

Чи є комплементарність основ у ДНК іманентною фізико-хімічною властивістю самих основ? Результати неемпіричного квантово-хімічного дослідження

О. М. Кречківська¹, Д. А. Косач¹, О. О. Судаков², Д. М. Говорун^{1, 2, 3}

¹ Національний університет «Києво-Могилянська академія»
Вул. Григорія Сковороди, 2, Київ, 04070, Україна

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Проспект Академіка Глушкова, 2, корп. 6, Київ, 01033, Україна

³ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна
E-mail: dhovorun@imbg.org.ua

Присвячується золотому ювілеєві відкриття
подвійної спіралі ДНК

*У рамках «гідрофобного сценарію» функціонування ДНК із залученням неемпіричних квантово-хімічних розрахунків на рівні теорії $V3LYP/6-31++G(d,p)$ автори вперше доходять висновку про те, що комплементарність основ у природній ДНК не є іманентною фізико-хімічною властивістю самих основ, а їхня прототропна таутомерія — перехід *Gua* із кетонної в енольну форму, а *Cyt* — із аміної в імінну — це джерело спонтанних точкових мутацій під час біосинтезу ДНК. Отриманий ряд термодинамічної стабільності квазіізоморфних пар основ $Gua:Cyt > Thy:Gua (енол) > Ade:Cyt(імінно) > Ade:Thy$ дозволяє пояснити так звану асиметрію точкових мутацій протягом біосинтезу ДНК. Це, в свою чергу, свідчить про адекватність висловлених припущень, одержаних даних і зроблених на їхній основі висновків.*

Вступ. Комплементарність канонічних основ ДНК — аденіну (*Ade*) і тиміну (*Thy*), гуаніну (*Gua*) і цитозину (*Cyt*), тобто їхня здатність специфічно сполучатися у складі природної макромолекули водневими зв'язками, утворюючи при цьому квазіізоморфні димери *Ade:Thy* і *Gua:Cyt*, так звані Вотсон-Криківські пари, є одним із центральних положень класичної Вотсон-Криківської моделі двоспіральної ДНК [1], що вже стало парадигмою. Традиційно вважається, що комплементарність основ у складі природної ДНК є іманентною фізико-хімічною властивістю самих основ, яка визначає-

ться їхньою електронною будовою [2]. При цьому неправильні пари, що утворюються не за Вотсон-Криківською схемою, розглядають як високоенергетичні, малоймовірні дефекти регулярної двоспіральної структури ДНК [3].

Вотсон і Крик були першими, хто постулював утворення в складі двоспіральної ДНК під час її ферментативного синтезу неправильних пар за участі неканонічних високоенергетичних прототропних таутомерів нуклеотидних основ, вбачаючи в цьому одну з можливих причин еволюційно цінних спонтанних точкових мутацій [4]. Незважаючи на значні успіхи, досягнуті в дослідженні прототропної таутомерії нуклеотидних основ як можливого джерела спонтанних точкових мутацій

ДНК (див. [5—7] і наведену там бібліографію), цей постулат розцінюється нині як гіпотеза, що не має належного експериментального обґрунтування [8]: до цього часу так і не зафіксовано неправильних пар за участі рідкісних прототропних таутомерів у складі ДНК чи її модельних об'єктів.

У цій праці ми ставили за мету довести, використовуючи сучасні неемпіричні квантово-хімічні методи, що комплементарність основ природної ДНК не є іманентною фізико-хімічною властивістю самих основ, а жорстко контролюється ДНК-полімеразою під час біосинтезу макромолекули, а прототропна таутомерія основ, насамперед Gua і Cyt, є джерелом точкових мутацій ДНК. При цьому ми притримуємося «гідрофобного сценарію» функціонування ДНК у складі білково-нуклеїнових комплексів, коли вода повністю або ж значною мірою витісняється за межі функціонально значущих білково-нуклеїнових контактів, а локальна діелектрична проникність падає при цьому до кількох одиниць (див. з цього приводу роботи [9—14]).

Принагідно зазначимо, що саме наявність оточуючої води у досліджуваних зразках ДНК чи її модельних об'єктах, яка, як відомо, є сильним інгібітором прототропних таутомерних перетворень нуклеотидних основ із канонічної форми у рідкісну [5], є, на наш погляд, головною причиною низького вмісту неправильних пар за участі рідкісних таутомерів основ і, як наслідок, неможливості їхнього експериментального спостереження. До речі, ми не знайшли в літературі жодної роботи, автори б якої ставили собі за мету експериментально зареєструвати у газоподібному стані чи в умовах низькотемпературної матричної ізоляції неправильні пари основ ДНК (чи їхніх нуклеозидів), утворені за участі неканонічних прототропних таутомерів. Як впливає з отриманих нами результатів, що будуть викладені нижче, успішна постановка такого експерименту не лише цілком можлива, але й вельми нагальна.

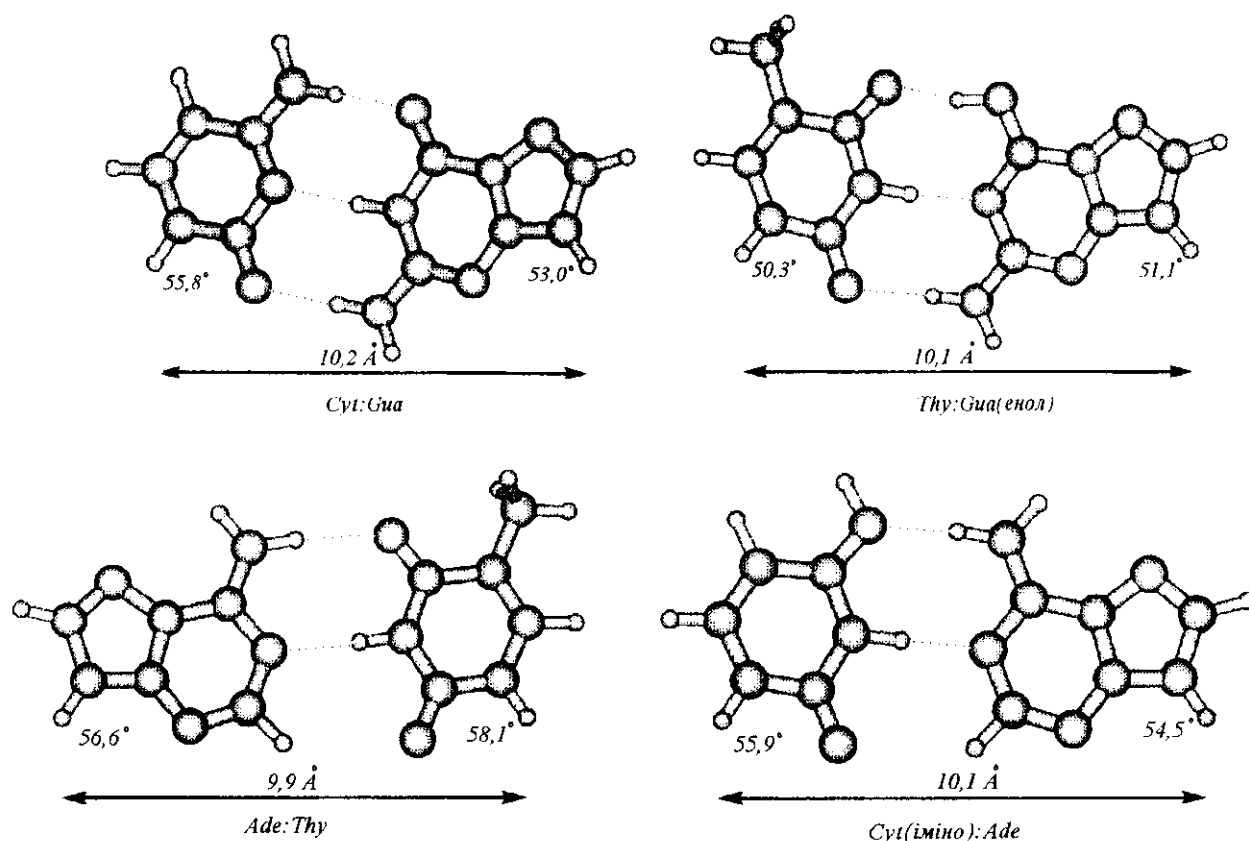
Матеріали і методи. Геометрію правильних і неправильних пар основ ДНК, утворених, зокрема, за участі неканонічних прототропних таутомерів, розраховували методами неемпіричної квантової хімії на рівні теорії B3LYP/6-31++G(d,p) у режимі повної оптимізації. Для цього використовували програмний пакет GAMESS (US) [15]. Розрахунки проводили у вакуумі, розцінюючи його як прийнятне для «гідрофобного сценарію» модельне оточення. Енергію міжмолекулярної взаємодії основ — енергію стабілізації пари — визначали традиційним методом з урахуванням суперпозиційної поправки (BSSE-correction) [16]; енергією нульових коливань при цьому нехтували.

Результати і обговорення. Аналіз результатів розрахунків засвідчує, що з-поміж усіх можливих пар основ ДНК, утворених за участі неканонічних прототропних таутомерів, енергетично найвигіднішими у своїх сімействах є пари Gua(енол):Thy і Ade:Cyt(іміно). Як видно з рисунка, ці плоскосиметричні пари разом з Вотсон-Криківськими парами Gua:Cyt і Ade:Thy утворюють сімейство квазіізоморфних структур. Привертає до себе увагу той факт, що енергія міжмолекулярної взаємодії в парах Gua(енол):Thy і Ade:Cyt(іміно) значно перевищує подібну енергію в класичній Вотсон-Криківській парі Ade:Thy (таблиця). При цьому, що характерно, в обох випадках дефект енергій (4,16 і 1,29 ккал/моль відповідно) значно більший за енергію переходу Gua і Cyt з канонічної таутомерної форми в енольну (0,09 ккал/моль) і імінну (0,98 ккал/моль) форми відповідно. Окрім того, пари, утворені за участі енольної форми Gua і імінної форми Cyt з Thy і Ade, відповідно є енергетично найвигіднішими структурами з-поміж аналогічних пар Gua(будь-яка таутомерна форма):Thy і Ade:Cyt(будь-яка таутомерна форма), якщо не брати до уваги схеми спарювання за участі глікозидних іміногруп основ. Так, наприклад, енергія пари Gua(енол):Thy, яка стабілізується трьома міжмолекулярними зв'язками (рисунок), на 1,76 ккал/моль нижча, ніж енергія пари Gua:Thy, що стабілізується двома водневими зв'язками N1H...C2O і C6O...N3H [3]. Іншими словами, у вільному стані утворення неправильних пар Gua(енол):Thy і Ade:Cyt(іміно), квазіізоморфних Вотсон-Криківським, є термодинамічно вигіднішим, аніж утворення класичної Вотсон-Криківської пари Ade:Thy за однакових умов. Це, мабуть, справедливо і для гідрофобного оточення, діелектрична проникність якого ненабагато перевищує одиницю, оскільки вищезгадані неправильні пари мають найбільший дипольний момент, аніж Вотсон-Криківська пара Ade:Thy (таблиця). З цих фактів випливають щонайменше три біологічно важливих висновки:

1) комплементарність основ природної ДНК не є іманентною фізико-хімічною властивістю самих основ;

2) прототропна таутомерія нуклеотидних основ, а саме — перехід Gua з кетонної в енольну форму, а Cyt — із аміної в імінну — є джерелом спонтанних точкових мутацій під час біосинтезу ДНК;

3) важливою функцією ДНК-полімерази є підтримання канонічного таутомерного статусу Gua і Cyt протягом біосинтезу ДНК, а відтак — забезпечення класичної Вотсон-Криківської комплементарності.



Класичні Вотсон-Кріківські (ліворуч) і енергетично найвигідніші неправильні пари основ ДНК, утворені за участі енольної форми Gua та іміноформи Cyt (праворуч), та їхня квазіізоморфність (за даними розрахунків *ab initio* на рівні теорії V3LYP/6-31++G(d,p) у вакуумі)

Енергія міжмолекулярної взаємодії (ΔE) в класичних Вотсон-Кріківських та неправильних парах, утворених за участі високоенергетичних прототропних таутомерів, та їхні дипольні моменти (d) за даними неемпіричних квантово-хімічних розрахунків *ab initio* на рівні теорії V3LYP/6-31++G(d,p) у вакуумі

Показник	Пара основ ДНК			
	Gua:Cyt	Thy:Gua (енол)	Ade:Cyt (іміно)	Ade:Thy
ΔE , ккал/моль	27,06	17,78	14,89	13,61
d , D	6,03	5,69	3,14	1,36

Молекулярні механізми мінімізації ДНК-полімеразою точкових мутацій, спричинених прототропною таутомерією нуклеотидних основ, розглянуто нами у попередніх роботах [17, 18].

Отримані в цій праці результати щодо «комплементарності» нуклеотидних основ у вільному ста-

ні проливають світло на природу асиметрії точкових мутацій під час біосинтезу ДНК. Беручи до уваги те, що неправильні пари Gua(енол):Thy і Ade:Cyt(іміно) є термодинамічно вигіднішими, ніж пара Ade:Thy, але програють у цьому сенсі парі Gua:Cyt і припускаючи відсутність асиметрії в активному центрі ДНК-полімерази, легко дійти висновку, що неправильні пари Thy:Gua(енол) і Ade:Cyt(іміно) зустрічаються частіше протягом біосинтезу ДНК, ніж неправильні пари Gua(енол):Thy і Cyt(іміно):Ade (зліва стоїть основа материнської нитки ДНК), що збігається з даними біохімічного експерименту [19]. Це, на наш погляд, свідчить про адекватність зроблених нами припущень, одержаних даних і отриманих на їхній основі висновків.

Насамкінець зазначимо, що одержані в цій праці результати виходять далеко за межі проблем, пов'язаних зі структурою ДНК, і можуть бути залучені для пояснення молекулярної еволюції ДНК, особливостей кодон-антикодонового впізна-

вання та просторової організації РНК тощо. Цим важливим з біологічної точки зору питанням будуть присвячені наші наступні роботи.

O. M. Krechkivska, D. A. Kosach, O. O. Sudakov, D. M. Hovorun

Is the complementarity of canonical nucleotide bases in DNA their inherent physical-chemical characteristics? Results of the non-empirical quantum-chemical investigation

Summary

Using *ab initio* quantum-chemical calculation at the B3LYP/6-31++G(d, p) level in the framework of «hydrophobic scenario», authors arrived at the conclusion that complementarity of nucleotide bases in DNA is not their intrinsic property, and their prototropic tautomerism — transition of Gua from keto to enolic form and Cyt — from amino to imino form — is a source of point mutations during the DNA biosynthesis. The obtained sequence of thermodynamic stability of quasi-isomorphous pairs Gua:Cyt > Thy:Gua (enolic) > Ade:Cyt(imino) > Ade:Thy enables us to explain the so-called asymmetry of point mutations in the course of the DNA biosynthesis. This, in its turn, evidences the adequacy of assumptions and conclusions made in this work.

O. M. Кречківська, Д. А. Косач, А. А. Судаков, Д. Н. Говорун

Являється ли комплементарність оснований в ДНК імманентним фізико-хімічним свойством самих оснований? Результати неземпіричного квантово-хімічного дослідження

Резюме

В рамках «гідрофобного сценарія» функціонування ДНК з застосуванням неземпіричних квантово-хімічних розрахунків на рівні теорії B3LYP/6-31++G(d, p) автори вперше приходять до висновку, що комплементарність оснований в природній ДНК не являється імманентним фізико-хімічним свойством самих оснований, а прототропна таутомерія нуклеотидних оснований — перехід Gua з кетонної в енольну форму, а Cyt — з аміноної в імінону — це джерело спонтанних точечних мутацій во время біосинтеза ДНК. Отриманий ряд термодинамічної стабільності квазіізоморфних пар Gua:Cyt > Thy:Gua(енол) > Ade:Cyt(іміно) > Ade:Thy дозволяє пояснити так звану асиметрію точечних мутацій во время біосинтеза ДНК. Це, в свою чергу, свідчить про адекватність висказаних в роботі припущень, отриманих даних і зроблених на їх основаних висновків.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Watson J. D., Crick F. H. C. Molecular structure of nucleic acids: A structure for desoxyribonucleic acids // Nature.—1953.—171, N 4356.—P. 737—738
2. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот.—М.: Мир, 1987.—584 с.
3. Долинная Н. Г., Грязнова О. Н. Комплексы олиго(поли)нуклеотидов со структурными аномалиями // Успехи химии.—1989.—57, № 8.—С. 1318—1353.
4. Watson J. D., Crick F. H. C. Genetic implication of the structure of the desoxyribonucleic acid // Nature.—1953.—171, N 4361.—P. 964—967.
5. Leszczynski J. Isolated, solvated and complexed nucleic acid

bases: structures and properties // Adv. Mol. Struct. Res.—2000.—6.—P. 209—265.

6. Данилов В. И., Квенцель Г. Ф. Электронные представления в теории точечных мутаций.—Киев: Наук. думка, 1971.—84 с.
7. Рейн П. Исследования биомолекулярных взаимодействий. Зависимость структура—функция для нуклеиновых кислот с учетом взаимодействия их компонентов // Межмолекулярные взаимодействия: от двухатомных молекул до биополимеров / Под. ред. Б. Пюльмана.—М.: Мир, 1981.—С. 414—488.
8. Goodman M. F. Mutations caught in the act // Nature.—1995.—378, N 6554.—P. 237—238.
9. Голдовский А. М. Входит ли вода в строение жизнеспособных структур? // Биофизика.—1979.—24, № 4.—С. 755—756.
10. Reddy C. K., Das A., Jayaram B. Do water molecules mediate protein-DNA recognition? // J. Mol. Biol.—2001.—314, N 3.—P. 619—632.
11. Petrushka J., Sowers L. S., Goodman M. F. Comparison of nucleotide interactions in water, proteins, and vacuum: Model for DNA polymerase fidelity // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1986.—83, N 6.—P. 1559—1562.
12. Kiefer J. R., Mao C., Braman J. C., Beese L. S. Visualizing DNA replication in a catalytically active Bacillus DNA polymerase crystal // Nature.—1998.—391, N 6664.—P. 304—307.
13. Doublet S., Tabor S., Long A. M., Richardson C. C., Ellenberger T. Crystal structure of a bacteriophage T7 DNA replication complex at 2.2 Å resolution // Nature.—1998.—391, N 6664.—P. 251—258.
14. Simonson T., Brooks III C. L. Charge screening and the dielectric constant of proteins: insight from molecular dynamics // J. Amer. Chem. Soc.—1996.—118, N 35.—P. 8452—8458.
15. Smidt M. W., Baldrige K. K., Boatz J. A., Elbert S. T., Gordon M. S., Jensen J. H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K. A., Su S. J., Windus T. L., Dupuis M., Montgomery J. L. General atomic and molecular electronic structure system (review) // J. Comput. Chem.—1993.—14.—P. 1347—1363.
16. Boys S. F., Bernardi F. The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors // Mol. Phys.—1970.—19, N 7.—P. 553—561.
17. Кречківська О. М., Косач Д. А., Говорун Д. М. Як ДНК-полімераза мінімізує рівень спонтанних помилок біосинтезу ДНК, що спричиняються прототропною таутомерією нуклеотидних основ? Можливий фізико-хімічний механізм та його квантово-хімічне обґрунтування // Доповіді НАН України.—2002.—№ 11.—С. 155—159.
18. Кречківська О. М., Косач Д. А., Говорун Д. М. Як ДНК-полімераза підтримує нуклеотидні основи в канонічній таутомерній формі: простий фізичний механізм // Наук. записки Нац. ун-ту «Києво-Могилянська академія».—2002.—20, ч. 2.—С. 517—520.
19. Ahn J., Werneburg B. G., Tsai M.-D. DNA polymerase β: structure-fidelity relationship from pre-steady-state kinetic analyses of all possible correct and incorrect base pairs for wild type and R283A mutant // Biochemistry.—1997.—36, N 5.—P. 1100—1107.

УДК 573.3

Надійшла до редакції 24.06.03