



Структура и функция биополимеров

УДК 577.2:577.323.425:577.323.427

ПРИРОДА АССОЦИИИ НУКЛЕОТИДНЫХ ОСНОВАНИЙ В ВОДЕ: МОДЕЛИРОВАНИЕ ГИДРАТАЦИИ ПИРИМИДИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ И ИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ АССОЦИАТОВ МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО

В. И. Данилов, И. С. Толох

Введение. Факторы, обеспечивающие стабильность вторичной структуры нуклеиновых кислот в водных растворах, проявляют себя уже во взаимодействиях между отдельными нуклеотидными основаниями. Поэтому исследование природы таких взаимодействий с учетом растворителя весьма важно для понимания условий стабильности тех или иных конформационных состояний и механизмов внутримолекулярных структурных переходов в молекулах нуклеиновых кислот.

С помощью термодинамического и спектроскопического изучения взаимодействий оснований, их производных, нуклеозидов и нуклеотидов было показано, что в водных растворах образуются исключительно стопкообразные ассоциаты [1]. Обнаружить плоские водородно-связанные (Н-связанные) пары оснований в воде до настоящего времени не удалось.

В то же время из теоретических исследований [2, 3] следует, что в вакууме для большинства димеров одного и того же состава Н-связанные пары оснований энергетически более выгодны, чем стопкообразные ассоциаты. Анализ всей совокупности экспериментальных и теоретических данных позволил нам [3, 4] сделать предположение о важной роли воды в образовании стопкообразных димеров. Это также подчеркивалось Синаноглу и Абдульнуром [5, 6], которые исходили из приближенных оценок различных вкладов растворителя в стабильность ассоциатов нуклеотидных оснований.

Несмотря на многочисленные эксперименты, энергетическая выгодность реакции ассоциации оснований в воде, в частности факторы, стабилизирующие стэкинг оснований, и роль воды как растворителя, изучены недостаточно. Кроме того, остается практически непонятой предпочтительность образования в воде стопкообразных димеров по сравнению с Н-связанными парами оснований. Не выяснена также роль гидрофобных групп в стэкинге оснований. Прямые экспериментальные данные на молекулярном уровне по проблеме стэкинг-взаимодействий в воде получить трудно, если вообще возможно. В настоящее время стало реальным теоретическое изучение этих вопросов с помощью компьютерного моделирования жидкого состояния методами молекулярной динамики и Монте-Карло.

Метод. Для выяснения механизма образования стопок нуклеотидных оснований в воде необходимо провести изучение взаимодействий вода — вода, вода — основание и основание — основание на молекулярном уровне [7]. В связи с этим мы начали ком-

пьютерное моделирование поведения оснований нуклеиновых кислот и их димерных ассоциатов в воде. При проведении расчетов энтропия не рассматривалась. Для наших целей это оправдано, так как экспериментально показано, что ассоциация оснований и их производных в воде определяется энтальпией [1, 8].

В данной работе представлены результаты моделирования гидратации Uga, Thy, их стопкообразных и Н-связанных димеров методом Монте-Карло — Метрополиса [9]. Расчеты были выполнены в кластерном приближении [10] для температуры $T=298$ К. Число молекул воды в каждой из изучаемых систем (основание или его димер+вода) составляло 200. Система помещалась в сферу радиусом 22 \AA с непроницаемыми стенками так, чтобы геометрический центр основания или ассоциата совпадал с центром сферы.

Для расчетов энергии межмолекулярного взаимодействия использовались полуэмпирические атом-атомные потенциальные функции. В случае взаимодействия вода — вода мы применили модель воды, предложенную Дьяконовой и Маленковым [11]. Согласно этой модели молекула воды представляет собой пять электростатических точечных зарядов, расположенных в вершинах тетраэдра и его центре: атом кислорода, имеющий нулевой заряд, расположен в центре тетраэдра, два атома водорода с зарядами по $+0,1945 e$ и два псевдоатома, представляющих неподеленные пары электронов с зарядами по $-0,1945 e$, расположены в вершинах. Все расстояния между центральным атомом кислорода и зарядами, расположенными в вершинах, были взяты по $0,98 \text{ \AA}$. Энергия взаимодействия между двумя молекулами воды (k и l) есть сумма электростатического взаимодействия между точечными зарядами

$$U_{kl}^{el} = \sum_{i,j} q_i q_j r_{ij}^{-1} \quad (1)$$

и ван-дер-ваальсового взаимодействия между реальными атомами (кислородов и водородов) в виде потенциала Букингема (6- \exp)

$$U_{kl}^{vdW} = \sum_{i,j} [-A_{ij} r_{ij}^{-6} + B_{ij} \exp(-C_{ij} r_{ij})], \quad (2)$$

где в обоих случаях i и j принадлежат соответственно молекулам k и l .

В случае взаимодействия между водой (w) и основанием (b) энергия взаимодействия представляет собой сумму электростатического взаимодействия U_{wb}^{el} и ван-дер-ваальсового взаимодействия в виде потенциала Леннарда—Джонса (6—12)

$$U_{wb}^{vdW} = \sum_{i,j} [-A'_{ij} r_{ij}^{-6} + B'_{ij} r_{ij}^{-12}], \quad (3)$$

где i и j принадлежат атомам воды и основания соответственно [12]. Во взаимодействии вода — основание молекула воды представлена тремя точечными зарядами, расположенными на атомах кислорода ($-0,658 e$) и водорода ($+0,329 e$). Взаимодействие основание — основание учитывалось таким же образом [13]. Заряды на атомах основания для вычисления электростатического взаимодействия были определены с помощью методов Хюккеля и Дель Ре.

В процессе расчетов методом Монте-Карло одно из оснований в каждом из стопкообразных димеров двигалось случайным образом согласно алгоритму Метрополиса. В качестве стартовых конфигураций для стопкообразных димеров Uga и Thy были взяты наиболее выгодные для вакуума конфигурации, найденные теоретически: 1 — антипараллельная; 2 — антипараллельная с последующим поворотом верхнего основания на 180° вокруг гликозидной связи. Эти конфигурации привели к различным типам стопок в воде (стопку, полученную из первой конфигурации, будем называть А-стопкой, а из второй — О-стопкой). Конфигурация пары оснований не изменялась в процессе расчета. Она была взята такой же, как и ее наиболее предпочтительная теоретическая конфигурация в вакууме [2, 3].

Для достижения состояния равновесия в системе мы использовали 700000 конфигураций для систем Uga+вода и стопкообразный димер Uga+вода, 500000 конфигураций для систем Thy+вода и пара оснований Uga+вода и 600000 конфигураций для каждой из систем димер Thy+вода. Расчеты средних свойств были проведены на участках длиной 500000 конфигураций для систем Uga+вода, димеры Uga+вода и стопкообразные димеры Thy+вода, 700000 и 600000 конфигураций для систем Thy+вода и Н-связанный димер Thy+вода соответственно.

Результаты и обсуждение. Результаты расчетов средних значений потенциальной энергии системы U , энергии взаимодействия вода — вода U_{ww} , энергии взаимодействия вода — основание U_{wb} , энергии гидратации U_h и числа Н-связей вода — вода, в которых участвует одна молекула воды, n_{Hb}^p (показатель структурированности воды) для систем Uга+вода и Thy+вода приведены в табл. 1. Там же даны аналогичные результаты расчета [14] для кластера из 200 молекул воды.

Таблица 1

Энергетические и структурные характеристики гидратации урацила (Uга) и тимина (Thy)

Energetic and Structural Characteristics of the Uracil and Thymine Hydration

Система	U^*	U_{ww}	U_{wb}	U_h	n_{Hb}^p
Uга+вода	$-7,92 \pm 0,02$	$-7,65 \pm 0,02$	$-54,1 \pm 0,1$	-6 (-22^{**})	$1,75 \pm 0,01$
Thy+вода	$-8,05 \pm 0,02$	$-7,77 \pm 0,02$	$-56,6 \pm 0,1$	-32 (-24^{**})	$1,78 \pm 0,01$
Вода	$-7,89 \pm 0,02$	$-7,89 \pm 0,02$	—	—	$1,95 \pm 0,01$

Примечание. * — Здесь и далее вычисленные энергетические величины связаны соотношением $U = U_{ww} + (U_{wb} + U_{bb})/N$; ** — экспериментальное значение энтальпии гидратации [15]; U — средняя потенциальная энергия системы, ккал/моль воды; U_{ww} — средняя энергия взаимодействия вода—вода, ккал/моль воды; U_{wb} — средняя энергия взаимодействия вода—основание, ккал/моль системы; U_h — энергия гидратации, ккал/моль системы; n_{Hb}^p — показатель структурированности воды.

Видно, что рассчитанные значения энергии гидратации оснований отрицательны. Этот факт находится в согласии с экспериментальными данными табл. 1. Абсолютная величина энергии гидратации для Thy больше, чем для Uга, что также согласуется с экспериментом [15].

Величины U_{ww} показывают, что при переносе оснований из вакуума в воду ее структура разрушается. Более низкое значение U для системы Thy+вода по сравнению с системой Uга+вода в основном определяется более низким значением U_{ww} , что связано с образованием энергетически более предпочтительной структуры воды вокруг Thy. Об этом также свидетельствуют величины n_{Hb}^p .

Детальный анализ радиального распределения энергии взаимодействия вода — вода и показателя структурированности воды показывает, что метилирование молекулы Uга по положению С5 разрушает структуру воды вокруг основания в области, простирающейся от центра сферы до 8,3 Å. В то же время для более удаленных слоев структурированность воды увеличивается. Вблизи метильной группы, находящейся в указанной выше области разрушения, обнаружен слой молекул воды (5,8—6,8 Å), в котором вода вокруг Thy более структурирована, чем вокруг Uга. Это сходно с картиной структурирования воды, которая обычно наблюдается вокруг гидрофобных молекул. Однако в нашем случае обнаруженное упорядочение не столь отчетливо, так как кольцо Thy, присоединенное к метильной группе и имеющее дипольный момент почти 4D, уменьшает указанное структурирование воды.

В табл. 2 и 3 представлены величины U , U_{ww} и U_{wb} для димеров Uга и Thy соответственно. Кроме того, здесь же даны значения энергии взаимодействия основание — основание U_{bb} . В случае стопкообразных димеров все величины даны для наиболее выгодных типов стопок: А-стопки для димера Uга и О-стопки для димера Thy.

Данные этих таблиц и табл. 1 позволяют вычислить изменения потенциальной энергии (ΔU) и энергии взаимодействий вода — вода (ΔU_{ww}), вода — основание (ΔU_{wb}), основание — основание (ΔU_{bb}) при реакции ассоциации оснований с образованием димера. Согласно [16] эти изменения можно записать в виде:

$$\Delta U = \Delta U_{ww} + \Delta U_{wb} + \Delta U_{bb}, \quad (4)$$

$$\Delta U_{ww} = N \cdot [(U_{ww}(d) - U(w)) - 2(U_{ww}(m) - U(w))], \quad (5)$$

$$\Delta U_{wb} = U_{wb}(d) - 2U_{wb}(m), \quad (6)$$

$$\Delta U_{bb} = U_{bb}. \quad (7)$$

В этих выражениях N — число молекул воды в системе, d обозначает систему димер+вода, m — мономер+вода, w — водный кластер.

Значения изменений, полученных с помощью выражений (4—7), даны в табл. 4. Их анализ показывает, что основным фактором, способствующим стабилизации стопки, является изменение взаимодействия вода — вода, которое связано с изменением структуры воды вокруг мономеров при их ассоциации. Взаимодействие основание — основание в значительно меньшей степени стабилизирует стопкообразный ассоциат. В то же время изменение взаимодействия вода — основание существенно дестабилизирует стопку. Это является подтверждением пре-

Таблица 2

Энергетические характеристики гидратации стопкообразного димера и водородно-связанной пары оснований урацила (Ura)
Energetic Characteristics of the Hydration of the Stacked Dimer and Hydrogen-Bonded Base Pair of Uracil

Система	N	U^*	U_{ww}^*	U_{wb}^*	U_{bb}
Стопкообразный димер Ura+вода	200	$-8,18 \pm 0,02$	$-7,67 \pm 0,02$	$-98,7 \pm 0,2$	$-4,15 \pm 0,01$
	39	$-10,18 \pm 0,02$	$-8,32 \pm 0,02$	$-68,3 \pm 0,1$	$-4,15 \pm 0,01$
	82	$-9,42 \pm 0,02$	$-8,31 \pm 0,02$	$-86,6 \pm 0,2$	$-4,15 \pm 0,01$
Пара оснований Ura+вода	200	$-8,10 \pm 0,02$	$-7,60 \pm 0,02$	$-91,6 \pm 0,2$	-9,29
	39	$-9,62 \pm 0,02$	$-7,88 \pm 0,02$	$-58,7 \pm 0,1$	-9,29
	82	$-9,18 \pm 0,02$	$-8,04 \pm 0,02$	$-84,9 \pm 0,2$	-9,29

Примечание. * — Величина описана в табл. 1; U_{bb} — средняя энергия взаимодействия основание—основание, ккал/моль системы.

Таблица 3

Энергетические характеристики гидратации стопкообразного димера и водородно-связанной пары оснований тимина (Thy)
Energetic Characteristics of the Hydration of the Stacked Dimer and Hydrogen-Bonded Base Pair of Thymine

Система	N	U	U_{ww}	U_{wb}	U_{bb}
Стопкообразный димер Thy+вода	200	$-8,24 \pm 0,02$	$-7,76 \pm 0,02$	$-90,9 \pm 0,2$	$-5,13 \pm 0,01$
	39	$-10,06 \pm 0,02$	$-8,16 \pm 0,02$	$-69,0 \pm 0,1$	$-5,13 \pm 0,01$
	82	$-9,23 \pm 0,02$	$-8,13 \pm 0,02$	$-85,3 \pm 0,2$	$-5,13 \pm 0,01$
Пара оснований Thy+вода	200	$-8,11 \pm 0,02$	$-7,64 \pm 0,02$	$-85,5 \pm 0,2$	-9,38
	39	$-9,83 \pm 0,02$	$-8,01 \pm 0,02$	$-61,6 \pm 0,1$	-9,38
	82	$-9,11 \pm 0,02$	$-8,02 \pm 0,02$	$-79,9 \pm 0,2$	-9,38

Таблица 4

Энергетические характеристики реакции стопкообразования оснований в воде
Energetic Characteristics of the Base Stacking Reaction in Water

Переход	ΔU_{ww}	ΔU_{wb}	ΔU_{bb}	ΔU
Ura+Ura→стопкообразный димер	-52	9,5	-4,2	-47
Thy+Thy→стопкообразный димер	-22	22,3	-5,1	-5

Примечание. ΔU_{ww} — изменение энергии взаимодействия вода—вода; ΔU_{wb} — изменение энергии взаимодействия вода—основание; ΔU_{bb} — изменение энергии взаимодействия основание—основание; ΔU — изменение потенциальной энергии системы (Все величины даны в ккал/моль димера).

дположения [3—6] о решающей роли взаимодействия вода — вода при стопкообразовании оснований.

К сожалению, результаты экспериментального изучения энтальпии ассоциации Uга и Thy в воде с образованием стопок отсутствуют. Имеющиеся данные для различных метилпроизводных Uга и Thy [8] показывают, что метилирование производных Uга по положению С5 приводит к уменьшению абсолютной величины энтальпии ассоциации. Рассчитанные нами значения ΔU (табл. 4) согласуются с этими данными.

Таблица 5

Энергетические характеристики перехода от водородно-связанной пары оснований к стопкообразному димеру

Energetic Characteristics of the Transition from Hydrogen-Bonded Base Pair to Stacked Dimer

Переход	<i>N</i>	$\Delta U^{s,p}$	$\Delta U_{ww}^{s,p}$	$\Delta U_{wb}^{s,p}$	$\Delta U_{bb}^{s,p}$
Пара оснований Uга→стопкообразный димер Uга	200	—16	—14	—7,1	5,1
	39	—21,7	—17,2	—9,6	5,1
	82	—18,7	—22,1	—1,7	5,1
Пара оснований Thy→стопкообразный димер Thy	200	—25	—24	—5,4	4,3
	39	—9,0	—5,9	—7,4	4,3
	82	—10,1	—9,0	—5,4	4,3

Примечание. $\Delta U_{ww}^{s,p}$, $\Delta U_{wb}^{s,p}$, $\Delta U_{bb}^{s,p}$ —изменения энергий взаимодействий: вода—вода, Вода—основание и основание—основание соответственно; $\Delta U^{s,p}$ —изменение потенциальной энергии системы (все величины даны в ккал/моль системы).

В табл. 5 приведены изменения потенциальной энергии ($\Delta U^{s,p}$) и энергии взаимодействий вода — вода ($\Delta U_{ww}^{s,p}$), вода — основание ($\Delta U_{wb}^{s,p}$), основание — основание ($\Delta U_{bb}^{s,p}$) при переходе от *H*-связанного димера к стопкообразному, которые вычислены из данных табл. 2 и 3.

Из табл. 5 следует, что в воде стопкообразные ассоциаты Uга и Thy энергетически более предпочтительны, чем *H*-связанные димеры. Эта предпочтительность в основном обязана величине $\Delta U_{ww}^{s,p}$ и обусловлена энергетически более выгодной структурой воды вокруг стопки. Взаимодействие вода — основание также стабилизирует стопку по сравнению с парой оснований, в то время как взаимодействие основание — основание дестабилизирует.

Найденная нами значительно большая энергетическая выгодность стопкообразных димеров по сравнению с *H*-связанными чрезвычайно затрудняет обнаружение последних в воде. Это затруднение сохраняется независимо от того, является ли образование пар оснований из мономеров выгодным или невыгодным.

Для более детального понимания природы выгодности стопкообразного димера по сравнению с *H*-связанным мы вычислили, используя данные табл. 2 и 3, энергетические характеристики, определяющие переход от пары оснований к стопке для ближайших 39 и 82 молекул водного кластера (табл. 5). Из данных этой таблицы видно, что для подсистем, включающих 39 молекул воды, имеется почти такой же энергетический выигрыш стопкообразного димера Uга по сравнению с соответствующей парой оснований, что и для всего водного кластера (член $\Delta U_{ww}^{s,p}$ при этом вносит основной вклад в величину $\Delta U^{s,p}$). К аналогичным выводам приводит анализ данных для подсистем димер Uга+82 молекулы воды. Это позволяет сделать вывод о том, что предпочтительность образования стопки молекул Uга обусловлена ближайшими к ней молекулами воды [17].

Следует отметить, что для подсистем димер Uга+39 молекул воды заметный вклад в большую стабильность стопки по сравнению с

парой оснований вносит взаимодействие вода — основание. Проведенный анализ радиального распределения энергии взаимодействия вода — основание показывает, что вокруг стопкообразного димера Ura имеется слой молекул воды толщиной всего 1,5 Å (5,3—6,8 Å от центра сферы), взаимодействие молекул которого с основаниями дает вклад в U_{wb} , равный — 46 ккал/моль. Его существование вокруг стоп-

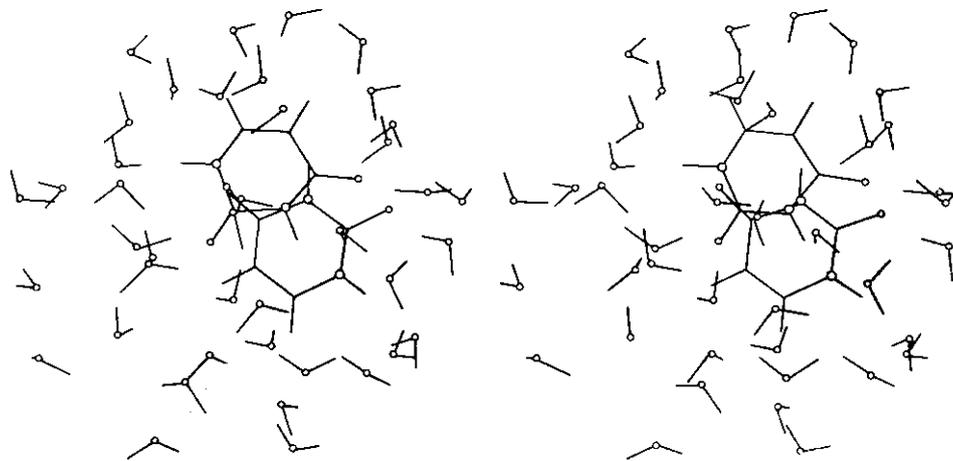


Рис. 1. Стереорисунг одной из монте-карловских конфигураций стопкообразного димера урацила в воде. Изображены только те молекулы воды, которые находятся до 7 Å от центра димера.

Fig. 1. Stereo-drawing of one of the Monte Carlo configurations during hydration simulation of the stacked uracil dimer. Displayed are only those water molecules which are within 7 Å from the centre of the dimer.

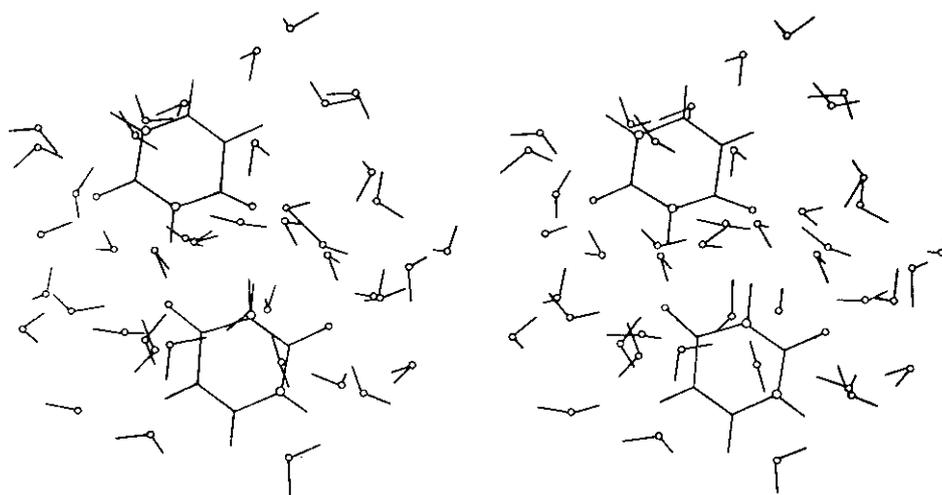


Рис. 2. Стереорисунг одной из монте-карловских конфигураций водородно-связанной пары оснований урацила в воде. Изображены только те молекулы, которые находятся до 7 Å от центра пары.

Fig. 2. Stereo-drawing of one of the Monte Carlo configurations during hydration simulation of the hydrogen-bonded base pair of uracil. Displayed are only those water molecules which are within 7 Å from the centre of the base pair.

ки и отсутствие вокруг пары оснований обязано прежде всего различному характеру распределения гидрофильных групп для стопкообразного и Н-связанного димеров Ura.

Анализ данных для аналогичных подсистем димер Thy+вода (табл. 5) показывает, что большая энергетическая выгодность стопки по сравнению с парой оснований также проявляется при рассмотрении ближайших 39 и 82 молекул воды вокруг димеров. Однако для

рассмотренных подсистем значение величины $\Delta U^{s,p}$ составляет лишь малую часть этой величины для системы, включающей 200 молекул воды. Это свидетельствует о том, что большая энергетическая выгода стопки Thy по сравнению с парой обязана более удаленным от димера слоям молекул воды [18].

Так как значения $\Delta U_{ww}^{s,p}$ для подсистем малы по сравнению с величиной $\Delta U_{ww}^{s,p}$ для всего кластера (табл. 5), то доминирующий вклад последней в $\Delta U^{s,p}$ также определяется более удаленными слоями молекул воды. Это обстоятельство отличает гидратацию ассоциатов Thy от ассоциатов Uга, рассмотренных выше.

На рис. 1—4 приведены стереоизображения одной из монте-карловских конфигураций ближайших молекул воды вокруг Н-связанного и наиболее предпочтительного стопкообразного димеров Uга и Thy.

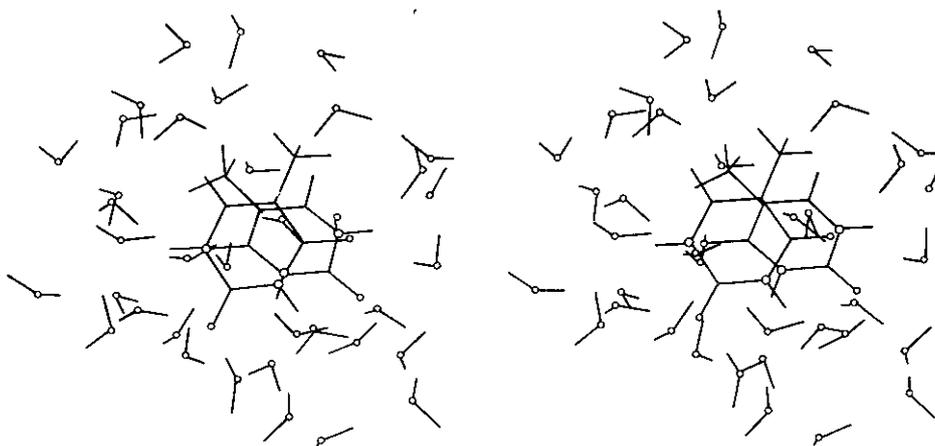


Рис. 3. Стереорисунг одной из монте-карловских конфигураций стопкообразного димера тимина в воде. Изображены только те молекулы, которые находятся до 7 Å от центра димера.

Fig. 3. Stereo-drawing of one of the Monte Carlo configurations during hydration simulation of the stacked thymine dimer. Displayed are only those water molecules which are within 7 Å from the centre of the dimer.

Из рисунков видно, что распределения молекул воды вокруг стопок и пар оснований отличаются друг от друга. Ближайшие к парам оснований молекулы воды в основном локализованы над и под Н-связями между основаниями, в то время как вокруг стопок вода распределена более равномерно. Последнее приводит к большей структурированности воды и более низкой энергии взаимодействия вода — вода.

Обращает на себя внимание то обстоятельство, что перекрывание колец оснований стопкообразного димера Uга практически отсутствует, а двугранный угол между их плоскостями составляет 17° . Для стопкообразного димера Thy область перекрывания колец затрагивает связи N3 — C4, C4 — C5 и C4 — O4, а двугранный угол равен 39° . Проведенный анализ для других монте-карловских конфигураций стопок дал подобные результаты. Обнаруженное нами большое отклонение плоскостей оснований в димерах от параллельности и незначительность перекрывания колец может быть одной из причин сложности экспериментального наблюдения стэкинга пиримидиновых оснований в воде с помощью ЯМР-спектроскопии.

В табл. 6 сведены основные результаты изучения гидратации описанных ранее А- и О-стопок Uга и Thy. Кроме того, там же приведены разности потенциальной энергии (ΔU^s), энергии взаимодействия вода — вода (ΔU_{ww}^s), вода — основание (ΔU_{wb}^s), основание — основание (ΔU_{bb}^s) и разности числа Н-связей вода — вода (Δn_{Hb}^s) для О- и А-стопок в воде.

Из данных табл. 6 видно, что энергетически наиболее выгодные среди систем димер Thy+вода и димер Ura+вода включают в себя различные типы стопок. Для всех представленных систем более низкому значению U_{wb} соответствует более высокое значение U_{ww} . Особенно выразительно это проявляется для O-стопки Ura, для которой нами обнаружена самая низкая энергия взаимодействия вода — основание и самая высокая энергия взаимодействия вода — вода. Этот факт становится понятным, если учесть, что взаимодействия вода — основание

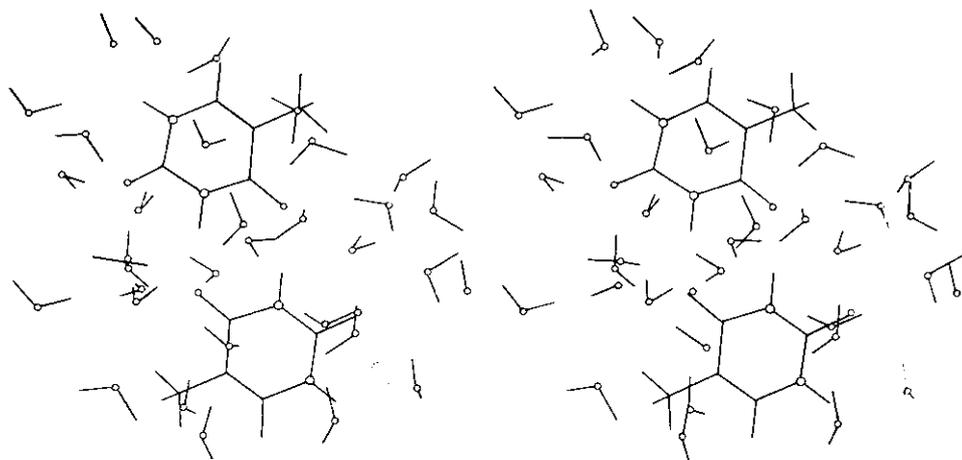


Рис. 4. Стереонизображение одной из монте-карловских конфигураций водородно-связанной пары оснований тимина в воде. Изображены только те молекулы, которые находятся до 7 Å от центра пары.

Fig 4. Stereo-drawing of one of the Monte Carlo configurations during hydration simulation of the hydrogen-bonded base pair of thymine. Displayed are only those water molecules which are within 7 Å from the centre of the base pair.

и вода — вода конкурируют между собой: более сильное взаимодействие оснований с молекулами воды приводит к тому, что степень участия последних во взаимодействиях друг с другом уменьшается. На это прямо указывают величины $n^p_{H^*}$ (табл. 6).

Энергетическая выгодность более стабильного стопкообразного димера по сравнению с менее стабильным практически полностью определяется взаимодействием вода — вода. Вокруг более стабильного димера вода более структурирована, о чем свидетельствует большее число Н-связей вода — вода (см. величины $\Delta n^*_{H^*}$, табл. 6). Взаимодействие оснований — оснований не дает почти никакого вклада в стабильность одного типа стопок по сравнению с другим. Взаимодействие вода — основание стабилизирует менее выгодный димер в большей степени. Подобные выводы следуют из данных табл. 6 также для подсистем, содержащих ближайшие 39 и 82 молекулы воды из водного кластера.

Анализ данных, полученных для стопкообразных димеров Thy в воде, позволяет сделать еще одно важное наблюдение. Оно заключается в том, что димер, для которого метильные группы обеих молекул Thy сближены (O-стопка), более выгоден, чем димер, для которого они удалены друг от друга (A-стопка). Этот факт аналогичен тому известному явлению, что в воде две неполярные молекулы или группы стремятся «слипнуться».

Теоретически наблюдаемое «слипание» скорее всего обусловлено эффектом метильных групп, а не вращением одного из колец оснований вокруг гликозидной связи. На это указывают наши данные о том, что в воде A-стопка урацила более стабильна, чем O-стопка.

Природа «слипания» метильных групп, которое приводит к более выгодному типу стопки Thy, может быть качественно понята из полученных нами функций радиального распределения числа молекул во-

Таблица 6

Энергетические и структурные характеристики гидратации стопкообразных димеров тимина и урацила

Energetic and Structural Characteristics of the Hydration of the Stacked Dimers of Uracil and Thymine

Система	<i>N</i>	Тип	<i>U</i>	<i>U_{ww}</i>	<i>U_{wb}</i>	<i>U_{bb}</i>
Стопкообразный димер Thy+вода	200	O	-8,24	-7,76	-90,9	-5,1
		A	-8,07	-7,57	-96,3	-4,6
	39	O	-10,06	-8,16	-69,0	-5,1
		A	-9,75	-7,62	-78,7	-4,6
	82	O	-9,23	-8,13	-85,3	-5,1
		A	-9,13	-7,94	-92,9	-4,6
Стопкообразный димер Uга+вода	200	A	-8,18	-7,67	-98,7	-4,2
		O	-8,01	-7,45	-106,6	-5,3
	39	A	-10,18	-8,32	-68,3	-4,2
		O	-9,94	-7,78	-78,8	-5,3
	82	A	-9,42	-8,31	-86,6	-4,2
		O	-9,24	-8,02	-94,8	-5,3

Система	<i>N</i>	Тип	<i>n_{Hb}^p</i>	ΔU^s	ΔU_{ww}^s	ΔU_{wb}^s	ΔU_{bb}^s	Δn_{Hb}^s
Стопкообразный димер Thy+вода	200	O	1,81	-34	-38	5,4	-0,5	6
		A	1,74					
	39	O	1,94	-12,1	-21,1	9,7	-0,5	2
		A	1,83					
	82	O	1,92	-8,2	-15,6	7,6	-0,5	2
		A	1,88					
Стопкообразный димер Uга+вода	200	A	1,78	-34	-44	7,9	1,1	7
		O	1,71					
	39	A	1,93	-9,4	-21,1	10,5	1,1	3
		O	1,79					
	82	A	1,96	-14,8	-23,8	8,2	1,1	4
		O	1,86					

Примечание. ΔU_{ww}^s , ΔU_{wb}^s , ΔU_{bb}^s и ΔU^s — разности энергий взаимодействий вода—вода, вода—основание, основание—основание и потенциальной энергии при переходе от одного типа стопки к другому, ккал/моль системы; Δn_{Hb}^s — разность числа Н-связей вода—вода в системах.

ды, Н-связей и энергии взаимодействия вода—вода для подсистем, содержащих 39 и 82 молекулы воды. Анализ этих функций, проведенный для А- и О-стопок Thy, показывает, что структурированность воды вокруг А-стопки в слоях, расположенных по соседству с метильными группами, низка из-за малого числа молекул воды. Переход от А-к О-стопке приводит к увеличению числа молекул воды в слоях 3,3—3,8 Å, 4,8—5,3 Å и 6,3—6,8 Å. Это позволяет молекулам воды образовывать большее число Н-связей вода—вода в этих слоях. Наблюдаемое при этом переходе уменьшение числа контактов вода—метильные группы приводит к дополнительному образованию Н-связей вода—вода в слое 6,3—6,8 Å, что повышает его структурированность. Очевидно, что это ведет к заметному понижению энергии системы. Действительно, энергетический вклад в предпочтительность О-стопки Thy, даваемый слоем 6,3—6,8 Å, составляет —22,5 ккал/моль и очень близок к значению ΔU_{ww}^s для подсистемы, содержащей 39 молекул воды (табл. 6). Дополнительное понижение энергии системы вызывается кооперативным действием соседних метильных групп в О-стопке Thy на структуру более удаленных слоев молекул воды (табл. 6).

«Слипание» метильных групп молекул Thy при образовании O-стопки, обнаруженное нами, является типичным проявлением гидрофобного эффекта. Однако в отличие от классического случая энтальпийный член вносит существенный вклад в стабилизацию O-стопки Thy. Подобное наблюдается для всех изученных случаев ассоциации нуклеотидных оснований в воде [1, 8].

Проведенное нами моделирование гидратации стопкообразных димеров показало, что изменение их геометрии в воде дает такие конфигурации стопок, которые сильно отличаются от наиболее выгодных конфигураций, рассчитанных для вакуума (ср. рис. 1 и 3 с соответствующими рис. в [19]). Это приводит к заметному уменьшению значения U_{bb} по абсолютной величине при переходе от вакуума к воде. Так, для A-стопки Uga наиболее выгодная в вакууме конфигурация оснований имеет энергию взаимодействия, равную $-6,31$ ккал/моль, а при переходе к воде величина U_{bb} составляет $-4,15$ ккал/моль. Примерно такое же различие наблюдается и для O-стопки Thy при переходе от вакуума к воде ($-7,33$ и $-5,13$ ккал/моль соответственно).

Сравнение полученных нами данных по гидратации димера Uga с изменяющейся и фиксированной (вакуумной) геометрией стопки (расчеты проводились для A-стопки Uga) указывает на то, что меняется не только величина U_{bb} , но также и величины U_{ww} и U_{wb} . Поэтому к выводам работ по изучению реакции образования стопок оснований в воде, основанным на использовании фиксированной геометрии димера, следует относиться с большой осторожностью. Это необходимо иметь в виду при рассмотрении недавней работы [20].

Таким образом, проведенное теоретическое изучение гидратации мономеров и различных димерных форм Uga и Thy показало, что образование стопкообразных ассоциатов оснований в воде главным образом обязано изменению взаимодействия вода — вода. Это связано с изменением структуры воды вокруг мономеров в процессе ассоциации оснований. Взаимодействие основание — основание вносит значительно меньший вклад в стабильность стопкообразных димеров, а изменение взаимодействия вода — основание дестабилизирует их. Обнаружено, что образование H-связанных димеров в воде менее выгодно, чем стопкообразных. Энергетическая предпочтительность последних в основном обусловлена усилением взаимодействия вода — вода. Анализ результатов моделирования гидратации различных стопкообразных димеров Thy позволил прояснить роль метильных групп в стэкинге оснований. Было показано, что наиболее выгодной в воде стопкой Thy является та, у которой метильные группы сближены. Этот факт может быть обнаружен уже при рассмотрении ближайших молекул воды.

NATURE OF NUCLEOTIDE BASE ASSOCIATIONS IN WATER: THE MONTE CARLO SIMULATION OF THE HYDRATION OF PYRIMIDINE BASES AND THEIR MOLECULAR ASSOCIATES

V. I. Danilov, I. S. Tolokh

Institute of Molecular Biology and Genetics,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

Summary

Results of the Monte Carlo simulation of the hydration of uracil and thymine molecules, their stacked and hydrogen-bonded base pairs are presented. Simulations have been performed in a cluster approximation. The semiempirical atom-atom potential functions have been used (cluster consisting of 200 water molecules). It is shown that the stacking interactions of uracil and thymine molecules in water arise mainly due to the increase in the water-water interaction during the transition from monomers to dimer. It is found that stacked base associates are more preferable than base pairs in water. This preference is mainly due to the energetically more favourable structure of water around the stack. The simulation of the hydration of different stacked thymine dimers has shown that the most favourable of them is the one for which base methyl groups are close to each other.

1. *Ts'o P. O. P.* Bases, nucleosides and nucleotides.— In: Basic Principles in Nucleic Acid Chemistry / Ed. P. O. P. Ts'o. New York: London: Acad. press, 1974, v. 1, p. 453—584.
2. *Pullman A., Pullman B.* Aspects of the electronic structure of purine and pyrimidine bases of the nucleic acids and their interactions.— Adv. Quantum Chem., 1968, 4, p. 267—325.
3. *Danilov V. I., Zheltovsky N. V., Kudritskaya Z. G.* Quantum mechanical study of interactions between the nucleic acid bases.— Stud. biophys., 1974, 43, N 3, p. 201—216.
4. *Danilov V. I.* On the nature of stability of the nucleotide base associates in water solution.— Mol. Biol. Repts, 1975, 2, N 3, p. 263—266.
5. *Sinanoğlu O., Abdulnur S.* Effect of water and other solvents on the structure of biopolymers.— Fed. Proc., 1965, 24, N 2, S. 12—23.
6. *Sinanoğlu O.* Solvent effects on molecular associations.— In: Molecular Associations in Biology / Ed. B. Pullman. New York: Acad. press. 1968. p. 427—445.
7. *Sapper H., Lohmann W.* Stacking interaction of nucleobases: NMR investigations.— Biophys. Struct. and Mech., 1978, 4, p. 327—335.
8. *Osmometric studies on self-association of pyrimidines in aqueous solutions: evidence for involvement of hydrophobic interactions / E. Plesiewicz, E. Stepień, K. Bolewska, K. L. Wierzchowski.*— Biophys. Chem., 1976, 4, p. 131—141.
9. *Equation of state calculations by fast computing machines / N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth et al.*— J. Chem. Phys., 1953, 21, N 6, p. 1087—1092.
10. *A Monte Carlo study of ion-water clusters / M. R. Mruzik, F. F. Abraham, D. E. Schreiber, G. M. Pound.*— J. Chem. Phys., 1976, 64, N 2, p. 481—491.
11. *Дьяконова Л. П., Маленков Г. Г.* Моделирование структуры жидкой воды методом Монте-Карло.— Журн. структ. химии, 1979, 20, № 5, с. 854—861.
12. *Simulation of the interaction of nucleic acid fragments with solvent using atom-atom potential functions / V. I. Poltev, V. I. Danilov, M. R. Sharafutdinov et al.*— Stud. biophys., 1982, 91, N 1, p. 37—43.
13. *Журкин В. Б., Полтев В. И., Флорентьев В. Л.* Атом-атомные потенциальные функции для конформационных расчетов нуклеиновых кислот.— Молекуляр. биология, 1980, 14, № 5, с. 1116—1130.
14. *Данилов В. И., Толох И. С.* Природа стэкинг-взаимодействий оснований нуклеиновых кислот в воде: изучение методом Монте-Карло.— Докл. АН СССР, 1984, 274, № 4, с. 968—972.
15. *Thermochemistry of aqueous solutions of alkylated nucleic acid bases. III. Enthalpies of hydration of uracil, thymine and their derivatives / A. B. Teplitsky, I. K. Yanson, O. T. Glukhova et al.*— Biophys. Chem., 1980, 11, p. 17—21.
16. *Danilov V. I., Sharafutdinov M. R., Tolokh I. S.* Theoretical study of the stability of nucleotide base associates.— Stud. biophys., 1983, 93, N 3, p. 193—196.
17. *Nature of the hydration of uracil molecule associates / V. I. Danilov, I. S. Tolokh, V. I. Poltev, G. G. Malenkov.*— FEBS Lett., 1984, 167, N 2, p. 245—248.
18. *Danilov V. I., Tolokh I. S., Poltev V. I.* Nature of the stacking interactions of nucleotide bases in water: a Monte Carlo study of the hydration of thymine molecule associates.— FEBS Lett., 1984, 171, N 2, p. 325—328.
19. *Poltev V. I., Shulga S. M.* Semiempirical calculations of stacking interactions. Self-associations of nucleic acid bases.— Stud. biophys., 1978, 70, N 1, p. 51—61.
20. *Solution influence on biomolecular equilibria: nucleic acid base associations / A. Pohorille, L. R. Pratt, S. K. Burt, R. D. Macleary.*— J. Biomol. Struct. Dyn., 1984, 1, N 5, p. 1257—1280.

Ин-т молекулярной биологии и генетики
АН УССР, Киев

Получено 13.08.84