



УДК 577.3

© 2010

О. О. Броварець, член-кореспондент НАН України Д. М. Говорун

Скількома символами записується генетична інформація в ДНК?

З використанням сучасних неемпіричних методів прикладної квантової механіки вперше встановлено, що найімовірнішими претендентами на роль додаткових генетичних символів є мутагенні таутомери Gua^ і Cyt^* , а також Thy^* , який діє як інтермедіат при перетворенні Вобл-пари $Gua \cdot Thy$ у пару $Gua^* \cdot Thy$, квазіізоморфну вотсон-криківським парам. Отримані результати вкотре підтверджують думку про те, що саме Ade є еволюційно найвіддаленішим генетичним символом.*

Нестабільність геному, яка має не лише еволюційну цінність, є вкрай важливим біологічним феноменом [1, 2], природу якого продовжують інтенсивно досліджувати, зокрема біофізичними методами.

В одній з попередніх наших праць [3] висловлено цікаве з біологічної точки зору припущення про те, що для запису генетичної інформації в ДНК використовується не чотири, як це традиційно вважають, а вісім символів: чотири нуклеотидні основи в канонічній таутомерній формі — аденін (Ade), гуанін (Gua), цитозин (Cyt) і тимін (Thy) та чотири їхні рідкісні, мутагенні таутомери — Ade^* , Gua^* , Cyt^* і Thy^* .

У цій роботі з використанням сучасних неемпіричних методів прикладної квантової механіки висловлене припущення обґрунтовується на підставі результатів досліджень електронної та геометричної комплементарності генетичних пуринових і піримідинових символів, ізоморфності та динамічної стійкості усіх можливих пуриново-піримідинових пар основ, які можуть бути інкорпоровані в структуру подвійної спіралі ДНК. Згідно з проведеним нами аналізом, додатковими генетичними символами, найімовірніше, є Gua^* і Cyt^* , а також Thy^* , який відіграє роль інтермедіату при перетворенні Вобл-пари $Gua \cdot Thy$ у пару $Gua^* \cdot Thy$, квазіізоморфну вотсон-криківським парам. Отримані результати вкотре підтверджують існуючу думку про те, що саме Ade є еволюційно найвіддаленішим генетичним символом [4].

Об'єкти і методи дослідження. У роботі використовували найпростіші з фізичної точки зору структури-символи, що відповідають за записування генетичної інформації в ДНК — воднево-зв'язані пари нуклеотидних основ за участю рідкісних таутомерів $Cyt^* \cdot Ade$, $Cyt \cdot Ade^*$, $Thy \cdot Gua^*$ і $Thy^* \cdot Gua$.

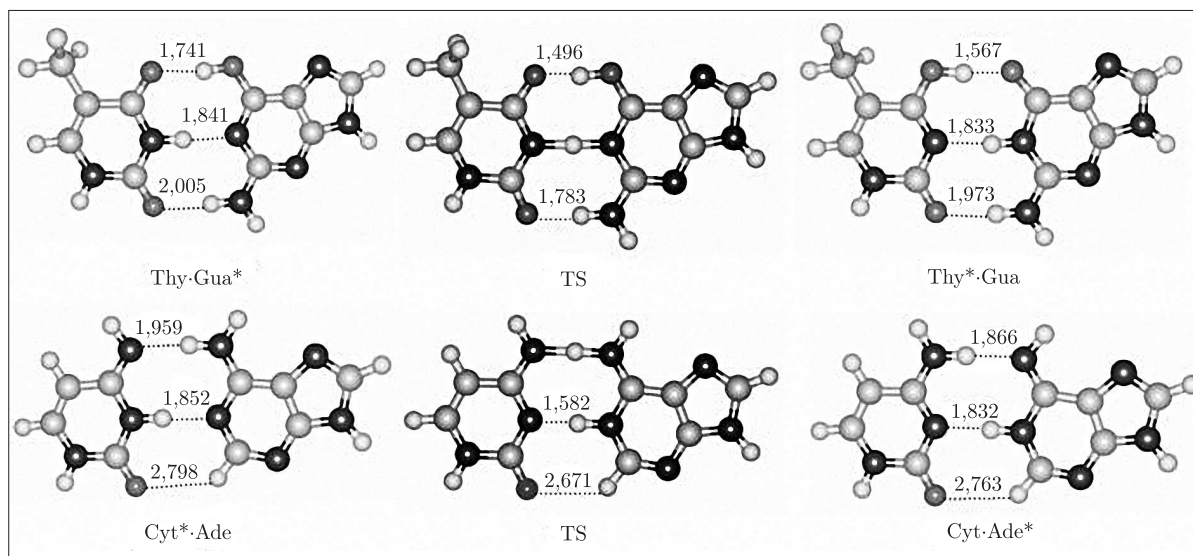


Рис. 1. Геометрична структура пар основ ДНК за участю рідкісних мутагенних таутомерів та перехідних станів їхнього взаємоперетворення. Міжмолекулярні Н-зв'язки АН...В зображено пунктиром, а їхні довжини Н...В подано в Å

Квантово-механічні розрахунки геометричної та електронної будови досліджуваних об'єктів проводили на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++G(d, p) у вакуумному наближенні.

Усі зоптимізовані структури перевіряли на стійкість за відсутності уявних частот у їхніх коливальних спектрах, які отримували в гармонічному наближенні. Електронну енергію взаємодії в комплексах визначали на рівні теорії MP2/6-311++G(2df, pd)//B3LYP/6-311++G(d, p) з урахуванням так званої BSSE-поправки на базисний набір функцій [5]. Квантово-механічні розрахунки виконували з використанням програмного пакета "GAUSSIAN03" для платформи Win32 [6].

Міжмолекулярні водневі (Н) зв'язки ідентифікували методом аналізу топології електронної густини [7], використовуючи хвильові функції, отримані на рівні теорії B3LYP/6-311++G(d, p). Топологію електронної густини аналізували за допомогою програмного пакета AIM2000.

Перехідні стани таутомеризації локалізували за методом STQN [8, 9] на рівні теорії MP2/6-311++G(2df, pd)//B3LYP/6-311++G(d, p). Енергію класичних міжмолекулярних Н-зв'язків визначали за методом Йогансена [9], що ґрунтується на зсуві частоти валентних коливань атомних груп — донорів Н-зв'язку, використовуючи при цьому вибіркоче дейтерування для усунення механічних резонансів. Енергію Н-зв'язків C2H...O2 визначали за формулою, запропонованою авторами роботи [11].

Результати дослідження та їхнє обговорення. При аналізі одержаних результатів (рис. 1, табл. 1–3) ми будемо використовувати близькі за фізичною суттю дані, наведені в попередніх наших роботах [3, 12].

Досліджені генетичні символи об'єднуються у вісім можливих пуриново-піримідинових пар Cyt*·Ade, Cyt·Ade*, Thy·Gua*, Thy*·Gua, Ade*·Thy*, Cyt*·Gua*, Ade·Thy і Cyt·Gua, виявляючи при цьому електронну та геометричну комплементарність. Дійсно, кожна із цих пар без винятку стабілізується трьома Н-зв'язками, найслабшими з-поміж яких є зв'язки C2H...O2 (табл. 1). Цікаво, що лише в парах за участю Ade і Thy в канонічній таутомерній

формі (Ade · Thy, Cyt* · Ade, Thy · Gua*) сумарна енергія трьох Н-зв'язків практично збігається з величиною електронної енергії взаємодії (табл. 2; див. також табл. 1 і 2 у роботах [3] та [12] відповідно). У інших парах (Cyt · Ade*, Thy* · Gua) сумарна енергія Н-зв'язків, які їх стабілізують, лежить в межах 67,2–71,8% від енергії електронної взаємодії E_{int} . Крім то-

Таблиця 1. Електронно-топологічні, геометричні, спектрально-коливальні та енергетичні характеристики міжмолекулярних водневих зв'язків у досліджених парах основ ДНК

Пари	Н-зв'язок АН...В	ρ , ат. од.	$\Delta\rho$, ат. од.	$100 \cdot \varepsilon$	$d_{\text{A...B}}$, Å	$d_{\text{H...B}}$, Å	$\angle\text{АН...В}$, град.	$\Delta d_{\text{АН}}$, Å	$-\Delta\nu$, см ⁻¹	$E_{\text{НВ}}$, ккал/моль
Cyt* · Ade	N6H...N4	0,029	0,083	7,60	2,987	1,959	173,8	0,021	375,1	6,04
	N3H...N1	0,039	0,092	6,64	2,895	1,852	178,9	0,031	556,5	7,50
	C2H...O2	0,005	0,016	1,86	3,884	2,798	133,1	0,00021	-6,0	0,89
Cyt · Ade*	N4H...N6	0,037	0,091	7,18	2,907	1,866	176,2	0,033	571,7	7,61
	N1H...N3	0,040	0,097	6,89	2,871	1,832	180,0	0,027	490,4	7,00
	C2H...O2	0,005	0,017	1,63	3,848	2,763	132,2	0,00005	-9,0	0,96
Thy · Gua*	O6H...O4	0,039	0,125	2,67	2,730	1,741	171,4	0,02	410,0	6,34
	N3H...N1	0,040	0,091	6,17	2,889	1,841	175,9	0,035	618,9	7,94
	N2H...O2	0,022	0,079	5,81	3,019	2,005	177,7	0,007	134,9	3,21
Thy* · Gua	O4H...O6	0,062	0,146	2,06	2,589	1,567	173,1	0,053	975,0	10,09
	N1H...N3	0,040	0,100	6,31	2,868	1,833	172,1	0,023	421,0	6,44
	N2H...O2	0,023	0,083	5,67	2,993	1,973	174,4	0,011	189,5	4,04

Примітка. ρ і $\Delta\rho$ — електронна густина і лапласіан електронної густини в критичній точці відповідно; ε — еліптичність; $E_{\text{НВ}}$ — енергія Н-зв'язку; $d_{\text{A...B}}$, $d_{\text{H...B}}$ — відстань між атомами А і В та Н і В відповідно, які беруть участь у Н-зв'язку; $\angle\text{АН...В}$ — кут Н-зв'язування; $\Delta\nu$ — зсув частоти валентного коливання $\nu(\text{АН})$ при втягуванні групи АН у Н-зв'язок; $\Delta d_{\text{АН}}$ — подовження хімічного зв'язку АН при утворенні Н-зв'язку АН...В.

Таблиця 2. Енергетичні характеристики досліджуваних пар основ ДНК

Пари	$-E_{\text{int}}$, ккал/моль	$-\Sigma E_{\text{НВ}}/E_{\text{int}}$, %	$\Delta\Delta G_{\text{TS}}$, ккал/моль	$\Delta\Delta G$		ΔG , ккал/моль
				ккал/моль	см ⁻¹	
Cyt* · Ade	14,32	100,2	7,85	3,85	1208,9	0
Cyt · Ade*	21,92	71,8	7,85	3,85	1208,9	4,00
Thy · Gua*	17,51	100,0	2,44	1,16	377,0	0
Thy* · Gua	30,63	67,2	2,44	1,16	377,0	1,29

Примітка: E_{int} — електронна енергія взаємодії; $\Sigma E_{\text{НВ}}$ — сумарна енергія внутрішньопарних Н-зв'язків (див. табл. 1); $\Delta\Delta G_{\text{TS}}$ — енергетичний бар'єр таутомеризації; $\Delta\Delta G$ — зворотний енергетичний бар'єр таутомеризації; ΔG — відносна енергія таутомеризованого комплексу.

Таблиця 3. Вибрані геометричні характеристики усіх можливих пар основ ДНК за участю канонічних та рідкісних таутомерів

Пари	$\angle F1$, град.	$\angle F2$, град.	R , Å
Ade · Thy	54,2	54,7	10,1
Ade* · Thy*	50,9	53,3	10,1
Ade · Cyt*	55,3	57,2	10,1
Ade* · Cyt	55,3	58,2	10,0
Gua* · Thy	51,5	51,1	10,3
Gua · Thy*	50,7	52,2	10,2
Gua · Cyt	53,1	55,1	10,2
Gua* · Cyt*	51,9	52,5	10,3

Примітка. $\angle F1$ — кут N9НН; $\angle F2$ — кут N1НН; Н-атом водню при глікозидному атомі азоту; R — відстань між глікозидними атомами водню комплементарних основ.

го, усі ці пари є квазіізоморфними, тобто мають близькі геометричні розміри (табл. 3) та подібне розміщення інваріантних атомних груп N3 і O2 мінорної борозенки ДНК.

Отже, у сенсі електронної і геометричної комплементарності та квазіізоморфності пуриново-піримідинові пари за участю мутагенних таутомерів принципово не відрізняються від класичних вотсон-криківських пар Ade·Thy і Gua·Cyt. Водночас пари Thy*·Gua, Cyt·Ade*, Ade*·Thy* і Gua*·Cyt* є динамічно нестійкими (див. табл. 2, а також табл. 2 у роботі [12]) і безбар'єрно “скочуються” в енергетично вигідніші пари Thy·Gua*, Cyt*·Ade, Ade·Thy і Gua·Cyt відповідно.

У цьому контексті принагідно зазначимо, що у перехідному стані взаємного перетворення пар Cyt*·Ade ↔ Cyt·Ade* (рис. 1) Н-зв'язок C2H...O2 посилюється на 23,6% у порівнянні з аналогічним Н-зв'язком у парі Cyt*·Ade. Пара Gua*·Cyt* не фіксується експериментально [13] не тому, що вона є високоенергетичнішою, ніж пара Gua·Cyt ($\Delta G = 8,22$ ккал/моль), а тому, що вона є динамічно нестійкою.

Таким чином, нами вперше встановлено, що найімовірнішим претендентом на роль додаткових генетичних символів є Gua* і Cyt*, а також Thy*, який, як буде показано в наступній нашій публікації, відіграє роль інтермедіату при перетворенні Вобл-пари Gua·Thy у пару Gua*·Thy. Наведено додаткові фізичні аргументи на користь того, що саме Ade є еволюційно першим генетичним символом.

1. Ашмарин И. П. Загадки и откровения биофизики памяти / Под. ред. Е. М. Крепса. – Ленинград: Изд-во Ленингр. ун-та, 1975. – 160 с.
2. Эмануель Н. М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. – Москва: Наука, 1977. – 419 с.
3. Броварець О. О., Булавін Л. А., Говорун Д. М. Як білки реплікативного комплексу блокують синтез пар основ ДНК за участю мутагенних таутомерів: просте фізичне пояснення // Доп. НАН України. – 2009. – № 11. – С. 175–182.
4. Рич А. Передача биохимической информации и проблемы эволюции // Горизонты биохимии. – Москва: Мир, 1964. – С. 83–101.
5. Boys S. F., Bernardi F. The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors // Mol. Phys. – 1970. – **19**, No 4. – P. 553–566.
6. 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., Pople J. A. – Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
7. Бейдер Р. Атомы в молекулах. Квантовая теория. – Москва: Мир, 2001. – 532 с.
8. Peng C., Schlegel H. B. Combining synchronous transit and quasi-newton methods to find transition states // Israel J. Chem. – 1993. – **33**, No 4. – P. 449–454.
9. Peng C., Ayala P. Y., Schlegel H. B., Frisch M. J. Using redundant internal coordinates to optimize equilibrium geometries and transition states // J. Comput. Chem. – 1996. – **17**, No 1. – P. 49–56.
10. Иогансен А. В. Инфракрасная спектроскопия и спектральное определение энергии водородной связи // Водородная связь. – Москва: Наука, 1981. – С. 112–155.
11. Espinosa E., Molins E., Lecomte C. Hydrogen bond strenghts revealed by topological analyses of experimentally observed electron densities // Chem. Phys. Lett. – 1998. – **285**. – P. 170–173.
12. Броварець О. О., Булавін Л. А., Говорун Д. М. Чи можуть білки таутомеризувати основи ДНК? Фізична відповідь на біологічно важливе запитання // Доп. НАН України. – 2010. – № 2. – С. 76–82.

13. *Bertran J., Blancafort L., Noguera M., Sodupe M.* Proton transfer in DNA base pairs. Potential mutagenic processes // *Computational studies of RNA and DNA* / Eds. J. Sponer, F. Lankas. – Berlin: Springer, 2006. – P. 411–432.

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

Надійшло до редакції 15.10.2009

O. O. Brovarets', Corresponding Member of the NAS of Ukraine **D. H. Hovorun**

By how many characters is the genetic information written in DNA?

For the first time using non-empirical methods of the applied quantum mechanics, we have established that the most probable candidates on the role of the additional genetic symbols are mutagenic tautomers Gua^ and Cyt^* , and also Thy^* , which acts as intermediary at the converting of the Wobble-pair $Gua \cdot Thy$ into the $Gua^* \cdot Thy$ pair which is quasiisomorphic to Watson-Crick base pairs. The obtained results evidence once more that exactly Ade is the evolutionary eldest genetic symbol.*