

# **Simulation der Strukturbildung und Ligandenbindung von Nukleinsäuren im Raum kollektiver und innerer Variablen**

Dissertation  
vorgelegt von  
**Remo Rohs**

eingereicht am  
Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

Berlin 2002



**Gutachter der eingereichten Dissertation:**

1. Gutachter: Prof. Dr. Ernst-Walter Knapp  
Freie Universität Berlin
2. Gutachter: Dr. sc. nat. Heinz Sklenar  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin

Eingereicht am: 21.11.2002

Disputation am: 27.01.2003

”Without structure one is simply guessing.”

Paul Sigler

”Without energetics there is a risk of believing everything one sees.”

B. Jayaram

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>VII</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Struktur und Funktion der Nukleinsäuren</b>	<b>4</b>
2.1. Chemischer Aufbau und Modelle der Raumstruktur . . . . .	4
2.2. Strukturelle Analyse von Nukleinsäuren . . . . .	7
2.2.1. Beschreibung durch helikale Parameter . . . . .	7
2.2.2. Furchengeometrien . . . . .	9
2.2.3. Torsionswinkel und Zuckerfaltung . . . . .	10
2.3. Ergebnisse experimenteller Methoden . . . . .	12
2.3.1. Faserdiagramme . . . . .	12
2.3.2. Röntgenkristallographie . . . . .	13
2.3.3. Spektroskopische Methoden . . . . .	13
2.4. Ergebnisse aus Theorie und Simulationen . . . . .	15
2.4.1. Die DNA als Polyelektrolyt . . . . .	15
2.4.2. Statische Modelle . . . . .	16
2.4.3. Flexible Elemente in Nukleinsäurestrukturen . . . . .	17
2.4.4. Dynamische Modelle . . . . .	18
2.5. Komplexbildung mit Liganden und Proteinen . . . . .	19
2.5.1. DNA-Liganden-Komplexe . . . . .	20
2.5.2. DNA-Protein-Komplexe . . . . .	21
2.6. Bedeutung und Anwendung der Erkenntnisse . . . . .	22
<b>3. Theoretische Methoden zur Simulation molekularer Strukturen</b>	<b>23</b>
3.1. Molekulare Modelle . . . . .	23
3.1.1. Physikalische Grundlagen . . . . .	23
3.1.2. Potentialhyperfläche und Kraftfelder . . . . .	26
3.1.3. Beschreibung des Lösungsmittels . . . . .	29
3.2. Simulationstechniken . . . . .	33
3.2.1. Energieminimierung . . . . .	33
3.2.2. Molekulardynamik-Algorithmen . . . . .	34
3.2.3. Monte-Carlo-Algorithmen . . . . .	37
3.2.4. Vergleich der Monte-Carlo- und Molekulardynamik-Methode . . . . .	43
3.2.5. Jacobi-Faktoren kanonischer Transformationen . . . . .	44

---

<b>4. Monte-Carlo-Algorithmus zur Simulation von Nukleinsäuren</b>	<b>46</b>
4.1. Definition des molekularen Modells . . . . .	46
4.1.1. Reduktion der Freiheitsgrade durch Einführung kollektiver und innerer Variablen . . . . .	46
4.1.2. Molekulares Modell mit iterativem Kettenschluß . . . . .	47
4.1.3. Molekulares Modell mit analytischem Kettenschluß . . . . .	51
4.1.4. Behandlung der Zuckerfaltung . . . . .	54
4.1.5. Explizite Gegenionen . . . . .	58
4.1.6. Molekulares Modell für die Ligandenbindung . . . . .	59
4.1.7. Gesamtdarstellung des molekularen Modells in Relation zu vergleichbaren Modellen . . . . .	60
4.2. Programmtechnische Implementierung . . . . .	64
4.2.1. Initialisierung . . . . .	64
4.2.2. Energieberechnung . . . . .	65
4.2.3. Dynamische Schrittweitenanpassung . . . . .	66
4.2.4. Strukturelle Parameter . . . . .	69
4.2.5. Erforderliche Rechenzeiten . . . . .	71
<b>5. Monte-Carlo-Simulationen von DNA-Dekameren mit alternierenden AT und GC Basensequenzen</b>	<b>72</b>
5.1. Equilibrierung der MC-Simulationen . . . . .	73
5.2. Unabhängigkeit von der Startkonfiguration . . . . .	82
5.3. Sequenzspezifische Konformation und Flexibilität von DNA-Dekameren mit alternierenden AT und GC Basensequenzen . . . . .	84
5.4. Kondensation der expliziten Gegenionen . . . . .	89
5.5. Diskussion der Resultate, Teil I . . . . .	91
<b>6. Sequenz- und Salzeffekte der Methylenblau-DNA-Bindung</b>	<b>98</b>
6.1. Sequenzspezifische Bindung von Methylenblau und DNA-Dekameren mit alternierenden AT und GC Basensequenzen . . . . .	98
6.1.1. Energetische Analyse der Methylenblau-DNA-Komplexe . . . . .	102
6.1.2. Strukturelle Analyse der Methylenblau-DNA-Komplexe . . . . .	104
6.2. Salzabhängigkeit der Methylenblau-DNA-Bindung . . . . .	107
6.3. Diskussion der Resultate, Teil II . . . . .	110
<b>7. Monte-Carlo-Simulationen von Methylenblau-DNA-Komplexen</b>	<b>113</b>
7.1. Komplexbildung durch Interkalation des Methylenblau . . . . .	114
7.1.1. Lage und Orientierung des Methylenblau in der Bindungstasche . . . . .	114
7.1.2. Konformationsänderungen der Target-Dekamere . . . . .	120
7.2. Komplexbildung durch Bindung des Methylenblau in den Furchen . . . . .	128
7.2.1. Lage und Orientierung des Methylenblau in den Furchen . . . . .	128
7.2.2. Konformationsänderungen der Target-Dekamere . . . . .	135
7.3. Diskussion der Resultate, Teil III . . . . .	137
<b>8. Zusammenfassung</b>	<b>140</b>
<b>9. Summary</b>	<b>144</b>

# Abkürzungsverzeichnis

DNA	Desoxyribonukleinsäure
RNA	Ribonukleinsäure
A, C, G, T	Adenin, Cytosin, Guanin, Thymin
R, Y	Purinbase, Pyrimidinbase
MB	Methylenblau
YpR, RpY	5'-YpR-3'- bzw. 5'-RpY-3'-Bindungstasche
LD	Linearer Dichroismus
CD	Circularer Dichroismus
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
MD	Molekulardynamik
MC	Monte Carlo
JUMNA	Junction Minimisation of Nucleic Acids
FLEX	Kraftfeld des JUMNA-Algorithmus
AMBER	Assisted Model Building with Energy Refinement
CVFF	Consistent Valence Force Field
PB	Poisson-Boltzmann
DelPhi	Numerischer Algorithmus zur Lösung der PB-Gleichung
UHBD	Numerischer Algorithmus zur Lösung der PB-Gleichung
FDPB	Finite Difference Poisson Boltzmann
FEPB	Finite Element Poisson Boltzmann
FIESTA	Field Integrated Electrostatic Approach
GB	Generalized Born
PBSA	Poisson Boltzmann Solvent Accessible Surface Area
$T_i, R_i$	Translationen, Rotationen
$P, A$	Phase und Amplitude des Zuckers
$\chi$	Glykosidwinkel
$\varepsilon, \zeta, \alpha, \beta, \gamma, \delta$	Torsionswinkel des Nukleinsäure-Rückgrats
$\omega_i$	Valenzwinkel des Nukleinsäure-Rückgrats
$J$	Jacobi-Faktor

---

$dx$	X-Displacement
$dy$	Y-Displacement
$Dz$	Rise
$\eta$	Inclination
$\vartheta$	Tip
$\Omega$	Twist
$\sigma$	Fluktuation
$d^m, d^M$	Tiefe der kleinen bzw. großen Furche
$w^m, w^M$	Weite der kleinen bzw. großen Furche
$\varepsilon(r)$	Abstandsabhängige dielektrische Permittivität
$E^{tot}$	Gesamtenergie
$E_{ne}$	Summe der nichtelektrostatischen Energiebeiträge
$E_{elec}$	Elektrostatische Energie
$E_{coul}$	Coulomb-Energie
$E_{react}$	Reaktionsfeldenergie
$E_{cont}$	Elektrostatische Kontinuumsenergie
$E_{def}$	Deformationsenergie
$E_{int}$	Wechselwirkungsenergie
$E_{bindg}$	Bindungsenergie
$1 \text{ kcal mol}^{-1}$	$= 6,951 \cdot 10^{-21} \text{ J}$
$1 \text{ kcal}$	$= 4,187 \text{ kJ}$
$k_B$	$= 1,381 \cdot 10^{-23} \text{ J K}^{-1} \approx 1,987 \cdot 10^{-3} \text{ kcal mol}^{-1}\text{K}^{-1}$

# Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Dr. Heinz Sklenar für die immer engagierte und enge Betreuung des Dissertationsvorhabens. Ich bin Dr. Heinz Sklenar dankbar für ein interessantes Promotionsthema, exzellente Arbeitsbedingungen und dafür, daß er bei Fragen und Problemen jederzeit mit kompetentem Rat zur Verfügung stand, mir in vielen Situationen seine volle Unterstützung entgegenbrachte und mich dabei zunehmend für die theoretische Strukturbiologie zu begeistern vermochte.

Prof. Ernst-Walter Knapp danke ich für lehrreiche und interessante Diskussionen, für seine fördernde Unterstützung und eine stets aufgeschlossene und interessierte Begleitung des Dissertationsvorhabens.

Für eine Einführung in die Methoden und Probleme der theoretischen Biochemie danke ich neben Dr. Heinz Sklenar auch Frau Prof. Catherine Etchebest, Dr. Richard Lavery und Dr. Martin Zacharias.

Darüberhinaus bin ich Frau Prof. Zippora Shakked, Prof. B. Jayaram, Prof. Barry Honig und Prof. Steve Harvey dankbar für anregende, motivierende und lehrreiche Diskussionen, die mit einem andauernden Interesse am Fortgang der Arbeit verbunden waren. In einer in diesem Sinne geprägten Dankbarkeit werde ich Prof. Peter Kollman in Erinnerung behalten.

Für wichtige Hinweise zum Manuskript der Dissertation danke ich Dr. Heinz Sklenar, Werner Leistner und Frau Prof. Zippora Shakked.

Die Finanzierung des Promotionsvorhabens verdanke ich dem Helmholtz-Netzwerk für Bioinformatik und dem Graduiertenkolleg „Modellstudien“ der DFG, dessen Sprecher, Prof. Wolfgang Höhne, ich für seine engagierte Förderung danken möchte.

Ein Dank, der sich nicht in Worte fassen läßt, gilt meinen lieben Eltern für alles, was so entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat. Für viele schöne Stunden aber auch wichtige Unterstützung danke ich meinen Freunden.



# Curriculum vitae

## Dipl.-Phys. Remo Rohs

geb. am 17.05.1972 in Perleberg als Sohn von Walter und Erika Rohs

## Ausbildung

- 1990 Abitur am heutigen Marie-Curie-Gymnasium in Wittenberge (Gesamtnote 1,0)
- 1997 Diplom in Physik an der Humboldt-Universität zu Berlin (Gesamtnote 1,1)

## Wissenschaftliche Arbeit

- 1996/97 Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe Photobiophysik des Instituts für Physik der Humboldt-Universität zu Berlin
- 1997/98 Predoc in der Arbeitsgruppe Theoretische Biochemie des Institut de Biologie Physico-Chimique (C.N.R.S.) in Paris, Frankreich
- seit 1998 Doktorand in der Arbeitsgruppe Theoretische Biophysik des Max-Delbrück-Centrums für Molekulare Medizin und der Arbeitsgruppe Macromolecular Modeling des Instituts für Chemie der Freien Universität Berlin

## Lehrtätigkeit

- 1995/96 Übungen in Theoretischer Physik für Vorlesungen von Prof. R. Keiper
- 1996/97 Übungen im integrierten Kurs Physik für Vorlesungen von Prof. T. Lohse (Experimentalphysik) und Prof. R. Keiper (Theoretische Physik)
- 1998 Übungen in Molekularer Biophysik für Vorlesungen von Prof. B. Röder
- 2000 Organisationskomitee der Berlin Humboldt School on Structural Biology (Sprecher: M. Karplus, P. Kollman, A. Fersht, K. Wüthrich u. a.)
- 2000/02 Praktika in Biomolecular Modeling mit Dr. H. Sklenar

## Auszeichnungen

- 1997 Predoc-Stipendium des DAAD für einen Arbeitsaufenthalt 1997/98 in der Arbeitsgruppe von Dr. R. Lavery am Institut de Biologie Physico-Chimique in Paris, Frankreich
- 1998 Humboldt-Preis 1998 für eine „herausragende Diplomarbeit“
- 1999 Stipendium der IUPAB und der UNESCO zur Teilnahme am XIII. International Biophysics Congress in New Delhi, Indien
- 2002 Postdoc-Stipendium der Minerva-Stiftung (Max-Planck-Gesellschaft) für einen Arbeitsaufenthalt ab 2003 in der Arbeitsgruppe von Prof. Z. Shaked am Weizmann Institute of Science in Rehovot, Israel

# Publikationsliste

## Wissenschaftliche Publikationen

1. R. Rohs, C. Etchebest, and R. Lavery. Unraveling proteins: a molecular mechanics study. *Biophys. J.* **1999**, 76:2760-2768.
2. R. Rohs, H. Sklenar, R. Lavery, and B. Röder. Methylene blue binding to DNA with alternating GC base sequence: a modeling study. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122:2860-2866.
3. R. Rohs and H. Sklenar. Methylene blue binding to DNA with alternating GC base sequence: continuum treatment of salt effects. *Indian J. Biochem. Biophys.* **2001**, 38:1-6 (invited paper).
4. R. Rohs and H. Sklenar. Methylene blue binding to DNA with alternating AT base sequence: minor groove binding is favored over intercalation. **2002** (to be submitted).
5. R. Rohs and H. Sklenar. Conformational dynamics of nucleic acids: Monte Carlo sampling in the space of rigid body and sugar pucker variables **2003** (in preparation).

## Internationale Präsentationen und Konferenzbeiträge

1. R. Rohs. Mechanical properties of protein secondary structure. *Institut de Biologie Physico-Chimique* (Vortrag) **1998**, Paris, Frankreich.
2. R. Rohs. Molecular interactions between methylene blue and DNA fragments. *Institut de Biologie Physico-Chimique* (Vortrag) **1998**, Paris, Frankreich.
3. R. Rohs, H. Sklenar und R. Lavery. Investigations of molecular interactions between methylene blue and DNA fragments in aqueous solution. *Conference "Computational Chemistry and the Living World: From Sequence to Function"* (Poster) **1998**, Chambéry, Frankreich.
4. R. Rohs, H. Sklenar und R. Lavery: Theoretical studies of methylene blue binding to DNA with a GC alternating base sequence. *XIII. International Biophysics Congress* (Poster) **1999**, New Delhi, Indien.
5. R. Rohs: Theoretical studies of methylene blue binding to DNA with a GC alternating base sequence. *Conference on "Structural Biology and Molecular Recognition"* (Vortrag und Poster) **1999**, Calcutta, Indien.

6. R. Rohs: Methylene blue binding to DNA with alternating GC base sequence: continuum treatment of salt effects. *Université Denis Diderot* (Vortrag) **2000**, Paris, Frankreich.
7. R. Rohs und H. Sklenar. Intercalation and groove binding of methylene blue to DNA with alternating GC and AT base sequences. *Computational Biophysics Conference "From Macromolecules to Drugs"* (Poster) **2000**, Nice, Frankreich.
8. R. Rohs und H. Sklenar. Sequence and salt effects on methylene blue binding to DNA with alternating AT and GC base sequences. *The 12th Conversation in Biomolecular Stereodynamics* (Poster) **2001**, Albany, New York, USA.
9. R. Rohs und H. Sklenar. Conformational dynamics of nucleic acids: Monte Carlo sampling in the space of rigid body and sugar pucker variables. *The 12th Conversation in Biomolecular Stereodynamics* (Poster) **2001**, Albany, New York, USA.
10. R. Rohs und H. Sklenar. Monte Carlo simulation of nucleic acid structures. *Conference on "Computer Simulation and Theory of Macromolecules"* (Vortrag und Poster) **2002**, Hünfeld, Deutschland.

# Erklärung

Hiermit erkläre ich, Remo Rohs, geb. am 17.05.1972 in Perleberg, die vorliegende Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe verfaßt zu haben.

Mit der Auslage meiner Dissertation in der Bibliothek der Freien Universität Berlin bin ich einverstanden.

Berlin, den 21. November 2002