

Найрізноманітніші точкові контакти електронейтральної та депротонованої карбоксильної групи амінокислот з 2-амінопурином

А. Л. Потягайло, Д. М. Говорун

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

E-mail: dhovorun@imbg.org.ua

Напівемпіричним квантово-хімічним методом MNDO/H вперше отримано повне сімейство точкових контактів електронейтральної та депротонованої оцтової кислоти, модельного бічного радикала глутамінової та аспарагінової кислот, з 2-амінопурином у вакуумі. Встановлено, що специфічна взаємодія депротонованої карбоксильної групи з основою переводить її з основної таутомерної форми N9H у високоенергетичну N3H з енергетичним виграшем у 0,92 ккал/моль і утворенням точкового контакту N3H...O⁻, N2H...O⁻. В той же час специфічна взаємодія електронейтральної карбоксильної групи з 2-амінопурином не спричинює жодних таутомерних перетворень основи: найвигідніший точковий контакт N9H...O, N3...HO з енергетичним відривом у 2,3 ккал/моль утворюється з її основною таутомерною формою N9H.

Вступ. Нещодавно експериментально і теоретично зафіксовано непоодинокі випадки того, що вже на рівні точкових контактів білково-нуклеїнове впізнавання виходить за традиційні рамки конформаційного механізму [1] і супроводжується значно глибшими структурними перетвореннями нуклеотидних основ, а саме — їхнім переходом у високоенергетичну (рідкісну) таутомерну форму, спричиненим специфічною взаємодією з депротонованою карбоксильною групою (карбоксилат-іоном) амінокислот [2—4]. Ці ефекти розширюють існуючі уявлення про можливе біологічне значення прототропної таутомерії нуклеотидних основ [5]: сформульовано фізико-хімічну концепцію щодо ролі високоенергетичних таутомерних станів основ у перебігові біохімічних процесів, зокрема, ферментативного каталізу [5].

Ця праця є логічним продовженням попередніх наших робіт [2—4] — головною її метою складає вивчення поширеності явища індукування рідкісної таутомерної форми нуклеотидних основ під час їхньої специфічної взаємодії з амінокислотними

залишками білків, зокрема, карбоксильною групою в електронейтральній та депротонованій формах.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження слугував 2-амінопурин, що є високоенергетичним ізомером аденіну [6]. Ця нуклеотидна основа є класичним мутагеном, що спричиняє транзиції AT → GC і GC → AT, і часто використовується як у генетичних дослідженнях, так і при вивченні молекулярних механізмів біосинтезу ДНК *in vitro* (див., наприклад, [7] і наведену там бібліографію). Однак, незважаючи на наявність ґрунтовної інформації щодо фізико-хімічних властивостей 2-амінопурину [8, 9], ми не знаємо робіт, авторам яких вдалося б зафіксувати його таутомерне перетворення, спричинене міжмолекулярною взаємодією з лігандами того чи іншого походження.

Гідрофобне середовище активних центрів ферментів (саме у ферментативному каталізі очікується найвагомніше значення досліджуваних нами ефектів) моделювали вакуумом. Теоретичні розрахунки геометричної структури та енергетичних характеристик точкових контактів основної та рідкісних таутомерних форм 2-амінопурину з карбоксильною групою амінокислотних залишків білків проводили напівемпіричним квантово-хімічним ме-

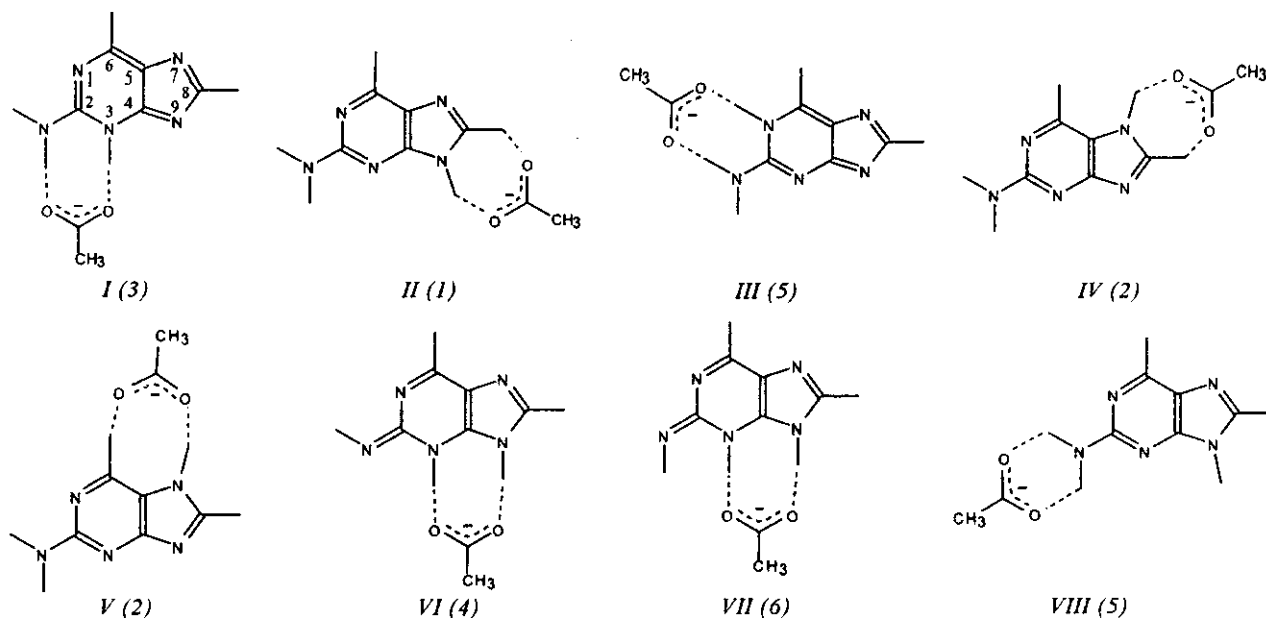


Рис. 1. Схеми взаємодії карбоксилат-іона з прототропними таутомерами 2-амінопурину у вакуумі за даними методу MNDO/H. На цьому рисунку і на рис. 2 арабськими цифрами пронумеровано таутомери в порядку зростання енергії, римськими — комплекси в порядку зростання їхньої енергії

Таблиця 1

Енергетичні характеристики (ккал/моль) комплексів карбоксилат-іона з прототропними таутомерами 2-амінопурину, розраховані методом MNDO/H у вакуумі

Таутомер	Відносна енергія таутомеру	Комплекс (рис. 1)	Відносна енергія комплексу	Енергія взаємодії
3	14,91	I	0	-52,73
1	0	II	0,92	-36,90
5	19,77	III	1,28	-56,31
2	5,07	IV	2,33	-40,56
2	5,07	V	4,23	-38,66
4	18,73	VI	5,99	-50,56
6	23,76	VII	6,44	-55,59
1	0	VIII	12,13	-25,69

тодом MNDO/H (режим оптимізації всіх структурних параметрів), який добре зарекомендував себе в подібних дослідженнях [2—4]. Як модель бічного радикала глутамінової і аспарагінової кислот використовували оцтову кислоту в електронейтральній (CH_3COOH) і депротонованій (CH_3COO^-) формі.

Результати і обговорення. Одержані результати наведено на рис. 1, 2 і в табл. 1, 2. Їхній аналіз дозволяє зробити такі висновки.

Специфічна взаємодія депротонованої оцтової кислоти з 2-амінопурином переводить основу з основної таутомерної форми N9H у рідкісну (високоенергетичну) N3H, при цьому досягається помітний енергетичний вигравш у 0,92 ккал/моль, а відповідний точковий контакт I(3) утворюється за допомогою пари водневих зв'язків N3H...O⁻ і N2H...O⁻. Енергія точкового контакту III(5) рідкісної таутомерної форми N1H 2-амінопурину з

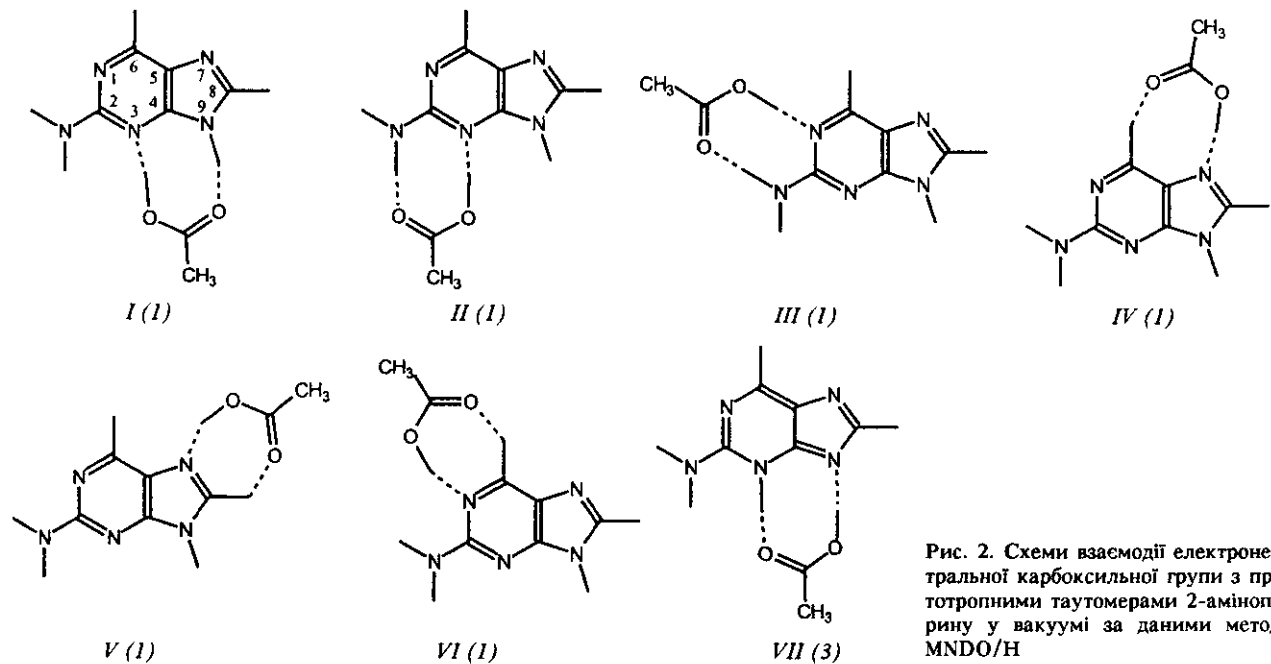


Рис. 2. Схеми взаємодії електронейтральної карбоксильної групи з прототропними таутомерами 2-амінопурину у вакуумі за даними методу MNDO/H

Таблиця 2

Енергетичні характеристики (ккал/моль) комплексів електронейтральної карбоксильної групи з прототропними таутомерами 2-амінопурину, розраховані методом MNDO/H у вакуумі

Таутомер	Відносна енергія таутомеру	Комплекс (рис. 2)	Відносна енергія комплексу	Енергія взаємодії
1	0	I	0	-18,27
1	0	II	2,25	-16,02
1	0	III	2,53	-15,74
1	0	IV	5,84	-12,43
1	0	V	7,04	-11,23
1	0	VI	9,09	-9,18
3	14,91	VII	9,55	-23,69

депротонованою оцтовою кислотою, що утворюється парою Н-зв'язків N1H...O⁻ і N2H...O⁻, лише на 0,36 ккал/моль перевищує енергію точкового контакту II(1) між основною таутомерною формою основи N9H та тим же лігандом. Оскільки ця величина помітно менша, ніж kT (0,6 ккал/моль при кімнатній температурі), то ці комплекси співіснують.

Таким чином, на відміну від Ade, Xap і Pur, специфічна взаємодія яких з карбоксилат-іоном спричинює міграцію протона в імідазольному кільці [2—4], в даному випадку протон переноситься з

імідазольного кільця у піримідинове в положення 3 або (що менш імовірно) — в положення 1. Логічно припустити, що механізм таутомерної трансформації включає в себе депротонування основи в положенні N9H, переміщення електронейтральної карбоксильної групи до піримідинового кільця і його протонування по положенню 3 з утворенням точкового контакту I(3) за участі іміногрупи N3H та сусідньої аміногрупи основи. Характерним є те, що енергія міжмолекулярної взаємодії рідкісних таутомерів N3H і N1H (їхня енергія вища за енергію основної таутомерної форми на 14,9 і

19,8 ккал/моль відповідно) з карбоксилат-іоном перевищує 50 ккал/моль. Це пояснюється тим, що згадані таутомери 2-амінопурину мають більшу в порівнянні з основним таутомером N9H комплексоутвірну здатність, спричинену, зокрема, підвищеною кислотністю іміногруп N3H і N1H у порівнянні з N9H. Саме цей ефект і лежить в основі таутомерного перетворення $N9H \rightarrow N3H(N1H)$ 2-амінопурину, індукованого специфічною взаємодією з карбоксилат-іоном, — підвищення енергії комплексу за рахунок переходу основи у високоенергетичну таутомерну форму з надлишком компенсується зростанням енергії міжмолекулярної взаємодії. У результаті цього комплекс, утворений рідкісним таутомером, має нижчу енергію, ніж комплекс за участі основної таутомерної форми основи.

Специфічна взаємодія електронейтральної карбоксильної групи не спричинює жодних таутомерних перетворень основи: енергетично найвигідніший точковий контакт (з досить великим енергетичним відривом у 2,25 ккал/моль) утворюється з основною її таутомерною формою. Він стабілізується парою міжмолекулярних Н-зв'язків $N9H...O$ і $N3...HO$. Естафетного перенесення протонів вздовж цих Н-зв'язків не відбувається, бо енергія комплексу VII(3), що утворюється внаслідок такого перенесення, на 9,6 ккал/моль перевищує енергію початкового (стартового) комплексу I(1). Точковий контакт I(1) буде залишатися, очевидно, найвигіднішим і при переході в полярне оточення, наприклад, у розчин зневодненого ДМСО, бо він має один з найвищих дипольних моментів 3,34 D. Комплекси II(1) і III(1), утворені основою і електронейтральною карбоксильною групою, майже ізоенергетичні. Проте останній з них має помітно менший дипольний момент, ніж перший, і в полярному оточенні комплекс II(1) буде енергетично вигіднішим, ніж III(1). Слід зауважити, що ці комплекси, на відміну від комплексу I(1), можуть реалізуватися і в тому випадку, коли глікозидний атом водню заміщується на цукровий залишок чи метильну групу. Карбоксильна група порівняно з карбоксилат-іоном завжди забезпечує приблизно втричі меншу енергію взаємодії з основою, ніж карбоксилат-іон.

Насамкінець зазначимо, що за умов браку вільного об'єму (саме така ситуація характерна для внутрішньоклітинних мікрокомпаратментів-метаболонів) утворення того чи іншого комплексу буде визначатися не лише енергією взаємодії, як у вакуумі, а й стеричними умовами, зокрема, взаємною орієнтацією основи і амінокислотного залишку. Окрім того, в додатковій стабілізації точкових

контактів рідкісних таутомерів 2-амінопурину з CH_3COO^- I(3) і III(5) у розчині може брати участь сольватований проти-іон, наприклад Na^+ , координуючи атом азоту N9 імідазольного кільця.

A. L. Potyahaylo, D. M. Hovorun

Various point contacts between neutral and deprotonated carboxylic groups of amino acids and 2-aminopurine

Summary

The complete family of point contacts between neutral or deprotonated acetic acid and 2-aminopurine has been first calculated in vacuum by semi-empirical quantum chemical method MNDO/H. Acetic acid simulated the side chains of glutamic and aspartic acids. It has been found that specific interaction of neutral ligand with the base transfers the latter from the main N9H tautomeric form to the high energy N3H form with the 0.92 kcal/mol energy advantage and results in the formation of $N3H...O^-$, $N2H...O^-$ point contact. However, the specific interaction of neutral ligand with 2-aminopurine does not cause any tautomeric transformations of the base; the most favourable point contact $N9H...O$, $N3...HO$ with the 2.3 kcal/mol energy advantage is formed with its main N9H tautomeric form. In all cases carboxylate-ion provides about three times stronger interaction (its energy amounts to 50 kcal/mol and higher) than neutral carboxylic group.

A. Л. Потягайло, Д. Н. Говорун

Всевозможные точечные контакты электронейтральной и депротонированной карбоксильной группы аминокислот с 2-аминопурином

Резюме

Полуэмпирическим квантово-химическим методом MNDO/H впервые получено полное семейство точечных контактов электронейтральной и депротонированной уксусной кислоты, модельного бокового радикала глутаминовой и аспарагиновой аминокислот, с 2-аминопурином в вакууме. Установлено, что специфическое взаимодействие депротонированной кислоты с основанием переводит его из основной таутомерной формы N9H в высокоэнергетическую N3H с энергетическим выигрышем в 0,92 ккал/моль и образованием точечного контакта $N3H...O^-$, $N2H...O^-$. В то же время специфическое взаимодействие электронейтрального лиганда с 2-аминопурином не вызывает никаких таутомерных превращений основания: наиболее выгодный точечный контакт $N9H...O$, $N3...HO$ с энергетическим отрывом в 2,3 ккал/моль образуется с его основной таутомерной формой N9H. Во всех случаях карбоксилат-ион обеспечивает приблизительно в 3 раза более сильное взаимодействие, энергия которого доходит до 50 ккал/моль и выше, чем электронейтральная карбоксильная группа.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кошланд Д. Е. Молекулярные основы энзиматического катализа и регуляции ферментов // Журн. Всесоюз. хим. о-ва. им. Д. И. Менделеева.—1971.—16, № 2.—С. 158—164.
2. Samijlenko S. P., Bogdan T. V., Trygubenko S. A., Potyahaylo A. L., Hovorun D. M. Deprotonated carboxylic group of amino acids transforms adenine into its rare prototropic tautomers // Укр. біохім. журн.—2000.—72, N 6.—С. 92—95.

3. Самійленко С. П., Потягайло А. Л., Степанюгін А. В., Богдан Т. В., Дзержинський М. Е., Говорун Д. М. Квантовохімічні розрахунки специфічної взаємодії ізогуаніну з нейтральною та депротонованою карбоксильною групою амінокислот // Укр. біохім. журн.—2000.—73, № 3.—С. 147—151.
4. Samijlenko S. P., Kondratyuk I. V., Potyahaylo A. L., Stepanyugin A. V., Hovorun D. M. Specific interactions of deprotonated carboxylic group with uracil and thymine provoke diketo → keto-enol tautomeric transition in bases // Укр. біохім. журн.—2001.—73, N 4.—С. 128—131.
5. Говорун Д. М. Фізико-хімічна концепція функціонування біополімерів // Доп. НАН України.—2000.—2.—С. 171—175.
6. Говорун Д. М. Структурна ізомерія азотистих основ: розрахунок методом AM1 // Биополимеры и клетка.—1997.—13, № 2.—С. 127—134.
7. Полтев В. И., Шулюпина Н. В., Брусков В. И. Молекулярные механизмы правильности биосинтеза нуклеиновых кислот. Компьютерное изучение роли полимераз в образовании неправильных пар модифицированными основаниями // Молекуляр. биология.—1996.—30, № 6.—С. 1284—1298.
8. Broo A., Holmen A. *Ab initio* MP2 and DFT calculations of geometry and solution tautomerism of purine and some purine derivatives // Chem. Phys.—1996.—211.—Р. 147—161.
9. Пюльман Б., Пюльман А. Квантовая биохимия.—М.: Мир, 1965.—654 с.

УДК 573.3

Надійшла до редакції 30.01.02