



典型持久性有机污染物与抑癌基因相互作用的分子模拟与验证

吴惠丰^①, 曹璐璐^{①②}, 李斐^{①*}, 李雪花^③, 赵建民^①

① 中国科学院烟台海岸带研究所, 中国科学院环境过程与生态修复重点实验室, 烟台 264003;

② 中国科学院大学, 北京 100049;

③ 大连理工大学环境学院, 工业生态与环境工程教育部重点实验室, 大连 116024

* 联系人, E-mail: fli@yic.ac.cn

2015-01-06 收稿, 2015-02-13 接受, 2015-03-20 网络版发表

国家自然科学基金(21107136)、国际科学基金(F/5230-1)、中国科学院重点部署项目(KZZD-EW-14)和中国科学院战略性先导科技专项(XDA11020405)资助

摘要 化学品的环境污染问题给人类带来了惨痛的教训. 对化学品进行生态风险评价, 是预防和控制其污染的前提. 发展计算(预测)毒理学方法, 可以高效地评价和预测化学物质的环境暴露、危害性和风险性. 本研究采用分子模拟与光谱实验(紫外-可见吸收光谱、荧光光谱及熔点实验)相结合的方法, 研究了典型持久性有机污染物2,2',4,4'-四溴联苯醚(BDE-47)与抑癌基因p53启动子区域片段(p53-DNA)的相互作用机制. 分子模拟的结果显示, BDE-47以部分嵌插和沟槽结合的形式与p53-DNA相互作用. 光谱实验验证了分子模拟的结果: BDE-47与p53-DNA发生增色效应, 同时BDE-47的加入使EB-p53-DNA体系发生静态荧光猝灭, 说明BDE-47竞争性地嵌插入p53-DNA的碱基对中, 同时伴有沟槽结合, 结合常数 K_b 为 7.24×10^3 L/mol. 本研究从分子水平上阐明了BDE-47与p53-DNA间的相互作用机制, 对于化学品的风险筛查和管理具有重要意义.

关键词

持久性有机污染物
2,2',4,4'-四溴联苯醚
(BDE-47)
p53
分子模拟
光谱法

计算毒理学(computational toxicology)是一门新兴学科, 通过环境化学、计算化学(化学信息学)、计算生物学(生物信息学)和系统生物学的交叉, 采用计算模拟的方法评价化学污染物从排放到产生生物效应的全过程^[1]. 2002年以来, 美国十分重视计算毒理学相关研究, 并在美国环保局成立了国家计算毒理学研究中心(<http://www.epa.gov/comptox/>). 欧盟实施的REACH法规, 要求通过化学品的“集成/智能测试策略(Integrative/Intelligent Testing Strategy, ITS)”来获取化学品的环境安全信息. 其中, in silico(计算模拟)技术是ITS的核心内容(<http://www.osiris.ufz.de/>). 如果全部通过实验测试获得所有相关信息, 不但存在测试费用昂贵和动物伦理方面的问题, 而且在时

间上是滞后的, 难以满足污染物生态风险评价的需求. 为解决上述问题, 迫切需要发展基于机理的计算毒理学模型构建方法(例如有机污染物的虚拟筛选模型), 对化学品的环境安全信息进行快速预测, 确定优先污染物以及必要的试验测试.

有机污染物在环境中的迁移、转化过程和毒理效应的机理非常复杂, 发展有机污染物的虚拟筛选技术, 可以深入剖析相关环境过程和毒理效应的作用机理, 为生态风险评价提供理论依据^[2]. 配体-受体相互作用在许多生理过程中起着重要作用, 如信号传递、生理调节、基因转录和酶催化反应等^[3]. 分子对接是分子模拟的重要方法之一, 它可以为配体-受体相互作用提供更多的信息, 有利于深入理解分子

引用格式: 吴惠丰, 曹璐璐, 李斐, 等. 典型持久性有机污染物与抑癌基因相互作用的分子模拟与验证. 科学通报, 2015, 60: 1804-1809

Wu H F, Cao L L, Li F, et al. Molecular simulation and validation of the interaction between typical persistent organic pollutants and a tumor suppressor gene (in Chinese). Chin Sci Bull, 2015, 60: 1804-1809, doi: 10.1360/N972015-00012

间的相互作用机制。例如,可以采用分子对接技术模拟有机污染物与激素受体间的结合模式,确定污染物与激素受体活性口袋的结合能力,进而预测有机污染物的内分泌干扰效应^[4];可以采用量子化学计算等方法,计算污染物的激发态性质,进而预测其光敏活性及自敏化能力、活性氧进攻位点和降解途径等^[2]。

抑癌基因p53是迄今为止发现的与肿瘤相关性最高的基因,50%的肿瘤与p53基因突变有关^[5]。p53的主要功能是监视细胞基因组DNA的完整性,当细胞发生DNA损伤时,p53可诱导细胞发生G1期阻滞,抑制细胞增殖,当DNA损伤无法修复时,p53可通过多种途径诱导细胞凋亡^[6,7]。若p53基因受到损伤发生突变,则可能使细胞脱离正常的调控,增加细胞癌变的几率^[8]。当污染物小分子以较强的作用力(嵌插作用或共价结合)与DNA结合时,可抑制DNA的复制转录或导致DNA复制时发生碱基错配,从而引起DNA点突变^[9]。因此,研究污染物与p53启动子区域基因片段(p53-DNA)的相互作用模式,阐明其遗传毒性作用机制,具有十分重要的意义。

2,2',4,4'-四溴联苯醚(2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether, BDE-47)作为1种典型的持久性有机污染物,被认为是分布最广、在生物体中含量最高、对人体和生物体毒性最强的多溴联苯醚(polybrominated diphenyl ethers, PBDEs)同系物之一^[10]。在环渤海区域的沉积物、海洋生物及人体中均检测到BDE-47的存在^[11-13]。美国国家环境保护局2010年公布的调查结果指出,BDE-47是人体组织中存在的5种主要PBDEs同系物之一^[14]。因此,BDE-47的潜在毒性作用受到了国内外研究者的广泛关注。已有研究报道,BDE-47具有神经毒性、肝肾毒性、生殖毒性及内分泌干扰作用,并可造成细胞内的DNA损伤^[15-17],但其具体损伤机制有待进一步研究。

采用现代实验手段如紫外-可见吸收光谱、荧光光谱、拉曼光谱、电化学等方法,能够从不同角度对小分子污染物与DNA之间的作用进行研究。但通过实验的方法检测相互作用,耗时费力,且复合物的结构表征具有一定的局限性,不利于快速预测化学品的环境安全信息。而逐渐兴起的分子模拟方法,对预测可能的相互作用模式,鉴别稳定复合物的结构特征具有不可替代的优势。本研究以p53-DNA为研究对象,采用分子模拟研究了BDE-47与p53-DNA的相

互作用机制,分析了可能造成的p53基因损伤,并通过紫外-可见吸收光谱及荧光光谱体外实验法测定了BDE-47与p53基因片段的结合常数,验证了分子模拟的结果,为化学品的风险筛查和管理提供了方法依据。

1 方法

(i) 分子模拟。分子对接: p53-DNA的三维结构通过make-na服务器获得(<http://structure.usc.edu/make-na/server.html>)。该服务器基于Nucleic Acid Builder(NAB)程序开发,目前已广泛应用于预测核酸(DNA, RNA)的三维结构^[18-20]。本研究采用嵌套在Discovery Studio 2.5(简称DS 2.5)中的Dock Ligands(CDOCKER)模块来模拟BDE-47分子与p53-DNA间的相互作用。CDOCKER是基于CHARMm力场的柔性对接程序,配体分子的柔性构象空间是采用高温动力学来搜索的,并采用模拟退火的方法将各个构象在受体活性位点进行优化,从而使对接结果更加精确。分子对接设定10个输出构象,其他参数采用默认设置,结果以对接能作为对接分值的打分指标,对接能的负绝对值越大,证明受体与底物的对接亲和力越大。分子对接的结果,有助于剖析BDE-47与p53-DNA间的关键相互作用。

分子动力学: 分子动力学模拟(molecular dynamics, MD)使用DS 2.5程序中的CHARMm力场模拟。溶剂采用TIP3P水模型,复合物体系在溶质外围加上7 Å的水分子层,以保证有足够的构象变化空间;同时添加了适量的钠离子来平衡体系中多余的负电荷以保证体系的电中性。分子动力学模拟之前,对体系采用最陡下降法进行1次能量优化(最大优化步数为6000步),用来消除分子间的高能碰撞。MD模拟分为2步: 首先进行了20 ps的p53-DNA分子MD模拟,温度从50 K缓慢升温到300 K;然后在没有任何约束条件下对整个体系进行500 ps的恒压恒温(NPT)MD。整个MD过程中,MD的步长设为2 fs,范德华和静电等非键相互作用的截断值(cutoff)半径设为14 Å。在整个500 ps的MD过程中,每0.5 ps存写1次复合物体系的三维构象。

(ii) p53-DNA。2条互补的单链DNA购自上海生工生物技术有限公司,其序列为: 5'-CCTCCTCC-CCA ACTCC-3'; 3'-GGAGGAGGGGTTGAGG-5'。光谱实验的缓冲体系为磷酸盐缓冲液(PBS, 0.1 mol/L,

pH 7.4), 由磷酸氢二钠及磷酸二氢钠配置. 将p53-DNA的2条互补单链DNA溶于PBS缓冲液中(1×10^{-3} mol/L), 置于85 °C加热12 min, 缓慢冷却至室温, 即得双链p53-DNA溶液(5×10^{-4} mol/L).

(iii) 配制BDE-47溶液. BDE-47(美国Chem Service公司, 纯度为99.5%)溶于二甲基亚砜(DMSO, 美国MP Biomedicals公司, 纯度> 99%), 配置浓度为1 mol/L的母液. 进行光谱实验时采用PBS配制不同浓度的BDE-47溶液.

(iv) 紫外-可见吸收光谱测定. 配制不同浓度的BDE-47与p53-DNA混合后, 反应2 h, 采用U3900H型紫外可见分光光度计(日本株式会社日立制作所)测定p53-DNA的紫外-可见吸收光谱. BDE-47的最终浓度为0, 1, 2, 4, 6, 8, 10×10^{-6} mol/L, p53-DNA的最终浓度为 1×10^{-6} mol/L. 参比溶液为PBS缓冲液.

(v) 荧光光谱测定. 选用溴化乙锭(EB, 上海生工生物技术有限公司, 纯度> 99%)作为荧光探针, 首先使用超纯水配置浓度为 1×10^{-5} mol/L的EB溶液, 与 1×10^{-6} mol/L p53-DNA混合30 min, 使之充分结合, 得到EB-p53-DNA体系. 之后将不同浓度的BDE-47与EB-p53-DNA混合后, 反应2 h, 采用LS55型荧光/磷光/发光分光光度计(美国Perlin Elmer公司)测定荧光光谱, 激发波长为480 nm, 发射光谱扫描范围为500~800 nm. BDE-47的最终浓度为0, 1, 2, 4, 6, 8, 10×10^{-6} mol/L.

(vi) p53-DNA熔点实验. 通过紫外可见分光光度计进行熔点实验. 将 1×10^{-5} mol/L BDE-47与 1×10^{-6} mol/L p53-DNA混合反应2 h, 之后缓慢升温, 测定不同温度(25~95 °C)下溶液在260 nm处的吸光度($A_{260\text{nm}}$).

2 结果与讨论

2.1 BDE-47与p53-DNA相互作用

污染物小分子与DNA间主要通过非共价模式结合, 其模式主要分为3种: 静电结合、沟槽结合及嵌插结合^[21]. 其中, 静电结合不具有选择性, 而沟槽及嵌插结合均会对DNA分子的构象造成一定的变化, 又以嵌插结合作用力最强^[22,23]. 通过分子对接, 获得BDE-47与p53-DNA的复合物构象. 然后对最佳结合构象进行了200 ps的MD研究. MD平衡后, BDE-47与p53-DNA相互作用的平均结构见图1. 通过分析体系

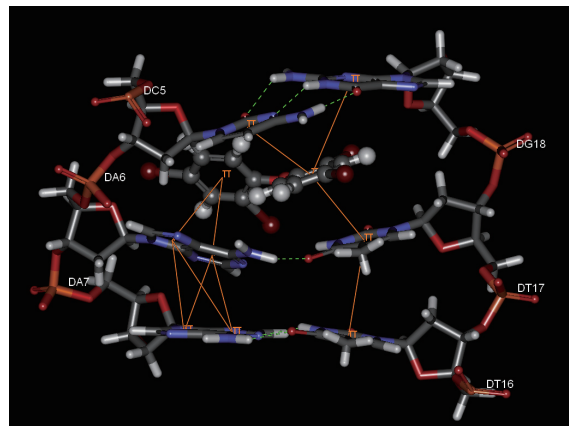


图1 BDE-47与p53-DNA的结合模式. 黄色实线是 π - π 作用, 绿色虚线是氢键, 灰色球体代表碳原子, 红色球体代表溴原子

Figure 1 The binding mode of BDE-47 and p53-DNA. Solid yellow lines stand for π - π interactions, dashed green lines stand for hydrogen bonds, gray spheres stand for carbon atoms and red spheres stand for bromine atoms

骨架原子均方差根(RMSD)随时间的变化, 确认体系是否已经稳定. 对于p53-DNA和BDE-47的体系, 100 ps后RMSD趋于平衡, 说明复合物结构趋于稳定(图2). 从图1可以看出, BDE-47的部分芳香环嵌插到p53-DNA双螺旋中, 与p53-DNA碱基的芳香环形成很强的 π - π 堆积作用, 有利于BDE-47牢牢地结合在p53-DNA上. 同时, BDE-47其余部分在沟槽中沿磷酸基骨架伸展, 以沟槽结合作用进一步增强其与p53-DNA的结合.

2.2 BDE-47与p53-DNA的相互作用机制

不同浓度BDE-47作用前后p53-DNA的紫外-可见吸收光谱如图3所示. p53-DNA在255 nm有最大的吸收峰值, 加入BDE-47后, 255 nm处的吸光度随

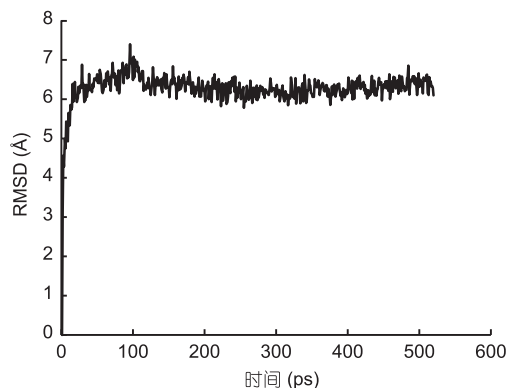


图2 BDE-47与p53-DNA复合物碳骨架随时间变化的RMSD图
Figure 2 The RMSD changing trend of BDE-47 and p53-DNA

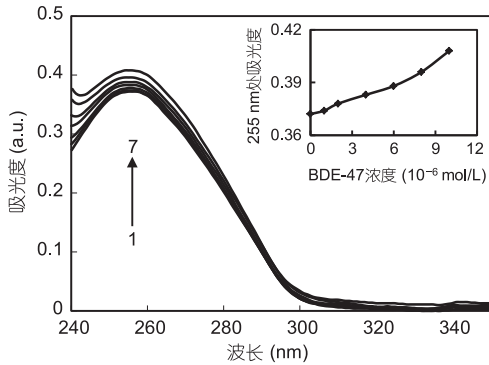


图 3 BDE-47 作用前后p53-DNA的紫外-可见吸收光谱. 1~7 表征不同BDE-47 浓度组, 依次为: 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 × 10⁻⁶ mol/L
Figure 3 The ultraviolet absorption spectra of BDE-47 with p53-DNA. The concentration groups of BDE-47 from 1 to 7 are 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 × 10⁻⁶ mol/L

BDE-47浓度的增加而增加, 产生增色效应, 增色幅度为9.6%, 并且吸收峰峰位随BDE-47浓度的增加而产生1.0 nm蓝移, 说明BDE-47一定程度地破坏了p53-DNA的磷酸骨架结构.

EB作为一种典型的DNA嵌入试剂, 本身不具备较强的荧光, 但当其以嵌入模式与DNA结合时, 荧光强度大大增强; 此外, 还可通过荧光体系的猝灭现象来研究污染物小分子与DNA的相互作用^[24]. 图4为BDE-47作用前后EB-p53-DNA的荧光光谱. EB-p53-DNA体系在597 nm有最大的荧光强度, 加入BDE-47后, 其荧光强度随BDE-47浓度的增加而减小, 造成荧光猝灭, 根据Stern-Volmer方程^[25], 求得猝灭常数 K_{sv} 为 1.22×10^4 L/mol, 猝灭速率常数 K_q 为 1.22×10^{12} L/(mol s). 研究指出, 生物大分子动态猝灭速率常数

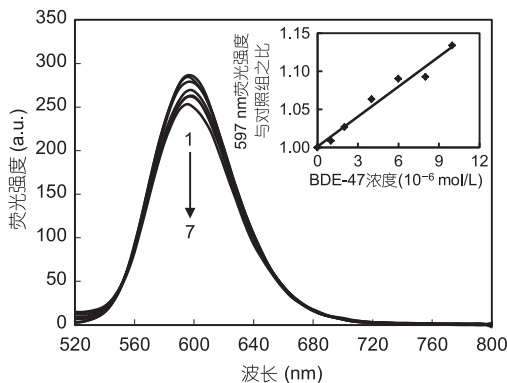


图 4 BDE-47 作用前后EB-p53-DNA的荧光光谱. 1~7 表征不同BDE-47 浓度组, 依次为: 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 × 10⁻⁶ mol/L
Figure 4 The fluorescence spectra of BDE-47 with EB-p53-DNA. The concentration groups of BDE-47 from 1 to 7 are 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 × 10⁻⁶ mol/L

的最大值为 2.0×10^{10} L/(mol s), 本研究所得 K_q 远大于此值, 由此推断BDE-47对EB-p53-DNA体系的猝灭作用是静态猝灭^[25]. 对于静态猝灭过程, 采用相关方程^[26]计算得出BDE-47与p53-DNA的结合常数 K_b 为 7.24×10^3 L/mol, 结合位点数为0.95.

结合紫外-可见吸收光谱及荧光光谱的结果推断, 造成荧光猝灭的原因有以下2种: (1) BDE-47与EB竞争结合p53-DNA的结合位点, 随着BDE-47浓度的不断增加, 嵌入的EB不断地被BDE-47从p53-DNA的双螺旋中置换出来, 使结合p53-DNA的EB的浓度降低, 造成体系荧光强度的降低; (2) BDE-47以沟槽结合的形式与p53-DNA作用, 造成p53-DNA的构象变化, 使得EB被挤出.

持续加热可破坏DNA的双螺旋结构, 造成氢键断裂形成单链. DNA的熔点为双螺旋结构失去50%时的温度(T_m). 小分子的嵌插作用能够使双螺旋结构更加稳定, 造成 T_m 增加5~8℃, 其他结合形式并不会显著影响 T_m ^[26]. BDE-47与p53-DNA的熔点实验结果如图5. p53-DNA的熔点约为75℃, 而BDE-47与p53-DNA作用后, 测得的熔点约为75.5℃. 由此可见, BDE-47可通过沟槽结合的形式与p53-DNA相互作用. 以上这些实验结果与通过分子模拟得到的结论一致, 说明通过分子模拟可以阐明BDE-47与p53-DNA的相互作用机制.

3 结论

本研究采用分子模拟研究了BDE-47与p53-DNA的相互作用机制, 发现BDE-47的部分芳香烃基团嵌插入碱基对中, 与碱基芳香环形成较强的 π - π 堆积作

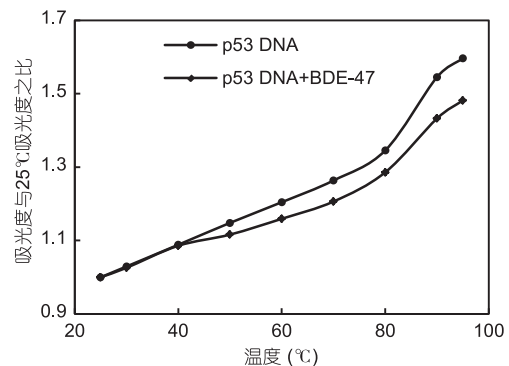


图 5 BDE-47 作用前后p53-DNA的溶解曲线
Figure 5 Melting curves of p53-DNA in the absence and presence of BDE-47

用, 其余部分以静电沟槽作用进一步增强了BDE-47与p53-DNA的结合. 分子模拟的准确性通过光谱实验得到证明, BDE-47使反应体系的荧光被明显猝灭, p53-DNA的吸收光谱呈增色效应. 分子模拟与实验

手段相结合, 可更加快速准确地预测有机污染物的生态风险性. 本研究结果有助于初步筛选有机污染物是否存在致癌作用以及具体的致癌机制, 并为有毒有害化学品的污染预防和控制提供依据.

参考文献

- 1 Rusyn I, Daston G P. Computational toxicology: Realizing the promise of the toxicity testing in the 21st century. *Environ Health Persp*, 2010, 118: 1047–1050
- 2 Ge L K, Zhang S Y, Xie Q, et al. Progress in studies on aqueous environmental photochemical behavior of antibiotics (in Chinese). *Sci Sin Chim*, 2010, 40: 124–135 [葛林科, 张思玉, 谢晴, 等. 抗生素在水环境中的光化学行为. *中国科学: 化学*, 2010, 40: 124–135]
- 3 Lybrand T P. Ligand protein docking and rational drug design. *Curr Opin Struct Biol*, 1995, 5: 224–228
- 4 Li F, Xie Q, Li X H, et al. Hormone activity of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers to human thyroid receptors β : *In vitro* and in silico investigations. *Environ Health Persp*, 2010, 118: 602–606
- 5 Ecke T H, Schlechte H H, Schiemenz K, et al. *TP53* gene mutations in prostate cancer progression. *Anticancer Res*, 2010, 30: 1579–1586
- 6 Fridman J S, Lowe S W. Control of apoptosis by p53. *Oncogene*, 2003, 22: 9030–9040
- 7 Haupt S, Berger M, Goldberg Z, et al. Apoptosis—The p53 network. *J Cell Sci*, 2003, 116: 4077–4085
- 8 Meek D W. Tumour suppression by p53: A role for the DNA damage response? *Nat Rev Cancer*, 2009, 9: 714–723
- 9 Hu X, Zhang G W, Li W B, et al. Studies on the interaction of Aminocarb with calf thymus DNA (in Chinese). *J Anal Sci*, 2010, 26: 195–198 [胡兴, 张国文, 李蔚博, 等. 农药异丙威与小牛胸腺 DNA 的作用研究. *分析科学学报*, 2010, 26: 195–198]
- 10 Hites R A. Polybrominated diphenyl ethers in the environment and in people: A meta-analysis of concentrations. *Environ Sci Technol*, 2004, 38: 945–956
- 11 Lin Z S, Ma X D, Zhang Q H, et al. Study on polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in sediment surround Bohai Sea (in Chinese). *Mar Environ Sci*, 2008, 27: 24–27 [林忠胜, 马新东, 张庆华, 等. 环渤海沉积物中多溴联苯醚(PBDEs)的研究. *海洋环境科学*, 2008, 27: 24–27]
- 12 Wan Y, Hu J Y, Zhang K, et al. Trophodynamics of polybrominated diphenyl ethers in the marine food web of Bohai Bay, North China. *Environ Sci Technol*, 2008, 42: 1078–1083
- 13 Jin J, Wang Y, Yang C Q, et al. Polybrominated diphenyl ethers in the serum and breast milk of the resident population from production area, China. *Environ Int*, 2009, 35: 1048–1052
- 14 United States Environmental Protection Agency. An Exposure Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDE) (Final). Washington DC: US Environmental Protection Agency, 2010
- 15 An J, Yin L L, Shang Y F, et al. The combined effects of BDE47 and BaP on oxidatively generated DNA damage in L02 cells and the possible molecular mechanism. *Mutat Res*, 2011, 721: 192–198
- 16 He W H, He P, Wang A G, et al. Effects of PBDE-47 on cytotoxicity and genotoxicity in human neuroblastoma cells *in vitro*. *Mutat Res*, 2008, 649: 62–70
- 17 Wang L L, Zou W, Zhong Y F, et al. The hormesis effect of BDE-47 in HepG₂ cells and the potential molecular mechanism. *Toxicol Lett*, 2012, 209: 193–201
- 18 Pinfield V J, Scott D J. Anomalous small angle X-Ray scattering simulations: Proof of concept for distance measurements for nanoparticle-labelled biomacromolecules in solution. *PLoS One*, 2014, 9: e95664
- 19 Wolter M, Elstner M, Kubar T. Charge transport in desolvated DNA. *J Chem Phys*, 2013, 139: 125102
- 20 Ye W, Qin F, Zhang J, et al. Atomistic mechanism of microRNA translation upregulation via molecular dynamics simulations. *PLoS One*, 2012, 7: e43788
- 21 Kumar C V, Asuncion E H. DNA-binding studies and site-selective fluorescence sensitization of an anthryl probe. *J Am Chem Soc*, 1993, 115: 8547–8553
- 22 Cai C Q, Chen X M, Ge F. Analysis of interaction between tamoxifen and ctDNA *in vitro* by multi-spectroscopic methods. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2010, 76: 202–206
- 23 Sarkar D, Das P, Basak S, et al. Binding interaction of cationic phenazinium dyes with calf thymus DNA: A comparative study. *J Phys Chem B*, 2008, 112: 9243–9249
- 24 Reinhardt C G, Krugh T R. A comparative study of ethidium bromide complexes with dinucleotides and DNA: Direct evidence for intercalation and nucleic acid sequence preferences. *Biochemistry*, 1978, 17: 4845–4854

- 25 Lakowicz J R, Weber G. Quenching of fluorescence by oxygen-probe for structural fluctuations in macromolecules. *Biochemistry*, 1973, 12: 4161–4170
- 26 Bi S Y, Qiao C Y, Song D Q, et al. Study of interactions of flavonoids with DNA using acridine orange as a fluorescence probe. *Sensor Actuat B Chem*, 2006, 119: 199–208
- 27 Kumar C V, Turner R S, Asuncion E H. Groove binding of a styrylcyanine dye to the DNA double helix—The salt effect. *J Photochem Photobiol A*, 1993, 74: 231–238

Molecular simulation and validation of the interaction between typical persistent organic pollutants and a tumor suppressor gene

WU HuiFeng¹, CAO LuLu^{1,2}, LI Fei¹, LI XueHua³ & ZHAO JianMin¹

¹ Key Laboratory of Coastal Zone Environmental Processes and Ecological Remediation, Yantai Institute of Coastal Zone Research (YIC), Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China;

² University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

³ Key Laboratory of Industrial Ecology and Environmental Engineering of Ministry of Education, School of Environmental Science & Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China

Synthetic organic chemical pollutants are a serious problem to human welfare and the environment. Ecological risk assessment of synthetic organic compounds offers a precautionary approach that assesses the potential danger of these pollutants. The development of a computational toxicology model based on the mechanism should be able to predict the risks of chemicals efficiently and prioritize pollutants. Molecular simulations and spectroscopic techniques were used to study the interaction between 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) and the promoter region segment of the *p53* gene (p53-DNA). The spectroscopic methods included ultraviolet-visible absorption spectrophotometry, fluorescence spectroscopy using ethidium bromide (EB) as the fluorescent probe, and measurement of the melting point. As revealed by molecular docking, BDE-47 intercalated partially with p53-DNA, and π - π and groove binding interactions between BDE-47 and p53-DNA were observed. Spectroscopic results showed that as the concentration of BDE-47 increased, p53-DNA produced a hyperchromic effect and the fluorescence system of EB-p53-DNA had a static quenching effect. This suggests that the binding mode of BDE-47 with p53-DNA involved partial intercalation accompanied by groove binding interactions. Thus, the spectroscopic results are congruent with the molecular simulations. The binding constant was calculated to be 7.24×10^3 L/mol. The mechanism of the interaction between BDE-47 and p53-DNA was elucidated at atomic resolution, which provides the molecular basis for risk screening and management of chemicals.

persistent organic pollutants, BDE-47, p53, molecular simulation, spectroscopy

doi: 10.1360/N972015-00012