



УДК 577.3

© 2008

О. С. Кочіна, Р. О. Жураківський, член-кореспондент НАН України
Д. М. Говорун

**Вплив таутомеризації нуклеотидних основ
на конформаційні властивості нуклеозидів:
квантово-механічне дослідження методом функціонала
густини**

Firstly, the influence of DNA nucleobase tautomeric status change on conformational and energetic properties of canonical nucleosides — 2'-deoxyadenosine (dAdo), 2'-deoxyguanosine (dGuo), 2'-deoxycytidine (dCyd), and 2'-deoxythymidine (dThd) is studied by the quantum-mechanical DFT method with B3LYP/6-31G(d, p) basis set. It is determined that tautomeric transitions in purine nucleosides are almost influenceless on a sugar residue conformation and its orientation against nucleobase. On the other hand, this effect is strong enough in pyrimidine nucleosides, and its trend is clearly defined.

Вважається, що таутомеризація нуклеотидних основ є однією з фундаментальних причин нестабільності геному, яка виникає через спонтанні точкові помилки під час ензиматичної реплікації ДНК. Вперше цю гіпотезу висунули Вотсон і Крик [1], а Топал і Фреско її якісно обґрунтували в роботі [2]. Згодом вона знайшла своє експериментальне підтвердження (див. бібліографію у [3]).

Структурні характеристики спонтанних точкових помилок реплікації ДНК, спричинених таутомеризацією нуклеотидних основ, вперше досліджено методами прикладної квантової механіки у статті [4]. Показано, що пари основ ДНК, утворені за участю рідкісних таутомерів, квазіізоморфні класичним вотсон-криківським парам і мають однакове просторове розміщення інваріантних атомних груп N3 і O2, які розпізнаються в активному центрі реплікативної ДНК-полімерази [5]. Це означає, що полімераза сприймає пари основ, утворені за участю рідкісних таутомерів, як правильні вотсон-криківські, припускаючись тим самим помилок. Їхня імовірність визначається в рамках такої моделі імовірністю появи рідкісних таутомерів “на вході” в активний центр реплікативної полімерази.

Водночас такі модельні уявлення нехтують конформаційними змінами, пов'язаними із власне конформацією цукрового залишку та його орієнтацією стосовно основи, що можуть виникати при таутомеризації останньої. Цей структурний фактор не можна не брати до

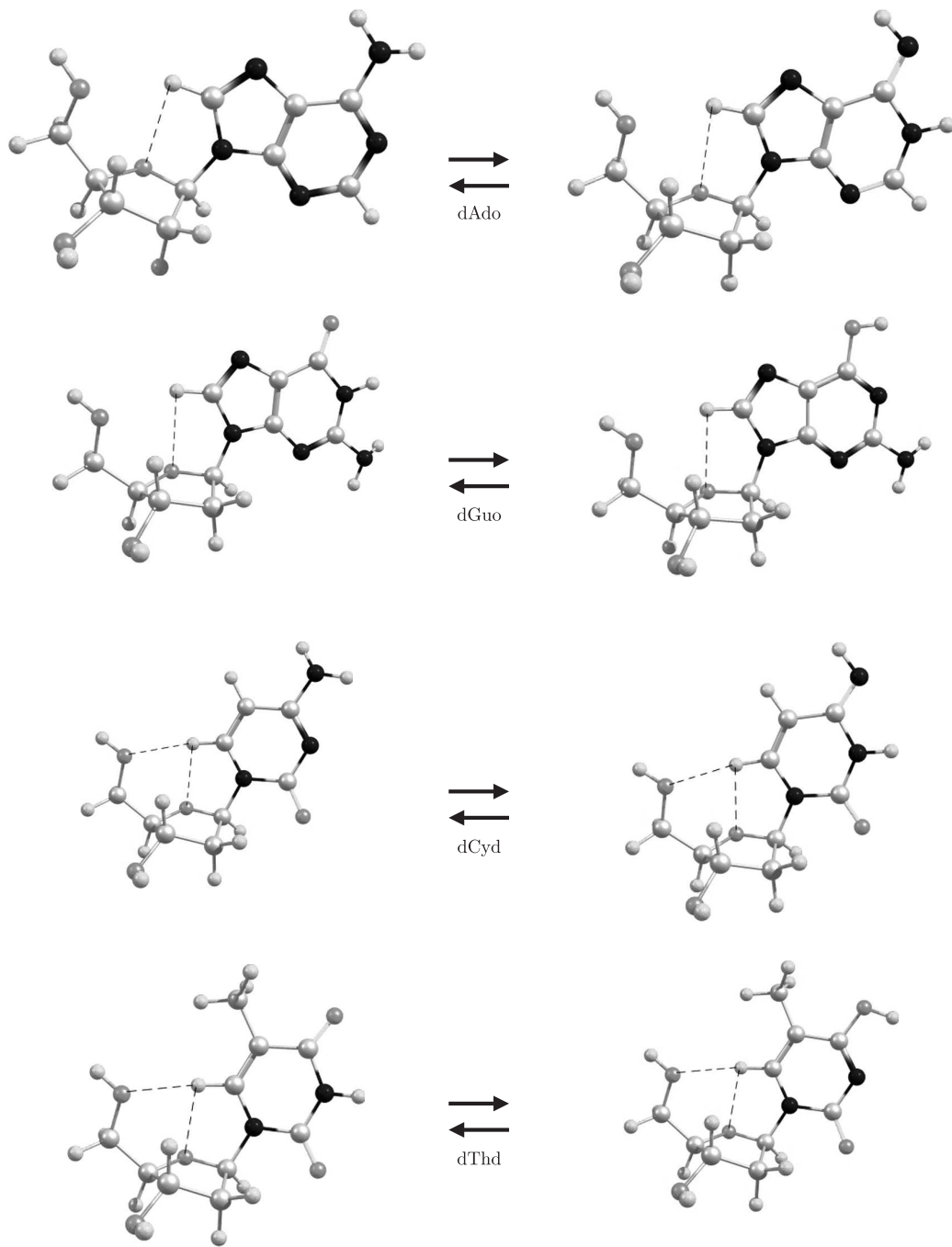


Рис. 1. ДНК-подібні нуклеозиди у основній та рідкісній таутомерних формах, що відповідають А-формі ДНК (цукровий залишок знаходиться у С3'-endo конформації)

уваги, бо реплікативна ДНК-полімераза розпізнає не тільки просторову “архітектуру” пар основ, а й конформацію цукрово-фосфатного кістяка (див. [6] і наведену там бібліографію).

Ця праця присвячена дослідженню конформаційних збурень, які виникають при таутомеризації нуклеотидних основ, квантово-механічним методом функціонала густини. При цьому об’єктом дослідження були канонічні 2'-дезоксирибонуклеозиди — дезоксиадено-

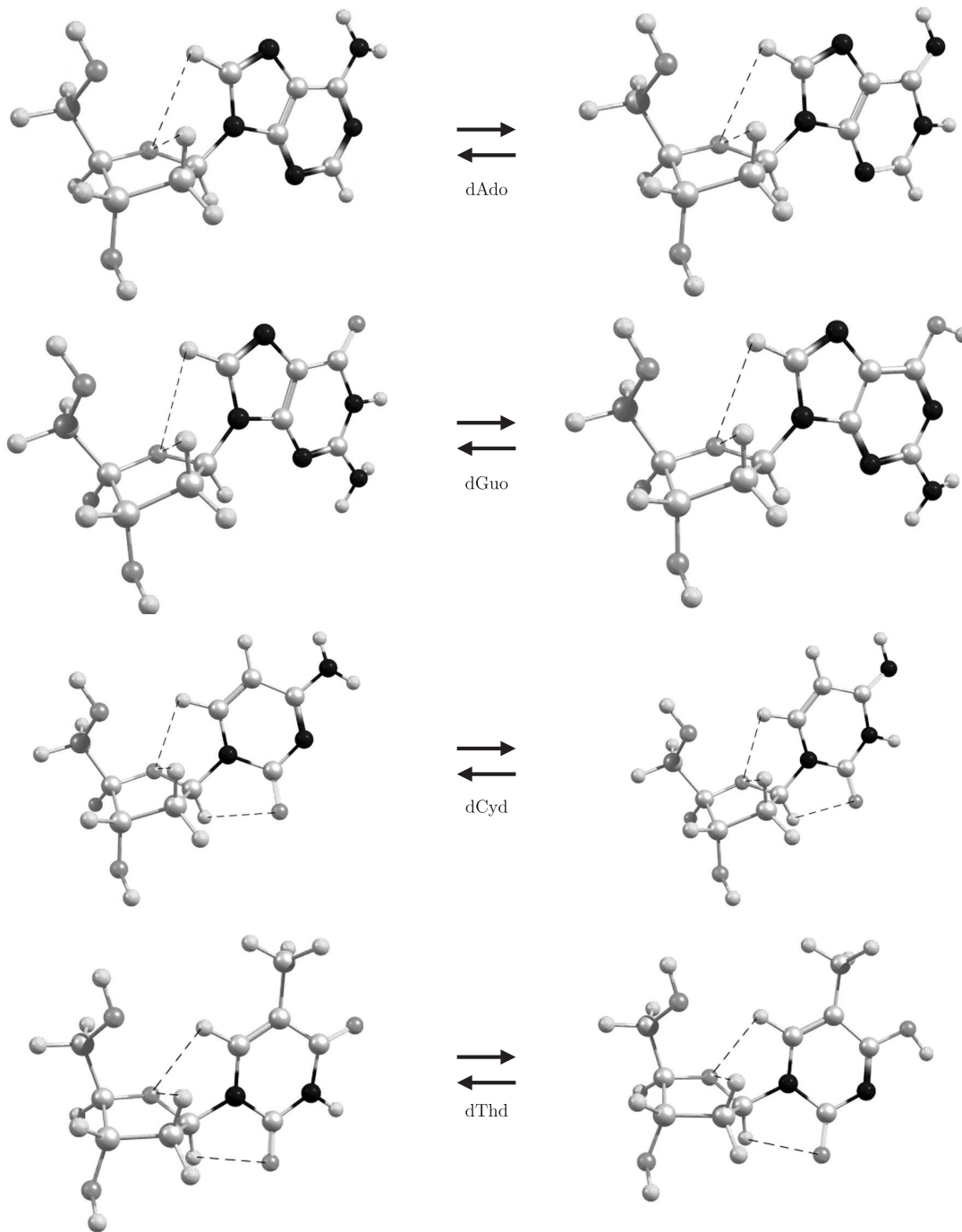


Рис. 2. ДНК-подібні нуклеозиди у основній та рідкісній таутомерних формах, що відповідають В-формі ДНК (цукровий залишок знаходиться у С2'-endo конформації)

зин (dAdo), дезоксигуанозин (dGuo), дезоксицитидин (dCyd) і дезокситимідин (dThd) у ДНК-подібних (класичні А- і В-форми) конформаціях [7]. У випадку Cyt і Ade аналізували аміно-імінну, а у випадку Gua і Thy — кето-енольну таутомерію (рис. 1, 2), яка має найтісніше відношення до спонтанних точкових мутацій ДНК. Як показали наші попередні

дослідження [8–11], кожен канонічний 2'-дезоксирибонуклеозид має лише дві ДНК-подібні конформації — одна з них відповідає А-, інша В-формі ДНК. Таким чином, досліджувані нуклеозиди мають такі спільні характеристики: $\chi \in anti$, $P \in C2'$ -endo (В-форма) та $C3'$ -endo (А-форма), $\beta' \in t$, $\gamma \in g^+$, $\varepsilon' \in t$.

Методика дослідження. Для визначення властивості нуклеозидів було використано теорію функціонала густини (DFT) із застосуванням гібридного обмінно-кореляційного функціонала електронної густини в узагальненому градієнтному наближенні B3LYP [12]. Для оптимізації геометрії було використано набір базисних функцій 6-31G(d, p). Усі зоптимізовані конформації перевірені на стійкість за відсутністю уявних частот в їхніх коливальних спектрах. Коливальні спектри отримані на згаданому рівні теорії.

Наявність внутрішньомолекулярних Н-зв'язків встановлювали методом аналізу топології електронної густини за Бейдером [13]. Хвильові функції для аналізу розподілу електронної густини розраховували на рівні теорії DFT B3LYP/6-31G(d, p). Використані в роботі позначення номенклатурних конформаційних змінних — стандартні [14].

За стартові було використано геометрії нуклеозидів із баз даних конформерів, отриманих у роботах [8–11], такі, що мають значення набору кутів β , γ , ε , які узгоджуються із значеннями цих кутів у природних молекулах ДНК.

Усі квантово-механічні розрахунки проведено з використанням програмного пакету GAUSSIAN03' для платформи Win32 [15].

Результати та їх обговорення. З отриманих результатів було встановлено, що таутомерні переходи у пуринових нуклеозидах (dAdo (аміно) \rightarrow dAdo (іміно), dGuo (кет) \rightarrow dGuo (енол)) практично не впливають на конформацію цукрового залишку та його орієнтацію відносно основи (табл. 1): величини структурних збурень при цьому не перевищують різниці між відповідними структурними параметрами dAdo(аміно) і dGuo(кет). У піримідинових нуклеозидах цей вплив істотний, але характер структурних збурень такий (найістотніших змін при цьому зазнає торсійний кут χ , що описує орієнтацію основи стосовно цукрового залишку), що конформації рідкісних таутомерів dCyd (іміно) і dThd (енол) мало відрізняються від конформацій канонічних таутомерів нуклеозидів dThd (кет) і dCyd (аміно) відповідно, які вони імітують при спарюванні.

Аналіз внутрішньомолекулярних водневих зв'язків (див. рис. 1, 2; табл. 2) свідчить про те, що перехід нуклеотидних основ у складі нуклеозиду в рідкісну форму не має жодного впливу на кількісне та якісне розташування Н-зв'язків, а також практично не впливає на їх електронні характеристики. Це свідчить про те, що нуклеозиди, основи яких знаходяться у рідкісній формі, за допомогою системи водневих зв'язків зберігають просторову орієнтацію цукру стосовно основи (кут χ) канонічних нуклеозидів і тим самим унеможливають розпізнавання та виявлення помилки в активному центрі реплікативної ДНК-полімерази.

Також можна зазначити, що нуклеозиди, цукровий залишок яких знаходиться у $C2'$ -endo конформації, утворюють більше внутрішньомолекулярних Н-зв'язків, ніж відповідні нуклеозиди з цукром у $C3'$ -endo конформації.

Згідно з отриманими результатами, зроблено висновок про квазіізоморфність Вотсон-Криківських пар нуклеозидів та пар нуклеозидів, утворених за участю рідкісних таутомерів, які імітують канонічні пари. Його можна розцінювати, враховуючи сучасні уявлення про молекулярні механізми точності біосинтезу ДНК, як квантово-хімічне підтвердження на вищому (нуклеозидному) структурному рівні класичної гіпотези Вотсона і Крика щодо ролі прототропних перетворень нуклеотидних основ як джерела спонтанних точкових мутацій ДНК при її реплікації.

Насамкінець зазначимо, що отримані результати є цілком адекватними і не залежать від рівня використаної теорії. Сильніша залежність конформаційних властивостей піримідинових нуклеозидів у порівнянні з пуриновими пояснюється тим, що в них електронне

Таблиця 1. Структурні характеристики нуклеозидів (2'-дезоксааденозину, 2'-дезоксигуанозину, 2'-дезоксцитидину та 2'-дезокситимідину) у ДНК-подібних конформаціях у основній (непарні рядки) та рідкісній (парні рядки) таутомерних формах

Структурні параметри, градуси	dAdo		dGuo		dCyd		dThd	
	C2'-endo	C3'-endo	C2'-endo	C3'-endo	C2'-endo	C3'-endo	C2'-endo	C3'-endo
χ	-125,5	-153,3	-123,0	-149,2	-145,8	-163,0	-129,5	-158,8
	-124,5	-149,5	-123,5	-151,0	-128,5	-159,1	-144,9	-163,2
β'	174,6	172,2	171,8	167,2	178,7	178,0	176,2	175,6
	173,6	168,7	172,6	169,2	176,2	175,4	178,8	178,3
γ	50,7	51,3	49,7	49,9	54,0	54,1	51,3	52,9
	50,1	50,2	50,1	50,7	51,5	53,1	53,9	54,2
δ	145,0	85,1	145,2	85,5	142,0	83,7	142,7	84,0
	145,1	85,6	145,0	85,3	142,6	84,0	142,1	83,8
ε'	173,9	192,7	175,4	195,5	169,8	187,4	174,1	191,2
	174,9	194,8	174,7	194,0	173,9	190,3	171,0	188,5
P	172,1	9,8	172,5	11,0	163,8	12,3	164,7	13,7
	172,3	10,6	172,1	10,6	165,0	13,6	164,0	12,0
ν_{\max}	33,4	34,0	33,4	33,5	34,3	34,4	34,4	34,2
	33,4	33,8	33,4	33,7	34,2	34,1	34,0	34,5
ν_0	-15,3	5,5	-15,0	4,5	-20,0	3,9	-19,7	3,0
	-15,1	4,8	-15,2	4,8	-19,4	3,0	-19,8	4,0
ν_1	30,5	-25,1	30,3	-24,8	33,2	-24,2	33,1	-23,8
	30,4	-24,2	30,4	-24,4	33,0	-23,4	32,9	-24,3
ν_2	-33,1	33,6	-33,1	32,9	-33,0	33,7	-33,2	33,2
	-33,1	32,9	-33,1	33,1	-33,0	33,2	-32,7	33,7
ν_3	25,1	-31,3	25,3	-31,1	22,2	-32,3	22,7	-32,3
	25,2	-30,9	25,1	-31,2	22,7	-32,3	22,2	-32,3
ν_4	-6,4	16,7	-6,7	17,1	-1,5	18,3	-2,0	18,9
	-6,5	16,9	-6,4	17,0	-2,2	18,9	-1,7	18,2

Таблиця 2. Порівняння електронних характеристик водневих зв'язків в основній (непарні рядки) та рідкісній (парні рядки) таутомерних формах дезоксирибонуклеозидів

Нуклеозид	H-зв'язок	P	$-\Delta\rho/4$	H-зв'язок	P	$-\Delta\rho/4$	H-зв'язок	ρ	$-\Delta\rho/4$
dCyd 3'-endo	C6H...O5'	0,014	-0,010	C6H...O4'	0,018	-0,019			
		0,014	-0,010		0,017	-0,019			
dCyd 2'-endo	C6H...O5'	0,009	-0,007	C2'H...O5'	0,008	-0,008	C1'H...O2	0,020	-0,020
		0,012	-0,008		0,009	-0,008		0,019	-0,019
dThd 3'-endo	C6H...O5'	0,014	-0,010	C6H...O4'	0,017	-0,018			
		0,014	-0,010		0,018	-0,019			
dThd 2'-endo	C6H...O5'	0,011	-0,008	C2'H...O5'	0,009	-0,009	C1'H...O2	0,019	-0,019
		0,009	-0,007		0,008	-0,008		0,019	-0,020
dAdo 3'-endo	C8H...O5'	0,014	-0,010						
		0,014	-0,010						
dAdo 2'-endo	C8H...O5'	0,009	-0,007	C2'H...O5'	0,010	-0,009			
		0,009	-0,007		0,010	-0,009			
dGuo 3'-endo	C8H...O5'	0,014	-0,010						
		0,014	-0,010						
dGuo 2'-endo	C8H...O5'	0,009	-0,007	C2'H...O5'	0,010	-0,009			
		0,009	0,007		0,010	-0,009			

збурення, що супроводжує таутомеризацію, передається на цукровий залишок безпосередньо, а не через імідазолне кільце, як це має місце в пуринових нуклеозидах.

Таким чином, отримані результати є, на наш погляд, ще одним свідченням еволюційно відшліфованої молекулярної логіки живого, а саме — використання таутомерії основ ДНК як іманентного чинника мобільності геному.

Автори висловлюють щире подяку корпорації “GAUSSIAN” (США) за люб’язно наданий грант — програмний пакет GAUSSIAN03 для платформи Win32, а також Є. П. Юренку за технічну допомогу та увагу до роботи.

1. Watson J. D., Crick F. H. C. The structure of DNA // Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol. – 1953. – **18**. – P. 123–131.
2. Topal M. D., Fresco J. R. Complementary base pairing and the origin of substitution mutations // Nature. – 1976. – **263**. – P. 285–289.
3. Harris V. H., Smith C. L., Cummins W. J. et al. The effect of tautomeric constant on the specificity of nucleotide incorporation during DNA replication: support for the rare tautomer hypothesis of substitution mutagenesis // J. Mol. Biol. – 2003. – **326**. – P. 1389–1401.
4. Danilov V. I., Anisimov V. M., Kurita N., Hovorun D. M. MP2 and DFT studies of the DNA rare base pairs: The molecular mechanism of the spontaneous substitution mutations conditioned by tautomerism of bases // Chem. Phys. Lett. – 2005. – **412**. – P. 285–293.
5. Kool E. T. Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication // Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct. – 2001. – **30**. – P. 1–22.
6. Yurenko Y. P., Zhurakivsky R. O., Ghomi M. et al. Comprehensive conformational analysis of the nucleoside analogue 2'-beta-deoxy-6-azacytidine by DFT and MP2 calculation // J. Phys. Chem. B. – 2007. – **111**, No 22. – P. 6263–6271.
7. Foloppe N., MacKerell Jr. Intrinsic conformational properties of deoxyribonucleosides: implicated role for cytosine in the equilibrium among the A, B, and Z forms of DNA // Biophys J. – 1999. – **76**. – P. 3206–3218.
8. Жураківський Р. О., Говорун Д. М. Вичерпний конформаційний аналіз 2'-дезокситимідину квантово-хімічним методом функціоналу густини // Україн. Біоорган. Акта. – 2006. – **4**, № 2. – P. 56–63.
9. Жураківський Р. О., Говорун Д. М. Вичерпний конформаційний аналіз канонічного нуклеозиду 2'-дезокситимідину квантово-механічним методом функціоналу густини // Фізика живого. – 2006. – **14**, № 3. – С. 35–48.
10. Жураківський Р. О., Говорун Д. М. Повний конформаційний аналіз дезоксиаденозину квантово-хімічним методом функціоналу густини // Біополімери і клітина. – 2007. – **23**, № 1. – С. 45–53.
11. Жураківський Р. О., Говорун Д. М. Повний конформаційний аналіз молекули 2'-дезоксигуанозину квантово-механічним методом функціоналу густини // Доп. НАН України. – 2007. – № 4. – С. 187–196.
12. Parr R. G., Yang W. Density Functional Theory of Atoms and Molecules. – New York: Oxford Univ. Press, 1989.
13. Бейдер Р. Атомы в молекулах. Квантовая теория. – Москва: Мир, 2001. – 532 с.
14. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. – Москва: Мир, 1987. – 584 с.
15. Gaussian 03, Revision C. 02, Frisch M. J.; Trucks G. W.; Schlegel H. B.; Scuseria G. E.; Robb M. A.; Cheeseman J. R.; Montgomery Jr. J. A.; Vreven T.; Kudin K. N.; Burant J. C.; Millam J. M.; Iyengar S. S.; Tomasi J.; Barone V.; Mennucci B.; Cossi M.; Scalmani G.; Rega N.; Petersson G. A.; Nakatsuji H.; Hada M.; Ehara M.; Toyota K.; Fukuda R.; Hasegawa J.; Ishida M.; Nakajima T.; Honda Y.; Kitao O.; Nakai H.; Klene M.; Li X.; Knox J. E.; Hratchian H. P.; Cross J. B.; Bakken V.; Adamo C.; Jaramillo J.; Gomperts R.; Stratmann R. E.; Yazyev O.; Austin A. J.; Cammi R.; Pomelli C.; Ochterski J. W.; Ayala P. Y.; Morokuma K.; Voth G. A.; Salvador P.; Dannenberg J. J.; Zakrzewski V. G.; Dapprich S.; Daniels A. D.; Strain M. C.; Farkas O.; Malick D. K.; Rabuck A. D.; Raghavachari K.; Foresman J. B.; Ortiz J. V.; Cui Q.; Baboul A. G.; Clifford S.; Cioslowski J.; Stefanov B. B.; Liu G.; Liashenko A.; Piskorz P.; Komaromi I.; Martin R. L.; Fox D. J.; Keith T.; Al-Laham M. A.; Peng C. Y.; Nanayakkara A.; Challacombe M.; Gill P. M. W.; Johnson B.; Chen W.; Wong M. W.; Gonzalez C.; and Pople J. A.; Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.

*Інститут молекулярної біології
та генетики НАН України, Київ
Київський національний університет
ім. Тараса Шевченка*

Надійшло до редакції 12.02.2007