

Стабілізація Вотсон-Криківських пар основ ДНК протонуванням: квантово-хімічне дослідження

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 AM1 встановлено, що одноразове протонування Вотсон-Криківських пар основ ДНК по місцях, які не беруть участі у водневому зв'язуванні, підвищує їхню стабільність. Найбільший енергетичний ефект спостерігається при протонуванні атомів O2 і O4 Thy пари Ade:Thy — він супроводжується перенесенням протона від атома N3 Thy до атома N1 Ade і суттєвою зміною геометричної структури пари. Найбільші геометричні збурення мають місце в парі Gua:Cyt⁺(O2), яка розкривається і стабілізується лише одним H-зв'язком N4H...O6 (два інших H-зв'язки при цьому розриваються). Вперше висловлено припущення, що протонування основ ДНК та їхніх Вотсон-Криківських пар є поліфункціональним фізико-хімічним механізмом, який може використовуватися як на етапі збереження генетичної інформації (стабілізація пар основ з метою запобігання їхньої модифікації), так і під час реплікації ДНК (підтримання ДНК-полімеразою канонічного таутомерного статусу основ, що одночасно поліпшує їхню здатність до комплементарного спарювання). Не виключається також, що протонування атома O2 Cyt пари Gua:Cyt є елементарним механізмом дії білків, відповідальних за розплітання ДНК.

Вступ. У попередній нашій роботі [1] напівемпіричними квантово-хімічними (AM1) розрахунками вперше встановлено, що одноразове протонування основ ДНК, яке не заважає їхньому Вотсон-Криківському спарюванню, суттєво змінює в той чи інший бік у залежності від його місця прототропно таутомерну рівновагу останніх. Так, протонування атомів N3 Ade, O6 і N7 Gua, O2 Cyt і O4 Thy стабілізує канонічну таутомерну форму; високоенергетичні неканонічні таутомери — імінний Ade і енольні Gua і Thy — стабілізуються протонуванням атомів N7 Ade, N3 Gua і O2 Thy. Висловлено припущення, що фіксація канонічних таутомерів основ ДНК вибірково протонуванням бічними залишками лізину, аргініну і гістидину може використовуватися ДНК-полімеразою для мінімізації спонтанних помилок біосинтезу ДНК, спричинених прототропною таутомерією основ, на стадії, що передує їхньому спарюванню у центрі розпізнавання правильних пар полімерази [1].

© А. Л. ПОТЯГАЙЛО, Д. М. ГОВОРУН, 2002

Спираючись на ці дані, а також на результати роботи [2], присвяченої теоретичному дослідженню зовнішнього протонування Вотсон-Криківських пар нуклеотидних основ Gua:Cyt і Ade:Ura, можна думати, що процеси протонування нуклеїнових кислот основними білками, які несуть на собі надлишковий позитивний заряд, мають багатоплановий, з точки зору їхньої можливої біологічної ролі, сенс. Тому вивчення квантово-хімічних засад цих явищ на низькомолекулярних моделях може пролити світло на елементарні фізико-хімічні механізми перебігу таких взаємопов'язаних процесів, як зміцнення Вотсон-Криківських пар основ ДНК гістоновими білками на етапі зберігання генетичної інформації, локальне розплітання ДНК спеціальними білками та підтримання ДНК-полімеразою нуклеотидних основ материнської ДНК і полінуклеотиду, що включається, в канонічній таутомерній формі для мінімізації частоти точкових мутацій, які спричиняються прототропною таутомерією основ.

Ця робота, що є логічним продовженням попередньої праці [1], присвячена квантово-хімічному

дослідженню впливу зовнішнього протонування Вотсон-Криківських пар основ Ade:Thy і Gua:Cyt на енергію їхньої міжмолекулярної взаємодії та на геометричну структуру пар і короткому аналізу можливого біологічного значення цих ефектів.

Матеріали і методи. Геометричні структури класичних (електронейтральних) і одноразово протонуваних Вотсон-Криківських пар основ ДНК Ade:Thy і Gua:Cyt (рис. 1) розраховували методом AM1, який добре зарекомендував себе для подібного класу задач [3], у режимі оптимізації всіх структурних параметрів. Зростання енергії взаємодії основ у парах при їхньому протонуванні ΔE визначали за формулою $\Delta E = E^+ - E$, де E і E^+ — енергія взаємодії нуклеотидних основ у електронейтральній і протонуваній Вотсон-Криківській парі відповідно. При цьому енергію взаємодії основ у парах, утворених непротонуваними і протонуваними основами, обчислювали як різницю між сумарною теплоотою утворення основ — партнерів по взаємодії і теплоотою утворення пари.

Результати і обговорення. Зростання енергії міжмолекулярної взаємодії ΔE (ккал/моль) у Вотсон-Криківських парах основ ДНК Ade:Thy та Gua:Cyt при їхньому одноразовому зовнішньому протонуванні (див. рис. 1) проілюстровано наступними даними (в дужках наведено експериментальні значення енергії Вотсон-Криківської взаємодії основ у вакуумі [4]):

Пара	ΔE
Ade:Thy	0 (13,00)
Ade ⁺ (N7):Thy	4,65
Ade ⁺ (N3):Thy	5,24
Ade:Thy ⁺ (O4)	20,93
Ade:Thy ⁺ (O2)	23,46
Gua:Cyt	0 (21,0)
Gua:Cyt ⁺ (O2)	6,68
Gua ⁺ (N7):Cyt	9,09
Gua ⁺ (O6):Cyt	12,12
Gua ⁺ (N3):Cyt	15,00

Аналіз числових результатів, наведених вище, дозволяє зробити такі висновки.

Одноразове протонування Вотсон-Криківської пари Ade:Thy по будь-якому місцю Ade чи Thy (рис. 1), яке не бере участі у спарюванні основ, призводить до значної її стабілізації. Пари щодо своєї стабільності утворюють ряд: Ade:Thy⁺(O2) > Ade:Thy⁺(O4) > Ade⁺(N3):Thy > Ade⁺(N7):Thy > Ade:Thy. При цьому для перших двох пар ряду підвищення стабільності (тобто зростання енергії міжмолекулярної взаємодії основ) значно переви-

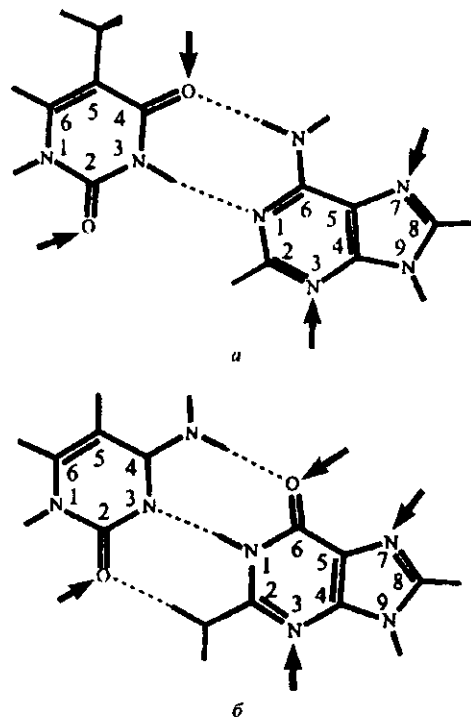


Рис. 1. Класичні Вотсон-Криківські пари основ ДНК та місця їхнього зовнішнього протонування (показані стрілками): а — Ade:Thy; б — Gua:Cyt. Нумерація атомів — стандартна. Тут і на рис. 2 водневі зв'язки зображено пунктирними лініями

щує саму енергію взаємодії в електронейтральній парі, експериментальне значення якої у вакуумі становить 13,0 ккал/моль [4]. Звертає на себе увагу те, що протонування Thy, яке супроводжується перенесенням протона при атомі N3 Thy⁺ на атом N1 Ade і значною деформацією геометричної структури пари, призводить до значно більшого ефекту стабілізації пари, аніж протонування Ade, хоча слід зазначити, що навіть для найменш стабільної пари Ade⁺(N7):Thy виграв у її стабілізації співмірний зі стабільністю непротонуваної пари Ade:Thy.

Одноразове протонування атомів O6 чи N7 Gua або O2 Cyt у складі Вотсон-Криківської пари Gua:Cyt також значно її стабілізує. Однак геометрична структура пари Gua:Cyt⁺(O2) дуже відрізняється від структури пари Gua:Cyt (рис. 2) — вона розкривається (при цьому розриваються два Н-зв'язки N1H...N3 і O2...HN2) і підтримується лише одним Н-зв'язком N4H...O6. За своєю стабільністю пари утворюють ряд: Gua⁺(N3):Cyt > Gua⁺(O6):Cyt > Gua⁺(N7):Cyt > Gua:Cyt⁺(O2) > Gua:Cyt. Зважаючи на експериментальне значен-

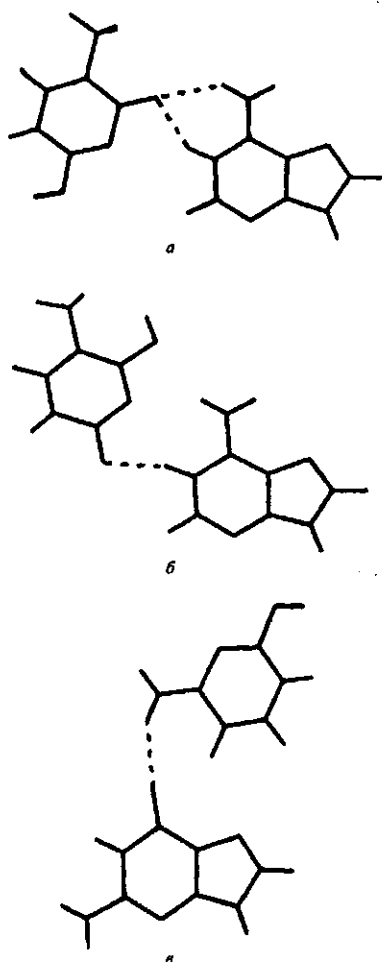


Рис. 2. Геометрична структура протонуваних Вотсон-Криківських пар основ ДНК, яка (за даними методу AM1) найбільше відрізняється від аналогічної структури непротонуваних пар: *a* — Ade:Thy⁺(O2) → Ade⁺(N1):Thy(enolO2H); *б* — Ade:Thy⁺(O4) → Ade⁺(N1):Thy(enolO4H); *в* — Gua:Cyt⁺(O2)

ня енергії взаємодії основ у Вотсон-Криківській парі Gua:Cyt у вакуумі (21,0 ккал/моль [4]), легко переконатися, що й для цієї пари ефект стабілізації співмірний з енергією взаємодії в електронейтральній парі, хоча й не перевищує останньої.

Аналіз величин ΔE , наведених вище (їх треба розглядати як оцінку знизу, оскільки метод AM1, як відомо [3], занижує енергію водневого зв'язування), а також геометричних параметрів Н-зв'язків однозначно вказує на те, що стабілізація пар при їхньому протонуванні досягається за рахунок двох чинників — іонно-дипольної взаємодії і посилення деяких міжмолекулярних Н-зв'язків, причому перший з них є провідним.

Отримані нами результати щодо стабілізації Вотсон-Криківських пар основ ДНК шляхом протонування останніх та збурень їхньої геометричної структури повністю узгоджуються з аналогічними результатами, отриманими методом MNDO/M [2]. Це дозволяє зробити висновок про те, що зафіксований ефект є цілком реальним і не залежить від квантово-хімічного методу, який використовується для його дослідження. Враховуючи біологічну значущість явища, яке розглядається, плануємо найближчим часом повторити розрахунки методом *ab initio* на рівні теорії HF/6-31G(d, p).

Одержані в цій праці результати разом з нашими попередніми даними на аналогічну тематику [1] дозволяють зробити деякі припущення стосовно можливої біологічної ролі процесів, пов'язаних з протонуванням основ ДНК та їхніх Вотсон-Криківських пар.

Не виключено, що протонування нуклеотидних основ та їхніх пар є багатофункціональним фізико-хімічним інструментом, який може використовуватися білками як на етапі збереження генетичної інформації, так і під час реплікації ДНК. У першому випадку існує потреба стабілізувати Вотсон-Криківські пари основ аби запобігти їхній модифікації. В другому — виникає необхідність зафіксувати канонічну таутомерну форму основ ДНК, не погіршуючи при цьому їхньої здатності до Вотсон-Криківського спарювання. Вочевидь, більшість з розглянутих нами варіантів протонування основ [1] та їхніх пар задовольняє цим вимогам, проте найімовірнішим з них є лише два — протонування Ade і Gua по атомах азоту N3 і N7 відповідно. Не виключено також, що протонування атома O2 Cyt Вотсон-Криківської пари Gua:Cyt є елементарним фізико-хімічним механізмом, який забезпечує функціонування білків, відповідальних за розплітання ДНК.

A. L. Potyahaylo, D. M. Hovorun

Stabilization of Watson-Crick base pairs of DNA by protonation: quantum-chemical study

Summary

By means of semi-empirical quantum-chemical method AM1 the protonation of Watson-Crick base pairs at the positions that don't participate in H-binding has been found to stabilize these pairs. The greatest effect has been observed upon the protonation of Thy O2 and O4 atoms of the pair Ade:Thy with the proton transfer from Thy N3 to Ade N1 and significant changes in the pair geometrical structure. The maximal geometrical changes occur in the pair Gua:Cyt (O2) which opens, being stabilized by only one H-bond N4H...O6 (two other H-bonds are broken). The protonation of DNA bases and their Watson-Crick pairs is assumed to be a multifunctional physico-chemical mechanism, which is possibly used for both preservation of genetic information (DNA base pairs' sta-

bilization to prevent their modification) and DNA replication (DNA-polymerase provides base pairs with canonical status that improves at the same time their ability for complementary pairing). Besides, the protonation of Cyt O2 atom in the pair Gua:Cyt is likely to be a common mechanism of action of proteins responsible for DNA untwisting.

А. Л. Потягайло, Д. Н. Говорун

Стабилизация Уотсон-Криковских пар оснований ДНК протонированием: квантово-химическое исследование

Резюме

Полуэмпирическим квантово-химическим методом AM1 установлено, что однократное протонирование Уотсон-Криковских пар оснований ДНК по местам, не участвующим в водородном связывании, повышает их стабильность. Наибольший эффект наблюдается при протонировании атомов O2 и O4 Thy пары Ade:Thy — он сопровождается перенесением протона от атома N3 Thy⁺ к атому N1 Ade и существенным изменением геометрической структуры пары. Максимальные геометрические изменения имеют место для пары Gua:Cyt⁺ (O2), которая раскрывается, стабилизируясь при этом лишь одной водородной связью N4H...Ob (две другие H-связи при этом разрываются). Впервые высказано предположение, что протонирование оснований ДНК и их Уотсон-Криковских пар является полифункциональным физико-химическим механизмом, который может использоваться белками как на этапе хранения

генетической информации (стабилизация пар оснований ДНК для предотвращения их модификации), так и во время репликации ДНК (поддержание ДНК-полимеразой канонического таутомерного статуса нуклеотидных оснований, одновременно улучшающее способность последних к комплементарному спариванию). Не исключается также, что протонирование атома O2 Cyt пары Gua:Cyt является элементарным механизмом действия белков, ответственных за расплетание ДНК.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Потягайло А. Л., Говорун Д. М. Регуляція прототропної таутомерії основ ДНК протонуванням: результати квантово-хімічного дослідження // Біополімери і клітина.— 2002.—18, № 2.—С. 174—176.
2. Войтюк А. А., Близнюк А. А. Влияние протонирования оснований нуклеиновых кислот на энергию образования Уотсон-Криковских пар // Молекуляр. биология.— 1988.— 22, № 4.—С. 1080—1086.
3. Говорун Д. М. Фізико-хімічні механізми біомолекулярного впізнавання: Автореф. дис. д-ра біол. наук.—Київ: ІМБіГ НАН України, 1999.—34 с.
4. Веркин Б. И., Янсон И. К., Суходуб Л. Ф., Теплицкий А. Б. Взаимодействие биомолекул. Новые экспериментальные подходы и методы.—К.: Наук. думка, 1985.—164 с.

УДК 573.3

Надійшла до редакції 15.02.02