



УДК 539.194

© 2009

Т. Ю. Ніколаєнко, академік НАН України Л. А. Булавін,
член-кореспондент НАН України Д. М. Говорун

Структурно-динамічні особливості модельних цукрово-фосфатних залишків 3'-дезоксирибонуклеотидів

Квантово-механічним методом функціонала густини на рівні теорії DFT B3LYP/aug-cc-pvqz//DFT B3LYP/6-31G(d,p) досліджено структурно-динамічні особливості модельної структурної ланки ДНК — цукрово-фосфатного залишку 3'-дезоксирибонуклеотидів, її конформаційне різноманіття, спричинене фосфатною групою, природу конформаційних S/N-переходів, наявність внутрішньомолекулярних водневих зв'язків та мобільність цукрового залишку і фосфатної групи навколо деяких одинарних хімічних зв'язків.

Дана робота, як і попередня [1], присвячена вивченню сучасними неемпіричними квантово-механічними методами біофізично важливих структурно-динамічних властивостей модельного цукрово-фосфатного залишку 3'-дезоксирибонуклеотидів — структурних ланок ДНК, а саме: конформаційного різноманіття, спричиненого наявністю фосфатної групи, фізичної природи конформаційних S/N-переходів, наявності можливих внутрішньомолекулярних водневих (Н) зв'язків та торсійної мобільності цукрового залишку і фосфатної групи навколо деяких одинарних хімічних зв'язків.

Об'єкти і методи дослідження. У контексті дослідження нами було сконструйовано дві групи модельних цукрово-фосфатних залишків 3'-дезоксирибонуклеотидів (рис. 1): зі значеннями номенклатурних кутів [2] $\varepsilon \in \text{trans}$, $\zeta \in g^-$ (модельюють ВІ конформацію ДНК) і $\varepsilon \in g^-$, $\zeta \in \text{trans}$ (модельюють ВІІ конформацію ДНК) та спільними для обох груп значеннями конформаційних змінних $\beta \in \text{trans}$, $\gamma \in g^+$, $\delta = 141^\circ$; конформація цукру — C_{2'}endo.

У роботі використано загальнозживані позначення номенклатурних кутів та атомів (див. рис. 1) [2].

Конформацію електронейтральної фосфатної групи досліджуваних сполук описували трьома параметрами: номером атома кисню ($n = 1$: O_{1P} або $n = 2$: O_{2P}; рис. 1), з яким хімічно зв'язаний атом водню (його наявність саме і забезпечувала електронейтральність сполуки), та двома торсійними кутами: $\tau = \text{H}_{O_nP} - \text{O}_{nP} - \text{P} - \text{O}_Z$ (де $n = 1$ або 2) та $\alpha_{\text{next}} = \text{H}_{5'\text{next}} - \text{O}_{5'\text{next}} - \text{P} - \text{O}_Z$, $\alpha_{\text{next}} \in g^-$. Як у ВІ-, так і в ВІІ-сімействах модельних сполук, для кожного n (1 або 2) кут τ набував трьох різних значень (g^+ , g^- , trans).

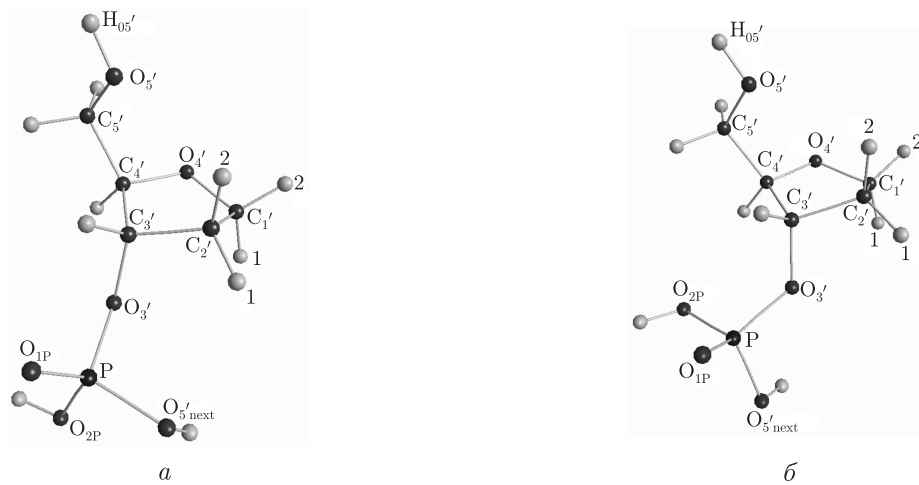


Рис. 1. Модельні цукрово-фосфатні залишки 3'-дезоксирибонуклеотидів: *a* — VI сімейство, *б* — VII сімейство

Для VI- і VII-сімейств стартових конформацій досліджуваних сполук використано позначення, відповідно, $B_{1/nt}$ і $B_{2/nt}$, де $n = 1$ або 2 — локалізація атома водню, $t = 1, 2, 3$ — його орієнтація (кут τ дорівнює g^+ , g^- або $trans$, відповідно).

Загальна кількість сконструйованих таким чином модельних цукрово-фосфатних залишків 3'-дезоксирибонуклеотидів становила 12.

Оптимізацію геометрії конформерів проводили без будь-яких структурних обмежень з використанням програмного пакету “Gaussian 03” для платформи Win32 [3] на рівні теорії DFT B3LYP/aug-cc-pvqz//DFT B3LYP/6-31G(d,p). Коливальні спектри розраховували у гармонійному наближенні: ці дані використовували, по-перше, для того, аби переконатися, що зоптимізовані конформери відповідають мінімумам на гіперповерхні потенційної енергії (лише у цьому випадку в спектрі відсутні так звані уявні частоти) і, по-друге, — для знаходження коливальної поправки до енергії Гіббса (при тиску 1,0 атм і температурі 298,15 К) кожного конформера.

Пошук перехідних станів, що відповідають конформаційним переходам $S \leftrightarrow N$ та $VI \leftrightarrow VII$, проводили за методом QST2.

Для виявлення внутрішньомолекулярних Н-зв'язків було використано метод аналізу топології електронної густини за Бейдером [4], імплементований в програмному пакеті AIM2000, при цьому їхню енергію розраховували за формулою Еспінози [5]. Розподіл електронної густини отримано на рівні теорії DFT B3LYP/6-31G(d,p).

Параметри, що описують динамічну поведінку конформерів щодо поворотів навколо одинарних хімічних зв'язків, а саме — торсійні силові сталі K та амплітуди теплових коливань Φ , розраховували у наближенні гармонійного торсійного осцилятора за формулами [6, с. 64]:

$$K = \omega^2 I_r, \quad (1)$$

$$\Phi = \sqrt{\frac{\hbar}{2I_r\omega} \operatorname{cth}\left(\frac{\hbar\omega}{2kT}\right)}, \quad (2)$$

де I_r — зведений момент інерції; $\omega = 2\pi\nu$ — кругова частота; \hbar — стала Планка; k — стала Больцмана; T — абсолютна температура. Моменти інерції I_r оптимізованих конформе-

рів відносно вибраних одинарних хімічних зв'язків обчислювали за допомогою спеціально створеної авторами програми.

Результати та їх обговорення. В табл. 1 наведено структурні характеристики (див. також рис. 2) і відносні енергії оптимізованих конформерів $B_{x/nt}$. На рис. 2 зображено внутрішньомолекулярні Н-зв'язки, виявлені шляхом аналізу топології електронної густини.

Наведені дані дозволяють зробити висновок, що локалізація атома водню в фосфатній групі майже не впливає на кути β , γ і δ (розкид їхніх значень не перевищує $\pm 8^\circ$ для усіх $B_{x/nt}$); відмінності у кутах ε і ζ більш значні ($\pm 35^\circ$, $\pm 65^\circ$).

Так, конформери сімейства B_I після оптимізації звелися лише до трьох різних варіантів: $B_{1/11}$, $B_{1/12}$ (збігається з $B_{1/13}$) та $B_{1/21}$ (збігається з $B_{1/22}$, $B_{1/23}$), перший з яких є енергетично найвигіднішим: $\Delta G = 0,3$ ккал/моль порівняно з $B_{1/12}$. При цьому відмінності конформерів $B_{1/11}$ і $B_{1/12}$ зумовлені лише орієнтацією атомів водню фосфатної групи (кутами α_{next} і τ), а різниця їх енергії збігається з різницями енергій Н-зв'язку $C_2'N_1 \dots O_5'$ у них (табл. 2).

Конформер $B_{1/21}$ з локалізацією атома водню на кисні O_{2p} не є енергетично найвигіднішим, однак значення кута ζ у ньому є близькими до типового для ДНК (-100° [7]). Кути ε і α_{next} в цьому випадку також ближчі до їх експериментальних значень (-179° і -62° відповідно), а орієнтація атома водню (кут τ) після оптимізації не залежить від початкової. У випадку локалізації атома водню на кисні O_{2p} виникає також додатковий водневий зв'язок $C_2'N_2 \dots O_5'$ (з енергією 1,7 ккал/моль), характерний для нуклеотидів.

Виходячи з цього, можна висловити припущення, що у електронейтральних нуклеотидах у B_I -конформації ДНК атом водню в фосфатній групі локалізований на атомі O_{2p} , попри те, що це не є енергетично найвигіднішим випадком.

Таблиця 1. Геометричні параметри та відносні енергії оптимізованих конформерів модельних цукрово-фосфатних залишків 3'-дезоксирибонуклеотидів

Конформер	$\beta, ^\circ$	$\gamma, ^\circ$	$\delta, ^\circ$	$\varepsilon, ^\circ$	$\zeta, ^\circ$	$\alpha_{\text{next}}, ^\circ$	$\tau, ^\circ$	$P, ^\circ$	$\nu_{\text{max}}, ^\circ$	ΔG^1 , ккал/моль
$B_{1/11}$	170,6	45,5	137,2	-150,5	-57,2	-173,8	103,6	146,2	37,4	0,89
$B_{1/12}$	172,7	45,9	137,3	-151,4	-54,5	-106,7	-177,7	146,2	37,5	1,22
$B_{1/13}$	172,7	45,9	137,3	-151,4	-54,4	-106,7	-177,7	146,2	37,5	1,23
$B_{1/21}$	176,2	47,0	139,6	-160,8	-92,2	-59,0	-73,7	151,9	36,5	1,65
$B_{1/22}$	176,4	47,0	139,6	-160,8	-92,3	-59,1	-73,6	151,9	36,5	1,65
$B_{1/23}$	176,2	47,0	139,6	-160,8	-92,3	-59,1	-73,7	151,9	36,5	1,65
$B_{2/11}$	175,8	46,2	136,3	-83,2	179,9	-103,9	153,0	142,4	37,6	0,00
$B_{2/12}$	175,9	46,2	136,4	-83,2	179,9	-103,8	158,0	142,5	37,6	0,00
$B_{2/13}$	-179,1	46,8	133,5	-82,0	179,3	-133,0	-53,7	138,1	38,3	1,28
$B_{2/21}$	176,0	46,4	140,5	-99,3	-173,9	-39,8	-156,0	149,7	36,7	0,94
$B_{2/22}$	-178,4	47,9	141,4	-80,7	-156,8	70,1	54,7	151,6	36,5	1,42
$B_{2/23}$	176,1	46,4	140,5	-99,3	-173,9	-40,3	-156,0	149,6	36,7	0,95
$B_{1/21} \rightarrow B_{2/11}$	176,1	46,9	138,7	-159,4	-92,0	-104,2	-100,0	150,0	36,8	1,80
$A_{1/11}$	171,0	52,0	107,0	-155,4	-59,4	-169,9	102,9	319,1	37,8	1,62
$A_{1/11} \rightarrow B_{1/11}$	173,5	47,0	141,3	-151,6	-57,7	-172,5	104,0	260,4	32,3	3,72
Сполуки без фосфатної групи										
$A_{1/00}$	170,1	53,3	101,6	-170,7	—	—	—	324,2	37,6	0,33
$A_{1/00} \rightarrow B_{1/00}$	172,3	48,3	139,7	177,5	—	—	—	259,7	32,6	2,28
$B_{1/00}$	169,9	46,7	138,2	176,9	—	—	—	150,5	38,4	0,00

¹ $\Delta G = G - G_{\text{min}}$. Для сполук $A_{1/00}$, $A_{1/00} > B_{1/00}$ та $B_{1/00}$ енергія Гіббса G відраховуються від значення для сполуки $B_{1/00}$, а для решти — від $B_{2/11}$.

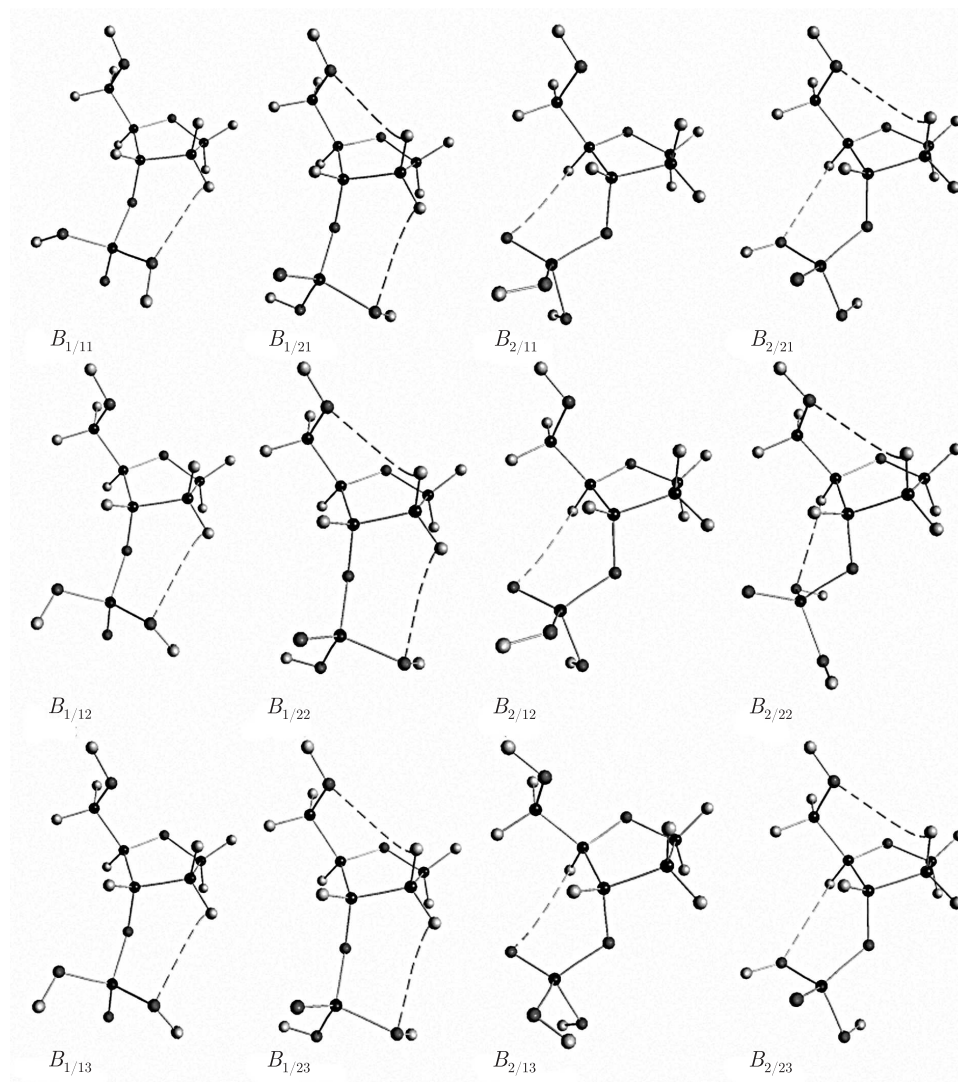


Рис. 2. Геометрична структура конформерів *BI*- та *BII*-сімейств модельних цукрово-фосфатних залишків 3'-дезоксирибонуклеотидів (розрахунок на рівні теорії DFT B3LYP/6-31G(d,p)) та внутрішньомолекулярні водневі зв'язки у них (штрихові позначення)

У випадку сімейства *BII* енергетично найвигіднішою є локалізація атома водню на атомі O_{1P} (див. $B_{2/11}$ і $B_{2/12}$ в табл. 1, $\Delta G = 0,9$ ккал/моль). Водночас, кути ε і особливо α_{next} є ближчими до експериментальних (-114° і -62° відповідно [7]) у випадках локалізації атома водню на атомі O_{2P} . В останньому випадку (див. $B_{2/21}$ і $B_{2/23}$ в табл. 1) чіткіше виражена і $C2'_{endo}$ конформація цукру (див. відповідні значення кута псевдообертання P).

Як і у випадку *BI*-сімейства, Н-зв'язок $C2'_{H2} \dots O_{5'}$ знову має місце лише у випадку локалізації атома водню на атомі O_{2P} .

В цілому, можна зробити висновок, що для обох сімейств (*BI* і *BII*) енергетично найвигіднішою є локалізація атома водню на кисні O_{1P} фосфатної групи, в той час як його локалізація на атомі O_{2P} призводить до значень номенклатурних кутів, ближчих до експериментальних [7].

Незалежно від локалізації атома водню, у досліджуваних сполуках мають місце Н-зв'язки $C_{2'H_1} \dots O_{5'next}$ (VI-конформери) і $C_{4'H_1} \dots O_{2P}$ (VII-конформери). Їхні енергії складають близько 1,5 ккал/моль (табл. 2).

Конформаційні переходи. Було локалізовано перехідний стан $B_{1/21} \rightarrow B_{2/11}$ між вибраними представниками VI- і VII-сімейства ($B_{1/21} \rightarrow B_{2/11}$; $B_{2/11}$ було обрано як енергетично найвигідніший); його геометричні параметри наведено в табл. 1 (див. рядок " $B_{1/21} \rightarrow B_{2/11}$ "). Висота відповідного енергетичного бар'єра переходу становить $\Delta\Delta G_{1/21 \rightarrow 2/11} = 1,8$ ккал/моль. Геометрії початкового, кінцевого і перехідного станів зображено на рис. 3, а.

Виявлено, що в процесі VI \rightarrow VII переходу в досліджених сполуках зникають водневі зв'язки $C_{2'H_2} \dots O_{5'}$ та $C_{2'H_1} \dots O_{5'next}$, але натомість виникає зв'язок $C_{4'H_1} \dots O_{2P}$ (в перехідному стані він ще відсутній).

Окремо було проаналізовано вплив наявності фосфатної групи в 3'-положенні на конформаційний $N \rightarrow S$ перехід фуранозного кільця і структуру відповідного перехідного стану. Для цього порівнювали перехідні стани $N \rightarrow S$ переходів, одержані у сполуках з наявною та відсутньою фосфатною групою (рис. 3, б). Цими перехідними станами є $A_{1/11} \rightarrow B_{1/11}$ (між конформером $B_{1/11}$ та аналогічним $A_{1/11}$ із цукром в N -конформації) та $A_{1/00} \rightarrow B_{1/00}$ (між сполуками, аналогічними попереднім, але у яких фосфатна група замінена на атом водню, рис. 3, б).

З даних табл. 1 випливає, що висота бар'єра переходу за відсутності фосфатної групи (перехід $A_{1/00} \rightarrow B_{1/00}$) становить $\Delta\Delta G = 2,3$ ккал/моль, а за її наявності (перехід $A_{1/11} \rightarrow B_{1/11}$) — $\Delta\Delta G = 2,1$ ккал/моль, тобто вони практично однакові. Енергії водневого зв'язку $C_{2'H_2} \dots O_{5'}$ в перехідних станах $A_{1/00} \rightarrow B_{1/00}$ та $A_{1/11} \rightarrow B_{1/11}$ також рівні між собою (1,9 ккал/моль).

За наявності фосфатної групи водневий зв'язок $C_{2'H_1} \dots O_{5'next}$ (енергія 1,5 ккал/моль) відсутній у випадку N -конформації цукру ($A_{1/11}$), але виникає в перехідному стані $A_{1/11} \rightarrow B_{1/11}$ і залишається в конформері $B_{1/11}$ (S -конформація цукру).

Водневий зв'язок $C_{2'H_2} \dots O_{5'}$ за S -конформації цукру має місце лише за умови відсутності фосфатної групи (рис. 3, б).

Таблиця 2. Енергії внутрішньомолекулярних водневих зв'язків, ккал/моль

Конформер	$C_{2'H_2} \dots O_{5'}$	$C_{2'H_1} \dots O_{5'next}$	$C_{4'H_1} \dots O_{2P}$
$B_{1/11}$	—	1,7	—
$B_{1/12}$	—	1,4	—
$B_{1/13}$	—	1,4	—
$B_{1/21}$	1,7	1,2	—
$B_{1/22}$	1,7	1,2	—
$B_{1/23}$	1,7	1,2	—
$B_{2/11}$	—	—	1,6
$B_{2/12}$	—	—	1,6
$B_{2/13}$	—	—	1,6
$B_{2/21}$	1,6	—	1,5
$B_{2/22}$	1,7	—	1,4
$B_{2/23}$	1,6	—	1,5
$B_{1/00}$	1,6	—	—
$B_{1/21} \rightarrow B_{2/11}$	1,6	1,1	—
$A_{1/00} \rightarrow B_{1/00}$	1,9	—	—
$A_{1/11} \rightarrow B_{1/11}$	1,9	1,5	—

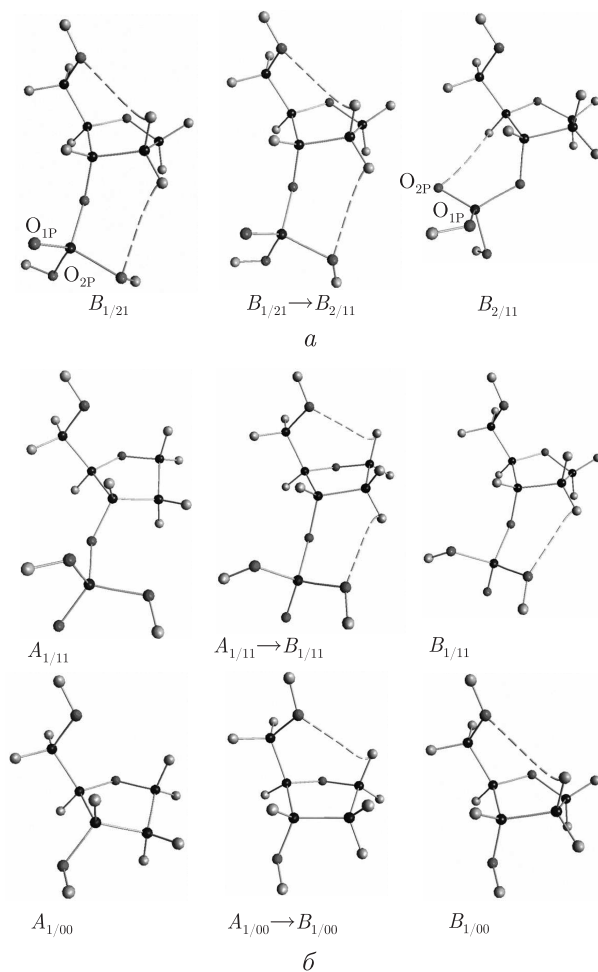


Рис. 3. Геометрична структура перехідних станів: *a* – $BI \rightarrow BII$ переходів, *b* – $N \rightarrow S$ переходів (внутрішньомолекулярні Н-зв'язки – штрихові позначення)

Отже, фосфатна група в $3'$ -положенні практично не впливає на енергетику конформаційного $N \rightarrow S$ переходу фуранозного кільця, але має вплив на конфігурацію водневих зв'язків.

Динамічні властивості. У коливальних спектрах досліджуваних сполук серед низькочастотних нормальних коливань виявлено коливання, при яких істотної зміни зазнає лише один з торсійних кутів (γ , ε , ζ). Це дозволило нам розрахувати за формулами (1), (2) сили сталі і амплітуди для термодинамічно рівноважних коливань навколо деяких одинарних хімічних зв'язків (під амплітудою розуміємо величину $\Phi = \sqrt{\langle \varphi^2 \rangle}$, квадрат якої дорівнює середньоквадратичному відхиленню $\langle \varphi^2 \rangle$ відповідного торсійного кута).

Одержані значення наведено в табл. 3.

Найбільшою (~ 40 ккал/(моль \cdot рад²)) є крутильна жорсткість K_γ для коливань, що відповідають зміні кута γ . Виявлено співвідношення $K_\zeta < K_\varepsilon$, причому $K_\varepsilon/K_\zeta \sim 3$ – в усіх конформерах, крім $B_{2/11}$, $B_{2/12}$, $B_{2/13}$ (де відмінність K_ε і K_ζ становить лише 30%). Можливою причиною істотного збільшення K_ζ в цих конформерах є наявність Н-зв'язку $C_4H_1 \dots O_{2P}$, в якому бере участь негідратований атом кисню O_{2P} фосфатної групи.

Таблиця 3. Динамічні характеристики нормальних коливань, при яких істотної зміни зазнає лише один з торсійних кутів

Конформер	Вісь обертання, торсійний кут	Частота коливання, см ⁻¹	Зведений момент інерції, а. о. м · Å ²	Крутильна жорсткість, ккал/(моль · рад ²)	Амплітуда, град, при температурі	
					298,15 К	0 К
<i>B</i> _{1/11}	O _{3'} -P, ζ	18,7	92,39	2,74	26,6	5,7
<i>B</i> _{1/12}	O _{3'} -P, ζ	20,6	92,13	3,31	24,2	5,4
<i>B</i> _{1/13}	O _{3'} -P, ζ	20,8	92,13	3,38	24,0	5,4
<i>B</i> _{1/21}	C _{3'} -O _{3'} , ε	33,0	147,15	13,58	12,0	3,4
<i>B</i> _{1/22}	C _{3'} -O _{3'} , ε	33,0	147,15	13,58	12,0	3,4
<i>B</i> _{1/23}	C _{3'} -O _{3'} , ε	33,0	147,15	13,58	12,0	3,4
<i>B</i> _{2/11}	O _{3'} -P, ζ	35,1	98,81	10,32	13,7	4,0
<i>B</i> _{2/12}	O _{3'} -P, ζ	35,2	98,81	10,38	13,7	4,0
<i>B</i> _{2/13}	O _{3'} -P, ζ	37,0	99,62	11,56	13,0	3,9
<i>B</i> _{2/21}	O _{3'} -P, ζ	21,9	97,41	3,96	22,2	5,1
<i>B</i> _{2/22}	O _{3'} -P, ζ	24,7	99,97	5,17	19,4	4,7
<i>B</i> _{2/23}	O _{3'} -P, ζ	21,9	97,42	3,96	22,2	5,1
<i>A</i> _{1/11}	O _{3'} -P, ζ	16,1	95,04	2,09	30,6	6,0
<i>A</i> _{1/00}	C _{4'} -C _{5'} , γ	130,2	29,18	41,93	6,9	3,8
<i>B</i> _{1/00}	C _{4'} -C _{5'} , γ	125,2	28,76	38,22	7,2	3,9

Ще однією характерною рисою досліджених коливань є їх значна амплітуда: за кімнатної температури $\Phi \sim 15^\circ$; навіть при 0 К маємо $\Phi \sim 4^\circ$ (так звані квантові нульові коливання). Ці дані дозволяють зробити висновок, що значення торсійних кутів ε (та ζ) в нуклеотидах, які відрізняються менше, ніж на 15° , є фактично однаковими.

Таким чином, в результаті проведеного аналізу *VI*- і *VII*-сімейств модельних цукрово-фосфатних залишків 3'-дезоксирибонуклеотидів встановлено, що енергетично найвигіднішою для обох сімейств є локалізація атома водню на атомі кисню O_{1P} фосфатної групи, тоді як його локалізація на атомі O_{2P} призводить до значень номенклатурних кутів, ближчих до експериментальних.

Незалежно від локалізації атома водню, в досліджуваних сполуках виявлено внутрішньомолекулярні водневі зв'язки C_{2'H1}...O_{5'next} (у випадку *VI*-конформацій) і C_{4'H1}...O_{2P} (у випадку *B-II*-конформацій). Їхні енергії становлять близько 1,5 ккал/моль. Внутрішньомолекулярний водневий зв'язок C_{2'H2}...O_{5'} для обох сімейств має місце лише у випадку локалізації атома водню на атомі O_{2P}.

Досліджено конформаційні переходи: *VI* → *VII* (висота енергетичного бар'єра $\Delta\Delta G = 1,8$ ккал/моль) і *N* → *S* ($\Delta\Delta G = 2,3$ ккал/моль). В останньому випадку вплив фосфатної групи в 3'-положенні проявляється у конфігурації водневих зв'язків, але не в енергетиці переходу.

Досліджені сполуки характеризуються значними амплітудами теплових коливань торсійних кутів ε і ζ : за нормальних умов $\Phi_\varepsilon \sim 12^\circ$, $\Phi_\zeta \sim 20^\circ$. Ці величини встановлюють природний масштаб, менші від якого зміни торсійних кутів ε (та ζ) в нуклеотидах не є біофізично значущими.

1. Жураківський Р. О., Юренко Є. П., Говорун Д. М. Конформаційні властивості 1'-, 2'-дезоксирибози – модельного цукрового залишку 2'-дезоксирибонуклеотидів: результати неемпіричного квантово-механічного дослідження // Доп. НАН України. – 2006. – № 8. – С. 207–213.
2. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. – Москва: Мир, 1966. – 668 с.
3. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B. et al. Gaussian 03, Revision C. 02. – Wallingford, CT: Gaussian, 2004.

4. Бэйдер Р. Атомы в молекулах. Квантовая теория. – Москва: Мир, 2001. – 532 с.
5. Espinosa E., Molins E., Lecomte C. Hydrogen bond strengths revealed by topological analyses of experimentally observed electron densities // Chemical Physics Letters. – 1998. – **285**. – P. 170–173.
6. Фейнман Р. Статистическая механика. Курс лекций. – Москва: Мир, 1975. – 407 с.
7. Berman H. M. Crystal studies of B-DNA: The answers and the questions // Biopolymers. – 1997. – **44**, Iss. 1. – P. 23–44.

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

Надійшло до редакції 22.04.2009

T. Yu. Nikolaienko, Academician of the NAS of Ukraine **L. A. Bulavin**,
Corresponding Member of the NAS of Ukraine **D. M. Hovorun**

The structural and functional features of 3'-deoxyribonucleotides model sugar-phosphate residues

The structural and functional features of a model DNA recurring unit, the 3'-deoxyribonucleotide sugar-phosphate residue, are studied by means of the quantum density functional method (DFT B3LYP/aug-cc-pvqz // DFT B3LYP/6-31G(d,p) theory level). Namely, its conformational variety caused by the presence of a phosphate group, the nature of South/North sugar transitions, the presence of intramolecular hydrogen bonds, and the mobility of a sugar residue and a phosphate group relatively to certain single chemical bonds are investigated.