

Посвящается нашему другу и коллеге
Н. В. Желтовскому

Изучение белково-нуклеинового узнавания: моделирование комплексов оснований и «модельных» аминокислот в ДМСО методом Монте-Карло

В. И. Данилов, О. В. Михалева, О. Н. Слюсарчук,
В. И. Полтев¹, Дж. Л. Альдерфер²

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
252143, Киев, ул. Академика Заболотного, 150

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН
Пушино Московской обл.

² Раковый институт им. Розвел Парк
Буффало, ул. Элм и Карлтон, 14263, США

Проведено компьютерное моделирование сольватации гуанина (G), цитозина (C), пары оснований G-C, протонированного C (CH⁺), уксусной кислоты в нейтральной (AcOH) и депротонированной формах (AcO⁻), комплексов G — AcO⁻, C — AcOH, CH⁺ — AcO⁻ в ДМСО методом Монте-Карло. Показано, что образование пары оснований G-C в ДМСО энергетически выгодно. Образование комплекса G — AcO⁻ сравнимо по энергетической выгодности с образованием пары оснований G-C. В этом случае анион ацетата может замещать C в паре оснований G-C. Образование комплекса C — AcOH намного менее выгодно, чем образование пары G-C. Однако перенос протона с AcOH на C приводит к образованию комплекса CH⁺ — AcO⁻, который намного более выгоден по сравнению со всеми изученными комплексами. Здесь уксусная кислота может замещать G в паре оснований G-C. Образование специфических комплексов G — AcO⁻ и CH⁺ — AcO⁻, обнаруженных в ДМСО при помощи эксперимента и теории, является конкурирующим процессом относительно образования пар оснований G-C и может служить первым шагом в реальном механизме белково-нуклеинового узнавания.

Введение. Прогресс в изучении взаимосвязи структуры и функции биополимеров, образования надмолекулярных структур и многих других вопросов молекулярной биологии тесно связан с решением проблемы молекулярного узнавания. Проблема молекулярного узнавания продолжает оставаться одной из центральных в молекулярной биологии. Основными матричными механизмами узнавания являются стерический и электронный (см. [1]).

Первый из них требует попадания субстрата

или лиганда в стереоспецифическую полость макромолекулы, образованную в результате их взаимодействия. Этот механизм проявляется в таких явлениях, как образование комплексов фермент — субстрат, антиген — антитело, физиологически активное соединение — рецептор и т. п. Второй механизм, не требующий специальной стерической подгонки, связан с прямыми физическими взаимодействиями. Он обуславливает спаривание комплементарных полинуклеотидов и лежит в основе таких фундаментальных биологических процессов, как реализация генетической информации,

мутагенез и др. Основные физические силы для этих механизмов одни и те же.

Изучение механизмов белково-нуклеинового узнавания является составной частью проблемы молекулярного узнавания. Термин «белково-нуклеиновое узнавание» используется в случае высокой избирательности взаимодействий между указанными биополимерами. Избирательное узнавание между нуклеиновыми кислотами и белками является одним из фундаментальных молекулярных процессов в большинстве «шагов» генетической экспрессии. Способность белка узнавать специфическую последовательность оснований вдоль тяжа двуспиральной ДНК лежит в основе многих важнейших биологических процессов. Связывание репрессоров с операторами, РНК-полимераз с промоторами и последовательности оснований ДНК с эндонуклеазами рестрикции представляет яркие примеры. Ассоциация рибосомных белков с рибосомными РНК и ассоциация аминоксил-тРНК-лигаз с тРНК являются другими примерами включения специфических взаимодействий.

Фундаментальный вопрос в белково-нуклеиновом узнавании сводится к вопросу о том, существует ли специфичность взаимодействия на уровне мономеров или химических групп, включенных в белки и нуклеиновые кислоты, или эта специфичность полностью определяется пространственной структурой (организацией) неспецифических элементарных взаимодействий. Теперь выяснено, что, кроме общей структурной комплементарности взаимодействующих областей двух макромолекул, включенных в комплекс белок — нуклеиновая кислота, имеются «точечные» взаимодействия между химическими группами обоих компонентов. Избирательность связывания белок — нуклеиновая кислота в значительной степени обусловлена специфическими взаимодействиями между биополимерами в местах «точечных» контактов, т. е. взаимодействиями между боковыми цепями аминокислот и некоторыми группами нуклеотидных оснований.

Существует несколько путей, с помощью которых белки и нуклеиновые кислоты могут специфически взаимодействовать друг с другом. Один из них определяется Н-связями, которые обеспечивают высокую специфичность «точечных» взаимодействий между взаимодействующими молекулами и имеют особую важность. В частности, около 20 лет назад было предположено [2], что Н-связи выступают в качестве источника специфической дискриминации оснований нуклеиновых кислот боковыми цепями аминокислот.

Среди этих боковых цепей особенно важную роль играет карбоксильная группа аминокислот Glu

и Asp. Возможность того, что избирательное узнавание нуклеиновых кислот белками возникает из-за межмолекулярных взаимодействий между боковыми цепями специфических аминокислот и оснований, явилась стимулом для детального исследования данного вопроса.

Наиболее приемлемыми моделями для выяснения природы таких взаимодействий являются комплексы между нуклеотидными основаниями и аминокислотами или соединениями, моделирующими их боковые цепи. Структурные аспекты «точечных» взаимодействий могут быть выяснены с помощью исследований в неводной среде, позволяя уменьшить влияние окружения на межмолекулярную ассоциацию. Было высказано предположение, что молекулярные взаимодействия в неводной среде подобны взаимодействиям в реальных нуклеопротеидных комплексах из-за подобия электростатических свойств микроокружения (см. [3]). Благодаря присутствию протонного донора и протонного акцептора карбоксильная группа Asp и Glu, которые часто находятся в местах связывания белка и нуклеиновой кислоты, является одной из наиболее активных групп боковых цепей при образовании комплекса.

Выяснение специфичности взаимодействий нуклеотидных оснований с ионизированной и нейтральной карбоксильными группами важно для понимания их роли при образовании нуклеопротеидного комплекса. Возникает реальный вопрос, каким образом специфичное взаимодействие, обнаруженное в неводных растворителях, вносит свой вклад в специфичность, наблюдаемую в реальных системах.

Очевидно, что растворители, использованные в экспериментах, не являются аналогами для этих систем. Однако искусственность измерений, выполненных в неводных растворителях, может быть более кажущейся, чем реальной. Например, если точка репликации в комплексе фермент — полинуклеотид не имеет свободного доступа для воды, тогда у окружения, имеющегося вблизи нуклеотидных оснований, могут быть свойства, подобные таковым неводного растворителя и взаимодействие оснований может играть существенную роль в механизме их копирования.

Взаимодействие оснований может также играть существенную роль в стабилизации комплементарных последовательностей, так как внутренняя часть двуглазкового спирального полинуклеотида, вероятно, не имеет свободного доступа для молекул воды. Хотя полная энергия взаимодействий, обусловленных Н-связями комплементарных оснований, по-видимому, мала по сравнению с энергией

Н-связей, образуемых основаниями с водой, связывание в безводной внутренней области двутяжевой спирали может быть довольно большим и, как следует из модельных экспериментов, будет специфическим для комплекментарных оснований.

Взаимодействие оснований может увеличивать потенциальную яму, которая имеет максимальную глубину для нормальной двутяжевой спирали, содержащей комплементарные последовательности оснований. Кроме того, следует учитывать естественную склонность свободных оснований нуклеиновых кислот образовывать комплементарные ассоциаты.

Возможность образования водородносвязанных комплексов между различными производными нуклеиновых оснований и соединениями, моделирующими аминокислотные остатки белков, или производными аминокислот была изучена экспериментально в смесях ДМСО/вода и в безводном ДМСО [3—10]. Представленные в этих работах результаты показывают, что карбоксилатные ионы образуют высокоспецифические водородносвязанные комплексы с различными производными G. Это связано с тем, что G является единственным основанием нуклеиновых кислот, обладающим двумя протондонорными группами. Поэтому он может образовывать две Н-связи с «двухвалентным» акцептором — анионом ацетата AcO^- . Водородное связывание включает группы $\text{N}(1)\text{H}$ и NH_2 .

Наряду с этим было продемонстрировано [4], что анионы AcO^- эффективно конкурируют с C за связывание с G и, следовательно, образование комплекса $\text{G} - \text{AcO}^-$ должно эффективно конкурировать с образованием пары оснований G-C. Как следствие этого факта, карбоксилатные ионы индуцировали диссоциацию пар G-C. Образование ассоциата $\text{G} - \text{AcO}^-$ является экспериментальным доказательством возможности существования высокоспецифического взаимодействия, которое может играть важную роль в механизме узнавания белок — нуклеиновая кислота.

На основании изучения комплекса между дипептидом Arg-Glu и основаниями [11] был сделан вывод о том, что главным результатом связывания, наблюдаемого в системе Arg-Glu...e(9)G, является комплексообразование G карбоксилатными ионами. Этот факт демонстрирует, что в ДМСО основание G способно разорвать в дипептиде Arg-Glu внутримолекулярный комплекс, образованный между боковыми цепями Arg и Glu, и сильно связаться с AcO^- . Взаимодействие G с дипептидом Arg-Glu осуществляется с помощью двух Н-связей, образующихся между NH_2 - и $\text{N}(1)\text{H}$ -группами G и карбонильными атомами AcO . Таким образом, показана,

что в дипептиде остаток Glu существует в карбоксилатной форме.

С помощью рентгеноструктурного анализа показано [12, 13], что в кристаллических комплексах рибонуклеаза T1 — 2'-GMP и рибонуклеаза T1 — 2',5'-GpG между $\text{N}(1)\text{H}$ - и NH_2 -группами G и атомами карбонильных кислородов Glu-46 образуются две Н-связи. Анализ кристаллической структуры дигидратного комплекса C — N, N-фталойл-DL-Glu [14] обнаружил, что между атомами кислорода карбоксильной группы Glu и атомом азота N(3) и NH_2 -группой C образуется комплекс с помощью двух Н-связей. Этот факт указывает на то, что основание протонируется аминокислотой, в силу чего образуется комплекс с вышеуказанным способом связывания. Этот способ связывания между C и Glu может служить элементарной моделью взаимодействия белок — нуклеиновая кислота и быть полезным для понимания этого взаимодействия [14].

Использование УФ-дифференциальной спектроскопии для исследования взаимодействий между нуклеотидными основаниями и N-формил- и N-ацетилпроизводными аминокислот, карбоксильные группы которых в ДМСО не диссоциированы, показало образование комплекса только в случае C как в растворе, так и в твердой фазе [3, 8]. Результаты изучения этих систем методом ПМР-спектроскопии [8] указывают на протонирование C по атому N(3) в составе комплекса за счет протона AcOH . Перенос протона и образование двух Н-связей между AcOH и C являются решающими факторами для образования комплекса $\text{CH}^+ - \text{AcO}^-$ и, вероятно, имеют место, когда C в ДМСО взаимодействует с карбоксильными группами N-ацетилпроизводных аминокислот. Такие взаимодействия между CH^+ и AcO^- могут встречаться в реальных системах узнавания белок — нуклеиновая кислота [3, 8].

С помощью сайт-направленного мутагенеза была изучена предполагаемая роль Asp-179 в механизме действия дезоксицитидилатгидрокси метилазы [14]. Авторы [15] предположили, что при катализе роль Asp-179 состоит в протонировании атома N(3) ковалентно связанного dCMP. Кроме того, показано [16], что бактериальный мутант тимидилатсинтазы, в котором аминокислотный остаток Asp-229 замещен на Asp-229, является превосходным катализатором для метилирования dCMP.

Используя механизм действия тимидилатсинтазы, было предположено [16], что остаток Asp-229 может образовывать Н-связи с атомом N(3) и NH_2 -группой dCMP. Перенос протона с Asp-229 на N(3) dCMP способен стабилизировать C. Система

H-связей в комплексе Asp — dCMP могла бы облегчать переносы протона гетероцикла подобно тому, как это предложено для тимидилатсинтазы. Наконец, была определена кристаллическая структура ковалентного посредника в реакции между цитозин-5-метилтрансферазой ДНК Nhal, S-аденозил-L-гомоцистеином и 13-мерным олигонуклеотидным дуплексом ДНК [17]. Было показано, что между карбоксильной группой аминокислотного остатка Glu-237 и N(1)H- и NH₂-группами G образуются две H-связи. Кроме того, боковая цепь Glu-119 образует две H-связи с атомом N(3) и NH₂-группой в C. Так как типичные значения *r*K для Glu и для C около 4,5, одна из этих молекул должна быть протонирована, чтобы образовать H-связь.

Таким образом, из экспериментальных данных следует, что изучение механизмов белково-нуклеинового узнавания включает в себя электронный и стерический матричные механизмы узнавания. Часть этих экспериментальных данных получена на модельных системах, в которых электронный матричный механизм узнавания проявляется непосредственно. Другая часть работ выполнена на реальных системах, где этот механизм начинает работать после действия стерического матричного механизма узнавания. Электронный механизм узнавания является более простым для изучения не только в экспериментальном, но и в теоретическом отношении.

Исходя из вышеизложенного теоретическое изучение комплексов оснований с карбоксильной группой аминокислот как модели возможных «точечных» контактов в реальных нуклеопротеидных комплексах представляет существенный интерес.

Для исследования стабильности комплексов в ДМСО и природы их образования необходимо изучить взаимодействия растворитель — растворитель, растворитель — растворенное вещество и растворенное вещество — растворенное вещество на молекулярном уровне. Правильное описание сольватации в неводных растворителях должно рассматривать взаимодействие между молекулами растворителя и растворенного вещества в явном виде.

В связи с этим нами было проведено компьютерное моделирование сольватации AcOH и AcO⁻, которые являются моделью боковых цепей Asp и Glu, оснований G, C, CH⁺, пары оснований G-C и комплексов G — AcO⁻, C — AcOH, CH⁺ — AcO⁻ в ДМСО методом Монте-Карло.

Материалы и методы. Расчеты выполнены с помощью алгоритма Метрополиса [18] в каноническом (T, V, N) ансамбле при температуре 298 К. В

качестве граничных условий использовано кластерное приближение Абрахама и др. [19, 20], согласно которому объем системы выбран таким большим, чтобы ее границы не влияли на поведение кластера. Каждая система представляла собой кластер из 200 молекул ДМСО, в который было помещено основание, «модельная» аминокислота или их комплекс. Система была помещена в сферу с непроницаемыми стенками так, чтобы центр масс основания, «модельной» аминокислоты или комплекса совпадал с центром сферы.

Взаимодействия между молекулами в каждой системе были учтены с помощью полумпирических атом-атомных потенциальных функций: энергия взаимодействия ДМСО — ДМСО и энергия взаимодействия ДМСО — растворенное вещество были аппроксимированы потенциалом 1—6—12. Эти потенциальные функции хорошо себя зарекомендовали при изучении ДМСО и стабильности различных ассоциатов.

Обычно при моделировании методом Монте-Карло систем, содержащих метильные группы, используют метод объединенного атома. Однако для количественного описания интересующих нас систем необходим явный учет метильных водородов. Поэтому в данной работе так же, как и в предыдущей [21], каждая метильная группа рассматривалась как четырехатомная система, в связи с чем они могли вращаться вокруг связей C-S в молекуле ДМСО.

Конфигурации изучаемых комплексов были взяты из экспериментальных работ [3—6, 8, 9, 11—17], а их геометрия определена в соответствии с энергетическими и стереохимическими соображениями. В процессе вычислений положение молекул комплекса в сфере оставалось фиксированным, т. е. геометрия не изменялась. Более подробное описание метода расчета дано в работе [21].

Для того чтобы уравновесить каждую систему, были использованы 2,4 · 10⁶ конфигураций, которые при вычислении средних свойств были отброшены. В наших расчетах статистическая ошибка (величина дисперсии) была вычислена с точностью ± 0,005. Для оценки статистической ошибки, возникающей из-за конечного числа рассматриваемых конфигураций (длина марковской цепи), был использован метод контрольных функций. Согласно ему, вся система конфигураций была поделена на конечное число участков достаточной длины с тем, чтобы отсутствовала корреляция между последующими значениями энергии. Исходя из значений функций, которые определяли на каждом участке, были вычислены среднеквадратичные флуктуации.

Чтобы достичь указанной точности, длина ге-

нерируемой марковской цепи для системы G — ДМСО составляла $1,6 \cdot 10^7$ конфигураций, для системы С — ДМСО — $2,104 \cdot 10^7$ конфигураций, для системы G-C — ДМСО — $1,5 \cdot 10^7$ конфигураций, для системы AcOH — ДМСО — $1,5 \cdot 10^7$ конфигураций, для системы AcO⁻ — ДМСО — $1,8 \cdot 10^7$ конфигураций, для системы CH⁺ — ДМСО — $1,7 \cdot 10^7$ конфигураций, для системы G — AcO⁻ — ДМСО — $1,52 \cdot 10^7$ конфигураций, для системы С — AcOH — ДМСО — $1,2 \cdot 10^7$ конфигураций, для системы CH⁺ — AcO⁻ — ДМСО — $1,72 \cdot 10^7$ конфигураций и для ДМСО — $3,2 \cdot 10^7$ конфигураций.

Результаты и обсуждение. Результаты расчетов средних значений потенциальной энергии системы U , энергии взаимодействия растворитель—растворитель U_{ss} , энергии взаимодействия растворитель — мономер (димер) U_{sst} и энергии взаимодействия мономер — мономер U_{m1m2} даны в табл. 1. Величины энергии сольватации для всех систем ΔU_{solv} , которые могут быть получены из приведенных данных, также представлены в этой таблице. Кроме того, здесь же даны значения статистической ошибки (стандартного отклонения) для U и ΔU_{solv} .

Результаты расчетов показали, что значения энергии сольватации для всех изученных систем отрицательны (в ккал/моль): -32,8 для G, -22,6 для С, -74,0 для G-C, -11,8 для AcOH, -63,2 для AcO⁻, -102,6 для CH⁺, -112,8 для G — AcO⁻, -35,6 для С — AcOH, -169,6 для CH⁺ — AcO⁻.

Для выяснения стабильности и понимания природы образования рассматриваемых комплексов в ДМСО необходимо вычислить изменение потенциальной энергии ΔU , изменение энергии взаимодействия растворитель — растворитель (изменение энергии образования полости для молекул растворенного вещества и энергии, связанной с реорганизацией растворителя при помещении этих молекул в полость) ΔU_{ss} (сольвофобный эффект), изменение энергии взаимодействия растворитель — растворенное вещество ΔU_{sst} (эффект сольватации) и изменение энергии взаимодействия между мономерами ΔU_{m1m2} при образовании комплексов (димеров).

Поскольку число молекул растворителя в каждой изученной нами системе постоянно, то эти изменения, равные изменениям внутренней энергии, определяются из следующего соотношения:

$$\Delta U = \Delta U_{ss} + \Delta U_{sst} + \Delta U_{m1m2}, \quad (1)$$

где

$$\Delta U_{ss} = N \{ [U_{ss}(D) - U_{ss}] - [(U_{ss}(m1) - U_{ss}) + (U_{ss}(m2) - U_{ss})] \}; \quad (2)$$

$$\Delta U_{sst} = N \{ [U_{st}(D)] - [U_{sm1}(m1) + U_{sm2}(m2)] \}; \quad (3)$$

$$\Delta U_{m1m2} = N U_{m1m2}. \quad (4)$$

Здесь st — растворенное вещество; N — число мо-

Таблица 1

Энергетические характеристики сольватации оснований, «модельных» аминокислот и их различных комплексов в ДМСО

Соединение	U_{ss}^*	U_{sst}^*	U_{m1m2}^*	U^*	ΔU_{solv}^{**}
G	-5,778	-0,260	—	-6,038±0,005	-32,8±1,4
C	-5,770	-0,217	—	-5,987±0,005	-22,6±1,4
AcOH	-5,851	-0,082	—	-5,933±0,005	-11,8±1,4
CH ⁺	-5,516	-0,871	—	-6,387±0,005	-102,6±1,4
AcO ⁻	-5,621	-0,569	—	-6,190±0,005	-63,2±1,4
G-C	-5,768	-0,364	-0,112	-6,244±0,005	-74,0±1,4
G — AcO ⁻	-5,628	-0,675	-0,135	-6,438±0,005	-112,8±1,4
C — AcOH	-5,743	-0,238	-0,071	-6,052±0,005	-35,6±1,4
CH ⁺ — AcO ⁻	-5,679	-0,604	-0,439	-6,722±0,005	-169,6±1,4
Me ₂ SO	-5,874	—	—	-5,874±0,005	—

Примечание. В этой таблице и в табл. 2 G — гуанин; C — цитозин; AcOH — уксусная кислота; AcO⁻ — депротонированная форма уксусной кислоты; CH⁺ — протонированная форма цитозина; *ккал/моль растворителя; **ккал/моль системы.

Таблица 2

Энергетические характеристики реакции образования комплексов оснований и «модельных» аминокислот

Соединение	ΔU_{ss}^*	ΔU_{sst}^*	ΔU_{m1m2}^*	ΔU^*
G-C	-18,8	22,6	-22,4	-18,6±2,42
G — AcO ⁻	-20,6	30,8	-27,0	-16,8±2,42
C — AcOH	0,8	12,2	-14,2	-1,2±2,42
CH ⁺ — AcO ⁻	13,6	-61,0	-87,8	-135,2±2,42

Примечание. *ккал/моль системы.

лекула ДМСО в системе; *D* — система «димер — ДМСО»; *mi* — система «*i*-ый мономер — ДМСО» (*i* = 1, 2).

Используя данные табл. 1, вычисленные изменения энергии для исследованных систем даны в табл. 2. Здесь также приведены стандартные отклонения для ΔU .

Приведенные в табл. 2 величины показывают, что энергия образования пары оснований G-C в ДМСО составляет -18,6 ккал/моль и, следовательно, ее образование в этом растворителе энергетически выгодно. Анализ значений энергии различных взаимодействий в паре G-C показывает, что взаимодействия ДМСО — ДМСО и основание — основание являются стабилизирующими, а взаимодействие ДМСО — основания — дестабилизирующим. ДМСО дестабилизирует пару оснований G-C, так как общий вклад этого растворителя в энергию образования пары положителен ($\Delta U_{ss} + \Delta U_{sst} = 3,8$ ккал/моль).

Хотя растворитель вносит значительный дестабилизирующий вклад в образование комплекса G — AcO⁻ (10,2 ккал/моль), его образование в ДМСО также выгодно (-16,8 ккал/моль). Этот факт указывает на то, что в пределах точности расчетов энергетическая выгодность образования комплекса G — AcO⁻ и пары G-C сравнима. Как следствие этого факта, связывание AcO⁻ с G может конкурировать с образованием пар оснований G-C, в результате чего AcO⁻ может замещать C в паре G-C. Иначе говоря, карбоксилатные ионы могут индуцировать диссоциацию пар G-C. Это согласуется с экспериментальными данными [4—6, 8].

Из данных табл. 2 следует, что образование комплекса C — AcOH значительно менее выгодно

(-1,2 ккал/моль), чем образование пары G-C или комплекса G — AcO⁻. Основная причина этого связана с тем, что при образовании комплекса C — AcOH взаимодействие ДМСО — ДМСО не вносит стабилизирующего вклада (оно является даже дестабилизирующим), в то время как это взаимодействие существенно стабилизирует комплексы G-C и G — AcO⁻. Более того, общий дестабилизирующий вклад растворителя в образование C — AcOH является самым большим среди всех рассмотренных нами комплексов и количественно весьма существен (13,0 ккал/моль).

В то же время при изучении различных модельных систем в кристаллическом состоянии и в растворе (см. «Введение») было обнаружено образование комплекса CH⁺ — AcO⁻ [3, 8, 14]. Этот же комплекс был постулирован при изучении механизма действия некоторых ферментов [15—17], которые являются реальными системами.

Авторы работ [3, 8, 14—17] предположили, что при взаимодействии AcOH аминокислот Glu или Asp с C происходит перенос протона по связи O-H...N(3), в результате чего образуется комплекс CH⁺ — AcO⁻. Как показывают результаты наших расчетов (см. табл. 2), этот комплекс намного выгоднее, чем все изученные ассоциаты. Эта выгодность обусловлена большим стабилизирующим вкладом растворителя и вкладом, обусловленным взаимодействием между мономерами. В этом случае уксусная кислота может замещать G в паре оснований G-C. Следует, однако, отметить, что механизм такого переноса протона в настоящее время совершенно неясен и требует специального изучения.

Таким образом, наши результаты, полученные

методом Монте-Карло, свидетельствует о том, что депротонированная и нейтральная формы карбоксильной группы аспарагиновой и глутаминовой кислот, которые часто расположены в местах связывания белка и нуклеиновой кислоты, могут эффективно образовывать ассоциаты с G и C соответственно с помощью H-связей. В результате при белково-нуклеиновом узнавании указанные формы AcOH могут замещать C и G в уотсон-криковских парах G-C. Эти выводы находятся в согласии с имеющимися экспериментальными данными [3—10].

Образование специфических комплексов G — AcO⁻ и CH⁺ — AcO⁻, обнаруженное в ДМСО с помощью эксперимента и теории, является конкурирующим процессом по отношению к образованию пар оснований G-C и может служить в качестве первичного шага в реальном механизме белково-нуклеинового узнавания.

Все расчеты были выполнены на sunCluster университета штата Нью-Йорк в Буффало: часть — во время пребывания одного из нас (В. И. Д.) в США в 1995 и 1996 гг., а часть — в Киеве в 1996 г. с помощью глобальной сети INTERNET.

В. И. Данилов, О. В. Михальова, О. М. Слюсарчук, В. И. Полтев, Дж. Л. Альдерфер

Вивчення білково-нуклеїнового впізнавання: моделювання комплексів основ та «модельних» амінокислот у ДМСО методом Монте-Карло

Резюме

Проведено комп'ютерне моделювання сольватації гуаніну (G), цитозину (C), пари основ G-C, протонованого C (CH⁺), оцтової кислоти у нейтральній (AcOH) та депротонованій формах (AcO⁻), комплексів G — AcO⁻, C — AcOH, CH⁺ — AcO⁻ у ДМСО методом Монте-Карло. Показано, що утворення пари основ G-C у ДМСО енергетично вигідніе. Утворення комплексу G — AcO⁻ порівнянне за енергетичною вигідністю з утворенням пари основ G-C. У цьому випадку аніон ацетату може замінити C у парі основ G-C. Утворення комплексу C — AcOH значно менш вигідно, ніж утворення пари G-C. Однак перенос протона з AcOH на C веде до утворення комплексу CH⁺ — AcO⁻, який значно вигідніший, ніж усі вивчені комплекси. Тут оцтова кислота може замінити G у парі основ G-C. Утворення специфічних комплексів G — AcO⁻ та CH⁺ — AcO⁻, знайдених у ДМСО за допомогою експерименту і теорії, є конкуруючим процесом щодо утворення пар основ G-C і може слугувати першим кроком у реальному механізмі білково-нуклеїнового впізнавання.

V. I. Danilov, O. V. Mikhaleva, O. N. Slyusarchuk, V. I. Poltev, J. L. Alderfer

The study of protein-nucleic acid recognition: Simulation of base and «model» amino acids complexes in DMSO by Monte Carlo method

Summary

A computer simulation of guanine (G), cytosine (C), G-C base

pair, protoned C (CH⁺), acetic acid in neutral (AcOH) and deprotonated (AcO⁻) forms, G-AcO⁻, C-AcOH, CH⁺-AcO⁻ complexes solvation in DMSO was carried out by Monte Carlo method. It is shown that G-C base pair formation in DMSO is energetically favorable. G-AcO⁻ complex formation is comparable with the formation of G-C base pair in energetical favorability. In this case acetate anion can replace C in G-C base pair. The formation of C-AcOH complex is much less favorable than the formation of G-C pair. However proton transfer from AcOH to C leads to the formation of CH⁺-AcO⁻ complex which is much more favorable than all of the complexes studied. Here acetic acid can replace G in G-C base pair. The formation of G-AcO⁻ and CH⁺-AcO⁻ specific complexes detected in DMSO with the help of experiment and theory is a competitive process in respect to the formation of G-C base pairs and can be considered the primary step in the real mechanism of protein-nucleic acid recognition.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Данилов В. И., Закшевская К. М., Желтовский Н. В. Проблема стабильности ДНК: вклад оснований // Итоги науки и техники, сер. Молекулярная биология.—1979.—15.—Р. 74—124.
2. Rich A., Seeman C., Rosenberg J. M. // Nucleic acid-protein recognition / Ed. H. J. Vogel.—New York: Acad. press.—1977.—Р. 361.
3. Zheltovsky N. V., Samoilenko S. A., Kolomiets I. N. et al. Some structural aspects of protein-nucleic acid recognition point mechanisms involving amino acid carboxylic groups // J. Mol. Struct.—1989.—214.—Р. 15—26.
4. Lancelot G., Helene C. Selective recognition of nucleic acids by proteins: The specificity of guanine interaction with carboxylate ions // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1977.—74.—Р. 4872—4875.
5. Брусков В. И., Бушуев В. Н. Исследование методом протонного магнитного резонанса комплексообразования между нуклеозидами и соединениями, моделирующими аминнокислотные остатки белков, в диметилсульфоксиде // Биофизика.—1977.—22.—Р. 26—31.
6. Bruskov V. I. Specificity of interaction of nucleic acid bases with hydrogen bond forming amino acids // Stud. biophys.—1978.—67.—Р. 43—44.
7. Lancelot G., Mayer R., Helene C. Models of interaction between nucleic acids and proteins: hydrogen bonding of arginine with nucleic acid bases, phosphate groups and carboxylic acids // Biochim. et biophys. acta.—1979.—564.—Р. 181—190.
8. Кондратюк И. В., Коломиец И. Н., Самойленко С. А., Желтовский Н. В. Изучение комплексов цитозина с карбоксильной группой аминокислот методом спектроскопии ЯМР // Биополимеры и клетка.—1989.—6.—Р. 21—25.
9. Kolomiets I. N., Kondratyuk I. V., Stepanyugin A. V. et al. Influence of methylation of nucleic acid purine bases on their interactions with amino acids through the carboxylic group // J. Mol. Struct.—1991.—250.—Р. 1—11.
10. Zheltovsky N. V., Samoilenko S. A., Kondratyuk I. V. et al. Recognition of purine bases and nucleosides by the amino acid carboxylic group // Ibid.—1995.—44.—Р. 53—62.
11. Lancelot G., Mayer R., Helene C. Conformational study of the dipeptide arginylglutamic acid and of its complex with nucleic bases // J. Amer. Chem. Soc.—1979.—101.—Р. 1569—1576.
12. Arni R., Heinemann U., Tokuoka R., Saenger W. Three-dimensional structure of the ribonuclease T1·2'-GMP complex at 1.9-Å interaction // J. Biol. Chem.—1988.—263.—Р. 15358—15368.

13. Koepke J., Maslowska M., Heinemann U., Saenger W. Three-dimensional structure of ribonuclease T1 complexed with guanylyl-2',5'-guanosine at 1.8 Å resolution // *J. Mol. Biol.*—1989.—286.—P. 475—488.
14. Takenaka A., Ohki M., Sasada Y. Complexes between nucleotide base and amino acid. IV. Crystal and molecular structure of cytosine: N, N-phthaloyl-DL-glutamic acid complex dihydrate // *Bull. Chem. Soc. Jap.*—1980.—53.—P. 2721—2730.
15. Graves K. L., Butler M. M., Hardy L. W. Roles of Cys148 and Asp179 in catalysis by deoxycytidylate hydroxymethylase from bacteriophage T4 examined by site-directed mutagenesis // *Biochemistry*.—1992.—31.—P. 10315—10321.
16. Liu L., Santi D. V. Mutation of asparagine 229 to aspartate in thymidylate synthase converts the enzyme to a deoxycytidylate methylase // *Ibid.*—P. 5100—5104.
17. Klimasauskas S., Kumar S., Roberts R. J., Cheng X. Hhal methyltransferase flips its target base out of the DNA helix // *Cell*.—1994.—76.—P. 357—369.
18. Metropolis N., Rosenbluth A. W., Rosenbluth M. N. et al. Equation of state calculations by fast computing machines // *J. Chem Phys.*—1953.—21.—P. 1087—1092.
19. Abraham F. F. Monte Carlo simulation of physical clusters of water molecules // *Ibid.*—1974.—61.—P. 1221—1225.
20. Mruzik M. R., Abraham F. F., Schreiber D. E., Pound G. M. A Monte Carlo study of ion-water clusters // *Ibid.*—1976.—64.—P. 481—491.
21. Данилов В. И., Желтовский Н. В., Слюсарчук О. П., Альдерфер Дж. Л. Изучение стабильности уотсон-крикковских пар оснований нуклеиновых кислот в воде и диметилсульфоксиде: компьютерное моделирование методом Монте-Карло // *Биополимеры и клетка*.—1997.—13.—С. 46—54.

УДК 577.2:577.323.425:577.323.427

Поступила в редакцию 27.02.97