

Чи дозволяє неемпірична квантова хімія зрозуміти природу пуриново-пуринових помилок, яких припускається реплікативна ДНК-полімераза?

О. С. Кочіна, Є. П. Юренко^{1,2}, Д. М. Говорун²

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Вул. Володимирська, 64, Київ, 01033, Україна

¹Університет П'єра і Марії Кюрі
75005 Париж, Франція

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

Запропоновано новий підхід щодо з'ясування молекулярних механізмів помилкового синтезу пуриново-пуринових пар високоточними ДНК-полімеразами, який реалізовано з використанням неемпіричної квантової хімії на рівні теорії $MP2/6-311++G(d, p)/B3LYP/6-31G(d, p)$.

Ключові слова: реплікативна ДНК-полімераза, пуриново-пуринові помилки біосинтезу ДНК, неемпірична квантова хімія.

Вступ. Запропоновано новий підхід до з'ясування молекулярних механізмів неправильного (помилкового) синтезу пуриново-пуринових пар високоточними (реплікативними) ДНК-полімеразами [1], який ґрунтується на таких міркуваннях.

Автори припускають (і нам таке припущення вважається цілком логічним і таким, що не суперечить сучасним уявленням про механізми функціонування реплікативних полімераз [2–4]), що з-поміж усіх можливих пуриново-пуринових пар, утворених як за участі рідкісних таутомерів, так і основ в основній таутомерній формі з *сул*-орієнтацією відносно цукрового залишку [5], синтезуються лише ті з них, геометричні розміри котрих в активному центрі полімерази у процесі термодинамічних флуктуацій можуть бути адаптовані (підлаштовані) до розмірів, аналогічних класичним Вотсон-Криківським парам АТ (ТА) та ГС (СГ). При цьому критерієм, який, зокрема,

визначає ймовірність неправильного синтезу, пропонується вважати вільну енергію, необхідну для адаптації розмірів неправильної пари до правильної $G_{\text{деф}}$: за всіх інших однакових умов у першу чергу синтезується та з пар однакового сорту (АА, GG, чи АG (GA)), яка має найменше значення $G_{\text{деф}}$.

У процесі неемпіричних квантово-хімічних розрахунків величин $G_{\text{деф}}$ для всіх 20 можливих неправильних пуриново-пуринових пар нами виявлено раніше не описані в літературі [1, 5] цікаві властивості цих структур.

З'ясувалося, що всі ці пари поділяються на дві групи: до першої належать ті з них, які в розумному діапазоні значень $G_{\text{деф}}$ вдається адаптувати до Вотсон-Криківських; до другої – пари, розміри яких принципово не вдається підлаштувати під класичні Вотсон-Криківські розміри через непомірні стеричні перешкоди. Це означає, що пари з другої групи можуть помилково синтезуватися

лише тими полімеразами, які мають «м'який» активний центр (на відміну від реплікативних полімераз з «жорстким» активним центром [2–4]), що дозволяє йому з ненульовою ймовірністю підлаштувати свою «архітектуру» під розміри тієї чи іншої неправильної пари, забезпечуючи тим самим її ензиматичний синтез.

З'ясувалося також, що пари з першої групи теж принципово відрізняються поміж собою за показниками термодинамічної стійкості. Одні з них, будучи деформованими до розмірів правильних пар, не втрачають термодинамічної стійкості, тобто мають енергію взаємодії $G_{B3} = 0$; інші ж втрачають стійкість та характеризуються енергією взаємодії $G_{B3} > 0$. Зрозуміло, що лише ті пари, які найменше втрачають стійкість після деформації до розмірів правильних пар, і є претендентами на успішний неправильний синтез, причому найбільша ймовірність останнього повинна бути для пари (з-поміж пар одного сорту) з найменшою відносною енергією G .

Матеріали і методи. Квантово-хімічні розрахунки виконано на рівні теорії MP2/6-311++G(d, p)//B3LYP/6-31G(d, p) у режимі повної оптимізації. Коливальні спектри для кожної пари основ – як для тих, що відповідають локальним мінімумам, так і для примусово деформованих, розраховували в гармонійному наближенні на тому ж рівні теорії, на якому оптимізували геометрію.

Розміри неправильних пар адаптували до розмірів правильних таким чином. Спочатку суміщали глікозидні атоми азоту і напрямки глікозидних зв'язків основ двох пар – неправильної та правильної, які належать матриці. Потім змінювали просторову орієнтацію основи, яка включається, утворюючи неправильну пару, так, щоб розміщення її глікозидного азоту та напрямків глікозидного зв'язку збігалися в просторі з такими для аналогічної комплементарної основи відповідної правильної пари. Після цього фіксували відстані між основами неправильної пари і оптимізували геометрію плоскої неправильної пари на згаданому вище рівні теорії. У такий спосіб нами досліджено всі можливі варіанти – 20 неправильних воднево-зв'язаних пуриново-пуринових пар (рис. 1, 2), які можуть бути інкорпо-

Енергетичні характеристики (ккал/моль) усіх можливих пуриново-пуринових пар основ ДНК, які можуть бути інкорпоровані в подвійну спіраль ДНК

Тип пари (див. рис. 1, 2)			ΔG	$\Delta G_{\text{неф}}$	ΔG_{B3}
A·A	I	A·A _{syn}	0	1,73	4,57
	II	A·A	0,31	∞	
	III	A·A*	5,33	∞	
	IV	A*·A _{syn}	5,96	4,78	0,59
	V	A·A* _{syn}	20,06	12,49	
	VI	A _{syn} ·A* _{syn}	23,60		
G·G	I	G·G _{syn}	0	5,48	0,85
	II	G* _{syn} ·G* _{syn}	14,04		
	III	G*·G _{syn}	23,92	4,85	-6,66
	IV	G·G _{syn}	0	∞	
A·G	I	A·G	0	∞	
	II	A _{syn} ·G	0,51		
	III	A*·G* _{syn}	10,78	11,82	3,84
	IV	A·G* _{syn}	13,41	11,72	-0,47
	V	A _{syn} ·G* _{syn}	16,14		
	VI	A _{syn} ·G*	18,04	4,21	
	VII	A*·G _{syn}	20,11	∞	
	VIII	A _{syn} ·G*	26,21	1,76	
	IX	A _{syn} ·G*	30,46	1,48	
	X	A* _{syn} ·G _{syn}	42,37		
G·A	I	G·A _{syn}	0,51	11,27	1,50

Примітка. Знак ∞ означає, що розміри неправильних пар, навпроти яких він стоїть, не вдається підлаштувати під розміри відповідних Вотсон-Криківських пар.

ровані в подвійну спіраль ДНК [5]: шість пар AA, три пари GG, 10 пар AG та одну пару GA.

У роботі використано такі позначення. Основа, яка знаходиться ліворуч у назві пари, належить до матриці; при цьому інша основа, що розміщується праворуч, відповідає основі тринуклеозидфосфату, що включається під час ензиматичного синтезу ДНК. Літерами із зірочками позначено рідкісні таутомерні форми основ; основи, що перебувають у *syn*-орієнтації, мають нижній індекс «*syn*». Літери без будь-яких символів позначають основи в основній таутомерній формі з *anti*-орієнтацією відносно цукрового залишку.

Результати і обговорення. Отримані результати щодо енергетики досліджених пар представлено у таблиці.

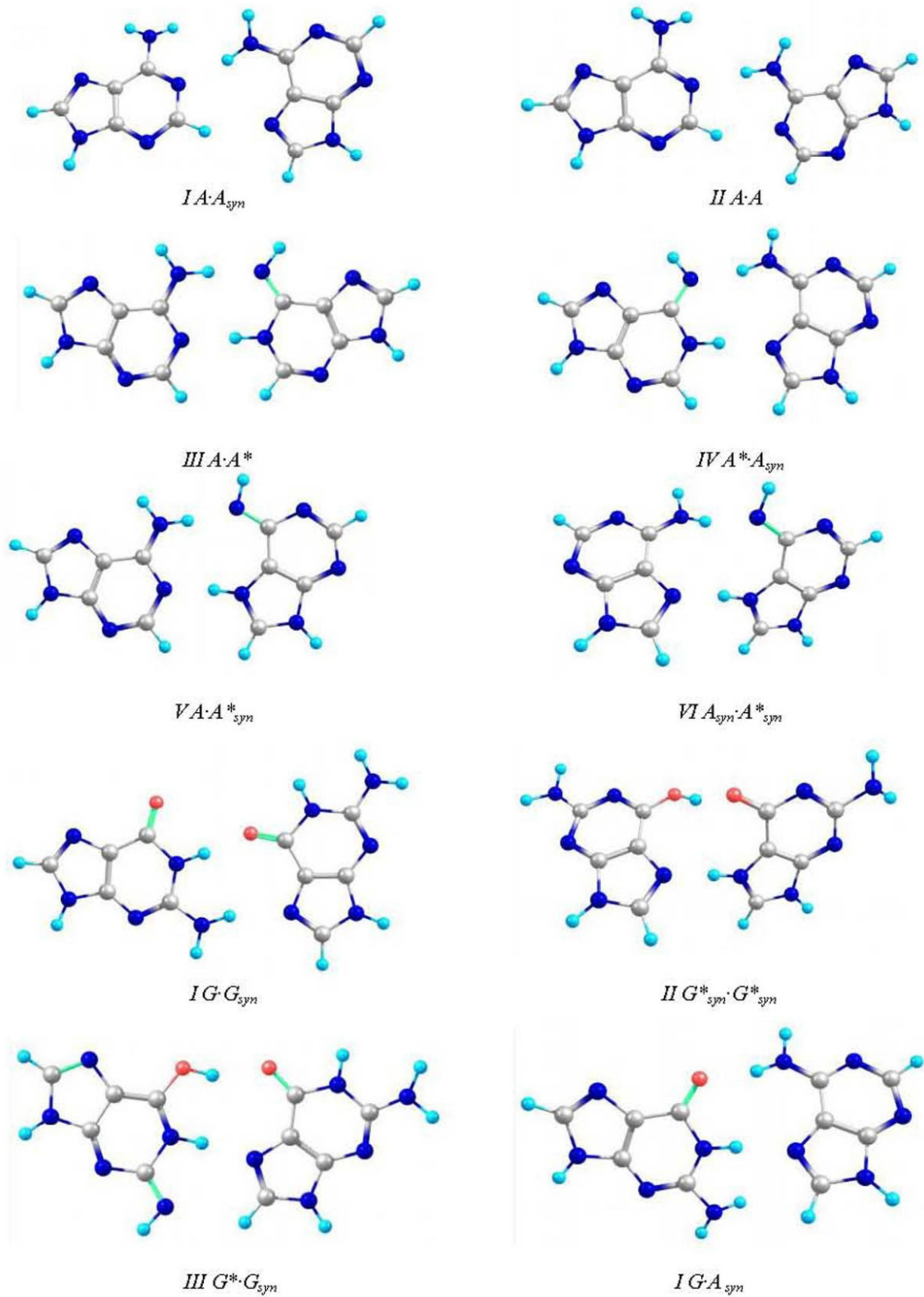


Рис. 1. Усі можливі пуриново-пуринові пари основ (A·A, G·G та G·A), які, в принципі, можуть бути інкорпоровані у подвійну спіраль ДНК

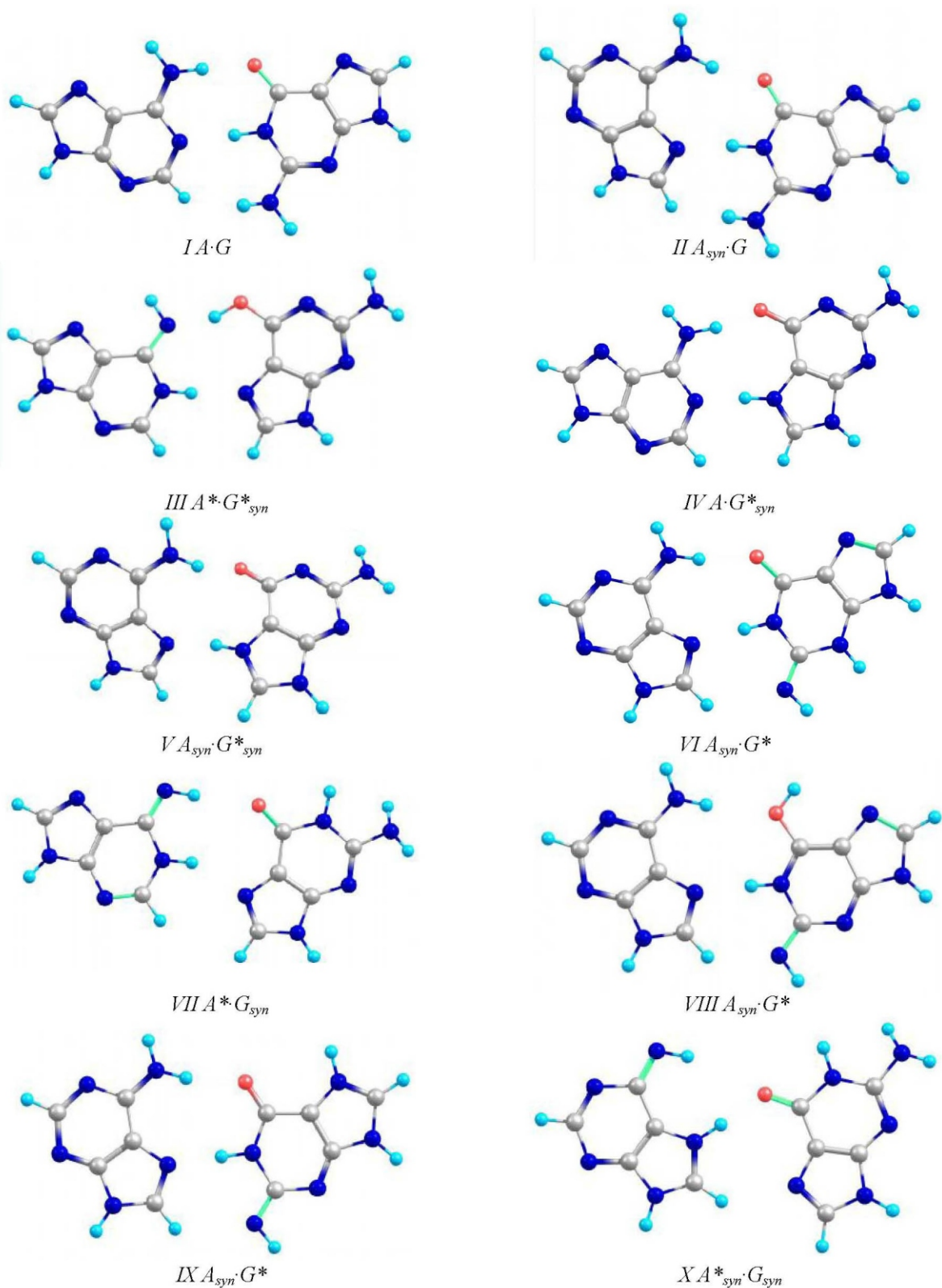


Рис. 2. Усі можливі пуриново-пуринові пари основ (A·G), які, в принципі, можуть бути інкорпоровані у подвійну спіраль ДНК

Неправильні пари АА синтезуються за механізмом A^*A_{syn} (IV). Цей висновок, по суті, є квантово-хімічним підтвердженням класичної гіпотези Топала-Фреско [6].

Синтез неправильних GG пар відбувається за механізмом G^*G_{syn} (III), хоча не можна повністю виключити й механізму GG_{syn} (I), який не потребує переходу основ у рідкісну таутомерну форму. При цьому частота помилок GG повинна бути меншою за частоту помилок АА, оскільки таутомер G^* має помітно більшу енергію таутомеризації, ніж таутомер A^* , що збігається з результатами експерименту [7].

Синтез неправильних пар AG здійснюється за схемою AG^*_{syn} (IV), а синтез неправильних пар GA – за схемою GA_{syn} (I), який не потребує переходу основ у рідкісну таутомерну форму. Оскільки пара GA_{syn} , адаптована до розмірів пари GC, є енергетично вигіднішою, ніж пара AG^*_{syn} , адаптована до розмірів пари AT, то це цілком логічно пояснює експериментальний факт більшої зустрічальності помилок типу GA, ніж помилок типу AG [7].

Висновки. На основі вперше запропонованого підходу, що стосується молекулярних механізмів пуриново-пуринових помилок при ензиматичній реплікації ДНК, та відповідних квантово-хімічних розрахунків можна зробити висновок про те, що ці помилки можливі лише за умови переходу основи, що включається, у *syn*-конформацію, причому тільки в одному випадку – при синтезі неправильних пар GA – не відбувається переходу основ у рідкісну таутомерну форму. Отримані результати не лише достеменно підтверджують класичну гіпотезу Топала-Фреско [6], а й істотно розширюють модельні уявлення, на яких вона ґрунтується. Про адекватність запропонованого підходу свідчить якісна узгодженість отриманих на його основі теоретичних висновків із експериментом [7, 8].

O. S. Kochina, Ye. P. Yurenko, D. M. Hovorun

Does non-empirical quantum chemistry allow understanding nature of purine-purine mismatches formation by high fidelity DNA polymerases?

Summary

Based on ab initio quantum chemical calculations at the MP2/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d,p) level of theory, we suggest a new approach, explaining molecular mechanisms of purine-purine mismatches formation by high fidelity DNA polymerases.

Keywords: replication DNA polymerase, purine-purine mismatches of DNA biosynthesis, non-empirical quantum chemistry.

O. S. Kochina, E. P. Yurenko, D. M. Hovorun

Позволяет ли неэмпирическая квантовая химия понять природу пуриново-пуриновых ошибок, допускаемых репликативной ДНК-полимеразой?

Резюме

Предложен новый подход к выяснению молекулярных механизмов ошибочного синтеза пуриново-пуриновых пар высокоточными ДНК-полимеразам, реализованный с использованием неэмпирической квантовой химии на уровне теории MP2/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d,p).

Ключевые слова: репликативная ДНК-полимераза, пуриново-пуриновые ошибки биосинтеза ДНК, неэмпирическая квантовая химия.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Полтев В. И., Шулюпина Н. В., Брусков В. И. Молекулярные механизмы правильности биосинтеза нуклеиновых кислот. Сравнение результатов компьютерного моделирования с экспериментальными данными // Молекуляр. биология.–1998.–**32**.–С. 268–276.
2. Beard W. A., Wilson S. H. Structure and mechanism of DNA polymerase // Chem. Rev.–2006.–**106**.–Р. 361–382.
3. Kunkel T. A., Bebenek K. DNA replication fidelity // Annu. Rev. Biochem.–2000.–**69**.–Р. 497–529.
4. Beard W. A., Wilson S. Structural insights into DNA polymerase fidelity: hold tight if you want it right // Chemistry and Biology.–1998.–**5**.–Р. R7–R13.
5. Tikhomirova A., Beletskaya I. V., Chalikian T. V. Stability of DNA duplexes containing GG, CC, AA and TT mismatches // Biochemistry.–2006.–**45**.–Р. 10563–10571.
6. Topal M. D., Fresco J. R. Complementary base pairing and the origin of substitution mutation // Nature.–1976.–**263**.–Р. 285–289.
7. Ahn J., Werneburg B. G., Tsai M. D. DNA polymerase : structure-fidelity relationship from pre-steady-state kinetic analyses of all possible correct and incorrect base pairs for wild type and R283A mutant // Biochemistry.–1997.–**36**.–Р. 1100–1107.
8. Kretulskie A. M., Spratt T. E. Structure of purine-purine mispairs during misincorporation and extension by *Escherichia coli* DNA polymerase I // Biochemistry.–2006.–**45**.–Р. 3740–3746.

УДК 573.3; 577.21+575.857
Надійшла до редакції 03.06.07