

Топологічні властивості гіперповерхні потенціальної енергії канонічних нуклеотидних основ

Д. М. Говорун*, Я. Р. Міщук, І. В. Кондратюк

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України
252143, Київ, вул. Академіка Заболотного, 150

Проаналізовано топологічні властивості гіперповерхні потенціальної енергії канонічних нуклеотидних основ, розрахованої напівемпіричним квантовохімічним методом АМ1, та зумовлені ними біофізичні наслідки — кооперативність, синергізм та адаптивність елементарних актів молекулярного розпізнавання за участю нуклеїнових кислот.

Вступ. Молекулярно-кінетичні механізми біологічного функціонування нуклеїнових кислот (НК) зумовлені особливостями їхньої структурно-динамічної організації [1—4], яка, в свою чергу, визначається топологічними властивостями гіперповерхні потенціальної енергії [5]. Чи не найхарактернішою з-поміж функціонально значущих динамічних ознак НК є великоамплітудна (близько 1 Å в лінійних чи десятки градусів у кутових одиницях) низькоенергетична теплова рухливість, що має суттєво нелінійний характер [6].

Фізична природа такої складної динамічної поведінки НК нині остаточно не з'ясована; встановлено лише, що вона має як індивідуальне (конформаційна гнучкість фуранози, лібрації навколо ординарних хімічних зв'язків цукрово-фосфатного кістяка, лабільність водневих зв'язків), так і колективне походження (довгохвильові фононоподібні згини, стискання — розтягання та скручування НК як цілого) [1—4]. При цьому нуклеотидним основам надається роль жорстких (чи в кращому випадку квазіжорстких) структурних ланок. Отримані нами раніше результати [7, 8] щодо структурно-динамічних властивостей вільних канонічних нуклеотидних основ вказують на те, що такі модельні уявлення не є адекватними, оскільки не враховують стереохімічної нежорсткості основ, а відтак — і внеску їхніх нелінійно-динамічних властивостей у загальнодинамічну поведінку НК, який, на наш погляд, є істотним, якщо не вирішальним, у більшості випадків.

Ця робота є логічним продовженням попередніх [7, 8]. У ній підбиваються підсумки квантовохімічного дослідження структурно-динамічних властивостей канонічних нуклеотидних основ, котрі безпосередньо обумовлені топологічними характеристиками їхньої гіперповерхні потенціальної енергії (ГППЕ) та значною мірою визначають функціонування НК.

Матеріали і методи. Топологічні властивості ГППЕ канонічних нуклеотидних основ — аденіну (Ade), гуаніну (Gua), цитозину (Cyt) та тиміну (Thu) у вільному стані вивчалися напівемпіричним квантовохімічним методом АМ1 у режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта $< 0,01$ [7, 8].

*Correspondence address.

Результати та обговорення. Встановлено, що ГППЕ нуклеотидних основ з екзоциклічною аміногрупою — Ade, Gua, Cyt — є досить складною за характером і має один глобальний максимум, два дзеркально-симетричних глобальних мінімуми та три локальних максимуми: один низькоенергетичний і два високоенергетичних.

Глобальному максимумові відповідає плоскосиметрична молекулярна структура (симетрія C_s), всі атоми котрої, за винятком двох еквівалентних амінних атомів водню, лежать у площині, що збігається з площиною симетрії. При цьому площина аміногрупи ортогональна до останньої і копланарна з екзоциклічним зв'язком CN. Відносна енергія глобальних максимумів складає 13123, 12671 і 7918 кал/моль для Ade, Cyt і Gua відповідно. Характерно, що глобальний максимум ГППЕ цих молекул не є перехідним станом (сідловою точкою) внутрішнього обертання аміногрупи навколо екзоциклічного зв'язку CN, як це традиційно вважалося раніше (див., наприклад, [9]).

Для Gua, Cyt і Ade внутрішнє обертання аміногрупи є анізотропним і характеризується двома нееквівалентними перехідними станами з *цис*- і *транс*-орієнтаціями амінопротонів відносно сусіднього подвійного зв'язку C=N: при цьому *цис*-орієнтація аміногрупи є енергетично вигіднішою, аніж *транс*-орієнтація [10]. Перехідним станам обертання аміногрупи відповідають високоенергетичні локальні максимуми, відносна енергія яких для кожної основи помітно менша за таку для глобального максимуму. В перехідних станах обертання аміногрупи (симетрія C_s) всі атоми, за винятком рівноцінних амінних атомів водню, лежать у площині, котра збігається з площиною симетрії; при цьому площина аміногрупи ортогональна до останньої і утворює гострий кут з екзоциклічним зв'язком CN: 52,9° (55,1°), 53,6° (49,8°) і 53,4° (54,1°) (тут і далі — величини без дужок відповідають *цис*-орієнтації амінопротонів, у дужках — *транс*-орієнтації) [11]. Відносна енергія високоенергетичних локальних максимумів ГППЕ (сідлових точок) внутрішнього обертання аміногрупи складає 2206 (6715), 6010 (11070) і 8370 (9450) кал/моль для Gua, Cyt і Ade відповідно. Внутрішнє анізотропне обертання аміногрупи в Ade, Gua і Cyt, яке при фізіологічних температурах має характер підбар'єрного тунелювання, є дипольно-активним: дипольний момент переходу лежить у площині кільця, його абсолютна величина дорівнює в середньому 0,7 D і зменшується в ряду Gua>Cyt>Ade. Обертання аміногрупи супроводжується деформацією як фрагмента >C-NH_2 , так і кільця. При цьому досить великих змін зазнають відповідні двогранні кути, що описують непланарність кільця. В перехідних станах обертання кільце сплющується, а кут між екзоциклічним зв'язком CN та площиною аміногрупи значно зростає. У перехідних станах обертання амінопротони виходять з площини кільця на $\approx 0,8 \text{ \AA}$.

З'ясовано, що анізотропія обертання аміногрупи в канонічних нуклеотидних основах тісно пов'язана з нееквівалентністю амінних зв'язків в основному енергетичному стані [12] і зумовлена такими чинниками, як внутрішньомолекулярні водневі зв'язки [20], кулонівське відштовхування вільних електронних пар екзо- і сусіднього ендоециклічного атомів азоту, а також стеричний фактор.

Дзеркально-симетричні глобальні мінімуми ГППЕ Ade, Gua і Cyt відповідають асиметричним (симетрія C_1) «енантіомерам» — основному енергетичному станові основ. Їхньою характерною структурною ознакою є пірамідальність аміногрупи (кут між екзоциклічним зв'язком CN та площиною аміногрупи складає 4,9°, 23,7° і 39,2° для Ade, Cyt і Gua відповідно) та непланарність кільця (максимальні значення двогранних кутів, що характеризують непланарність, становлять 3,3°, 1,7°, 0,17° для Gua, Cyt і Ade відповідно) [13, 14]. Принагідно зазначимо, що розраховані методом AM1

кути, які характеризують неплоскощітність основ, треба розглядати як досить точну оцінку зверху. Так, для тестової молекули — аніліну — експериментальне значення кута виходу аміногрупи з площини кільця становить $37,5^\circ$, а розрахована методом AM1 величина цього кута складає $38,1^\circ$ при куті виходу екзоциклічного зв'язку CN аміногрупи з площини кільця $4,3^\circ$.

Взаємоперетворення «енантіомерів» — «рацемізація» відбувається за механізмом площинної інверсії: при цьому перехідним станом є копланарні структури. Їм відповідають низькоенергетичні максимуми на ГППЕ кожної з основ. На відміну від обертання аміногрупи в канонічних нуклеотидних основах, яке відбувається двома топологічно нееквівалентними шляхами, її площинна інверсія в кожній з основ має єдину топологічну реалізацію. Бар'єри площинної інверсії у вільному стані (1,4, 67 і 600 кал/моль для Ade, Cyt і Gua відповідно) значно менші, ніж частота інверсійної моди — фундаментального віялового коливання аміногрупи (101, 151 і 117 см^{-1} для Ade, Cyt і Gua відповідно в гармонійному наближенні). Це є характерною ознакою стереохімічної нежорсткості [15—17] цих молекул — їхня площинна інверсія є надбар'єрним процесом — суттєво нелінійним віяловим коливанням великої амплітуди (0,07, 0,3 і 0,5 Å для Ade, Cyt і Gua відповідно).

Характерно, що стереохімічна нежорсткість основ супроводжується дипольною нестійкістю — інверсійне коливання є дипольно-активним: дипольний момент переходу зорієнтований майже перпендикулярно до площини кільця, близький до 0,5 D, зростаючи в ряду Ade < Cyt < Gua.

Зазначимо, що розраховані методом AM1 бар'єри площинної інверсії слід вважати оцінкою знизу, оскільки використання аніліну як тестової молекули показує, що метод AM1 занижує цей енергетичний параметр приблизно на 30 % (експериментальна величина бар'єра площинної інверсії аміногрупи аніліну становить 1,5 ккал/моль [18], розрахована методом AM1 — 1,08 ккал/моль).

Строго кажучи, характерною ознакою Gua, Cyt і Ade є динамічна діастереоізомерія (LL=DD≠DL=LD [19]), оскільки їхня непланарність пов'язана як з непланарністю екзоциклічної аміногрупи, так і з неплоскощітністю кільця, причому інтерконверсія кільця є приблизно на порядок низькоенергетичнішим процесом, ніж площинна інверсія аміногрупи. Тому ГППЕ в області глобальних мінімумів має квазівироджені стани, що відповідають різній орієнтації кільця відносно аміногрупи. Вони розділені енергетичними бар'єрами, значно меншими за kT .

Детальніше процес інтерконверсії кільця канонічних нуклеотидних основ та його зв'язок з площинною інверсією аміногрупи може бути досліджений квантовохімічними методами вищого рівня складності, ніж напівемпіричні, зокрема *ab initio*.

Встановлено, що основними електронними чинниками, відповідальними за топологічні властивості ГППЕ канонічних нуклеотидних основ з аміногрупою є *π*-спряження [3], внутрішньомолекулярні водневі зв'язки [10—12, 20], електростатичне відштовхування вільних електронних пар екзоциклічного та сусіднього ендоециклічного атомів азоту [10—12] та стеричний фактор [10—12].

В Thu, що на відміну від квазіжорсткого Uga є стереохімічно нежорсткою молекулою, глобальний максимум на ГППЕ відповідає перехідному стану внутрішнього обертання метильної групи (симетрія C_s ; у площині кільця лежить сусідній зі зв'язком C5H атом водню метильної групи). Глобальному мінімумові відповідає плоскосиметрична конфігурація (симетрія C_s), у якій один з атомів водню метильної групи, сусідній до зв'язку C4O, лежить у площині кільця. Енергетичний бар'єр становить 110 кал/моль [14], що відповідає квазівільному внутрішньому обертанню метильної групи Thu при фізіологічній температурі.

З огляду на вищевикладене, канонічні нуклеотидні основи в основному енергетичному стані як стереохімічно нежорсткі молекули зі значним об'ємом фазового простору, доступного при фізіологічній температурі, можуть бути охарактеризовані ефективною [21] симетрією C_3 .

Втягування канонічних нуклеотидних основ у міжмолекулярні взаємодії, зокрема водневі зв'язки і/або стекинг, енергія котрих співмірна з відносною енергією особливих точок на їхніх ГППЕ, супроводжується суттєвою деформацією останньої [22, 23], що обов'язково призводить до зміни структурно-динамічних характеристик основ порівняно з вільним станом. Так, наприклад, перехід нуклеотидних основ з вільного стану у кристалічний викликає істотну зміну (на величину близько 1 D) дипольного моменту [24], що корелює з їхньою агрегаційною мінливістю [13, 14]. До речі, існуючі уявлення про стекинг нуклеотидних основ та їхніх Уотсон-Криківських пар, що аналогічно до основ є стереохімічно нежорсткими структурами [25], як про делокалізовану взаємодію плоскопаралельних жорстких копланарних структур [26], значною мірою себе вичерпали, оскільки не враховують ані особливостей ГППЕ молекул-партнерів, ані їхніх істотних деформацій при взаємодії.

Отже, стереохімічна нежорсткість нуклеотидних основ як одна з найважливіших фізико-хімічних форм їхньої структурної мінливості є, на наш погляд, необхідною передумовою функціонування НК, оскільки лежить в основі їхньої кооперативної поведінки, що має синергетичний характер, емерджентних властивостей біохімічних процесів за участю НК та адаптивної природи білково-нуклеїнового розпізнавання [22, 23].

Насамкінець зазначимо, що на сьогодні експериментальні дані щодо стереохімічної нежорсткості вільних нуклеотидних основ відсутні. Чи не найкращим непрямым її підтвердженням є неадекватність гармонійного наближення для розрахунку частот непланарних фундаментальних коливань азотистих основ (див. [27] та наведену там бібліографію). Це однозначно вказує на те, що відповідні коливальні рухи відбуваються не в квазіпараболічному, а в суттєво ангармонійному багатоявному потенціалі, характерному, зокрема, для Ян-Теллерівських молекул [15–18, 28].

Д. Н. Говорун, Я. Р. Мищук, И. В. Кондратюк

Топологические свойства гиперповерхности потенциальной энергии канонических нуклеотидных оснований

Резюме

Анализируются топологические свойства гиперповерхности потенциальной энергии канонических нуклеотидных оснований, рассчитанной полумпирическим квантовохимическим методом AM1, и обусловленные ими биофизические последствия — кооперативность, синергизм и адаптивность элементарных актов молекулярного распознавания с участием нуклеиновых кислот.

D. M. Hovorun, Ya. R. Mishchuk, I. V. Kondratyuk

Topological features of potential energy hypersurface of canonical nucleotide bases

Summary

Topological features of potential energy hypersurface of canonical nucleotide bases calculated by semiempirical quantum-chemical AM1 method are analysed. Biophysical consequences of these features — cooperativity, synergism and adaptability of molecular recognition elementary acts with the nucleic acids participation — are considered.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Франк-Каменецкий М. Д. Флуктуационная подвижность ДНК // Молекуляр. биология.—1983.—17, № 3.—С. 639—652.
2. Якушевич Л. В. Динамика ДНК // Там же.—1989.—23, № 3.—С. 652—662.
3. Маневич Л. И., Савин А. В., Смирнов В. В., Волков С. Н. Солитоны в невырожденных бистабильных системах // Успехи физ. наук.—1994.—164, № 9.—С. 937—958.
4. Флорентьев В. Л. Конформационные возможности ДНК // Биоорг. химия.—1982.—8, № 7.—С. 885—899.
5. Шайтан К. В. Динамика электронно-конформационных переходов и новые подходы к физическим механизмам функционирования биомакромолекул // Биофизика.—1994.—39, № 6.—С. 949—967.
6. Grimm H., Rupprecht A. Inelastic neutron scattering studies of oriented DNA // Nonlinear excitations in biomolecules / Ed. M. Peyrard.—Berlin etc.: Springer, 1994.—P. 101—115.
7. Говорун Д. Н., Данчук В. Д., Кондратюк И. В. и др. Изучение структурно-динамических особенностей нуклеотидных оснований и их некоторых метилпроизводных методом АМ-1 // Тез. докл. VII конф. по спектроскопии биополимеров.—Харьков, 1991.—С. 63.
8. Govorun D. N., Danchuk V. D., Mishchuk Ya. R. et al. AM1 calculation of the nucleic acid bases structure and vibrational spectra // J. Mol. Struct.—1992.—267, N 1—P. 99—103.
9. Комаров В. М., Полозов Р. В. Неплоское строение аминозамещенных азотистых оснований // Биофизика.—1990.—35, № 5.—С. 367—368.
10. Говорун Д. М., Кондратюк І. В. Анізотропія обертальної рухливості аміногрупи в канонічних нуклеотидних основах // Доп. НАН України.—1996.—№ 10.
11. Говорун Д. М., Міщук Я. Р., Кондратюк І. В. Про квантовихімічну природу стереохімічної нежорсткості канонічних нуклеотидних основ // Біополімери і клітка.—1996.—12, № 5.—С. 5—12.
12. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Міщук Я. Р., Желтовський М. В. Нееквівалентність амініх атомів водню в канонічних нуклеотидних основах // Доп. НАН України.—1995.—№ 8.—С. 130—132.
13. Говорун Д. М., Данчук В. Д., Міщук Я. Р. та ін. Дзеркально-симетричні конформаційні стани канонічних нуклеотидних основ // Там же.—1992.—№ 2.—С. 66—69.
14. Говорун Д. М., Данчук В. Д., Міщук Я. Р. та ін. Про неплоскість та дипольну нестійкість канонічних нуклеотидних основ, метильованих по глікозидному азоту // Там же.—1995.—№ 6.—С. 117—119.
15. Спиридонов В. П., Ищенко А. А., Засорина Е. З. Исследование стереохимически жестких молекул электронографическим методом // Успехи химии.—1978.—47, № 1.—С. 101—126.
16. Сергеев Н. М. Динамический ядерный магнитный резонанс // Там же.—1973.—42, № 5.—С. 769—798.
17. Чаркин О. П., Болдырев А. И. Потенциальные поверхности и структурная жесткость неорганических молекул // Итоги науки и техники.—М.: ВИНТИ, 1980.—156 с.—(С. Неорганическая химия; Т. 8).
18. Садова Н. И., Хайкин Л. С., Вилков Л. В. Некоторые проблемы стереохимии соединений азота в газовой фазе // Успехи химии.—1992.—61, № 2.—С. 2129—2171.
19. Кизель В. А. Физические принципы диссимметрии живых систем.—М.: Наука, 1985.—
20. Говорун Д. М., Міщук Я. Р., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Внутрішньо-молекулярні кооперативні водневі зв'язки в нуклеотидних основах // Доп. НАН України.—1996.—№ 8.—С. 141—144.
21. Банкер Ф. Симметрия молекул и молекулярная спектроскопия.—М.: Мир, 1981.—451 с.
22. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Міщук Я. Р. Специфічна взаємодія карбоксильної групи та карбоксилат-аніону з нуклеотидними основами у вакуумі: розрахунок методом MNDO/H // Біополімери і клітка.—1996.—13, № 1.—(В друці).
23. Говорун Д. М., Міщук Я. Р., Кондратюк І. В. Про адаптивний характер молекулярного розпізнавання // Доп. НАН України.—1997.—(В друці).
24. Spackman M. A., Weber H. P., Craven B. M. Energies of molecular interactions from Bragg diffraction data // J. Amer. Chem. Soc.—1988.—110, N 3.—P. 775—782.
25. Говорун Д. М., Міщук Я. Р., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Динамічна стереоізомерія Уотсон-Кріківських пар нуклеотидних основ // Доп. НАН України.—1995.—№ 11.—С. 121—123.
26. Межмолекулярные взаимодействия: от двухатомных молекул до биополимеров / Под ред. А. М. Бродского.—М.: Мир, 1981.—414 с.
27. McCarthy W. J., Lapinski L., Nowak M. J., Adamowicz L. Anharmonic contributions to the inversion vibration in 2-aminopyrimidine // J. Chem. Phys.—1995.—103, N 2.—P. 656—662.
28. Берсукер И. Б. Электронное строение и свойства координационных соединений. Введение в теорию.—Л.: Химия, 1976.—352 с.