



Структура и функция биополимеров

УДК 577.2:577.323.425:577.323.427

В. И. Данилов, И. С. Толох

ГИДРАТАЦИЯ МЕТИЛПРОИЗВОДНЫХ УРАЦИЛА И ТИМИНА: ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО *

Проведенное моделирование показало, что при метилировании NH-групп урацила и тимина энергия взаимодействия основания с водой ($U_{\text{нв}}$) повышается. Обнаружено также, что повышение этой энергии наблюдается в 1-м и 3-м секторах. Эти выводы не подтверждают выдвинутое в литературе предположение о характере взаимодействия метилированных оснований с водой, согласно которому при метилировании NH-группы энергия $U_{\text{нв}}$ в этих секторах понижается за счет ван-дер-ваальсовых взаимодействий метильной группы с водой, чья энергия компенсирует повышение энергии $U_{\text{нв}}$ за счет разрыва H-связи. Впервые обнаружено структурирование молекул воды вблизи гидрофобной группы при гидратации полярных молекул.

Введение. Метилирование нуклеотидных оснований в определенных участках ДНК и РНК — довольно распространенное явление в реальных клеточных системах. Оно меняет характер взаимодействия оснований со своим окружением, что в ряде случаев приводит к изменению структурных особенностей молекул нуклеиновых кислот. В результате создания электронной комплементарности или благодаря непосредственному стерическому соответствию метилирование служит для специфического узнавания последовательностей оснований или структурных особенностей участков ДНК, необходимых в работе целого ряда ферментов. Метилирование существенно также для создания структуры РНК и выполнения ими различных функций.

При метилировании к основанию добавляется гидрофобная группа. Из экспериментальных и теоретических данных известно, что вблизи поверхности гидрофобных молекул вода изменяет свои свойства: уменьшается вращательная и трансляционная подвижность, структура сетки водородных связей (H-связей) становится более упорядоченной. В результате всего этого сильно понижается энтропия системы, в то время как энтальпия меняется незначительно. Предполагается, что то же самое должно происходить и вблизи отдельных гидрофобных групп, входящих в состав полярных молекул, хотя из-за наличия соседних гидрофильных групп картина может существенно измениться. В настоящее время нет прямых экспериментальных данных по этому вопросу. Имеющиеся же сведения не позволяют однозначно их интерпретировать ввиду сложности изучаемых систем и используемых экспериментальных методик.

При метилировании оснований меняется не только структура их гидратных оболочек, но также и характер взаимодействия основание — вода, определяющего гидратацию. Изучение таких систем позволяет лучше понять природу этого взаимодействия и выяснить роль полярных (гидрофильных) и неполярных (гидрофобных) групп в гидрата-

* Представлена членом редколлегии Н. В. Желтовским.

ции. Поэтому детальное изучение гидратации метилпроизводных оснований приобретает особое значение.

С этой точки зрения представляют определенный интерес появившиеся в последние годы экспериментальные работы по изучению гидратации нуклеотидных оснований и их алкилпроизводных [1—11]. Наиболее полно этот вопрос изучен для Uga, Thy и их алкилпроизводных [1, 2, 4—6, 8—11]. Данные, приведенные в этих работах, свидетельствуют, в частности, о том, что при метилировании по N-положениям Uga и Thy энтальпия гидратации повышается. При метилировании же по С5- или С6-положениям энтальпия гидратации заметно понижается. Основываясь на полученных данных и теории сольвофобных сил, в цитированных работах была сделана попытка оценить энергию взаимодействия оснований с водой и ее изменение при метилировании. Для этого был рассчитан энергетический вклад, соответствующий образованию полости в воде с площадью поверхности, равной площади рассматриваемой молекулы (изменение энергии взаимодействия между молекулами воды), в энергию гидратации оснований с помощью теоретического подхода к сольватации, разработанного Синаноглу [12—14]. В результате энергия взаимодействия вода — основание была вычислена как разность энергии гидратации и изменения энергии взаимодействия вода — вода. В работах [1, 4, 8, 9] было обнаружено, что энергия взаимодействия вода — основание понижается при метилировании как СН-, так и NH-групп оснований; при этом эффект метильных заместителей в положении С5 в 2—3 раза выше по сравнению с N-положениями. Это понижение энергии авторы работ [4, 8, 9] объясняют как следствие возникновения дополнительных ван-дер-ваальсовых взаимодействий метильной группы с водой. При этом предполагается, что энергия этих дополнительных взаимодействий такова, что компенсирует энергетическую потерю, связанную с разрывом Н-связи между NH-группой и водой при метилировании по N-положению, т. е. что энергия взаимодействия СН₃-группы с водой ниже, чем энергия NH...О-связи между основанием и водой.

Метод. В связи с вышеизложенным целью нашего исследования служит моделирование гидратации нуклеотидных оснований и их метилпроизводных методом Монте-Карло. В качестве объекта изучения были выбраны Uga, m¹Uga, m₂^{1,3}Uga, Thy, m¹Thy и m₂^{1,3}Thy, поскольку для этих соединений имеется целый ряд экспериментальных данных по гидратации различных метилпроизводных [1, 2, 4—6, 8—11]. Проведенное моделирование позволило исследовать энергетические и структурные свойства воды вблизи оснований, рассмотреть гидратацию их отдельных атомных групп, выяснить влияние метилирования на структуру воды вблизи оснований или на структуру первой гидратной оболочки воды.

В данном исследовании с помощью алгоритма Метрополиса [15] проведено компьютерное моделирование систем: каждая из них представляла собой кластер из 200 молекул воды, в центре которого помещено одно из оснований. Моделирование проводили для температуры 298 К с использованием в качестве граничных условий кластерного приближения, т. е. объем, в который помещалась система, выбирался настолько большим, чтобы его границы не влияли на поведение кластера. Взаимодействие между молекулами в каждой из систем учитывали с помощью полуэмпирических атом-атомных потенциальных функций: энергия взаимодействия вода...основание $U_{w\text{б}}$ аппроксимировалась потенциалом (1—6—12) [16, 17], а энергия взаимодействия вода — вода $U_{w\text{w}}$ — потенциалом (1—6—exp) [18].

В процессе расчетов генерировали марковские цепи длиной около 1 600 000 конфигураций. На участок уравнивания системы приходилось от 500 000 до 700 000 конфигураций, а средние значения различных характеристик систем вычисляли на 900 000—1 100 000 конфигурациях. В качестве стартовой конфигурации для каждой из систем выбирали одну из равновесных конфигураций системы, включающую основание с меньшей степенью метилирования. В качестве стартовой конфигурации для системы, содержащей Uga, была взята одна из равновесных конфигураций кластера из 200 молекул воды, в которой несколько молекул были перемещены из центра кластера на его поверхность с целью создания полости для молекулы Uga.

При изучении гидратации отдельных атомных групп основания пространство вокруг него разделяли на шесть угловых секторов (с учетом строения пиримидинов), границы которых перпендикулярны плоскости основания. Для каждого из секторов проводили исследование различных энергетических и структурных характеристик.

Результаты и обсуждение. А. Общие характеристики системы. Результаты вычислений средних значений энергии систе-

мы U , энергии взаимодействия вода — вода U_{ww} и вода — основание U_{wb} , удельного числа Н-связей $n_{Нб}$ и энергии гидратации U_h представлены в табл. 1. Там же в скобках даны экспериментальные значения U_h [4, 8, 9]. Величину U_h вычисляли из рассчитанного с использованием тех же потенциальных функций [18] значения потенциальной энергии кластера из 200 молекул воды и равного $-7,89$ ккал/моль.

Сравнение теоретических и экспериментальных величин энергии гидратации показывает разумное количественное согласие между ними. Порядок следования рассчитанных нами величин U_h правильно передает порядок следования соответствующих экспериментально наблюдаемых значений при метилировании $U_{га}$ и его N-метилпроизводных по положению С5. Аналогичная ситуация наблюдается также для Thy и его метилпроизводных. Однако для $U_{га}$ и его производных корреляции в порядке следования теоретических и экспериментальных величин U_h не наблюдается.

Таблица 1

Энергетические и структурные характеристики гидратации метилпроизводных пиримидиновых оснований в кластере из 200 молекул воды

Energetic and structural characteristics of pyrimidine base methyl derivatives hydration in the cluster of 200 water molecules

Система	U , ккал/моль воды	U_{ww} , ккал/моль воды	U_{wb} , ккал/моль системы	U_h , ккал/моль системы	$n_{Нб}$
$U_{га}$ +вода	-7,98	-7,70	-56,0	-18 (-21,8)	1,77
$m^1U_{га}$ +вода	-7,98	-7,72	-52,1	-18 (-21,3)	1,79
$m_2^{1,3}U_{га}$ +вода	-8,03	-7,80	-46,0	-28 (-20,6)	1,82
Thy +вода	-8,09	-7,80	-57,1	-40 (-23,9)	1,80
m^1Thy +вода	-7,99	-7,73	-51,8	-20 (-23,4)	1,75
$m_2^{1,3}Thy$ +вода	-8,08	-7,82	-51,4	-38 (-23,7)	1,83

Примечание. В скобках даны экспериментальные значения энтальпии гидратации [4, 8, 9].

Из наших данных следует, что метилирование по положениям N1 и N1, N3 приводит к повышению энергии U_{wb} , т. е. к уменьшению взаимодействия основания с водой, хотя для m^1Thy и $m_2^{1,3}Thy$ эти величины очень мало отличаются. Этот вывод находится в прямом противоречии с результатами работ Суходуба и др. [4, 8, 9], где была использована комбинация экспериментальных величин энтальпии гидратации и теоретических оценок изменения энергии взаимодействия вода — вода при вычислении U_{wb} .

В то же время метилирование по гидрофобному положению С5 $U_{га}$ и его производных приводит к понижению энергии U_{wb} , за исключением $m^1U_{га}$, приводящего к незначительному повышению U_{wb} ($-52,1$ ккал/моль в случае $m^1U_{га}$ и $-51,8$ ккал/моль в случае m^1Thy).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что при разрыве Н-связи между NH-группой основания и водой из-за метилирования энергия U_{wb} повышается. Этого можно было ожидать, так как разрыв Н-связи уменьшает энергию связи основания с водой на 3—5 ккал/моль, в то время как за счет ван-дер-ваальсовых взаимодействий метильная группа, в принципе, может увеличить эту энергию на 1—2 ккал/моль. В то же время наше заключение не является абсолютно однозначным, так как метилирование, вообще говоря, может приводить к перестройке всей гидратной оболочки основания, а следовательно, и к изменению энергии взаимодействия ближайших молекул воды с другими гидрофильными группами, уменьшая или увеличивая ее. Последнее, скорее всего, наблюдается при метилировании m^1Thy по N3-положению: в этом случае энергия U_{wb} почти не изменяется.

Энергия U_{ww} для N-метилпроизводных $U_{га}$ ниже, чем для канонического основания, а для двукратно метилированного основания ни-

же, чем для однократно метилированного. Метилирование по С5-положению Uга и его N-метилпроизводных также понижает энергию U_{ww} . В то же время для N-метилпроизводных Thy каких-либо определенных закономерностей в изменении U_{ww} не наблюдается. При метилировании по N1-положению эта энергия повышается, а при последующем метилировании по N3-положению — понижается. Такая зависимость энергии U_{ww} от степени метилирования может быть связана с тем, что эта величина характеризует весь кластер в целом, включая самые различные неоднозначности на границе системы (плотность, форма границы, ориентация молекул и т. д.). Возможно, вследствие этого потенциальные энергии U , главный вклад в которые дают величины U_{ww} , и, следовательно, энергии гидратации U_h , не во всех случаях коррелируют с экспериментальными значениями энтальпии гидратации [4, 8, 9]. Кроме того, необходимо также помнить, что различия между измеренными энтальпиями гидратации находятся в пределах экспериментальной погрешности.

Б. Данные для подсистем. Для устранения неоднозначностей на границе кластера рассмотрим подсистемы, расположенные в сферическом объеме радиуса $R=0,73$ нм, отсчитываемого от геометрического центра основания. Такой объем помимо основания включает еще примерно 50 молекул воды. Выбор размеров подсистемы обусловлен тем, что на ее границе уже почти не сказывается возмущающее растворитель влияние взаимодействия вода — основание (величины U'_{wb} для подсистемы составляют 80—90 % соответствующих значений для всей системы), и в то же время молекулы воды на таком расстоянии от центра еще не подвержены влиянию изменений в поверхностных слоях кластера.

В табл. 2 приведены значения U' , U'_{ww} , U'_{wb} и n'_{hb} , характеризующие рассмотренные подсистемы. Видно, что при метилировании по N1- и N1, N3-положениям потенциальная энергия подсистемы повышается, хотя в последнем случае — меньше. Для производных Thy такое качественное поведение согласуется с экспериментальными данными по энтальпии гидратации [4, 8, 9]. В случае производных Uга корреляция с экспериментом хуже.

Таблица 2

Энергетические и структурные характеристики гидратации метилпроизводных пиримидиновых оснований в кластере из 200 молекул воды, данные приведены для подсистемы радиусом 0,73 нм

Energetic and structural characteristics of pyrimidine base methyl derivatives hydration in the cluster of 200 water molecules, data listed for the subsystem of radius 0.73 nm

Подсистема	U' , ккал/моль воды	U'_{ww} , ккал/моль воды	U'_{wb} , ккал/моль системы	n'_{hb}
Uга+вода	-9,98	-9,06	-47,8	2,12
m ¹ Uга+вода	-9,67	-8,78	-44,8	2,04
m ₂ ^{1,3} Uга+вода	-9,76	-8,93	-40,5	2,07
Thy+вода	-9,88	-8,89	-50,5	2,14
m ¹ Thy+вода	-9,72	-8,84	-44,5	2,11
m ₂ ^{1,3} Thy+вода	-9,82	-8,91	-45,6	2,19

Энергии U'_{ww} для подсистем показывают, что при метилировании оснований по N1- и N1, N3-положениям вода становится энергетически менее выгодной. Однако в случае дважды метилированных по N-положениям оснований она немного выгодней, чем для однократно метилированных, а в случае m₂^{1,3}Thy указанная энергия даже сравнима с Thy. Анализ средних чисел Н-связей вода — вода, приходящихся на молекулу воды в подсистемах n'_{hb} , показывает, что их изменение полностью

коррелирует с изменениями в энергиях U'_{ww} . Таким образом, при метилировании Uга и Thy по N1-положению вода «ухудшается» как энергетически, так и структурно (по числу Н-связей на молекулу воды). В случае же метилирования по N1, N3-положениям для Uга она также «ухудшается», хотя и в меньшей степени, а для Thy даже немного «улучшается». Другими словами, наличие трех метильных групп в $m_2^{1,3}$ Thy приводит к небольшому увеличению удельного числа Н-связей в его подсистеме при сравнении с Thy.

Среднее число молекул воды в каждой из подсистем коррелирует со степенью метилирования по N-положениям: большему количеству метильных групп соответствует меньшее среднее число молекул воды в сферическом объеме с $R=0,73$ нм.

Энергии U'_{wb} подсистем показывают, что метилирование NH-групп приводит к уменьшению взаимодействия оснований с водой (повышению энергии). Исключением является метилирование m^1 Thy по положению N3, в случае которого энергия U'_{wb} подсистемы немного понижается. Как уже отмечалось выше, это связано с перестройкой всей гидратной оболочки, поскольку и в этом случае при метилировании по N3-положению энергия взаимодействия основания с молекулами воды, которые находятся в секторе, включающем N3H-группу, повышается. Как будет показано ниже, взаимодействие воды с N3CH₃-группой дает энергетический проигрыш почти в 2 ккал/моль по сравнению со взаимодействием воды с N3H-группой.

В. Секторные функции распределения. В табл. 3 приведены энергии U_{wb} и количества молекул воды n в каждом из шести угловых секторов, ограниченных $R=0,73$ нм.

Из этих данных видно, что метилирование NH-групп как в N1-, так и в N1, N3-положениях приводит к повышению энергии взаимодействия оснований с молекулами воды в секторах метилирования на 2—6 ккал/моль. Это прямо показывает, что предположение, выдвину-

Таблица 3

Угловое распределение молекул воды и их энергии взаимодействия (в ккал/моль системы) с метилпроизводными пиримидиновых оснований

Angular distribution of water molecules and their interaction energies (kcal/mol of the system) with pyrimidine base methyl derivatives

Подсистема	Сектор 1		Сектор 2		Сектор 3	
	U_{wb}	n	U_{wb}	n	U_{wb}	n
Uга+вода	-7,08	8,7	-9,08	8,6	-7,82	8,1
m^1 Uга+вода	-4,32	7,7	-9,55	8,5	-6,27	8,3
$m_2^{1,3}$ Uга+вода	-4,32	8,0	-12,14	8,3	-2,95	8,6
Thy+вода	-10,33	9,0	-8,35	9,0	-7,87	8,7
m^1 Thy+вода	-4,18	8,9	-9,52	8,9	-5,86	7,7
$m_2^{1,3}$ Thy+вода	-5,15	9,3	-9,49	7,5	-4,05	9,0

Подсистема	Сектор 4		Сектор 5		Сектор 6	
	U_{wb}	n	U_{wb}	n	U_{wb}	n
Uга+вода	-13,10	10,3	-6,83	8,2	-3,88	7,9
m^1 Uга+вода	-12,51	8,8	-5,32	6,8	-6,80	10,1
$m_2^{1,3}$ Uга+вода	-9,08	7,9	-7,18	7,2	-4,82	8,8
Thy+вода	-13,27	7,9	-5,63	9,1	-5,05	7,5
m^1 Thy+вода	-14,24	9,3	-4,52	8,6	-6,21	7,1
$m_2^{1,3}$ Thy+вода	-17,31	8,4	-3,53	8,3	-6,07	7,7

Примечание. Данные приведены для подсистемы радиусом 0,73 нм.

тое Суходубом и др. [4, 8, 9], о том, что понижение энергии взаимодействия основания с водой при метилировании гидрофильных групп Uга и Thy обусловлено ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями, является ошибочным.

Сравнение энергий U_{wb} в 5-м секторе производных Uга и Thy показывает, что при метилировании по С5-положению энергия U_{wb} повышается, а не понижается, как, согласно [4, 8, 9], можно было бы ожидать за счет увеличения количества атомов, способных участвовать в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях. Следует отметить, что гидрофильная группа при этом не закрывается. Таким образом, в тех

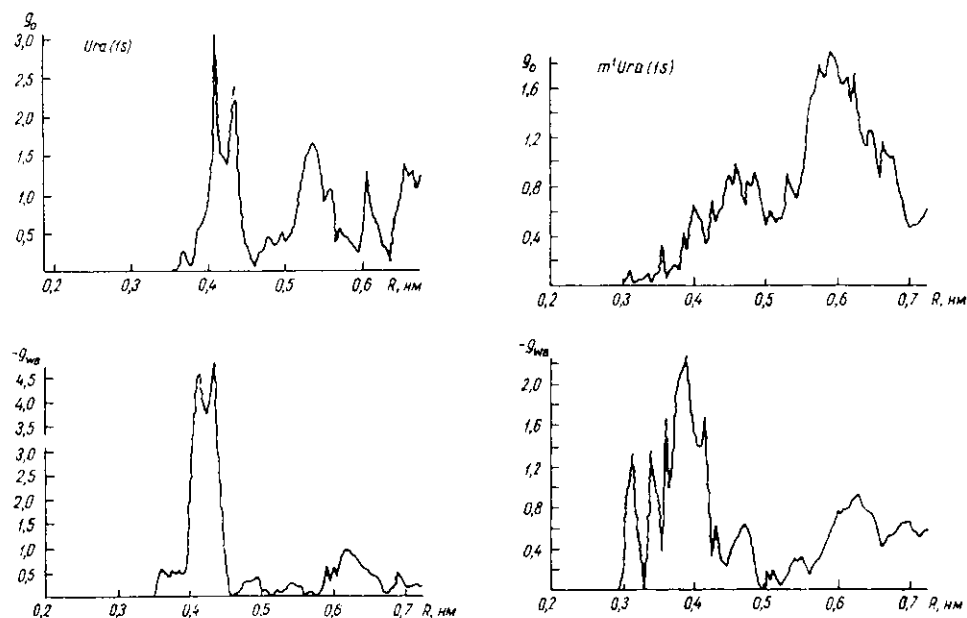


Рис. 1. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 1-го сектора урацила в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 1. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 1st sector of uracil depending on the distance from a molecule centre

Рис. 2. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 1-го сектора 1-метилурацила в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 2. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 1st sector of 1-methyluracil depending on the distance from a molecule centre

случаях, когда при метилировании Uга и его N-метилпроизводных по С5-положению энергия U_{wb} системы понижается, это связано не с ее понижением в 5-м секторе, как это предполагалось в работах Суходуба и др. [4, 8, 9], а с перестройкой всей гидратной оболочки, приводящей к изменению взаимодействий с отдельными, главным образом, гидрофильными группами основания.

При метилировании по N1- и N1, N3-положениям энергия U_{wb} во 2-м секторе (С20-группа) для производных Uга и Thy понижается (0,5—3,1 ккал/моль), а в 4-м секторе (С40-группа) для производных Thy понижается (1,0—4,0 ккал/моль), в то время как для производных Uга—повышается (0,6—4,0 ккал/моль). Обращает на себя внимание то обстоятельство, что повышение энергии U_{wb} в 4-м секторе производных Uга сопровождается близким по величине понижением ее во 2-м секторе (т. е. эти эффекты стремятся компенсировать друг друга), тогда как для производных Thy энергия U_{wb} понижается как во 2-м, так и в 4-м секторах. Сильное понижение энергии U_{wb} в 4-м секторе

$m_2^{1,3}Thy$ по сравнению с Thy и m^1Thy приводит к тому, что, несмотря на повышение энергии U_{wb} в 3-м секторе при метилировании m^1Thy по N3-положению, энергия U_{wb} всей подсистемы немного понижается, на что мы уже обращали внимание выше.

Количество молекул воды в каждом из рассматриваемых секторов показывает, что при метилировании по N1- и затем по N3-положениям не всегда происходит заметное уменьшение числа молекул воды в 1-м и 3-м секторах. Чаще всего оно даже немного увеличивается.

Повышение энергии U_{wb} в 4-м секторе производных Uga сопровождается одновременным уменьшением количества молекул воды в

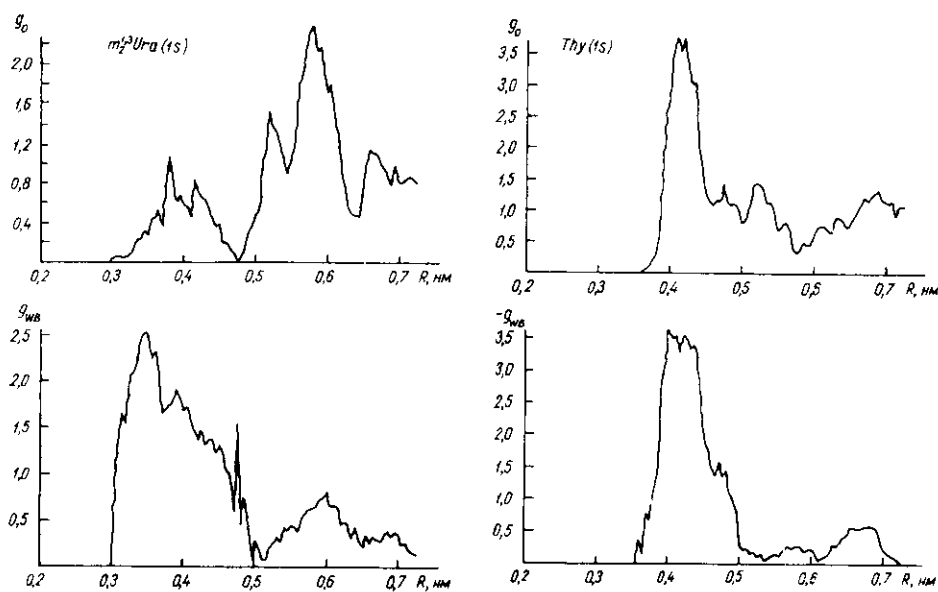


Рис. 3. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 1-го сектора 1,3-диметилурацила в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 3. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 1st sector of 1,3-dimethyluracil depending on the distance from a molecule centre

Рис. 4. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 1-го сектора тимина в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 4. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 1st sector of thymine depending on the distance from a molecule centre

этом секторе. В результате этого энергия U_{wb} в расчете на молекулу воды в 4-м секторе (удельная энергия g_{wb}) почти не изменяется (в случае m^1Uga даже немного понижается). При переходе от Thy к m^1Thy удельная энергия g_{wb} в 4-м секторе также почти не изменяется. Однако переход от m^1Thy к $m_2^{1,3}Thy$ сопровождается сильным понижением удельной энергии g_{wb} , в свою очередь приводящим к некоторому снижению энергии U_{wb} всей подсистемы, что отмечалось ранее.

Обращает на себя внимание то обстоятельство, что количество молекул воды в 5-м секторе Thy и его производных больше, чем в 5-м секторе соответствующих производных Uga , хотя метильная группа Thy занимает намного больший объем, чем атом водорода в 5-м положении Uga . Несмотря на это, энергия U_{wb} в 5-м секторе производных Uga , как уже отмечалось, ниже, чем в 5-м секторе производных Thy . Это, скорее всего, связано с более сильным взаимодействием молекул воды 5-го сектора Uga и его производных с C4O-группой, т. е. в отсутствие метильной группы молекулы воды в 5-м секторе располагаются в пространстве таким образом, что сильнее взаимодействуют с C4O-группой.

Полученное угловое распределение энергии взаимодействия вода—вода по секторам прямо показывает, что энергия U_{ww} в 5-м секторе имеет более низкие значения для Thy и его производных, чем для Ura и его производных. Величины $n_{нв}$ также свидетельствуют о более высокой структурированности воды вокруг Thy и его производных, что обусловлено, в основном, сферическим слоем молекул воды толщиной 0,1 нм ($R=0,63-0,73$ нм), являющимся ближайшим к метильной группе слоем. Это впервые доказывает, что вблизи гидрофобной группы

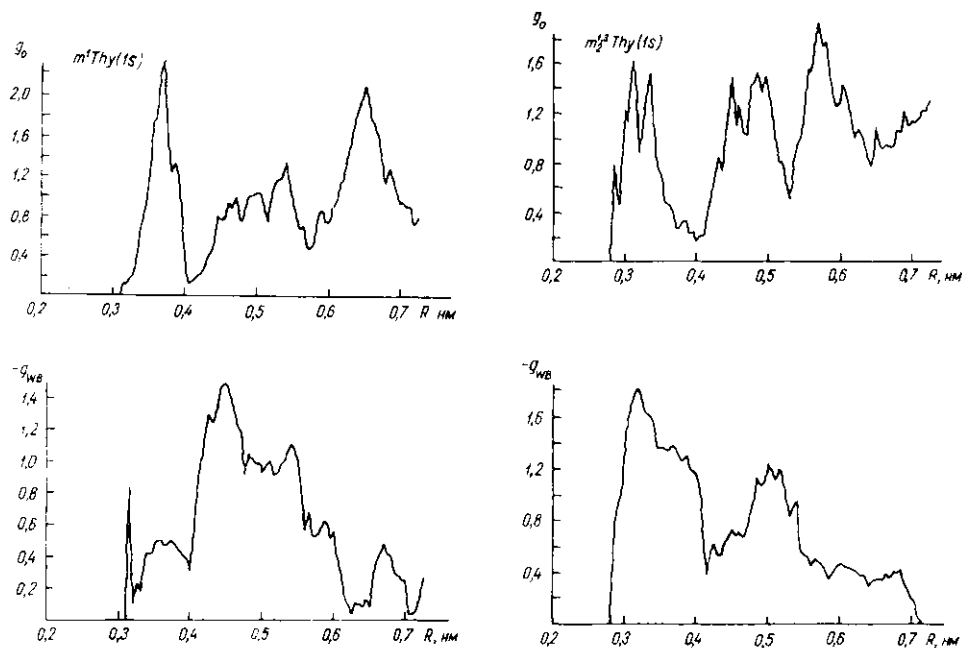


Рис. 5. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 1-го сектора 1-метилтимина в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 5. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 1st sector of 1-methylthymine depending on the distance from a molecule centre

Рис. 6. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 1-го сектора 1,3-диметилтимина в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 6. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 1st sector of 1,3-dimethylthymine depending on the distance from a molecule centre

происходит явное структурирование молекул воды даже для таких полярных молекул, как основания.

Энергия U_{wb} для Ura и его производных в 6-м секторе имеет более высокие значения, чем для Thy и его производных. Исключение составляет m^1Ura . Сумма энергий U_{wb} для 5-го и 6-го секторов у производных Ura ниже, чем у производных Thy. Для самих Ura и Thy эти величины примерно одинаковы. Таким образом, энергия взаимодействия основания с молекулами воды, расположенными в гидрофобных секторах, ниже для производных Ura, чем для производных Thy.

В то же время соответствующий анализ показывает, что сумма энергий U_{ww} для секторов 5 и 6 немного ниже, и значения $n_{нв}$ для объединенной области этих секторов немного выше для Thy и его производных. Это также свидетельствует в пользу того, что появление гидрофобной поверхности молекулы в воде приводит к более сильному структурированию молекул воды вблизи этой области.

Рассмотрим радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} в отдельных угловых сек-

торах основания в зависимости от расстояния от центра молекулы. Наибольший интерес представляют эти функции для секторов, в которых происходит метилирование оснований.

Анализ функций g_0 и g_{wb} для 1-го сектора Ura показывает, что 1-й максимум g_0 находится на расстоянии $R=0,42$ нм и равен 3,16 (рис. 1). Первый максимум функции g_{wb} почти совпадает с ним (0,42 нм) и имеет величину $-4,41$ ккал/моль. Кроме того, до $R=0,43$ нм в этом секторе в среднем находится 1,14 молекулы воды.

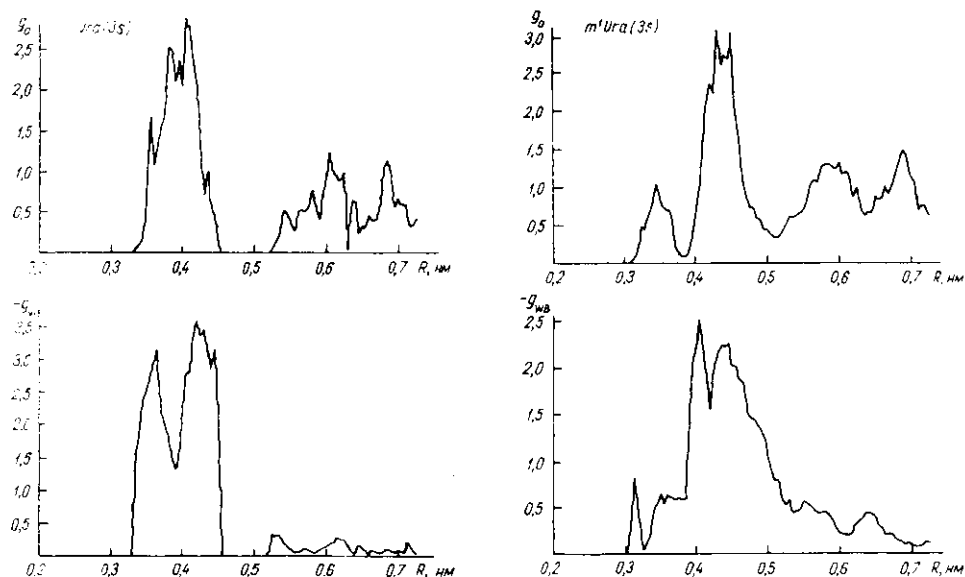


Рис. 7. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 3-го сектора урацила в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 7. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 3rd sector of uracil depending on the distance from a molecule centre

Рис. 8. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 3-го сектора 1-метилурацила в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 8. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 3rd sector of 1-methyluracil depending on the distance from a molecule centre

Таким образом, видно, что и по расстоянию (атомы азота урацильного кольца находятся на $R=0,1$ нм от центра основания), и по энергии молекула воды, находящаяся в районе 1-го максимума функции g_0 , образует с NH-группой Ura H-связь.

Рассмотрение функций g_0 и g_{wb} для 1-го сектора m^1Ura показывает (рис. 2), что вблизи основания до $R=0,55$ нм плотность молекул воды не превышает 1,0, и их энергия взаимодействия с основанием в максимуме не превышает $-2,3$ ккал/моль. Всего до расстояния $R=0,43$ нм, на котором до метилирования находилась молекула воды, образующая с основанием H-связь, расположено 0,33 молекулы воды с энергией взаимодействия $U_{wb} -0,4$ ккал/моль. Все это свидетельствует о том, что метилирование по N1-положению приводит к разрыву H-связи и отталкиванию ближайшей молекулы воды, включенной в H-связь. Сильно изменилось распределение и остальных молекул воды в этом секторе (см. рис. 2). Основной максимум g_0 лежит в районе $R=0,6$ нм и достигает 1,9.

Почти аналогичные изменения произошли и в 1-м секторе $m^{1,3}Ura$ (рис. 3).

Функции g_0 и g_{wb} (рис. 4), характеризующие воду в 1-м секторе

Thu, показывают, что максимум g_0 так же, как и для Uga, лежит при $R=0,41$ нм, а максимум g_{wb} — при $R=0,40$ нм. Расположение и интенсивность этих максимумов свидетельствуют о том, что в 1-м секторе Thu также образуется Н-связь между водой и NH-группой. Однако в отличие от Uga, где в слое $R=0,38-0,48$ нм 1-го сектора содержится 1,75 молекулы воды с $U_{wb}=-5,1$ ккал/моль, в аналогичном месте Thu имеется 2,77 молекулы воды с энергией $U_{wb}=-8,2$ ккал/моль. Это позволяет предположить, что молекулы воды в 1-м секторе Thu образу-

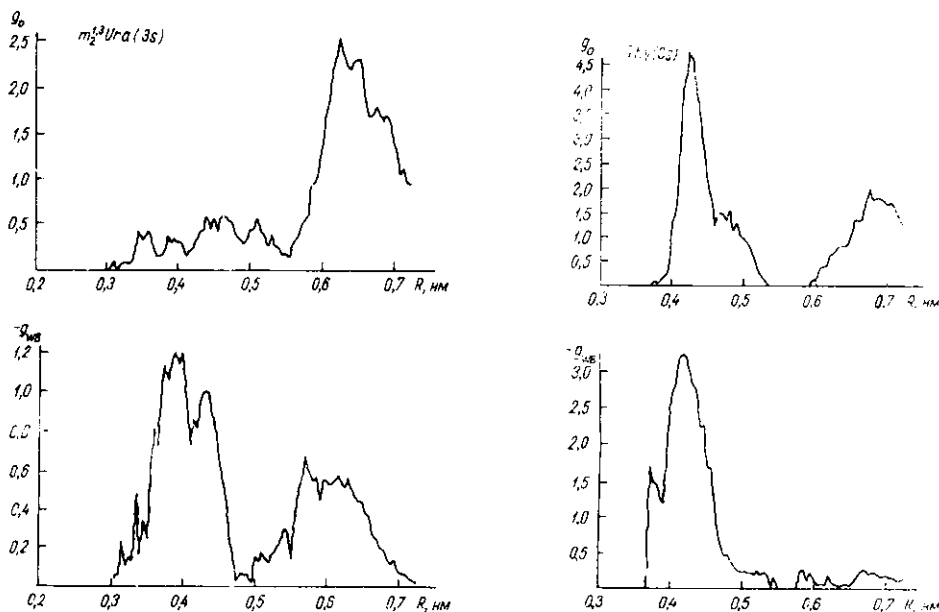


Рис. 9. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 3-го сектора 1,3-диметилурацила в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 9. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 3rd sector of 1,3-dimethyluracil depending on the distance from a molecule centre

Рис. 10. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 3-го сектора тимина в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 10. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 3rd sector of thymine depending on the distance from a molecule centre

ют две Н-связи с основанием. Это либо две связи, включающие NH-группу, либо одна из них включает эту группу, а другая — соседнюю C2'-группу. Такое предположение объясняет и то обстоятельство, что энергия U_{wb} в 1-м секторе Thu (до $R=0,73$ нм) на 3 ккал/моль ниже, чем в этом же секторе Uga.

При рассмотрении аналогичных функций распределения для 1-го сектора m^1 Thu и $m^{2,3}$ Thu видно, что они немного отличаются от таковых для m^1 Uga и $m^{2,3}$ Uga (рис. 5 и 6). В отличие от последних для производных Thu имеются довольно узкие и высокие максимумы функций g_0 в районе 0,35 нм от центра основания. В первом секторе m^1 Thu и $m^{2,3}$ Thu до $R=0,43$ нм находится 0,97 и 0,82 молекулы воды соответственно. Однако функции g_{wb} показывают, что рассматриваемые молекулы воды взаимодействуют с основаниями очень слабо и, следовательно, не образуют с ними Н-связей. Так, энергия U_{wb} в 1-м секторе Thu, рассчитанная до $R=0,48$ нм от центра основания, равна $-8,2$ ккал/моль, в то время как аналогичные энергии для m^1 Thu и $m^{2,3}$ Thu составляют всего $-1,2$ и $-1,7$ ккал/моль соответственно.

Таким образом, метилирование Thu по N1-положению приводит к разрушению примерно двух Н-связей между водой и основанием и

повышает энергию U_{wb} в 1-м секторе почти на 6 ккал/моль. Анализ функций распределения g_0 и g_{wb} для 3-го сектора Uга демонстрирует (рис. 7), что молекулы воды этого сектора образуют Н-связь с N3Н-группой. Следует отметить, что в отличие от 1-го сектора Uга в районе первого максимума g_0 для 3-го сектора находится примерно в 2,5 раза больше молекул воды (до 0,43 нм находится 2,6 молекулы), энергия U_{wb} для которых равняется $-6,46$ ккал/моль, что почти в 1,7 раза больше соответствующих энергий в 1-м секторе Uга.

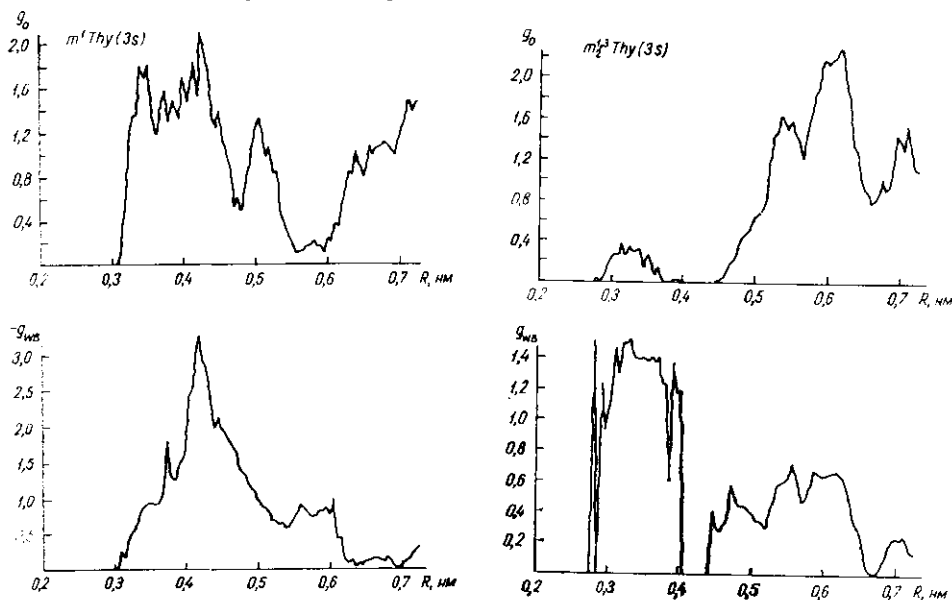


Рис. 11. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 3-го сектора 1-метилтимина в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 11. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 3rd sector of 1-methylthymine depending on the distance from a molecule centre

Рис. 12. Радиальные функции распределения атомов кислорода молекул воды g_0 и удельной энергии g_{wb} (ккал/моль) для 3-го сектора 1,3-диметилтимина в зависимости от расстояния от центра молекулы

Fig. 12. Radial distribution functions of oxygen atoms in water molecules g_0 and specific energy g_{wb} (kcal/mol) for the 3rd sector of 1,3-dimethylthymine depending on the distance from a molecule centre

Максимум функции g_0 для 3-го сектора $m^1Uга$ сдвинут на 0,04 нм от основания по сравнению с соответствующим максимумом для Uга и имеет меньшую высоту (рис. 8). Кроме того, до $R=0,43$ нм тут находится всего 0,96 молекулы воды с энергией U_{wb} , равной $-1,4$ ккал/моль. Однако максимум функции g_{wb} , расположенный при 0,41 нм и равный $-2,52$ ккал/моль, свидетельствует о том, что эта ближайшая молекула воды в некоторых конфигурациях может образовывать Н-связь с основанием. До $R=0,48$ нм в 3-м секторе $m^1Uга$ находится 2,42 молекулы воды с $U_{wb} = -4,4$ ккал/моль.

Функция g_0 для 3-го сектора $m_2^{1,3}Uга$ (рис. 9) имеет примерно такой же вид, как и для 1-го сектора $m^1Uга$ и $m_2^{1,3}Uга$. До $R=0,48$ нм находится всего 0,64 молекулы воды с энергией $U_{wb} = -0,35$ ккал/моль. Это свидетельствует о том, что, как и в 1-м секторе, метилирование N3Н-группы сильно повышает энергию взаимодействия молекул воды 3-го сектора с основанием. Энергия U_{wb} в 3-м секторе $m_2^{1,3}Uга$ до $R=0,73$ нм составляет всего $-2,95$ ккал/моль.

Аналогичная картина наблюдается при рассмотрении функций g_0 и g_{wb} для 3-го сектора Thy, m^1Thy и $m_2^{1,3}Thy$ (рис. 10—12). В этом секторе ближайшая к Thy молекула воды образует явную Н-связь

с основанием. То же самое происходит и в 3-м секторе $m^1\text{Thy}$, однако энергия связывания немного меньше.

Представленные результаты анализа функций g_0 и g_{wb} для 1-го и 3-го секторов и данные аналогичного анализа для остальных секторов позволяют оценить вклад специфических взаимодействий (взаимодействий с основанием непосредственно примыкающего к нему слоя молекул воды через Н-связи или с помощью электростатического взаимодействия) в общую энергию U_{wb} . Молекулы воды, ответственные за специфические взаимодействия, лежат в объеме с $R=0,53$ нм и приводят к энергии U_{wb} (в ккал/моль), равной $-27,9$ для Ura, $-33,3$ для $m^1\text{Ura}$, $-25,8$ для $m_2^{1,3}\text{Ura}$, $-37,8$ для Thy, $-29,4$ для $m^1\text{Thy}$ и $-29,6$ для $m_2^{1,3}\text{Thy}$. Из сравнения этих значений с данными табл. 1 видно, что указанный вклад составляет 0,50 для Ura, 0,64 для $m^1\text{Ura}$, 0,56 для $m_2^{1,3}\text{Ura}$, 0,66 для Thy, 0,57 для $m^1\text{Thy}$ и 0,58 для $m_2^{1,3}\text{Thy}$.

Полученные нами данные прямо показывают, что специфические взаимодействия вносят доминирующий вклад в энергию U_{wb} . Таким образом, они не подтверждают вывод работ Суходуба с соавт. [2, 4, 9—11] о малой величине указанного вклада, который, согласно оценкам этих авторов, для рассмотренных соединений составляет 0,14—0,21. Полученное противоречие легко объяснимо. При оценке этого вклада авторы [2, 4, 9—11] использовали сумму энтальпий гидратации оснований в вакууме для первых двух молекул воды в качестве энтальпии специфических взаимодействий. При этом предполагалось, что в растворе молекулы воды, отвечающие за специфические взаимодействия, имеют ту же конфигурацию, что и в вакууме, а число молекул воды, ответственных за эти взаимодействия, и их энергия взаимодействия с основаниями не изменяются. Между тем в результате теоретического анализа и проведенных расчетов ранее нами было показано [19, 20], что в большом кластере воды все указанные характеристики принципиально изменяются.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Thermochemistry of aqueous solutions of alkylated nucleic acid bases. 3. Enthalpies of hydration of uracil, thymine and their derivatives* / A. B. Teplitsky, I. K. Yanson, O. T. Glukhova et al. // *Biophys. Chem.*—1980.—11, N 1.—P. 17—21.
2. *Hydration heats of nucleic acid bases: contribution of specific interactions* / L. F. Sukhodub, O. T. Glukhova, A. B. Teplitsky et al. // *Int. symp. biochem.*—Tbilisi, 1981.—P. 65.
3. *Гидратация оснований нуклеиновых кислот. Цитозин и его метилпроизводные* / О. Т. Глухова, В. Д. Киселев, А. Б. Теплицкий и др. // *Биофизика.*—1981.—26, № 2.—С. 351—352.
4. *Thermochemistry of aqueous solution of alkylated nucleic acid. 4. Enthalpies of hydration of 5-alkyl-uracils* / A. B. Teplitsky, O. T. Glukhova, L. F. Sukhodub et al. // *Biophys. Chem.*—1982.—15, N 2.—P. 139—147.
5. *Термодинамика гидратации оснований нуклеиновых кислот* / О. Т. Глухова, А. Б. Теплицкий, Л. Ф. Суходуб и др. // I Всесоюз. биофиз. съезд: Тез. докл.—М., 1982.—С. 56.
6. *Hydration heats of nitrogen bases on nucleic acids in aqueous solutions* / O. T. Glukhova, A. B. Teplitsky, L. F. Sukhodub et al. // 3d Int. conf. on water and ions in biol. systems.—Bucharest, 1984.—P. 108.
7. *Thermochemistry of aqueous solutions of alkylated nucleic acid bases. V. Enthalpies of hydration of N-methylated adenines* / A. Zielenkiewicz, W. Zielenkiewicz, L. F. Sukhodub et al. // *J. Solut. Chem.*—1984.—13, N 11.—P. 757—765.
8. *Глухова О. Т. Энтальпии гидратации нуклеотидных оснований и их алкилпроизводных: Дис. ... канд. физ.-мат. наук.*—Харьков, 1985.—118 с.
9. *Суходуб Л. Ф. Экспериментальные исследования межмолекулярных взаимодействий и гидратации нуклеотидных оснований, их метилпроизводных в различных агрегатных состояниях: Автореф. дис. ... д-ра физ.-мат. наук.*—М., 1985.—37 с.
10. *Суходуб Л. Ф. Взаимодействия и гидратация нуклеотидных оснований в вакууме. Экспериментальные исследования. II. Автоассоциаты воды и гидраты оснований.*—Харьков, 1987.—37 с.—(Препринт / АН УССР. Физ.-техн. ин-т низких температур; ФТИИТ-38-87).
11. *Sukhodub L. F. Interactions and hydration of nucleic acid bases in a vacuum. Experimental study* // *Chem. Rev.*—1987.—87.—P. 589—606.
12. *Sinanoglu O., Abdunur S. Effect of water and other solvents on the structure of biopolymers* // *Fed. Proc.*—1965.—24, N 2.—P. 12—23.

13. *Sinanoglu O.* Solvent effects on molecular associations // Mol. assoc. in biology / Ed. B. Pullman.— New York: Acad. press, 1968.— P. 427—445.
14. *Sinanoglu O., Abdalnur S.* Hydrophobic stacking of bases and the solvent denaturation of DNA // Photochem. and Photobiol.— 1964.—3, N 4.— P. 333—342.
15. *Equation of state calculations by fast computing machines / N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth et al.* // J. Chem. Phys.— 1953.—21, N 6.— P. 1087—1092.
16. *Журкин В. Б., Полтев В. И., Флорентьев В. Л.* Атом-атомные потенциальные функции для конформационных расчетов нуклеиновых кислот // Молекуляр. биология.— 1980.—14, № 5.— С. 1116—1130.
17. *Simulation of the interaction of nucleic acid fragments with solvent using atom-atom potential function / V. I. Poltev, V. I. Danilov, M. R. Sharafutdinov et al.* // Stud. biophys.— 1982.—91, N 1.— P. 37—43.
18. *Дьяконова Л. П., Маленков Г. Г.* Моделирование структуры жидкой воды методом Монте-Карло // Журн. структур. химии.— 1979.—20, № 5.— С. 854—861.
19. *Danilov V. I., Sharafutdinov M. R., Tolokh I. S.* Theoretical study of the stability of nucleotide base associates // Stud. biophys.— 1983.—93, N 3.— P. 193—196.
20. *Danilov V. I.* Nature of the stacking interactions of nucleic acid bases and their derivatives: theory and experiment // Steric aspects of biomolecular interactions / Eds G. Naray-Szabo, K. Simon.— Boca Raton: CRC press, 1987.— P. 235—242.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР,
Киев

Получено 10.04.89

HYDRATION OF URACIL AND THYMINE METHYLDERIVATIVES: A MONTE CARLO SIMULATION

V. I. Danilov, I. S. Tolokh

Institute of Molecular Biology and Genetics,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

Summary

The performed simulation has shown that under methylation of uracil and thymine NH-groups the interaction energy between base and water (U_{wb}) increases. It has also been detected that this energy increase is observed in the 1st and 3rd sectors. These conclusions do not confirm the assumption made in literature about the character of interaction between methylated bases and water. According to this assumption, when the NH-group is methylated, the energy of U_{wb} in this sector decreases at the expense of the van der Waals interactions between the methyl group and water, whose energy compensates the U_{wb} energy increase due to the break of the H-bond. Regulation of water molecules near hydrophobic group under the hydration of polar molecules is detected for the first time.

УДК 577.3

А. Т. Карапетян, П. О. Вардеванян, М. Д. Франк-Каменецкий

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ $[Na^+]$ НА ТЕПЛОТУ ПЕРЕХОДА СПИРАЛЬ — КЛУБОК ДНК *

Методом «скрепочной калориметрии» в сочетании с методом «площадей» определены энтальпия перехода спираль — клубок (ΔH) для ДНК различного GC-содержания. Экспериментально полученные данные показывают, что с увеличением GC-содержания ДНК наклон зависимости ΔH от $\lg[Na^+]$ уменьшается.

Введение. Существует несколько экспериментальных методов определения теплоты перехода спираль — клубок ДНК (ΔH). Из них только калориметрический является прямым методом определения этой величины, при помощи которого была вычислена энтальпия плавления как для синтетических [1—3], так и для природных ДНК [4—6].

* Представлена членом редколлегии В. И. Даниловым.