

# Изучение стабильности уотсон-криковских пар оснований нуклеиновых кислот в воде и диметилсульфоксиде: компьютерное моделирование методом Монте-Карло

В. И. Данилов, **Н. В. Желтовский**, О. Н. Слюсарчук, Дж. Л. Альдерфер<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup> Раковый институт им. Розвел Парк  
Буффало, ул. Элм и Карлтон, 14263, США

---

*Проведено экстенсивное компьютерное моделирование оснований нуклеиновых кислот и уотсон-криковских пар оснований в воде и ДМСО методом Монте-Карло. Обнаружено, что энергетическая невыгодность образования пар в воде диктуется большим дестабилизирующим вкладом растворителя в энтальпию образования комплексов. Показано, что в ДМСО образование копланарных пар выгодно. Этот растворитель стабилизирует пары А-У и А-Т, а незначительная дестабилизация этим растворителем пары G-C намного меньше стабилизации, связанной с притяжением между основаниями.*

---

**Введение.** Свойство нуклеиновых кислот, обеспечивающее стабильное сохранение, передачу и экспрессию генетической информации, обусловлено специфической ассоциацией пуриновых и пиримидиновых оснований. Последовательность оснований ДНК реплицируется и транскрибируется в информационную РНК с помощью механизмов, которые соблюдают строгую комплементарность аденина (Ade) с тиминном (Thy) или урацилом (Ura) и цитозина (Cyt) с гуанином (Gua). Схема водородных связей (Н-связей) между основаниями, впервые предложенная Уотсоном и Криком, поддерживает объяснение специфичности спаривания.

В указанной проблеме можно выделить два наиболее важных вопроса: специфичность спаривания оснований и их вклад в стабильность двойной спирали. Вопрос о том, является ли специфичность образования уотсон-криковских пар результатом взаимодействия самих оснований или она обусловлена, в основном, стерическими ограничениями, налагаемыми упорядоченной структурой двутяже-

вых ДНК и РНК, представляет существенный интерес. Изучение вклада взаимодействия оснований в стабильность нуклеиновых кислот также вызывает особый интерес, поскольку широко распространена точка зрения (см. [1, 2]), согласно которой стабильность двойной спирали в воде обусловлена не Н-связями, а стэкинг-взаимодействиями (внутри- и межтяжевыми ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями и гидрофобными взаимодействиями оснований).

Исследование ассоциации оснований имеет ряд преимуществ, так как образующиеся комплексы представляют простейшие системы, которые могут дать информацию о специфичности взаимодействия между мономерами. Во-первых, такие системы достаточно малы, поэтому при их изучении может быть учтено большое число молекул растворителя. Во-вторых, экспериментальные данные прямо свидетельствуют о том, что в неводных и водных растворах ассоциация между основаниями различна [3]. Это различие в схемах ассоциаций показывает, что растворитель должен играть большую роль в стабилизации двойной спирали нуклеиновых кислот. В-третьих, изучение ассоциатов изолиро-

© В. И. ДАНИЛОВ, **Н. В. ЖЕЛТОВСКИЙ**, О. Н. СЛЮСАРЧУК,  
ДЖ. Л. АЛЬДЕРФЕР, 1997

ванных оснований в сравнении с изучением динуклеотидов имеет то преимущество, что такие факторы, как спиральный остов и геометрические ограничения двойной спирали, отсутствуют. Таким образом, роль растворителя в стэкинге (стопкообразовании) оснований и Н-связи между ними могут быть исследованы непосредственно. И, наконец, в-четвертых, молекулярный механизм ассоциации оснований нуклеиновых кислот в растворе является интересной проблемой сам по себе и еще недостаточно понят.

Экспериментальные исследования ассоциации между основаниями или нуклеозидами в органических (неводных) растворителях (см. сводку — обзор данных в [3]), выполненные методами ЯМР- и ИК-спектроскопии, обнаружили предпочтительное образование комплементарных в уотсон-криковском смысле пар оснований, стабилизированных с помощью Н-связей. Хотя эти эксперименты были проведены в неводных растворителях, они могут в некоторых случаях моделировать внутреннее окружение двуспиральной полинуклеотидной цепи. Последнее связано с тем, что в обычном состоянии и в процессе репликации внутренняя часть двутяжевого спирального полинуклеотида, вероятно, не имеет свободного доступа для молекул воды, поэтому окружение, имеющееся вблизи оснований, по своей характеристике может быть подобно неводному растворителю, и взаимодействие оснований может играть существенную роль в стабилизации комплементарных последовательностей и механизме их копирования. Иначе говоря, было показано, что в неводных растворителях специфичность при спаривании оснований обусловлена свойствами самих мономеров, т. е. их зарядовым распределением (электронная комплементарность). Квантовохимическое изучение различных копланарных пар оснований, проведенное Пюльманом с сотр. [4, 5], также обнаружило предпочтительность образования уотсон-криковских пар в вакууме. Аналогичный вывод был сделан в работе [6] при изучении ассоциации оснований в вакууме с помощью полевой масс-спектрометрии.

В силу этого энергетическая выгодность образования уотсон-криковских пар в ДНК обусловлена не только геометрической комплементарностью (стереохимическое соответствие между пуринами и пиримидинами для обеспечения регулярности двойной спирали, важность которого была продемонстрирована с помощью квантовохимических расчетов [7]), но и электронной комплементарностью оснований. Таким образом, электронная и геометрическая комплементарности являются двумя главными факторами, определяющими наблюдаемую специ-

фичность спаривания оснований в нуклеиновых кислотах.

В отличие от неводных растворителей обнаружить копланарные пары оснований в воде до настоящего времени не удалось. В то же время с помощью термодинамического (осмометрия парового давления, микрокалориметрия, эксперименты по разделению фаз) и спектроскопического (ЯМР) изучения взаимодействия оснований, их производных, нуклеозидов и нуклеотидов показано (см. сводку — обзор данных в [3]), что в водных растворах образуются исключительно стопкообразные ассоциаты, стабилизированные стэкинг-взаимодействиями. Авторы работ [8, 9] указывают на решающую роль гидрофобного эффекта в стэкинг-взаимодействиях. Более того, согласно экспериментальным данным [8—11], при ассоциации производных оснований и их нуклеозидов (за исключением многократно метилированных урацилов)  $\Delta H < 0$  и  $\Delta S < 0$ , что не согласуется с характерными для классических (стандартных) гидрофобных взаимодействий величинами  $\Delta H > 0$  и  $\Delta S > 0$ .

Таким образом, несмотря на значительный успех в изучении ассоциации оснований и их производных, точные физические основы наблюдаемой в природе комплементарности и роль Н-связей в стабилизации спиральной структуры ДНК остаются пока недостаточно ясными. Прежде всего, это связано с тем, что упомянутые работы не дают ответа на вопрос о вкладе растворителя в образование копланарных ассоциатов в неводных растворах и стопкообразных ассоциатов в — водных.

Для выяснения влияния растворителя на образование различных ассоциатов и природы стэкинга оснований в воде нами [12—16] проведено изучение копланарных и стопкообразных гомоассоциатов Thy и Uga в воде методом Монте-Карло. Было показано, что образование стопкообразных ассоциатов оснований энергетически предпочтительнее, чем образование пар оснований. Эта предпочтительность, в основном, обусловлена энергетически более выгодной структурой воды вокруг стопки. Кроме того, обнаружено, что изменение взаимодействия вода — вода, связанное со структурной перестройкой воды вокруг оснований при их ассоциации, является главным фактором, способствующим стабилизации стопкообразного димера. Таким образом, было найдено, что вода вносит решающий вклад в стабилизацию стопок. В то же время из результатов нашего моделирования гидратации пар оснований следует (см. [12—16]), что в воде образование пары урацил — урацил энергетически выгодно, а пары тимин — тимин — невыгодно.

Компьютерное моделирование водных раство-

ров стопкообразных гомоассоциатов Ade и Ura, выполненное в работе [17], также показало выгодность их образования. Однако, согласно данным [17], вклад растворителя в энтальпию ассоциации оказался положительным, т. е. вода является дестабилизирующим фактором при стопкообразовании оснований. Энергетическая выгодность реакции образования стопкообразных комплексов обусловлена только отрицательной энергией ван-дер-ваальсовых взаимодействий между основаниями. Таким образом, в отличие от широко распространенной точки зрения (см. обзор данных в [1, 2]), при образовании стопок энтальпийная стабилизация, обусловленная водой, отсутствует. Это кажется удивительным результатом, однако, как отмечают сами авторы [17], следует иметь в виду, что в случае водного раствора статистические ошибки монтекарловских расчетов существенны. Они близки к значениям энергии ассоциаций, что делает выводы авторов [17] ненадежными. Кроме того, в работе [17] была показана невыгодность образования пары аденин — урацил в воде, однако и в этом случае справедливы те же замечания.

Проведенное теми же авторами [18] компьютерное моделирование растворов оснований Ade, Ura, Gua, Cyt, пар оснований и стопкообразных гомоассоциатов в четыреххлористом углероде ( $CCl_4$ ) показало, что в этом неводном растворителе энергетически выгодно образование как пар аденина — урацил (A-U) и гуанин — цитозин (G-C), так и стопок. Однако образование пар энергетически более предпочтительно, чем образование стопок. Особенность результатов этого изучения состоит в том, что и здесь вклад растворителя в энтальпию образования ассоциаций положителен, т. е.  $CCl_4$ , так же как и вода, дестабилизирует ассоциаты. Таким образом, энтальпийная стабилизация, определяемая растворителем, не была найдена и в случае неводного растворителя.

Итак, согласно результатам работ [17, 18], как инертный ( $CCl_4$ ), так и весьма полярный ( $H_2O$ ) растворители вносят дестабилизирующий вклад в образование ассоциатов, несмотря на то, что образующиеся в этих растворителях ассоциаты совершенно различны. Из данных этих работ вытекает, что стабильность ассоциата и его характер определяются взаимодействием между основаниями.

Однако детальное исследование ассоциации гуанозина и цитидина в смешанных растворителях диметилсульфоксид (ДМСО)/ $CCl_4$  и ДМСО/ацетонитрил ( $CH_3CN$ ) показало [19], что с увеличением концентрации ДМСО наблюдается уменьшение числа нуклеозидных пар G-C. При этом в первом растворителе их уменьшение идет быстрее, чем во

втором, что объясняется большей инертностью  $CCl_4$  по сравнению с  $CH_3CN$  по отношению к нуклеозидам. Кроме того, обнаружено [20], что энтальпийная выгодность реакции ассоциации производных аденина и урацила заметно уменьшается при добавлении этанола к хлороформу. При переходе к чисто полярному растворителю ( $H_2O$ ) образования нуклеозидных пар вообще не удастся зарегистрировать. Так, при увеличении концентрации воды в смеси вода/диоксан степень стэкинга оснований непрерывно растет и становится максимальной при содержании воды, равном 100 % [21]. Эти экспериментальные факты явно показывают существенное влияние растворителя на реакцию ассоциации оснований, и их очень трудно понять, если исходить из результатов, полученных в работах [17, 18].

Суммируя вышеизложенное, следует подчеркнуть, что, несмотря на наличие экспериментальных и теоретических усилий, роль растворителей в стабилизации комплексов оснований (прежде всего, копланарных пар) остается неясной.

В данной работе представлены результаты изучения устойчивости уотсон-криковских пар оснований в амфифильном (ДМСО) и полярном (воде) растворителях методом Монте-Карло. В связи с трудностями получения значений свободной энергии и энтропии этим методом мы ограничились вычислением внутренней энергии. Для наших целей это, скорее всего, оправданно, поскольку экспериментально показано, что при ассоциации нуклеозидов энтропия образования уотсон-криковских пар в неполярных и полярных растворителях (хлороформ, ДМСО, ДМСО/метанол, ДМСО/этанол) отрицательна [20, 22—25] и, следовательно, оказывает дестабилизирующее действие. Хотя экспериментальные данные по этому вопросу отсутствуют, все же нельзя полностью исключить того, что в стабилизацию пар оснований вносят определенный вклад «скрытые» гидрофобные взаимодействия, как это, возможно, имеет место для стэкинга оснований (см. [1]). Однако совершенно ясно, что стандартные гидрофобные взаимодействия не дают заметного вклада в образование копланарных комплексов оснований.

**Материалы и методы.** Для изучения стабильности уотсон-криковских пар оснований нуклеиновых кислот в ДМСО и в воде нами было проведено компьютерное моделирование сольватации оснований Ura, Thy, Ade, Gua, Cyt и пар оснований A-U, A-T, G-C. Расчеты выполнены методом Монте-Карло в каноническом (T, V, N) ансамбле с выборкой по Метрополису [26]. При использовании периодических граничных условий молекулы раство-

ренного вещества будут удалены друг от друга незначительно даже при учете относительно большого числа молекул растворителя. В этом случае моделирование будет проведено для весьма концентрированных растворов. Между тем, изучаемые соединения очень плохо растворимы и, следовательно, растворы должны быть только очень разбавленными. Поэтому в качестве граничных условий мы использовали кластерное приближение [27].

В каждой из изучаемых систем (основание — растворитель или пара оснований — растворитель) число молекул ДМСО составляло 200, а число молекул воды — 400. Температура в системе была 298 К. Для расчетов энергии межмолекулярного взаимодействия использовали полуэмпирические атом-атомные потенциальные функции [28—30]. Обычно при моделировании методом Монте-Карло систем, содержащих метильные группы, применяют упрощенный метод (метод объединенного атома), согласно которому положение атомов водорода в пространстве по отношению к другим атомам строго фиксировано. Однако в нашей работе метильные группы были учтены в явном виде, в связи с чем они могли вращаться вокруг связей C-S.

Вычисления были проведены для растворов пар оснований в уотсон-криковской конфигурации. В процессе вычислений положение молекулы растворенного вещества в сфере оставалось фиксированным. Предположение фиксированной геометрии является физически разумным для водородносвязанных комплексов, так как конфигурации с минимальной энергией физически хорошо определены. Таким образом, сравнение наших результатов с результатами эксперимента вполне оправдано.

Изучаемая система была помещена в сферу с непроницаемыми стенками так, чтобы геометрический центр основания или пары оснований совпал с центром сферы. Первоначально радиус этой сферы был равен радиусу сферы для найденной начальной («случайной») конфигурации кластера молекул ДМСО (22,0—22,2 Å), которая генерировалась с помощью специальной программы. Для создания в такой сфере реальной структуры ДМСО были проведены расчеты, учитывающие  $1,2 \cdot 10^6$  конфигураций. Затем в соответствии с кластерным приближением радиус сферы был увеличен до 30,5 Å и проведены дальнейшие расчеты, учитывающие  $1,2 \cdot 10^6$  конфигураций. При последующем усреднении начальные конфигурации были отброшены, т. е. для достижения в системе состояния равновесия было использовано  $2,4 \cdot 10^6$  конфигураций.

При изучении оснований или пар оснований в

воде они были помещены в центр чистого равновесного водного кластера с радиусом 25,0 Å, найденного методом Монте-Карло. Для выхода на стационарный участок были учтены  $4 \cdot 10^6$  конфигураций, которые затем были отброшены. Для определения средних значений при каждом расчете учитывали количество конфигураций, необходимое для уменьшения статистической ошибки до уровня, при котором вычисленные энергетические различия имеют количественные значения. Значения энергии, использованные в анализе ошибки, были вычислены как среднее по сегментам марковской цепи конфигураций длиной 200 N пробных движений (N — число молекул растворителя в образце). Такие сегменты будут достаточной длины для обеспечения отсутствия корреляции между последующими энергетическими значениями — необходимое условие при анализе ошибки. Расчеты средних значений проведены с точностью  $\pm 0,005$ .

Для системы Uga — ДМСО генерировалась марковская цепь длиной  $1,6 \cdot 10^7$  конфигураций, для системы Thy — ДМСО —  $1,08 \cdot 10^7$  конфигураций, для системы Ade — ДМСО —  $7,4 \cdot 10^7$  конфигураций, для системы Gua — ДМСО —  $1,6 \cdot 10^7$  конфигураций, для системы Cyt — ДМСО —  $2,104 \cdot 10^7$  конфигураций, для системы A-U — ДМСО —  $1,088 \cdot 10^7$  конфигураций, для системы A-T — ДМСО —  $1,6 \cdot 10^7$  конфигураций, для системы G-C — ДМСО —  $1,5 \cdot 10^7$  конфигураций и для ДМСО —  $3,2 \cdot 10^7$  конфигураций.

Для системы Uga — H<sub>2</sub>O генерировалась марковская цепь длиной  $1,84 \cdot 10^7$  конфигураций, для системы Thy — H<sub>2</sub>O —  $9,6 \cdot 10^6$  конфигураций, для системы Ade — H<sub>2</sub>O —  $7,2 \cdot 10^6$  конфигураций, для системы Gua — H<sub>2</sub>O —  $1,2 \cdot 10^7$  конфигураций, для системы Cyt — H<sub>2</sub>O —  $7,2 \cdot 10^6$  конфигураций, для системы A-U — H<sub>2</sub>O —  $1,4 \cdot 10^7$  конфигураций, для системы A-T — H<sub>2</sub>O —  $10^7$  конфигураций, для системы G-C — H<sub>2</sub>O —  $6,4 \cdot 10^6$  конфигураций и для H<sub>2</sub>O —  $3,2 \cdot 10^7$  конфигураций.

**Результаты и обсуждение.** Результаты расчетов средних значений потенциальной энергии системы  $U$ , энергии взаимодействия растворитель — растворитель  $U_{ss}$ , энергии взаимодействия растворитель — основание/пара оснований  $U_{sb}$  и энергии взаимодействия основание — основание  $U_{bb}$  приведены в табл. 1. Величины энергии сольватации для всех систем  $\Delta U_{solv}$ , которые легко могут быть получены из приведенных данных, также представлены в этой таблице. Кроме того, здесь же даны значения статистической ошибки (стандартного отклонения) для  $U$  и  $\Delta U_{solv}$ .

Видно, что энергии сольватации всех изучен-

Таблица 1

Энергетические характеристики сольватации оснований и их уотсон-криковских пар в воде и ДМСО

Система	Растворитель	$U_{ss}^*$	$U_{sb}^*$	$U_{bb}^*$	$U^*$	$\Delta U_{solv}^{**}$
Ade	H <sub>2</sub> O	-8,060	-0,247	—	-8,307±0,005	-78,8±2,8
	Me <sub>2</sub> SO	-5,759	-0,191	—	-5,950±0,005	-15,2±1,4
Ura	H <sub>2</sub> O	-8,099	-0,137	—	-8,236±0,005	-50,4±2,8
	Me <sub>2</sub> SO	-5,828	-0,160	—	-5,988±0,005	-22,8±1,4
Thy	H <sub>2</sub> O	-8,126	-0,140	—	-8,266±0,005	-62,4±2,8
	Me <sub>2</sub> SO	-5,816	-0,142	—	-5,958±0,005	-16,8±1,4
Gua	H <sub>2</sub> O	-8,088	-0,286	—	-8,374±0,005	-105,6±2,8
	Me <sub>2</sub> SO	-5,778	-0,260	—	-6,038±0,005	-32,8±1,4
Cyt	H <sub>2</sub> O	-8,124	-0,225	—	-8,349±0,005	-95,6±2,8
	Me <sub>2</sub> SO	-5,770	-0,217	—	-5,987±0,005	-22,6±1,4
A-U	H <sub>2</sub> O	-8,000	-0,341	-0,027	-8,368±0,005	-103,2±2,8
	Me <sub>2</sub> SO	-5,798	-0,290	-0,054	-6,142±0,005	-53,6±1,4
A-T	H <sub>2</sub> O	-8,028	-0,342	-0,027	-8,397±0,005	-114,8±2,8
	Me <sub>2</sub> SO	-5,778	-0,292	-0,054	-6,124±0,005	-50,0±1,4
G-C	H <sub>2</sub> O	-7,995	-0,432	-0,056	-8,483±0,005	-149,2±2,8
	Me <sub>2</sub> SO	-5,768	-0,364	-0,112	-6,244±0,005	-74,0±1,4
H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	-8,110	—	—	-8,110±0,005	—
Me <sub>2</sub> SO	Me <sub>2</sub> SO	-5,874	—	—	-5,874±0,005	—

\*Ккал/моль растворителя; \*\* ккал/моль системы.

ных систем отрицательны. Используя данные табл. 1, можно вычислить изменение потенциальной энергии  $\Delta U$ , 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)  $\Delta U_{ss}$  (сольвофобный эффект), изменение энергии взаимодействия растворитель — основания  $\Delta U_{sb}$  (эффект сольватации) и изменение энергии взаимодействия основание — основание  $\Delta U_{bb}$  при образовании пар оснований. Эти изменения определяются из следующего соотношения:

$$\Delta U = \Delta U_{ss} + \Delta U_{sb} + \Delta U_{bb},$$

где

$$\Delta U_{ss} = N\{[U_{ss}(bp) - U_{ss}] - [(U_{ss}(b1) - U_{ss}) - (U_{ss}(b2) - U_{ss})]\};$$

$$\Delta U_{sb} = N\{[U_{sb}(bp)] - [U_{sb}(b1) + U_{sb}(b2)]\};$$

$$\Delta U_{bb} = NU_{bb}.$$

Здесь  $N$  — число молекул растворителя.

Полученные результаты для исследованных систем представлены в табл. 2. Здесь также приведены стандартные отклонения для  $\Delta U$ .

Видно, что значения энергии образования пар А-У, А-Т и G-С в ДМСО составляют -15,6, -18,0 и -18,6 ккал/моль соответственно и, следовательно, образование пар в этом растворителе энергетически выгодно. Анализ данных табл. 2 для ДМСО показывает, что во всех изученных парах взаимодействие между основаниями и взаимодействие ДМСО — ДМСО являются стабилизирующими, а взаимодействие ДМСО — основания — дестабилизирующим.

Из данных табл. 2 следует также, что ДМСО стабилизирует пары А-У (-4,8 ккал/моль) и А-Т (-7,2 ккал/моль). Для пары оснований А-У растворитель вносит заметный вклад в ее стабилизацию, а для пары А-Т он соизмерим со вкладом за счет взаимодействия между основаниями (см. табл. 2). В то же время ДМСО дестабилизирует пару оснований G-С (3,8 ккал/моль). Это свидетельствует о том, что единственным фактором, стабилизирующим пару G-С, является взаимодействие между основаниями. Такое различное поведение пары ос-

Таблица 2

Энергетические характеристики реакции образования пар оснований в воде и ДМСО (ккал/моль)

Система	Растворитель	$\Delta U_{ss}$	$\Delta U_{sb}$	$\Delta U_{bb}$	$\Delta U$
A-U	H <sub>2</sub> O	19,6	17,2	-10,8	26,0±4,85
	Me <sub>2</sub> SO	-17,0	12,2	-10,8	-15,6±2,42
A-T	H <sub>2</sub> O	19,2	18,0	-10,8	26,4±4,85
	Me <sub>2</sub> SO	-15,4	8,2	-10,8	-18,0±2,42
G-C	H <sub>2</sub> O	42,8	31,6	-22,4	52,0±4,85
	Me <sub>2</sub> SO	-18,8	22,6	-22,4	-18,6±2,42

нований G-C с одной стороны и пар оснований A-U и A-T с другой стороны обусловлено тем, что благодаря высокой полярности молекул Gua и Cyt энергетический проигрыш за счет взаимодействия ДМСО — основания при образовании в ДМСО пары G-C не может быть компенсирован энергетическим выигрышем за счет взаимодействия ДМСО — ДМСО.

Следует подчеркнуть, что в ДМСО образование пары A-T энергетически выгоднее, чем образование пары A-U. Таким образом, введение метильной группы оказывает заметное влияние на энергетическую стабильность пар в ДМСО.

При переходе от ДМСО к воде ситуация меняется. Из данных табл. 2 следует, что значения энергии образования пар оснований A-U, A-T и G-C в воде составляют 26,0; 26,4 и 52,0 ккал/моль соответственно и, следовательно, в воде образование этих пар энергетически невыгодно. Это связано с тем, что в отличие от ДМСО взаимодействие вода — вода является дестабилизирующим во всех парах оснований (см. табл. 2). Так же, как в ДМСО, взаимодействие вода — основания дестабилизирует все изученные пары оснований. Поэтому стабилизация пар определяется только взаимодействием между основаниями.

Таким образом, в настоящее время можно считать доказанным вывод, сделанный нами на основании учета растворителя с помощью оценок [31, 32], что наблюдаемое отсутствие пар оснований в воде, несмотря на их высокую стабильность в вакууме, обусловлено выигрышем, даваемым эффектом гидратации и гидрофобным эффектом при переходе от пар к неассоциированным основаниям.

Следует отметить, что в работах [33, 34] были получены схемы гидратации оснований ДНК и их уотсон-криковских пар в малом кластере (приближение первой гидратной оболочки). Вычисленные

энергии гидратации привели авторов [33, 34] к выводу, что гидратация оказывает дестабилизирующее действие на образование пар оснований в воде.

В указанных работах также сделан вывод об энергетической выгоды образования пар оснований в воде. Однако, согласно [33, 34], первая гидратная оболочка содержит только молекулы «связанной» воды, т. е. те молекулы воды, энергия взаимодействия которых с основанием (парой оснований) больше (по абсолютной величине) энергии взаимодействия в димере воды. Кроме того, авторы работ [33, 34] ограничились рассмотрением только плоских конфигураций комплексов, в которых атомы кислорода молекул воды лежат в плоскости основания (пары оснований). Между тем, тщательное изучение неплоских конфигураций комплексов в малых кластерах воды [30, 35] показало, что в таких комплексах возникает конкурирующее взаимодействие вода — вода, которое компенсирует проигрыш в энергии взаимодействия вода — основание (пара оснований) и приводит к понижению энергии всей системы. В результате неплоские конфигурации оказываются энергетически более выгодными, чем плоские.

Рассмотрение неплоских конфигураций в малых кластерах воды послужило для нас основанием [30, 35] сделать вывод о невыгодности образования пар оснований в воде, который противоположен выводу работ [33, 34].

Однако в случае неплоских конфигураций приближение первой гидратной оболочки нарушается [35]: для большинства молекул воды их энергия взаимодействия с основанием или парой меньше (по абсолютной величине), чем энергия взаимодействия молекул воды в димере. Анализ равновесных монте-карловских конфигураций, полученных в данной работе для оснований нуклеиновых кислот

и их уотсон-криковских пар в больших водных кластерах, также показал, что приближение первой гидратной оболочки является «незаконным» для описания гидратации оснований и их пар.

Так, все молекулы воды (за исключением одной молекулы для Cyt), энергия взаимодействия которых с основаниями или парами оснований существенна (больше, близка или незначительно меньше по абсолютной величине энергии взаимодействия молекул в димере воды), находятся вне их плоскости.

Пренебрежение молекулами воды [1], находящимися за пределами первой гидратной оболочки [33, 34], автоматически означает предположение неизменности структуры воды при погружении в нее основания или пары оснований, что является физически нереальным. В рамках приближения первой гидратной оболочки невозможно учесть структурирование воды вокруг молекул растворенного вещества и их ассоциатов. Кроме того, заметная часть эффекта образования плоскости осталась в работах [33, 34] неучтенной. Следовательно, гидрофобный эффект не может быть учтен в рамках этого приближения.

Из представленных в данной статье результатов видно, что дестабилизирующим является не только эффект гидратации, но также и гидрофобный эффект. В конечном счете это приводит к невыгодности образования пар оснований в воде. Таким образом, заключение авторов [33, 34] об энергетической выгоды образования пар оснований в воде, основанное на изучении схем гидратации в приближении первой гидратной оболочки, представляется необоснованным.

Прямое сравнение теории с экспериментальными данными невозможно в связи с их отсутствием для канонических оснований. Поэтому такое сравнение может быть проведено только для имеющихся экспериментальных данных, которые были получены в ДМСО для производных оснований и их нуклеозидов методом ЯМР.

В самой ранней работе по изучению алкилпроизводных оснований [36] было показано, что в ДМСО наиболее легко образуется уотсон-криковская пара G-C. Образование пары A-T существенно менее выгодно, однако следы ее образования были все же зарегистрированы.

Изучение ассоциации нуклеозидов в ДМСО [24, 25, 37, 38] также показало образование уотсон-криковского димера между гуанозином и цитидином. При этом более слабую ассоциацию между аденозином и уридином обнаружить не удалось [37, 38]. По-видимому, это связано с тем, что молекулы ДМСО образуют достаточно прочные

H-связи с основаниями, в результате чего в этом растворителе ассоциация аденозина и уридина не видна.

В то же время использование системы смешанных растворителей ДМСО/бензол (1/1 v/v) позволило создать необходимые условия, при которых оказалось возможным зарегистрировать не только уотсон-криковские нуклеозидные ассоциаты G-C, но также A-U и A-T [37]. Учитывая обнаруженные нами различия между величинами энергии образования пар A-T и A-U, нельзя исключить того, что введение различных заместителей (алкильных групп или рибозы) в первое положение пиримидинов и девятое положение пуринов может изменить устойчивость ассоциатов в ДМСО, в связи с чем авторам работы [37, 38] не удалось зарегистрировать в ДМСО образования пары A-U.

В заключение следует отметить, что роль гидратации оснований в поддержании структуры двутяжевых нуклеиновых кислот в настоящее время недостаточно изучена, поскольку этот вопрос требует специального исследования не только на уровне изолированных оснований и их пар, но и на уровне одно- и двутяжевых олигонуклеотидов. Наиболее приемлемым методом исследования данного вопроса является метод Монте-Карло, который может позволить выяснить более детально природу стабильности двойной спирали ДНК. В настоящее время нами проводится моделирование некоторых динуклеозидмонофосфатов и их двутяжевых элементарных ассоциатов в воде методом Монте-Карло.

Все расчеты выполнены на sunCluster университета штата Нью-Йорк в Буффало: часть расчетов — 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, М. В. Желтовський, О. М. Слюсарчук,  
Дж. Л. Альдерфер

Вивчення стабільності уотсон-криківських пар основ нуклеїнових кислот у воді та диметилсульфоксиді: комп'ютерне моделювання методом Монте-Карло

#### Резюме

Проведено екстенсивне комп'ютерне моделювання основ нуклеїнових кислот і уотсон-криківських пар у воді та ДМСО методом Монте-Карло. Виявлено, що енергетична невідповідність утворення пар у воді зумовлена значним дестабілізуючим внеском розчинника в ентальпію утворення комплексів. Показано, що у ДМСО утворення копланарних пар вигідно. Цей розчинник стабілізує пари A-U і A-T, а незначна дестабілізація цим розчинником пари G-C значно менша, ніж стабілізація, пов'язана з притягненням між основами.

V. I. Danilov, N. V. Zheltovskiy, O. N. Slyusarchuk, J. L. Alderfer

The study of the stability of Watson-Crick nucleic acid base pairs in water and dimethyl sulfoxide: computer simulation by Monte Carlo method

#### Summary

*Extensive computer simulation of nucleic acids bases and Watson-Crick base pairs in water and DMSO by Monte Carlo method was conducted. It was detected that the energetic unfavorability of pairs formation in water is determined by significant destabilizing contribution of solvent to the enthalpy of complex formation. It was shown that the formation of coplanar base pairs in DMSO is favorable. This solvent stabilizes A-U and A-T base pairs and the insignificant destabilization of G-C base pair by it is much less than the stabilization due to the bases attraction.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Данилов В. И., Закиевская К. М., Желтовский Н. В. Проблема стабильности ДНК: вклад оснований // Итоги науки и техники. Сер. Молекуляр. биология.—1979.—Т. 15.—С. 74—124.
2. Cantor C. R., Schimmel P. R. Biophysical Chemistry / Ed. W. H. Freeman.—San Francisco, 1980.—Pt 1.—P. 311—341.
3. Ts'o P. O. P. Bases, nucleosides, and nucleotides // Basic principles in nucleic acid chemistry / Ed. P. O. P. Ts'o.—New York; London: Acad. press.—1974.—Vol. I.—P. 453—584.
4. Pullman B., Claverie P., Caillet J. Van der Waals-London interactions and the configuration of hydrogen-bonded pyrimidine and pyrimidine pairs // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1966.—55.—P. 904—912.
5. Pullman B., Claverie P., Caillet J. On the exclusivity of hydrogen-bonded pairing between the Watson-Crick complementary bases // J. Mol. Biol.—1966.—22.—P. 373—375.
6. Yanson I. K., Teplitsky A. B., Sukhodub L. F. Experimental studies of molecular interactions between nitrogen bases of nucleic acids // Biopolymers.—1979.—18.—P. 1149—1170.
7. Rein R., Coeckelenberg Y., Egan J. T. Elaboration of the principle of base complementarity and the elements of a theory of point mutation // Int. J. Quant. Chem., Quant. Biol. Symp.—1975.—N 2.—P. 145—153.
8. Porschke D., Eggers F. Thermodynamics and kinetics of base-stacking interactions // Eur. J. Biochem.—1972.—26.—P. 490—498.
9. Marenchic M. G., Sturtevant J. M. Calorimetric investigation of the association of various purine bases in aqueous media // J. Phys. Chem.—1973.—77.—P. 544—548.
10. Plesiewicz E., Stepien E., Bolewska K., Wierzchowski K. L. Osmometric studies on self-association of pyrimidine in aqueous solutions: evidence for involvement of hydrophobic interactions // Biophys. Chem.—1976.—4.—P. 131—141.
11. Plesiewicz E., Stepien E., Bolewska K., Wierzchowski K. L. Stacking self-association of pyrimidine nucleosides and of cytosines: effects of methylation and thiolation // Nucl. Acids Res.—1976.—3.—P. 1295—1306.
12. Danilov V. I., Tolokh I. S., Poltev V. I., Malenkov G. G. Nature of the stacking interaction of nucleotide bases in water: a Monte Carlo study of the hydration of uracil molecule associates // FEBS Lett.—1984.—167.—P. 245—248.
13. Danilov V. I., Tolokh I. S., Poltev V. I. Nature of the stacking interaction of nucleotide bases in water: a Monte Carlo study of the hydration of thymine molecule associates // Ibid.—171.—P. 325—328.
14. Danilov V. I., Tolokh I. S. On the role of hydrophobic groups in nucleotide base stacking: a Monte Carlo study of hydration of thymine dimers // Ibid.—173.—P. 347—350.
15. Danilov V. I., Tolokh I. S. Nature of the stacking of nucleic acid bases in water: a Monte Carlo simulation // J. Biomol. Struct. and Dyn.—1984.—2.—P. 119—130.
16. Danilov V. I. Application of the Monte Carlo method for studying the hydration of molecules: base stacking // Mathematics and computational concepts in chemistry / Ed. N. Trinajstic.—Chichester: Ellis Horwood Limited, 1986.—P. 48—59.
17. Pohorille A., Pratt L. R., Burt S. K., MacElroy R. D. Solution influence on biomolecular equilibria: nucleic acid base associations // J. Biomol. Struct. and Dyn.—1984.—1.—P. 1257—1280.
18. Pohorille A., Burt S. K., MacElroy R. D. Monte Carlo simulation of the influence of solvent on nucleic acid base associations // J. Amer. Chem. Soc.—1984.—106.—P. 402—409.
19. Schweighardt F. K., Moll C., Li N. C. Nuclear magnetic resonance study of guanosine-cytidine pairing in mixed solvents // J. Magn. Reson.—1970.—2.—P. 35—41.
20. Binford, Jr., J. S., Holloway D. M. Heats of base pair formation with adenine and uracil analogs // J. Mol. Biol.—1968.—31.—P. 91—99.
21. Hruska F. E., Bell C. L., Victor T. A., Danyluk S. S. Medium effects on the nuclear magnetic resonance spectra of purines // Biochemistry.—1968.—7.—P. 3721—3727.
22. Kyogoku Y., Lord R. C., Rich A. An infrared study of hydrogen bonding between adenine and uracil derivatives in chloroform solution // J. Amer. Chem. Soc.—1967.—89.—P. 496—504.
23. Kyogoku Y., Lord R. C., Rich A. An infrared study of the hydrogen-bonding specificity of hypoxanthine and other nucleic acid derivatives // Biochim. et biophys. acta.—1969.—179.—P. 10—17.
24. Newmark R. A., Cantor C. R. Nuclear magnetic resonance study of the interactions of guanosine and cytidine in dimethyl sulfoxide // J. Amer. Chem. Soc.—1968.—90.—P. 5010—5017.
25. Petersen S. B., Led J. J. Watson-Crick base pairing between guanosine and cytidine studied by <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy // Ibid.—1981.—103.—P. 5308—5313.
26. 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.
27. 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.
28. Дьяконова Л. П., Маленков Г. Г. Моделирование структуры жидкой воды методом Монте-Карло // Журн. структур. химии.—1979.—20.—P. 854—861.
29. Журкин В. Б., Полтев В. И., Флорентьев В. Л. Атом-атомные потенциальные функции для конформационных расчетов нуклеиновых кислот // Молекуляр. биология.—1980.—14.—P. 1116—1130.
30. Poltev V. I., Danilov V. I., Sharafutdinov M. R. et al. Simulation of the interaction of nucleic acids fragments with solvent using atom-atom potential functions // Stud. biophys.—1982.—91.—P. 37—43.
31. Danilov V. I. On the nature of stability of the nucleotide base associates in water solution // Mol. Biol. Repts.—1975.—2.—P. 263—266.
32. Kudritskaya Z. G., Danilov V. I. Quantum mechanical study of bases interactions in various associates in atomic dipole approximation // J. Theor. Biol.—1976.—59.—P. 303—318.

33. Goldblum A., Perahia D., Pullman A. Hydration scheme of the complementary base-pairs of DNA // FEBS Lett.—1978.—91.—P. 213—215.
34. Pullman B., Miertus S., Perahia D. Hydration scheme of the purine and pyrimidine bases and base-pairs of the nucleic acids // Theor. chim. acta.—1979.—50.—P. 317—325.
35. Danilov V. I., Sharafutdinov M. R., Tolokh I. S. Theoretical study of the nucleotide base associates // Stud. biophys.—1982.—93.—P. 193—196.
36. Shoup R. R., Miles H. T., Becker E. D. NMR evidence of specific base-pairing between purines and pyrimidines // Biochem. and Biophys. Res. Communs.—1966.—23.—P. 194—201.
37. Katz L., Penman S. Association by hydrogen bonding of free nucleosides in non-aqueous solution // J. Mol. Biol.—1966.—15.—P. 220—231.
38. Wang S. M., Li N. C. Proton magnetic resonance studies of self-association and metal complexation of nucleosides in dimethyl sulfoxide // J. Amer. Chem. Soc.—1968.—90.—P. 5069—5074.

УДК 577.2:577.323.425:577.323.427  
Поступила в редакцию 22.01.97