspektren deutlich wird.

Die Sequenzspezifität der Konformationen wird durch die Boxplots der Glykosidwinkel χ in den Abbn. 5.9 g.) und h.) und die Mittelwerte in Tab. 5.2 wiederum bestätigt, indem die Mittelwerte der Glykosidwinkel χ für Purine mit ca. 62° - 66° im Vergleich zu Pyrimidinen mit ca. 60° - 62° abgesehen von Randeffekten größere Werte aufweisen.

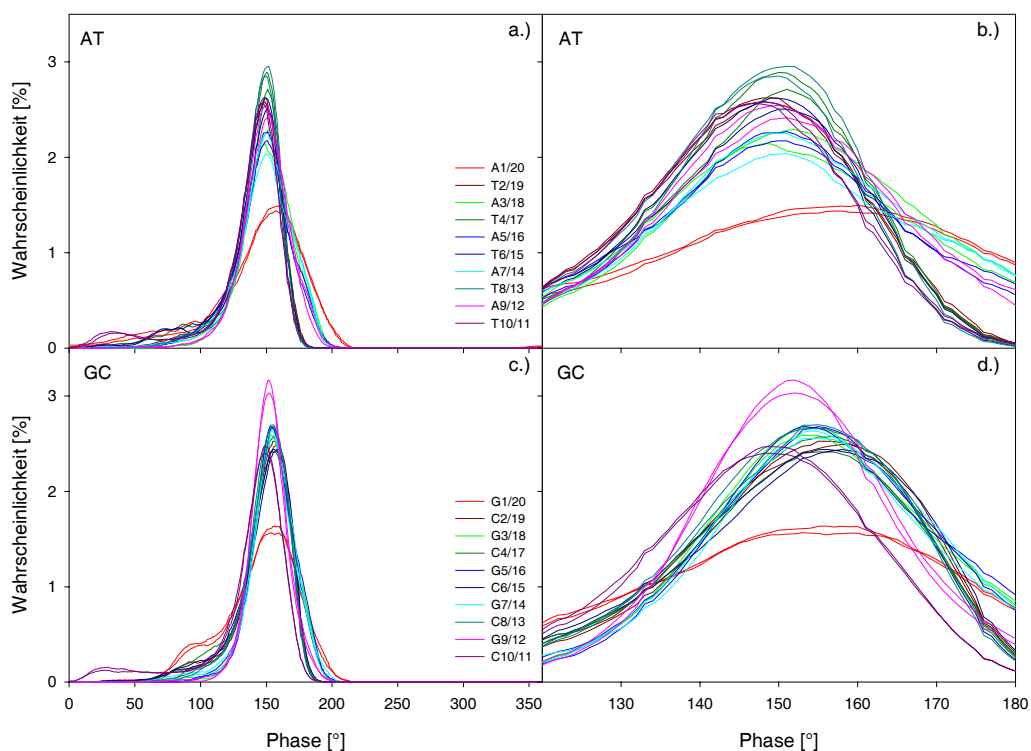


Abb. 5.10.: Phasenspektren der Zucker der DNA-Dekamere a.) $[(dA - dT)_5]_2$ und c.) $[(dG - dC)_5]_2$; Detaillierte Darstellung des Bereichs der C2'-endo-Zuckerfaltung der DNA-Dekamere b.) $[(dA - dT)_5]_2$ und d.) $[(dG - dC)_5]_2$

Auch die in Tab. 5.2 angegebenen Mittelwerte für die Amplituden des Zuckers und den Torsionswinkel δ weisen eine klare Sequenzspezifität auf. Die Amplituden der Adenine enthaltenden Nukleotide liegen im Mittel bei ca. 39° - 40° , während die Amplituden der Thymine enthaltenden Nukleotide Mittelwerte von ca. 40° - $42,5^\circ$ aufweisen. Umgekehrt liegen die mittleren Amplituden der Guanine enthaltenden Nukleotide bei ca. 41° - 43° im Vergleich zu mittleren Amplituden von ca. 39° - 40° der Cytosine enthaltenden Nukleotide.

In Abb. 5.11 sind Boxplots der Basenschritt-Parameter Rise und Twist dargestellt, die durch die Angabe von Mittelwerten und Fluktuationen in Tab. 5.3 ergänzt werden. Die Sequenzspezifität des Rise wird für das Dekamer $[(dA-dT)_5]_2$ in Abb. 5.11 a.) weniger deutlich als für das Dekamer $[(dG-dC)_5]_2$ in Abb. 5.11 b.), da die höhere Flexibilität des AT alternierenden Dekamers und wiederholte AA-Stapelwechselwirkungen die Rise-Werte beeinflussen. Das GC alternierende Dekamer zeigt dagegen mit Rise-Werten von ca. $3,33 \text{ \AA}$ für GpC-Basenschritte gegenüber ca. $3,21 \text{ \AA}$ für CpG-Basenschritte eine eindeutige Sequenzspezifität. Die höhere Flexibilität des AT alternierenden Dekamers drückt sich durch in Tab. 5.3 angegebene Fluktuationen des Rise von ca. $0,45 \text{ \AA}$ gegenüber lediglich ca. $0,33 \text{ \AA}$ beim GC alternierenden Dekamer aus.

Die Boxplots des Twist für die Dekamere $[(dA-dT)_5]_2$ und $[(dG-dC)_5]_2$ in den Abbn. 5.11 c.) und d.) demonstrieren nochmals die Sequenzspezifität der Nukleinsäurekonformationen. Tab. 5.3 kann entnommen werden, daß die mittleren Twists für ApT-Basenschritte ca. 32° - 34° , für TpA-Basenschritte ca. 35° - 37° , für GpC-Basenschritte ca. $35,5^\circ$ - $36,5^\circ$ und für CpG-Basenschritte ca. $32,3^\circ$ - $33,5^\circ$ betragen. Damit fällt auf,

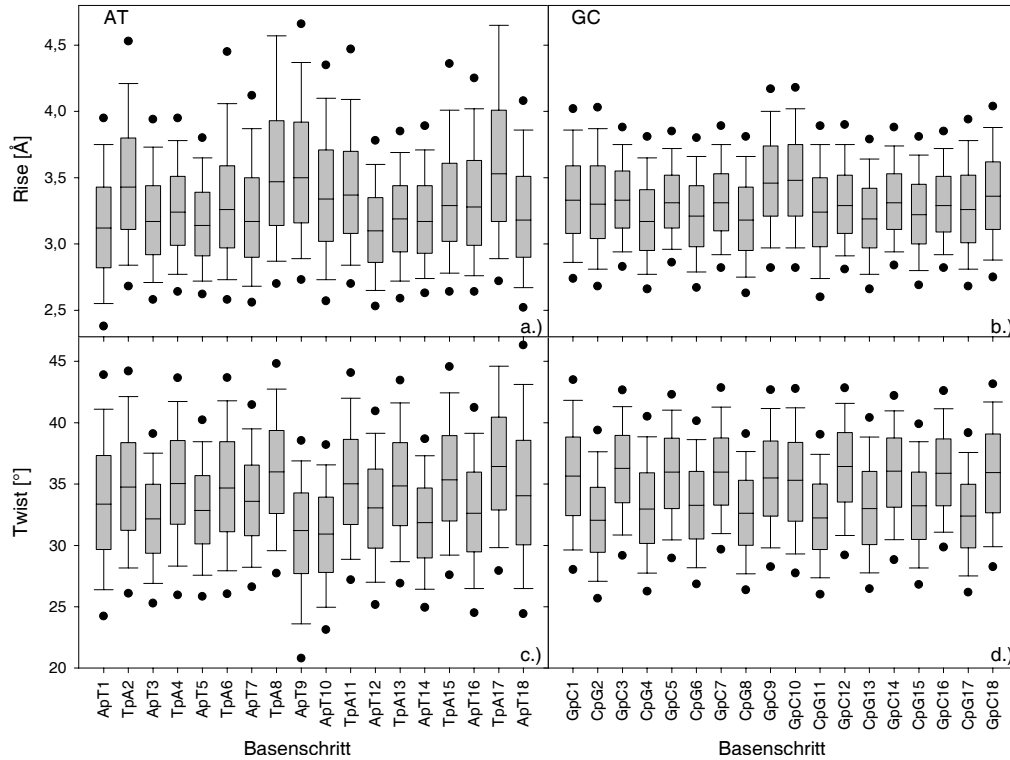


Abb. 5.11.: MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dA - dT)_5]_2$: Boxplots a.) des Rise und c.) des Twist; MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dG - dC)_5]_2$: Boxplots b.) des Rise und d.) des Twist

daß beim Dekamer $[(dA-dT)_5]_2$ die Twists der YpR- größer als die Twists der RpY-Basenschritte sind, wohingegen beim Dekamer $[(dG-dC)_5]_2$ die Twists der RpY- größer als die Twists der YpR-Basenschritte sind. Die in Tab. 5.3 angegebenen Fluktuationen der Twist-Werte hingegen sind bei beiden Dekameren für die YpR-Basenschritte mit ca. $5,3^\circ$ bei TpA- und ca. $4,2^\circ$ bei CpG-Basenschritten größer als für die RpY-Basenschritte mit ca. $4,5^\circ$ bei ApT- und ca. $4,1^\circ$ bei GpC-Basenschritten. Randeefekte machen sich bei den Basenschritt-Parametern Rise und Twist des Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ in den Abbn. 5.11 b.) und d.) weniger als bei den Parametern in Abb. 5.9 bemerkbar.

Die Werte der helikalen Parameter in den Tabn. 5.1 und 5.3 sind sowohl für die durch Mittelung der kartesischen Atomkoordinaten jeder 10. dem statistischen Ensemble nach der Equilibrierung angehörenden Struktur als auch durch Mittelung der von diesen Strukturen berechneten helikalen Parameter angegeben worden. Diese einander gegenübergestellten Parameter unterscheiden sich wie erwartet nicht oder nur geringfügig. Die Berechnung der Fluktuationen der strukturellen Parameter erfordert allerdings die Analyse der dem statistischen Ensemble angehörenden Strukturen.

In Tab. 5.4 sind schließlich die Mittelwerte der Torsionswinkel des Nukleinsäure-Rückgrats ε , ζ , α , β und γ einschließlich ihrer Fluktuationen angegeben. Aus den Daten wird eine Sequenzspezifität dieser 5 endozyklischen Torsionswinkel für beide Dekamere ersichtlich. In Tab. 5.4 fällt weiterhin auf, daß die Fluktuationen der Torsionswinkel wiederum jeweils größer für das AT im Vergleich zum GC alternierenden Dekamer sind, worin sich die unterschiedliche Flexibilität auswirkt. Außerdem sind die Fluktuationen

des Torsionswinkels ε mit ca. 7° geringer als die Fluktuationen des Torsionswinkels γ mit 8° - 9° und der drei übrigen Torsionswinkel mit 10° - 13° .

Das wesentliche Ergebnis der Analyse der Mittelwerte struktureller Parameter besteht in der eindeutigen Sequenzspezifität der Nukleinsäurekonformationen und auch der Flexibilität dieser Konformationen. Die sequenzspezifischen Mittelwerte und Fluktuationen der einzelnen Basen, Nukleotide bzw. Basenschritte geben außerdem die Symmetrien der Dekamere wieder, indem aufgrund der palindromen Basensequenz zueinander symmetrische Einheiten in guter Näherung gleiche Mittelwerte und Fluktuationen aufweisen. Diese Symmetrie ist in den Abbn. 5.9 und 5.11 deutlich erkennbar. Neben der Sequenzspezifität charakterisieren die Fluktuationen abgesehen von den erwarteten Randeffekten die größere Flexibilität des AT-Basenpaare enthaltenden Dekamers.

5.4. Kondensation der expliziten Gegenionen

Explizite Gegenionen kompensieren in den MC-Simulationen die polyanionischen Ladungen der DNA-Dekamere. Die Bewegungen der expliziten Gegenionen in einem Zylinder mit einem Radius von 100 \AA , dessen Achse durch die beste lineare helikale Achse der DNA-Dekamere determiniert wird, sind in Kap. 5.1 als sehr effektiv und ebenfalls nach $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen equilibriert bewertet worden. Die Aufenthaltsorte der Ionen sind für die MC-Simulation des Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$ in Abb. 5.12 in Intervallen von jeweils 1000 Makrozyklen für den Bereich von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen nach Erreichen der Equilibrierung markiert worden, wobei die in Abb. 5.2 e.) dargestellte mittlere Struktur des AT alternierenden Dekamers die Positionierung der DNA veranschaulicht. In Abb. 5.12 a.) wird ersichtlich, daß einerseits der gesamte Zylinder mit einem Radius von 100 \AA von den Ionen für ihre Bewegungen genutzt wurde und andererseits eine Kondensation von Ionen an der Oberfläche der DNA erfolgt ist. Die Abb. 5.12 b.) verdeutlicht Aufenthaltswahrscheinlichkeiten der Ionen in der Kondensationshülle an der Oberfläche des Dekamers. Dabei ist sowohl über der kleinen als auch der großen Furche der DNA eine Akkumulation von Ionen zu beobachten, die über der großen Furche quantitativ auffälliger als über der kleinen Furche ist, da über der großen Furche mehr Raum für Ionen bereitsteht.

Die Kondensation der Gegenionen ist in Abb. 5.13 in Form der Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Ionen in Zylinderschalen mit unterschiedlichen radialen Abständen von der helikalen Achse in Intervallen von $0,1 \text{ \AA}$ dargestellt. Es ist in Abb. 5.13 a.) zu erkennen, daß in Abständen bis zu 5 \AA von der helikalen Achse ein Aufenthalt der Ionen nicht möglich ist, denn dort befindet sich das DNA-Molekül. Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit nimmt in den weiter entfernten Zylinderschalen kontinuierlich zu bis sie bei ca. 15 \AA für die MC-Simulationen beider Dekamere ein Maximum erreicht. Da die DNA in B-Form einen Radius von ca. 10 \AA aufweist, ist dieses Maximum gut mit der Kondensation der Ionen an der DNA-Oberfläche erklärbar. In weiter außen liegenden Zylinderschalen nimmt die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Ionen bis zu einem radialen Abstand von 20 \AA steil ab, sinkt dann langsam bis zu einem radialen Abstand von 50 \AA und ist dann im weiteren Zylinderraum annähernd gleichverteilt. In Abb. 5.13 b.) ist die Aufenthaltswahrscheinlichkeit in dem Kondensationsgebiet mit einem radialen Abstand von 2 bis 22 \AA detaillierter dargestellt. Ein Nebenmaximum der Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Ionen bei der MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$

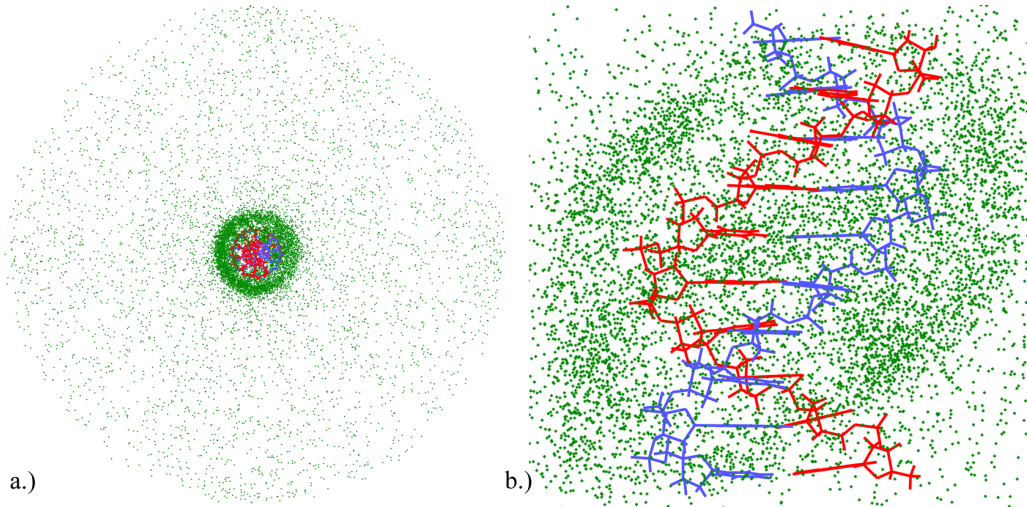


Abb. 5.12.: Aufenthaltsorte der expliziten Gegenionen in Intervallen von 1000 Makrozyklen nach Erreichen der Equilibrierung der MC-Simulation des DNA-Dekamers $[(dA - dT)_5]_2$: a.) Ansicht entlang der besten linearen helikalen Achse und b.) Ansicht senkrecht zur helikalen Achse in die kleine Furche

wird bei ca. 7 Å deutlich aufgelöst. Dieses Nebenmaximum kann mit dem Eindringen von Ionen in die große Furche erklärt werden. Da diese Furche des AT alternierenden im Vergleich zum GC alternierenden Dekamer verengt ist, wird das Eindringen von Ionen bei der MC-Simulation des AT alternierenden Dekamers erschwert, so daß sich kein Nebenmaximum sondern nur eine Schulter in einem radialen Abstand von 8 Å ausbildet.

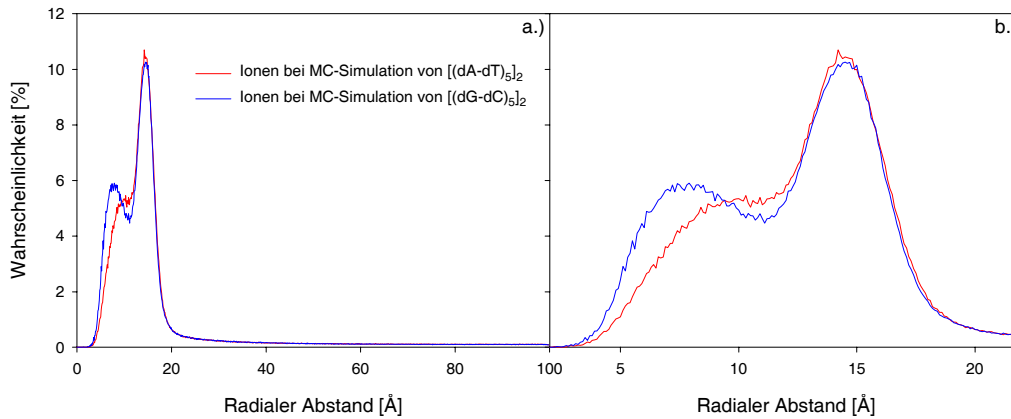


Abb. 5.13.: Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Ionen in radialen Abständen von der helikalen Achse der Dekamere $[(dA - dT)_5]_2$ und $[(dG - dC)_5]_2$ in Intervallen von 0,1 Å a.) über den gesamten Radius des Zylinders und b.) im Kondensationsgebiet der expliziten Gegenionen. Die Aufenthaltswahrscheinlichkeiten sind auf Volumeneinheiten der Zylinderschalen bezogen.

Um die Kondensation der Gegenionen quantitativ beurteilen zu können, wird der Anteil der in einem Abstand ≤ 22 Å befindlichen Ionen berechnet. Dieser Abstand ist gegenüber den von Jayaram et al. angegebenen 17 Å um 5 Å vergrößert, weil die De-

kamere bei Ausflügen in die A-Form und durch signifikante Krümmungen der helikalen Achse während des MC-Samplings ihren Radius gegenüber den für eine reguläre B-Form angenommenen Radius von 10 Å teilweise sehr stark überschreiten. Jayaram et al. untersuchten im Gegensatz zu den hier vorgestellten MC-Simulationen die Kondensation von Gegenionen an einer DNA in einer fixierten, regulären B-Form [48]. Im equilibrierten Bereich von $4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen sind bei Annahme eines Kondensationsradius von 22 Å bei der MC-Simulation des Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$ 60,5 % und bei der MC-Simulation des Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ 61,2 % an der DNA-Oberfläche kondensiert. Dabei wurden alle Ionen der zum statistischen Ensemble gehörenden Strukturen in Intervallen von jeweils 10 Makrozyklen berücksichtigt. Der Anteil kondensierter Ionen ist von der Wahl des Radius des die Ionenbeweglichkeit einschränkenden Zylinders etwas beeinflusst. Ein Radius von 100 Å gibt den Ionen eine große Bewegungsfreiheit. Da die Ionenverteilung auch fernab der DNA eine annähernde Gleichverteilung anstrebt, läßt die Darstellung der Aufenthaltsorte der Ionen in Abb. 5.12 a.) vermuten, daß ein kleinerer Zylinderradius den Anteil kondensierter Ionen erhöhen würde. Die Abschätzung der Ionenverteilung unterstützt mit diesen Resultaten die Bewertung, daß explizite Gegenionen essentiell zur Stabilisierung von Nukleinsäurekonformationen beitragen.

5.5. Diskussion der Resultate, Teil I

Die MC-Simulationen der DNA Dekamere $[(dA-dT)_5]_2$ und $[(dG-dC)_5]_2$ können nach $4 \cdot 10^5$ Makrozyklen als gut equilibriert betrachtet werden. Gezeigt wurde die Equilibrierung sowohl hinsichtlich der Gesamtenergie der Systeme als auch der strukturellen Parameter X-Displacement, Inclination, Phase, Glykosidwinkel, Rise sowie Twist der DNA und der Bewegungen der expliziten Gegenionen. Das MC-Sampling ist bzgl. der Gesamtenergie und der strukturellen Parameter einschließlich der Ionenbewegungen überaus effektiv. In dem System finden deutliche strukturelle Variationen und auch Übergänge zwischen Substrukturen statt, die durch mehrmaliges Auftreten die Reversibilität der Übergänge unter Beweis stellen. Für die Equilibrierung werden damit nach der in Kap. 4.2.5 angegebenen Rechenzeitabschätzung nur ca. 55 Stunden Rechenzeit auf den spezifizierten Linux PCs benötigt. McConnell und Beveridge berichteten im Vergleich dazu über MD-Simulationen, in denen Übergänge zwischen Substrukturen in Simulationen über 15 ns nur vereinzelt auftraten [55, 72], so daß diese MD-Simulationen nicht als equilibriert betrachtet werden können. Hinreichende statistische Auswertungen von MD-Trajektorien für Simulationen von Nukleinsäurekonformationen wurden in der Literatur bisher nicht angegeben [55, 64, 72], weshalb davon ausgegangen werden muß, daß eine ausreichende Equilibrierung von MD-Simulationen trotz Rechenzeiten von mehreren hundert Stunden auf Supercomputern [72] bisher nicht möglich ist. Das Erreichen der für die Relevanz von Simulationsdaten notwendigen Equilibrierung kann somit als wesentlicher Vorteil des in Kap. 5 dargestellten MC-Algorithmus für Nukleinsäuren bewertet werden.

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß die MC-Simulationen nach Erreichen der Equilibrierung unabhängig von der Startkonfiguration sind, denn es wurden bei von sehr unterschiedlichen Anfangskonfigurationen desselben Moleküls gestarteten MC-Simulationen nach der Equilibrierung statistische Ensembles generiert, deren mittlere

Strukturen sich nur durch einen RMSD-Wert von 0,20 Å strukturell und deren mittlere Energien sich lediglich durch 0,2 kcal/mol energetisch unterscheiden. MD-Simulationen sind den Nachweis dieses wichtigen Kriteriums bisher schuldig geblieben [55, 64, 72]. Die MC-Simulationen der DNA-Dekamere [(dA-dT)₅]₂ und [(dG-dC)₅]₂ zeigten eine eindeutige Sequenzspezifität sowohl der Konformation als auch der Flexibilität. Ein Vergleich mit experimentellen Daten ist nur eingeschränkt möglich, da für die Konformationen beider Dekamere bisher keine röntgenkristallographisch bestimmten Strukturen und für die GC alternierende Basensequenz lediglich NMR-Daten für das Hexamer d(CGCGCG)₂ vorliegen [45]. Ansonsten ist der Vergleich auf experimentelle Daten von Strukturen beschränkt, die in den untersuchten Dekameren vorhandenen Basenpaare bzw. Basenschritte enthalten [55]. Dieser Vergleich berücksichtigt allerdings nicht den Einfluß der jeweiligen Umgebung der betrachteten lokalen Konformation.

Bhattacharyya et al. geben durch Analysierung bekannter Röntgenkristallstrukturen von DNA-Fragmenten in B-Form mittlere lokale Basenschritt-Parameter an [39]. Die mittleren experimentellen Rise-Werte (3,25 Å für ApT-, 3,30 Å für TpA-, 3,32 Å für GpC- und 3,46 Å für CpG-Basenschritte [39]) stimmen mit Ausnahme des CpG-Basenschrittes nahezu mit den mittleren Rise-Werten der MC-Simulationen (3,20 Å für ApT-, 3,35 Å für TpA-, 3,33 Å für GpC- und 3,21 Å für CpG-Basenschritte) überein. Ein Vergleich der mittleren experimentellen Twist-Werte (32,76° für ApT-, 40,39° für TpA-, 38,52° für GpC- und 36,26° für CpG-Basenschritte [39]) mit den mittleren Twist-Werten der MC-Simulationen (32°-34° für ApT-, 35°-37° für TpA-, 35,5°-36,5° für GpC- und 32,3°- 33,5° für CpG-Basenschritte) zeigt ebenfalls eine gute Übereinstimmung. Das Ranking der Twist-Werte resultiert bei AT-Basensequenzen in größeren Twists der YpR- gegenüber den RpY-Basenschritten, während bei GC-Basensequenzen umgekehrt die RpY-Basenschritte größere Twists als die YpR-Basenschritte aufweisen. Dieses Ranking stimmt in den experimentellen und den Simulationsdaten in beiden Fällen überein. Im Detail sind die experimentellen Twists bis auf die Twists der ApT-Basenschritte etwas größer als die mittleren Twists aus den MC-Simulationen. Erklärbar ist diese Differenz durch den bekannten Effekt etwas vergrößerter Twists in Röntgenkristallstrukturen aufgrund von Kristalleffekten. Die Twist-Werte in MD-Simulationen betragen im Mittel meist nur ca. 30° und zeigen damit gegenüber experimentellen Daten ein signifikantes Unwinding [55, 64, 72]. Obwohl die MD- und MC-Simulationen das Kraftfeld AMBER [105, 106] verwenden, resultieren die hier vorgestellten MC-Simulationen im Gegensatz zu MD-Simulationen in mittleren Strukturen mit experimentell sehr gut verifizierbaren Twist-Werten.

Ein Vergleich mit NMR-Daten ist auf die Strukturdaten des Hexamers d(CGCGCG)₂ beschränkt [45]. NMR-Daten für AT alternierende Basensequenzen können nur mit den Hexameren d(CATATG)₂ und d(CAATTG)₂ verglichen werden [45]. Die Relevanz dieser Daten ist aufgrund der wenigen Basenpaare und unterschiedlichen Umgebungen der jeweiligen Basenpaare zu relativieren. Dennoch stimmen die aus NMR-Daten bestimmten Twist-Werte (33,9° für ApT-, 37,1° für GpC- und 33,1° für CpG-Basenschritte [45]) gut mit den mittleren Twist-Werten der MC-Simulationen überein. Dagegen weicht der Twist der TpA-Basenschritte in den NMR-Messungen mit 46,6° deutlich von den Resultaten der MC-Simulationen ab [45]. Dieser hohe Twist-Wert ist mit einer zumindest lokalen Konformation dieses Basenschrittes erklärbar, die in Richtung der D-Form der DNA tendiert. Damit werden beobachtete Ausflüge des AT alternierenden Dekamers in Richtung der D-Form experimentell bestätigt, die in den MC-Simulationen

gerade an den Rändern wiederholt mit AA-Stapelwechselwirkungen verbunden waren. Bestätigt werden kann durch die NMR-Resultate zudem die aus den Resultaten der MC-Simulationen gefolgerte größere Flexibilität des Dekamers $[(dA-dT)_5]_2$ gegenüber dem Dekamer $[(dG-dC)_5]_2$ einschließlich der Erklärung dieser unterschiedlichen Flexibilität durch die schwächere Wasserstoffbrücken-Wechselwirkung in AT-Basenpaaren im Vergleich zu GC-Basenpaaren. Aus den NMR-Daten kann nämlich der direkt die Basenpaarung charakterisierende Basenpaar-Parameter Propeller 2.8 berechnet werden. Der Propeller zeigt in den NMR-Strukturen bei den AT-Basenpaaren eine Variation von ca. 26° , während er bei den GC-Basenpaaren lediglich um ca. 16° variiert. Außerdem wurden die Phasen der Zucker aller Nukleotide in den NMR-Messungen mit Werten zwischen 157° - 176° bestimmt, womit die Werte wie die mittleren Phasen der MC-Simulationen im Bereich der C2'-endo-Zuckerfaltung liegen.

Der Anteil an der DNA kondensierter Ionen wurde von Manning für monovalente Ionen mit 76 % angegeben [47]. Jayaram et al. konnten diese Ionenkondensation qualitativ bestätigen [48, 49]. Der Radius einer DNA in B-Form kann mit 10 \AA angegeben werden, weshalb Jayaram et al. die Kondensation innerhalb eines Zylinders mit einem Radius von 17 \AA quantitativ bewerteten. Unter Verwendung einer abstandsabhängigen, sigmoidalen Dielektrizitätsfunktion kondensierten 75 % der Ionen an der DNA, während die FDPB-Methode einen geringeren Anteil kondensierter Ionen von ca. 60 % ergab [48]. Bei den in dieser Arbeit vorgestellten MC-Simulationen der DNA-Dekamere waren die DNA-Konformationen gegenüber den MC-Simulationen von Jayaram et al. vollkommen flexibel. Aufgrund mehrfacher Ausflüge in Richtung der A-Form und wiederholter Krümmungen der helikalen Achse wird der Kondensationsradius um 5 \AA größer mit 22 \AA angenommen. Innerhalb dieses Radius kondensierten bei den MC-Simulationen beider Dekamere ca. 60 % der Ionen, was als gute qualitative Bestätigung der Kondensation expliziter Gegenionen betrachtet werden kann. In NMR-Studien wurde in Übereinstimmung damit eine Rate von $0,52 \pm 0,05$ gebundenen Natrium-Ionen je Nukleinsäurephosphat bestimmt [161]. Young et al. berichten über ein Plateau der Aufenthaltswahrscheinlichkeit von Ionen in MC-Simulationen in einem radialen Abstand von 9 \AA von der helikalen Achse [71]. Dieser Wert befindet sich in guter Übereinstimmung mit einem Nebenmaximum im Abstand von 7 \AA bei der MC-Simulation des GC und einer Schulter im Abstand von 8 \AA beim AT alternierenden Dekamer. Dieses Plateau wird mit dem Eindringen von Ionen in die Furchen erklärt [71]. McConnell und Beveridge berichten über einen hohen Anteil in die große Furche eindringender Ionen bei GC-Basensequenzen im Vergleich zum Anteil in die kleine Furche bei GC- und in beide Furchen bei AT-Basensequenzen eindringender Ionen in MD-Simulationen [72], womit das Auftreten des Nebenmaximums in der Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Ionen in der MC-Simulation des Dekamers $[(dG-dC)_5]_2$ korrespondiert.

Zusammenfassend kann beurteilt werden, daß sich die Resultate der MC-Simulationen in guter Übereinstimmung mit verfügbaren experimentellen Daten befinden. Die Resultate bestätigen die Sequenzspezifität der DNA-Konformationen und deren Flexibilität. Die MC-Simulationen sind im Vergleich der strukturellen Parameter der DNA-Konformationen mit experimentellen Daten den MD-Simulationen überlegen.

5. Monte-Carlo-Simulationen von DNA-Dekameren mit alternierenden Sequenzen

Base	dx [Å] ¹	dx [Å] ²	σ [Å]	η [°] ¹	η [°] ²	σ [°]	ϑ [°] ¹	ϑ [°] ²	σ [°]
A1	-2,27	-2,20	1,40	7,46	7,61	10,54	-1,93	-2,06	11,00
T2	-1,97	-1,90	1,12	8,80	8,89	9,38	-9,10	-9,37	9,85
A3	-1,90	-1,84	0,98	0,75	0,80	8,84	-2,36	-2,58	7,47
T4	-2,18	-2,13	0,85	2,80	2,73	9,16	-8,18	-8,47	5,93
A5	-2,05	-2,03	0,94	0,99	0,82	7,86	-2,05	-2,21	5,09
T6	-1,90	-1,90	1,09	4,16	3,92	8,40	-6,80	-6,86	5,52
A7	-1,70	-1,73	1,13	1,50	1,28	10,05	-3,31	-3,23	5,58
T8	-1,71	-1,75	1,14	2,15	2,07	12,84	-10,25	-10,23	6,18
A9	-1,78	-1,79	1,24	-7,28	-7,17	13,16	-4,31	-4,25	7,51
T10	-2,28	-2,32	1,81	-10,47	-10,11	15,84	-8,35	-8,76	12,37
T11	-2,28	-2,34	1,44	-1,01	-0,75	14,04	-6,52	-6,76	10,14
A12	-1,84	-1,83	1,07	-0,45	-0,30	10,34	-0,96	-0,84	8,54
T13	-1,96	-1,91	1,01	5,81	5,83	8,91	-6,95	-6,76	7,25
A14	-2,07	-2,03	0,86	2,59	2,51	8,22	-1,38	-1,17	5,74
T15	-2,14	-2,13	0,94	2,52	2,34	9,18	-5,54	-5,47	5,54
A16	-1,84	-1,84	1,06	-1,31	-1,54	8,98	-0,51	-0,49	5,04
T17	-1,85	-1,85	1,13	0,78	0,57	10,62	-5,65	-5,84	6,47
A18	-1,68	-1,67	1,11	-2,07	-2,16	10,60	1,46	1,32	7,44
T19	-1,95	-1,87	1,27	4,66	4,62	11,47	-5,37	-5,64	8,36
A20	-2,17	-2,14	1,72	1,88	1,98	12,89	-1,96	-2,19	10,24
G1	-2,17	-2,18	1,10	4,03	4,01	8,88	1,58	1,56	7,69
C2	-1,81	-1,80	0,90	4,06	4,01	8,65	-4,05	-4,11	7,61
G3	-2,06	-2,06	0,86	1,31	1,29	6,81	-0,77	-0,79	5,70
C4	-1,79	-1,77	0,82	1,34	1,30	7,36	-2,93	-2,95	5,74
G5	-1,93	-1,92	0,75	1,73	1,71	5,21	-0,73	-0,72	4,24
C6	-1,63	-1,61	0,72	1,88	1,86	6,23	-3,13	-3,11	4,77
G7	-1,85	-1,84	0,76	1,67	1,68	5,32	-1,67	-1,64	4,32
C8	-1,76	-1,77	0,82	1,21	1,23	7,34	-3,94	-3,95	5,43
G9	-1,96	-2,00	0,93	1,00	1,02	7,22	-1,15	-1,15	6,16
C10	-1,71	-1,77	1,10	-1,62	-1,59	9,59	-0,22	-0,23	7,65
C11	-1,89	-1,91	1,12	-1,81	-1,79	9,71	-0,13	-0,11	7,36
G12	-2,01	-2,03	0,89	0,97	0,96	7,65	-0,99	-0,97	6,26
C13	-1,79	-1,80	0,87	1,85	1,82	7,51	-3,57	-3,58	5,53
G14	-2,01	-2,01	0,82	1,83	1,80	5,48	-1,06	-1,06	4,49
C15	-1,71	-1,69	0,75	2,02	1,99	6,72	-3,46	-3,50	4,75
G16	-1,86	-1,85	0,73	2,04	2,03	5,14	-0,72	-0,75	4,13
C17	-1,62	-1,60	0,76	2,30	2,29	6,92	-2,80	-2,84	5,70
G18	-2,04	-2,04	0,81	1,55	1,56	6,32	-0,39	-0,40	5,50
C19	-1,76	-1,77	0,93	3,32	3,31	8,89	-3,90	-3,94	7,81
G20	-2,00	-2,04	1,09	3,45	3,46	8,89	1,53	1,54	8,28

Tabelle 5.1.: Helikale Parameter X -Displacement dx , Inclination η und Tip ϑ mit den Fluktuationen σ dieser Parameter der DNA-Dekamere $[(dA - dT)_5]_2$ und $[(dG - dC)_5]_2$. Die mit ¹ gekennzeichneten Werte sind die helikalen Parameter einer mittleren Struktur, die durch Mittelung der kartesischen Atomkoordinaten jeder 10. Konformation nach der Equilibrierung ($4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen) berechnet worden ist. Mit ² sind die Werte bezeichnet, die durch Mittelwertbildung der helikalen Parameter dieser Konformationen berechnet wurden.

Nukleotid	P [°]	σ [°]	A [°]	σ [°]	χ [°]	σ [°]	δ [°]	σ [°]
A1	143,4	39,5	40,5	5,4	58,4	19,8	130,0	21,0
T2	141,9	21,2	41,5	5,8	62,7	9,8	130,4	12,8
A3	148,7	22,9	39,8	5,5	61,0	12,2	133,1	13,2
T4	139,0	26,6	40,7	5,6	61,2	10,6	128,3	16,4
A5	148,4	23,5	39,4	5,8	64,8	10,7	132,8	13,2
T6	135,5	29,1	40,7	6,1	60,7	11,1	126,6	16,9
A7	150,3	21,7	40,1	5,3	62,4	12,7	134,2	13,0
T8	144,9	18,0	42,5	5,5	61,5	9,9	132,5	11,9
A9	151,7	18,0	40,8	5,6	58,2	13,0	135,5	10,6
T10	134,0	34,0	41,4	6,1	55,4	11,0	126,7	17,7
T11	132,6	33,1	42,0	6,2	56,5	10,5	126,0	17,0
A12	148,6	20,4	40,8	5,4	60,0	11,6	133,6	12,2
T13	142,3	17,8	42,3	5,6	62,5	9,5	130,8	11,8
A14	149,6	23,5	39,9	5,5	64,8	11,0	133,7	13,5
T15	138,5	26,6	40,0	5,9	61,1	10,9	128,1	15,8
A16	148,2	22,3	39,7	5,6	62,8	11,4	132,8	13,1
T17	144,7	18,7	41,4	5,6	60,8	9,8	132,0	12,3
A18	153,3	18,6	40,0	5,7	60,5	12,3	135,9	10,5
T19	142,8	20,0	41,6	6,2	62,2	9,8	130,6	12,8
A20	138,5	45,6	40,7	5,7	58,6	21,2	127,4	23,1
G1	143,4	30,9	41,8	5,3	53,7	19,7	130,3	18,9
C2	146,9	22,7	39,7	5,5	60,1	10,2	132,5	14,0
G3	154,1	17,5	41,4	5,0	64,0	9,6	137,4	10,7
C4	149,9	18,5	39,4	5,6	61,9	9,0	134,1	11,6
G5	155,6	16,7	41,1	5,1	66,0	9,4	138,0	9,7
C6	149,0	18,8	39,8	5,7	61,5	9,2	133,6	11,9
G7	154,4	16,8	41,2	5,0	65,0	9,2	137,6	10,2
C8	151,0	16,8	39,3	5,5	62,3	8,2	134,8	10,4
G9	153,2	13,2	43,0	4,9	65,6	8,7	137,9	8,1
C10	137,9	31,2	40,5	6,4	56,6	10,0	128,3	16,6
C11	139,4	29,4	40,9	6,3	56,7	9,9	129,1	16,0
G12	152,3	13,6	43,3	4,8	64,5	9,1	137,4	8,6
C13	149,3	17,9	39,8	5,7	61,7	8,7	134,2	11,2
G14	154,6	17,4	41,2	5,2	65,6	9,0	137,6	10,2
C15	149,9	18,4	39,4	5,6	62,1	9,2	134,1	11,4
G16	156,6	16,7	40,8	5,2	65,5	9,0	138,5	9,6
C17	147,0	21,4	40,2	5,4	61,4	9,8	132,6	13,5
G18	155,8	17,0	41,0	5,3	65,7	9,1	138,0	9,8
C19	150,1	19,0	39,4	5,7	61,7	9,5	134,2	11,8
G20	146,8	28,5	41,6	5,2	54,5	18,1	132,6	17,6

Tabelle 5.2.: Phase P , Amplitude A und die Torsionswinkel χ und δ mit den Fluktuationen σ dieser Parameter der DNA-Dekamere $[(dA - dT)_5]_2$ und $[(dG - dC)_5]_2$. Die angegebenen Werte sind durch Mittelwertbildung dieser Parameter jeder 10. Konformation nach der Equilibrierung ($4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen) berechnet worden.

5. Monte-Carlo-Simulationen von DNA-Dekameren mit alternierenden Sequenzen

Basenschritt	dZ [Å] ¹	dZ [Å] ²	σ [Å]	Ω [°] ¹	Ω [°] ²	σ [°]
ApT1	3,14	3,14	0,48	33,87	33,61	5,92
TpA2	3,50	3,49	0,56	35,09	34,87	5,48
ApT3	3,20	3,20	0,42	32,31	32,18	4,16
TpA4	3,26	3,26	0,40	35,04	35,04	5,33
ApT5	3,16	3,17	0,37	32,92	32,94	4,37
TpA6	3,33	3,33	0,55	35,11	34,81	5,43
ApT7	3,23	3,23	0,48	34,04	33,74	4,52
TpA8	3,61	3,59	0,66	35,91	36,06	5,13
ApT9	3,60	3,57	0,58	31,21	30,64	5,47
ApT10	3,40	3,38	0,54	31,46	30,80	4,62
TpA11	3,45	3,44	0,53	35,53	35,23	5,14
ApT12	3,11	3,12	0,38	33,03	33,03	4,86
TpA13	3,20	3,20	0,39	34,97	35,00	4,99
ApT14	3,20	3,20	0,38	31,90	31,83	4,16
TpA15	3,35	3,36	0,51	35,70	35,60	5,16
ApT16	3,33	3,34	0,49	32,84	32,74	5,03
TpA17	3,66	3,65	0,68	36,75	36,84	5,94
ApT18	3,22	3,23	0,48	34,07	34,54	6,74
GpC1	3,35	3,35	0,39	35,47	35,67	4,72
CpG2	3,33	3,32	0,41	32,38	32,18	4,09
GpC3	3,34	3,34	0,32	36,04	36,15	4,07
CpG4	3,20	3,20	0,35	33,25	33,12	4,30
GpC5	3,33	3,33	0,30	35,74	35,82	4,11
CpG6	3,22	3,22	0,34	33,47	33,33	4,04
GpC7	3,32	3,32	0,33	36,03	36,06	3,99
CpG8	3,20	3,20	0,36	32,79	32,65	3,86
GpC9	3,48	3,48	0,41	35,46	35,47	4,40
GpC10	3,49	3,49	0,41	35,14	35,21	4,60
CpG11	3,24	3,24	0,39	32,50	32,34	4,00
GpC12	3,32	3,32	0,33	36,29	36,30	4,14
CpG13	3,20	3,20	0,34	33,25	33,13	4,25
GpC14	3,33	3,33	0,32	35,76	35,83	4,15
CpG15	3,23	3,23	0,34	33,45	33,26	4,00
GpC16	3,31	3,31	0,31	35,92	36,02	3,90
CpG17	3,28	3,28	0,38	32,65	32,47	3,92
GpC18	3,37	3,37	0,40	35,68	35,84	4,58

Tabelle 5.3.: Helikale Parameter Rise Dz und Twist Ω mit den Fluktuationen σ dieser Parameter der DNA-Dekamere $[(dA - dT)_5]_2$ und $[(dG - dC)_5]_2$. Die mit ¹ gekennzeichneten Werte sind die helikalen Parameter einer mittleren Struktur, die durch Mittelung der kartesischen Atomkoordinaten jeder 10. Konformation nach der Equilibrierung ($4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen) berechnet worden ist. Mit ² sind die Werte bezeichnet, die durch Mittelwertbildung der helikalen Parameter dieser Konformationen berechnet wurden.

Nukleotid- schritt	ε [°]	σ [°]	ζ [°]	σ [°]	α [°]	σ [°]	β [°]	σ [°]	γ [°]	σ [°]
ApT1	-173,2	7,9	-101,2	12,7	-68,2	9,9	176,0	9,7	57,9	8,4
TpA2	-172,3	7,0	-103,2	12,1	-72,3	10,2	-178,2	10,9	52,3	8,9
ApT3	-173,7	7,4	-107,6	11,5	-67,7	9,3	176,6	10,2	57,5	8,0
TpA4	-172,8	7,0	-102,2	11,9	-71,4	10,1	-179,8	10,9	53,1	9,1
ApT5	-174,3	7,0	-107,6	11,5	-67,0	9,2	173,7	9,9	58,8	8,2
TpA6	-173,0	7,4	-104,1	13,7	-69,3	9,9	177,8	10,6	55,7	9,3
ApT7	-175,3	6,9	-107,3	10,6	-66,1	9,0	175,1	10,5	59,2	8,5
TpA8	-174,1	7,0	-105,6	11,8	-70,2	9,9	-179,1	11,5	54,6	9,6
ApT9	-175,6	7,3	-106,7	10,1	-67,2	9,7	-179,1	12,0	56,3	8,4
ApT10	-175,6	7,1	-105,8	10,2	-67,3	9,6	179,4	10,9	56,0	8,5
TpA11	-173,6	7,0	-103,6	11,2	-70,9	9,9	-179,0	11,4	52,8	9,4
ApT12	-174,9	7,0	-106,7	10,8	-66,6	9,0	174,3	9,6	58,6	8,3
TpA13	-172,9	7,2	-103,5	12,6	-70,2	10,0	178,7	10,8	54,1	9,1
ApT14	-174,2	7,2	-109,1	11,4	-66,9	9,2	175,4	10,3	58,0	8,2
TpA15	-172,9	7,3	-104,0	11,4	-71,2	10,0	-178,8	11,6	52,7	9,1
ApT16	-174,3	7,3	-108,6	10,6	-66,8	9,1	177,0	10,8	58,2	8,7
TpA17	-173,2	7,0	-104,2	11,8	-70,7	10,1	-178,4	11,5	53,4	9,1
ApT18	-173,6	8,3	-99,8	13,0	-67,1	9,7	174,7	9,6	59,1	8,5
GpC1	-172,4	8,0	-103,7	13,6	-70,1	10,0	179,7	10,0	56,3	8,4
CpG2	-172,4	7,2	-105,6	11,9	-72,2	10,0	-177,3	10,6	52,6	8,9
GpC3	-174,8	6,9	-108,4	11,0	-69,2	9,2	179,4	9,9	56,5	8,0
CpG4	-173,1	6,9	-107,5	11,9	-71,3	9,8	-178,5	10,4	53,5	8,7
GpC5	-175,6	6,8	-108,4	10,8	-68,3	9,1	178,6	9,8	56,7	8,2
CpG6	-173,1	6,9	-107,6	11,5	-70,8	9,7	-179,2	10,5	53,9	8,8
GpC7	-175,3	6,9	-108,9	10,8	-68,7	9,2	179,3	9,8	56,5	8,1
CpG8	-173,0	6,9	-105,8	10,6	-71,3	9,8	-179,5	10,5	53,3	8,9
GpC9	-176,5	6,9	-106,1	9,8	-70,2	9,5	-178,6	10,3	55,0	8,5
GpC10	-176,4	6,8	-106,1	9,5	-70,2	9,6	-178,0	10,4	54,5	8,5
CpG11	-173,4	7,0	-105,3	10,6	-71,0	9,7	-179,1	10,3	53,0	8,9
GpC12	-175,4	6,8	-108,3	10,8	-68,5	9,2	178,2	9,9	57,1	8,2
CpG13	-172,6	7,1	-107,7	12,1	-71,3	9,7	-179,3	10,3	53,6	8,6
GpC14	-175,3	6,8	-108,3	10,6	-68,7	9,0	179,2	9,8	56,3	8,2
CpG15	-173,2	6,9	-108,3	12,2	-70,8	9,7	-178,2	10,3	53,5	8,6
GpC16	-175,1	6,9	-107,6	11,2	-68,6	9,2	177,8	10,1	57,0	8,1
CpG17	-172,0	7,0	-107,2	12,3	-72,4	10,0	-177,3	10,8	52,6	8,8
GpC18	-172,5	8,0	-104,4	12,6	-70,5	10,1	-179,0	10,1	55,6	8,4

Tabelle 5.4.: Die Torsionswinkel ε , ζ , α , β und γ mit den Fluktuationen σ dieser Parameter der DNA-Dekamere $[(dA-dT)_5]_2$ und $[(dG-dC)_5]_2$. Die angegebenen Werte sind durch Mittelwertbildung dieser Parameter jeder 10. Konformation nach der Equilibrierung ($4 \cdot 10^5 - 10^6$ Makrozyklen) berechnet worden.