

Т. Ю. Ніколаєнко, член-кореспондент НАН України Д. М. Говорун

## Квантово-механічний конформаційний аналіз молекули 2'-дезокситидилової кислоти — структурної ланки ДНК

На рівні теорії  $MP2/6-311G++(d,p)//DFT\ B3LYP/6-31G(d,p)$  вперше отримано повне сімейство конформерів молекули 2'-дезокситидилової кислоти. Проаналізовано розподіли значень її торсійних кутів і порівняно з такими в молекулі 2'-дезокситидину. Виявлено кореляцію між амплітудою псевдообертання фуранозного кільця і суп-орієнтацією нуклеотидної основи. Охарактеризовано “тонкі” конформаційні параметри, що описують непланарність кільця нуклеотидної основи і деяких його бічних груп.

Молекула 2'-дезокситидилової кислоти (рис. 1) є нуклеотидом з електронейтральною фосфатною групою в 5'-положенні і цитозиновою основою. Біологічна важливість вивчення її конформаційного різноманіття зумовлена тим, що функціонування ДНК, складовою частиною якої є ця молекула, прямо пов'язане зі змінами конформацій її структурних ланок. Крім цього, порівняння конформаційних властивостей нуклеотиду і нуклеозиду [1] з однією і тією ж нуклеотидною основою дозволить виявити внутрішньомолекулярні механізми, що визначають основні закономірності геометричної структури складових частин ДНК.

Інтерес до вивчення 2'-дезокситидилової кислоти зумовлений ще й тим, що саме GC-збагачені ділянки ДНК мають “схильність” до В-Z переходу [2].

Відомі експериментальні методи [3, 4] дослідження окремих нуклеотидів не в змозі на сьогодні дати вичерпної інформації про конформаційні властивості цих об'єктів, оскільки в експериментах спостерігаються лише кілька енергетично “найвигідніших” конформацій. У той же час провести аналіз усіх можливих конформерів (включно з тими, що реалізуються в складі ДНК [5]), незалежно від їхньої відносної енергії, дозволяють методи обчислювальної квантової механіки.

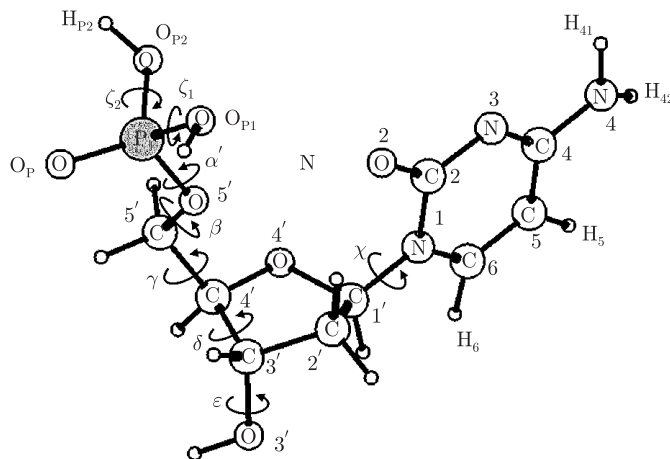


Рис. 1. Структура молекули 2'-дезокситидилової кислоти та позначення її атомів

**Об'єкти і методи дослідження.** Для опису конформації молекули 2'-дезокситидилової кислоти (див. рис. 1) використано вісім конформаційних параметрів: загально-прийняті [6] торсійні змінні  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta^1$ ,  $\varepsilon$  і  $\chi = O_4'C_1'N_1C_2$  та торсійні кути  $\alpha' = C_5'O_5'PO_P$ ,  $\zeta_1 = O_5'PO_{P_1}H_{P_1}$  і  $\zeta_2 = O_5'PO_{P_2}H_{P_2}$ . Для трьох атомів кисню фосфатної групи використано такі позначення: не з'єднаний з атомом водню —  $O_P$ , два інших — відповідно  $O_{P_1}$  і  $O_{P_2}$ , якщо дивитися вздовж зв'язку  $O_{5'}-P$  і рухатися від  $O_P$  за годинниковою стрілкою. Зазначимо, що введений таким чином кут  $\alpha'$  відрізняється від номенклатурного кута  $\alpha$  [6] на постійну величину. Кути  $\zeta_1$  і  $\zeta_2$  описують орієнтації гідроксильних груп  $O_{P_1}H_{P_1}$  і  $O_{P_2}H_{P_2}$  відповідно.

Таким чином, кожен конформер описувався значеннями восьми торсійних кутів.

Пошук повного сімейства конформерів молекули 2'-дезокситидилової кислоти проводили таким чином. До кожного з конформерів молекули 2'-дезокситидину [1] замість атома  $H_{5'}$  приєднували фосфатну групу  $-PO_P O_{P_1} H_{P_1} O_{P_2} H_{P_2}$  у кожному з трьох положень:  $\alpha' = +60^\circ$ ,  $-60^\circ$  та  $180^\circ$  (кути  $\zeta_1$  і  $\zeta_2$  мали фіксовані значення  $-106^\circ$  і  $177^\circ$  відповідно). Геометрії одержаних у такий спосіб 273 конформерів молекули 2'-дезокситидилової кислоти було оптимізовано на рівні теорії  $MP2/6-311G++(d,p)//DFT\ B3LYP/6-31G(d,p)$  з використанням програмного пакета Gaussian 03w для платформи win32 [7] із налаштуваннями точності обчислень за замовчуванням. Для кожного конформера розраховували в гармонійному наближенні частоти нормальних коливань. Ці дані використовували для вилучення нестійких конформацій (у коливальних спектрах яких присутня хоча б одна уявна частота) та для розрахунку енергії Гіббса конформерів (при значеннях температури 298,15 K і тиску 1 атм).

У результаті було одержано 266 стійких конформерів. Проведений аналіз показав, що розподіл значень кута  $\chi$  є бімодальним (усі його значення лежать у секторах  $70^\circ \pm 13^\circ$  (*syn*), і  $-142^\circ \pm 35^\circ$  (*anti*)), а кутів  $\gamma$  і  $\varepsilon$  — тримодальним (усі значення  $\gamma$  попадають у сектори  $45^\circ \pm 25^\circ$  (*gouche*<sup>+</sup>),  $-72^\circ \pm 46^\circ$  (*gouche*<sup>-</sup>) і  $173^\circ \pm 18^\circ$  (*trans*), а  $\varepsilon$  — у сектори  $53^\circ \pm 23^\circ$  (*gouche*<sup>+</sup>),  $-79^\circ \pm 21^\circ$  (*gouche*<sup>-</sup>) і  $-175^\circ \pm 15^\circ$  (*trans*)). Усі значення кута псевдообертання  $P$  знаходяться в областях  $167^\circ \pm 48^\circ$  (*S*-сімейство) і  $0^\circ \pm 55^\circ$  (*N*-сімейство). Розподіл кута  $\beta$  виявився майже неперервним, крім області  $-45^\circ \dots +50^\circ$ , в яку не потрапило жодного значення. У розподілах значень кожного з кутів  $\alpha'$ ,  $\zeta_1$  і  $\zeta_2$  наявні один сектор і одна майже суцільна область значень.

Таким чином, уже на першому етапі у конформерах нуклеотиду було виявлено зміни статистичного розподілу значень кута  $\beta$  порівняно з конформерами відповідного нуклеозиду [1].

Після цього будь-які два конформери одержаного сімейства, у яких значення кутів  $\chi$ ,  $\gamma$  і  $\varepsilon$  попадали в один і той самий сектор, кута  $\alpha'$  — відрізнялися менше ніж на  $5^\circ$ , а кутів  $\beta$ ,  $\zeta_1$  і  $\zeta_2$  — менше ніж на  $60^\circ$ , вважалися однаковими, що звузило кількість "унікальних" конформерів до 215. Це сімейство доповнювали в такий спосіб, щоб у ньому при однакових інших параметрах існували конформери, у яких кут  $\chi$  набуває як *syn*-, так і *anti*-значень, а кут  $\gamma$  — кожного з трьох значень: *gouche*<sup>+</sup>, *gouche*<sup>-</sup> і *trans*, для чого було згенеровано 587 нових конформерів. Їх геометрії було оптимізовано на тому ж рівні теорії  $DFT\ B3LYP/6-31G(d,p)$ , що і на першому етапі.

Доповнене таким чином сімейство містило 778 оптимізованих стійких конформерів. Враховуючи неминучі обчислювальні похибки, що виникають у процесі оптимізації геометрії, будь-які два конформери, у яких відповідні значення кутів  $\chi$ ,  $\alpha'$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varepsilon$ ,  $\zeta_1$  і  $\zeta_2$  відрізнялися не більше ніж на  $10^\circ$ , а кута  $P$  — не більше ніж на  $5^\circ$ , вважалися однаковими

<sup>1</sup>Кут  $\delta$  однозначно пов'язаний з кутом  $P$  і амплітудою  $\nu_{\max}$  псевдообертання фуранозного кільця [6].

(відмінність між електронними енергіями таких “однакових” конформерів не перевищила 0,14 ккал/моль, що помітно менше, ніж  $kT \sim 0,6$  ккал/моль при  $T = 298$  К). Після вилучення “однакових” структур залишилося 326 конформерів.

Для того щоб усунути неповноту, обумовлену тим, що при побудові вихідного сімейства орієнтації гідроксильних груп фосфатної групи (кути  $\zeta_1$  і  $\zeta_2$ ) були фіксовані і для них не проводився “перебір”, для кожного з наявних стійких конформерів створювався новий, що відрізнявся заміною  $\zeta_1 \leftrightarrow \zeta_2$ <sup>2</sup>. Геометрії новостворених конформерів оптимізувалися і долучалися до наявного сімейства, після чого виконувалася така ж процедура відсіювання однакових структур, як і на попередньому етапі. У результаті двократного проведення такого усунення неповноти кількість унікальних конформерів склала 481.

Останнім кроком було доповнення цього сімейства в такий спосіб, щоб при однакових інших параметрах у ньому існували конформери, у яких кут  $\varepsilon$  набуває кожного з трьох значень: *gouche*<sup>+</sup>, *gouche*<sup>-</sup> і *trans*. Після проведення оптимізації геометрії новостворених конформерів і вилучення однакових було одержано множину з 613 конформерів, яку вважаємо повною.

**Результати дослідження та їхній аналіз.** Структурні і енергетичні параметри вибраних<sup>3</sup> конформерів молекули 2'-дезокситидилової кислоти наведено в табл. 1. Значення їхніх енергій Гіббса (при  $T = 298,15$  К і  $P = 1$  атм) лежать у діапазоні 0–14,1 ккал/моль; глобальний мінімум і максимум енергії Гіббса — відповідно конформери **1** і **40** (див. табл. 1). *Syn*-орієнтація ( $\chi \in 75^\circ \pm 19^\circ$ ) нуклеотидної основи спостерігається у 291 конформера, *anti*- ( $\chi \in -148^\circ \pm 42^\circ$ ) — у 318 конформерів, “проміжна” ( $\chi = 142^\circ, 145^\circ, 141^\circ, 104^\circ$ ) — у конформерів **10**, **11**, **14** і **36**<sup>4</sup>. “Північну” ( $P \in 0^\circ \pm 89,9^\circ$ ) конформацію фуранозного кільця мають 292 конформери (з яких 200 — класичну *C<sub>3'</sub>-endo* ( $P \in 0^\circ \dots 36^\circ$ )), “південну” ( $P \in 180^\circ \pm 90^\circ$ ) — 321 конформер (з яких 141 — класичну *C<sub>2'</sub>-endo* ( $P \in 144^\circ \dots 180^\circ$ )).

*Кореляції торсійних кутів.* Доволі велика кількість одержаних конформерів дозволила провести статистичний аналіз — обчислити за методикою [8] коефіцієнти лінійної кореляції між усіма конформаційними параметрами молекули 2'-дезокситидилової кислоти. Серед 45 цих коефіцієнтів лише 4 мають значення, більші від 0,2:  $r(\delta, P) = 0,96$ ,  $r(P, \nu_{\max}) = 0,59$ ,  $r(\chi, \nu_{\max}) = 0,34$  і  $r(\zeta_1, \zeta_2) = 0,30$ .

Близькість  $r(\delta, P)$  до одиниці пов'язана з тим, що кут  $\delta$  однозначно визначається кутом  $P$  і амплітудою  $\nu_{\max}$  псевдообертання фуранозного кільця, причому всі значення  $\nu_{\max}$  лежать у досить вузькому діапазоні ( $8^\circ \dots 43^\circ$ : найбільший  $\nu_{\max}$  виявлено в конформері **15** (див. табл. 1)).

Менш очікуваним є те, що глікозидний кут  $\chi$  найбільше корелює саме з  $\nu_{\max}$ . Це зумовлено тим (рис. 2, *a*), що “пласкі” цукри ( $0^\circ < \nu_{\max} < 30^\circ$ ; найменші значення  $\nu_{\max}$  виявлено у конформерів **26**, **27** і **33**; див. табл. 1) завжди супроводжуються *syn*-орієнтацією нуклеотидної основи. Аналогічна закономірність має місце і для нуклеозиду (див. рис. 2, *b*), але не була раніше відмічена [1].

Вірогідною фізичною причиною появи “пласких” конформацій фуранозного кільця в нуклеотидах і нуклеозидах є наявність внутрішньомолекулярних водневих зв'язків з енергіями, достатніми для компенсації енергетичної “невигідності” затінених конформацій С–С

<sup>2</sup>Такий метод було обрано з огляду на те, що в розподілах кутів  $\zeta_1$ ,  $\zeta_2$  відсутні будь-які чітко окреслені сектори, а отже, не було можливості вибрати скільки-небудь обґрунтований крок перебору їх значень.

<sup>3</sup>Файли структур *повного* сімейства конформерів можна отримати у авторів за запитом.

<sup>4</sup>“Проміжні” значення глікозидного кута обумовлені сильними водневими зв'язками ( $O_{P1}-H \dots N_3$  або  $O_{P2}-H \dots N_3$ ) між гідроксильними групами фосфатної групи і атомами нуклеотидної основи.

зв'язків кільця (яка і є причиною непланарності фуранозного кільця [6]). Так, у конформера **33** шляхом аналізу просторового розподілу густини електронного заряду було виявлено водневі зв'язки  $O_3'H \cdots O_P$  і  $C_5'H \cdots O_2$  (рис. 3).

*Розподіли значень торсійних кутів.* На рис. 4, а наведено розподіли значень конформаційних параметрів одержаних конформерів молекули 2'-дезокситидилової кислоти. Для кутів  $\chi$ ,  $\gamma$  і  $\varepsilon$  вони виявляють чітку "секторну" структуру: бімодальну для  $\chi$  (усі значення

Таблиця 1. Конформаційні (град) і енергетичні (ккал/моль) характеристики вибраних конформерів молекули 2'-дезокситидилової кислоти

Конформер	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\varepsilon$	$\chi$	$\alpha'$	$\zeta_1$	$\zeta_2$	$P$	$\nu_{\max}$	$\Delta G$ , ккал/моль
<b>1</b>	-90,1	55,5	81,0	-92,3	66,7	9,3	-44,7	-74,7	29,0	33,0	0,00
<b>2</b>	-90,3	55,2	81,1	-92,6	67,3	9,0	-43,2	121,8	28,4	32,8	0,32
<b>3</b>	148,1	46,2	100,0	-158,0	88,5	-48,0	-139,3	57,1	338,4	28,3	2,08
<b>4</b>	110,7	41,9	87,7	-153,6	65,3	-7,6	76,1	51,7	45,4	29,1	2,08
<b>5</b>	106,2	47,9	89,0	-102,6	66,8	85,8	53,8	-24,9	44,0	31,1	2,13
<b>6</b>	106,2	49,3	87,8	-148,2	67,4	85,0	52,6	-24,0	44,9	30,1	2,17
<b>7</b>	112,1	41,6	88,0	-150,4	65,3	-7,8	-122,9	49,9	44,9	29,0	2,24
<b>8</b>	111,0	39,5	89,3	-93,2	64,6	-5,4	80,1	52,7	44,4	30,2	2,40
<b>9</b>	112,1	39,3	89,3	-96,7	64,7	-6,1	-122,7	51,5	43,5	30,0	2,43
<b>10</b>	162,7	43,3	150,9	174,8	141,7	-43,8	-150,3	72,9	224,6	35,2	2,72
<b>11</b>	165,9	40,7	150,7	55,3	145,1	-42,3	-149,8	71,9	229,2	39,1	2,93
<b>12</b>	-84,7	179,9	140,0	172,6	-149,4	-34,5	-55,8	105,5	153,8	38,1	2,96
<b>13</b>	132,7	49,8	133,9	-176,9	69,1	-15,7	-131,0	54,2	147,5	36,1	2,97
<b>14</b>	162,8	43,2	155,2	-71,9	140,6	-43,4	-150,6	72,5	224,6	35,5	3,52
<b>15</b>	75,4	51,9	118,8	-175,8	-111,2	-116,6	-64,1	133,0	125,8	42,7	3,85
<b>16</b>	163,4	58,5	146,7	170,1	-172,7	68,6	53,0	145,7	189,8	30,4	5,51
<b>17</b>	161,8	51,5	141,2	168,6	-161,3	51,4	-104,5	156,4	161,7	34,6	5,95
<b>18</b>	-172,4	56,2	137,2	171,9	-144,9	-172,3	-106,1	176,9	153,6	35,4	6,42
<b>19</b>	-175,0	55,2	138,2	170,3	-156,1	-174,7	-106,9	175,4	155,4	35,5	6,49
<b>20</b>	-173,0	56,6	82,3	-171,2	-165,8	56,3	-110,1	157,1	13,9	34,7	6,60
<b>21</b>	177,2	58,6	81,4	-171,1	-163,8	-170,7	-104,2	176,2	14,4	35,5	6,62
<b>22</b>	-177,2	56,5	81,3	-175,1	-165,0	-179,5	-175,8	103,2	14,0	35,6	6,74
<b>23</b>	153,4	45,3	146,9	170,0	-176,5	168,2	-78,4	143,5	187,5	31,4	6,78
<b>24</b>	157,8	50,6	91,6	-168,1	-179,0	62,0	42,8	147,7	351,8	31,6	6,87
<b>25</b>	163,4	58,5	150,8	-68,3	-172,5	68,3	53,3	146,0	192,3	30,5	6,88
<b>26</b>	-56,0	-55,7	118,1	-58,2	70,6	72,5	-109,1	156,1	344,4	8,9	6,89
<b>27</b>	-56,9	-54,5	118,7	-58,6	70,3	68,5	32,6	149,1	342,5	8,3	6,92
<b>28</b>	158,9	50,9	140,5	168,5	-159,2	174,1	179,5	106,2	160,0	34,8	7,06
<b>29</b>	164,9	51,0	144,8	-68,3	-158,1	49,5	-102,2	157,4	163,8	33,5	7,32
<b>30</b>	168,8	50,0	152,0	-69,1	-177,2	36,5	-91,6	-46,4	199,9	30,9	7,43
<b>31</b>	136,8	48,0	143,3	-67,5	-160,3	-56,8	-153,0	-45,0	159,5	34,2	7,49
<b>32</b>	-170,1	59,7	81,4	-169,0	-163,9	58,8	-134,3	-59,1	15,8	35,3	7,83
<b>33</b>	-56,7	-55,6	118,6	-56,3	70,1	70,2	-132,4	-59,6	345,7	8,1	8,45
<b>34</b>	-123,5	55,8	142,1	-67,9	-137,4	-19,9	-174,4	97,6	157,6	34,3	8,57
<b>35</b>	-158,3	-177,5	85,7	-176,4	-172,1	-56,4	-158,4	103,8	10,0	33,5	9,07
<b>36</b>	173,4	37,0	147,6	54,9	104,1	148,5	122,0	-59,2	217,7	34,6	11,29
<b>37</b>	60,2	<b>-121,9</b>	84,2	-168,2	71,5	-97,1	-82,0	137,2	40,6	35,3	11,86
<b>38</b>	55,5	<b>-120,5</b>	86,2	-170,9	69,9	-91,3	-85,9	-38,3	38,6	33,5	12,22
<b>39</b>	56,0	<b>-114,3</b>	81,9	172,8	-170,1	-88,9	-89,9	-38,3	22,4	38,6	13,10
<b>40</b>	-177,9	44,3	130,6	60,6	71,4	51,4	-101,5	159,9	150,8	35,5	14,13

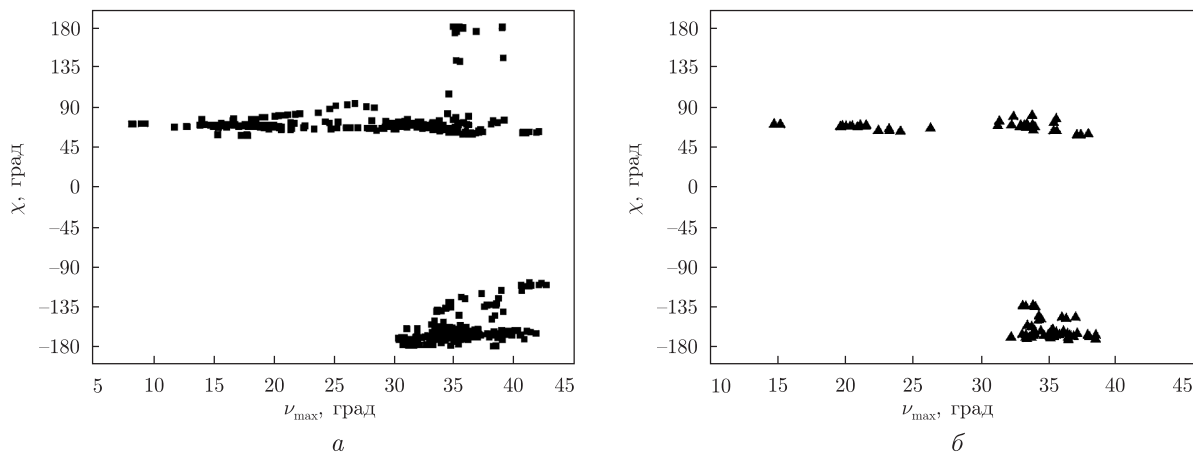


Рис. 2. Розподіл конформаційних параметрів у координатах  $(\nu_{\max}, \chi)$  для молекул 2'-дезокситидилової кислоти (а) та 2'-дезокситидину [1] (б)

попадають в області *syn* і *anti*) і тримодальну для  $\gamma$  та  $\varepsilon$  (усі значення попадають в області *gouche*<sup>+</sup>, *gouche*<sup>-</sup> і *trans*). У конформерах **37**, **38**, **39** кут  $\gamma$  набуває “нетипових” значень, близьких до  $-120^\circ$ . В іншому розподілі значень кутів  $\gamma$ ,  $\varepsilon$  і  $\chi$  якісно не відрізняються від відомих у нуклеозидах [1].

Секторна структура відсутня в розподілі значень кута  $\beta$ , за винятком області  $[-45 \dots +45^\circ]$  (“прогаліни”), у яку не потрапляє жодного значення<sup>5</sup>. Її походження обумовлене, на нашу думку, тим, що при  $\beta \approx 0^\circ$  атоми фосфатної групи опиняються занадто близько до атомів фуранозного кільця, призводячи до значних стеричних ускладнень (йдеться про відстані, що не перевищують  $1,0 \text{ \AA}$ , від атома  $O_P$  (або  $O_{P1}$  чи  $O_{P2}$ ) до  $C_{2'}$  фуранозного кільця та/або до атомів  $O_2$  і  $C_6$  нуклеотидної основи). Такі стеричні обмеження, які, напевне, мають місце і в *полінуклеотидах*, принципово не могли бути виявлені при аналізі нуклеозиду [1], адже у нього відсутня фосфатна група, а кут  $\beta$  задає орієнтацію лише атома  $H_{5'}$ , відстань від якого до атомів фуранозного кільця і нуклеотидної основи є достатньо великою при будь-яких значеннях  $\beta$ .

Розподіл значень кута  $\alpha'$  також не виявляє чіткої секторної структури, але характеризується “згущеннями” поблизу значень  $+45$ ,  $-45$  і  $180^\circ$  (останнє особливо виражене). Цей розподіл є симетричним відносно  $\alpha' = 180^\circ$ , що обумовлено симетричним розташуванням гідроксильних груп  $O_{P1}H_{P1}$  і  $O_{P2}H_{P2}$  фосфатної групи відносно площини  $O_{5'}PO_P$ . У складі *полінуклеотиду* така симетрія, очевидно, втрачається і можна очікувати істотної зміни розподілу значень кута  $\alpha'$  у них.

Проявом згаданої симетрії фосфатної групи є також перехід розподілу  $\zeta_1$  у розподіл  $\zeta_2$  при відніманні  $120^\circ$  від усіх значень першого. Це стає особливо помітним, якщо орієнтації атомів  $H_{P1}$ ,  $H_{P2}$  і  $O_{5'}$  фосфатної групи описувати, як це зроблено в [10], торсійними кутами, відрахованими від атома  $O_P$ :  $\tau_1 = O_P O_{P1} H_{P1}$ ,  $\tau_2 = O_P O_{P2} H_{P2}$  і  $\alpha'$  відповідно. У такому випадку розподіли всіх цих трьох кутів є якісно однаковими (див. рис. 4, а).

Водночас, такий зв'язок розподілів є суто статистичною їх властивістю, адже в кожному *окремо взятому* конформері значення кутів  $\zeta_1$  і  $\zeta_2$  є майже незалежними (коефіцієнт лінійної кореляції  $r(\zeta_1, \zeta_2) = 0,30$ ).

<sup>5</sup>Така ж особливість розподілу кута  $\beta$  була виявлена у дослідженні, виконаному з використанням потенціалу твердих сфер, який враховував лише сили міжатомного відштовхування [9].

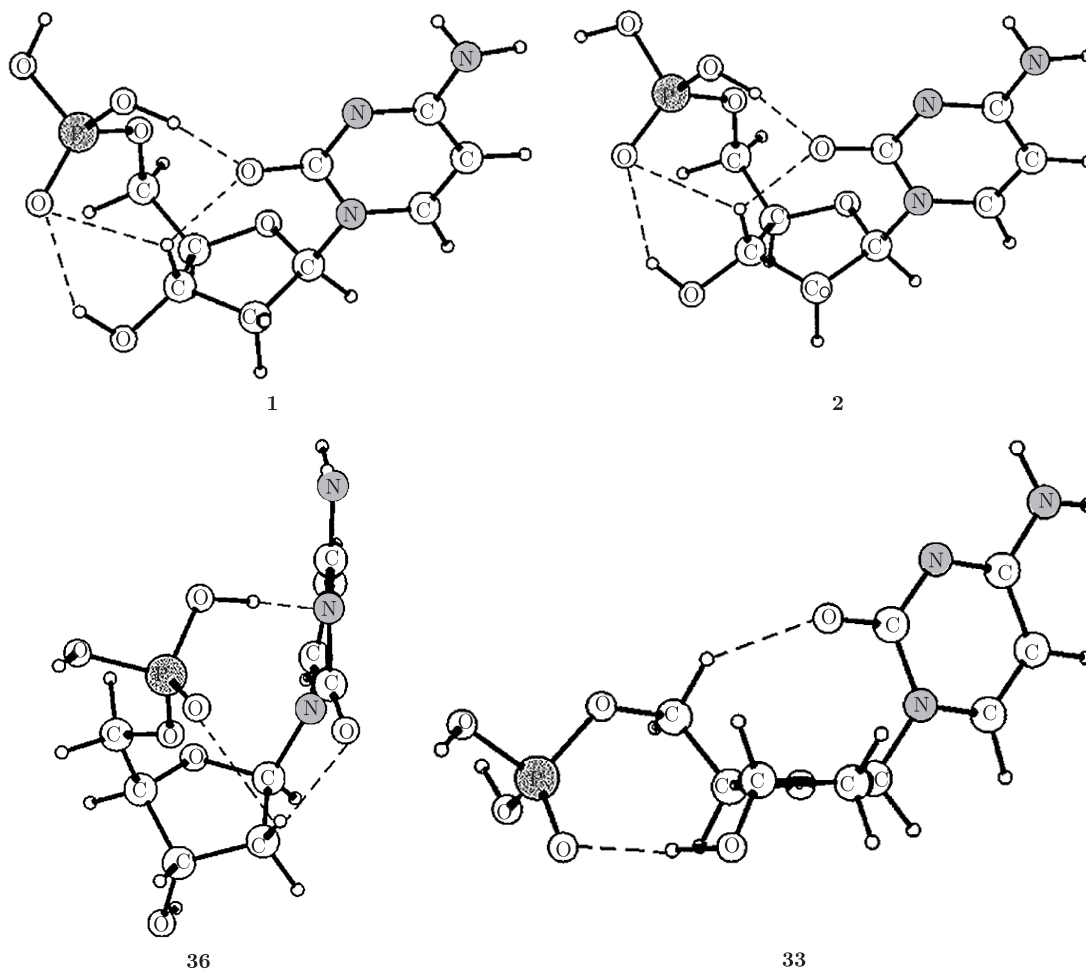


Рис. 3. Структура вибраних конформерів молекули 2'-дезокситидилової кислоти (цифри відповідають номеру конформера в табл. 1). Пунктиром позначено водневі зв'язки

Кути  $\alpha'$ ,  $\zeta_1$ ,  $\zeta_2$  є ступенями вільності, характерними для нуклеотиду, у нуклеозидів вони відсутні.

У розподілі значень кута псевдообертання  $P$  спостерігаються згущення поблизу  $18^\circ$  (що відповідає конформації  $C_{3'}-endo$ ) і  $180^\circ$  (конформації  $C_{2'}-endo$  та  $C_{3'}-exo$ ). Лише нечисленні значення потрапляють в *East*- ( $P = 90^\circ \pm 45^\circ$ ) та *West*- ( $P = 270^\circ \pm 45^\circ$ ) області. “Прогаліни” обумовлені тим, що значення  $P = 70^\circ$  і  $P = 270^\circ$  відповідають бар'єрам у циклі псевдообертання фуранозного кільця [6 (рис. 47), 11].

Деталізації потребує і поняття *syn*- і *anti*-конформації. Відповідними діапазонами доцільно називати не формальні геометричні області, а одержані сектори в розподілі кута  $\chi$ , а саме — *syn* =  $\{45^\circ < \chi < 105^\circ\}$ , *anti* =  $\{-180^\circ < \chi < -100^\circ\}$ .

*Конформаційні відмінності нуклеотидів і нуклеозидів.* У нуклеозиді [1] розподіли всіх торсійних кутів мають чітко виражену “секторну” структуру. Приєднання фосфатної групи істотно змінило цю властивість: розподіли кутів  $\beta$ ,  $\zeta_1$ ,  $\zeta_2$  і  $\alpha'$  стали майже неперервними (за винятком “прогаліни”, походження яких описано нижче). Ми пов'язуємо ці зміни з існуванням “ієрархії жорсткостей” різних торсійних ступенів вільності. Так, ширина кожного

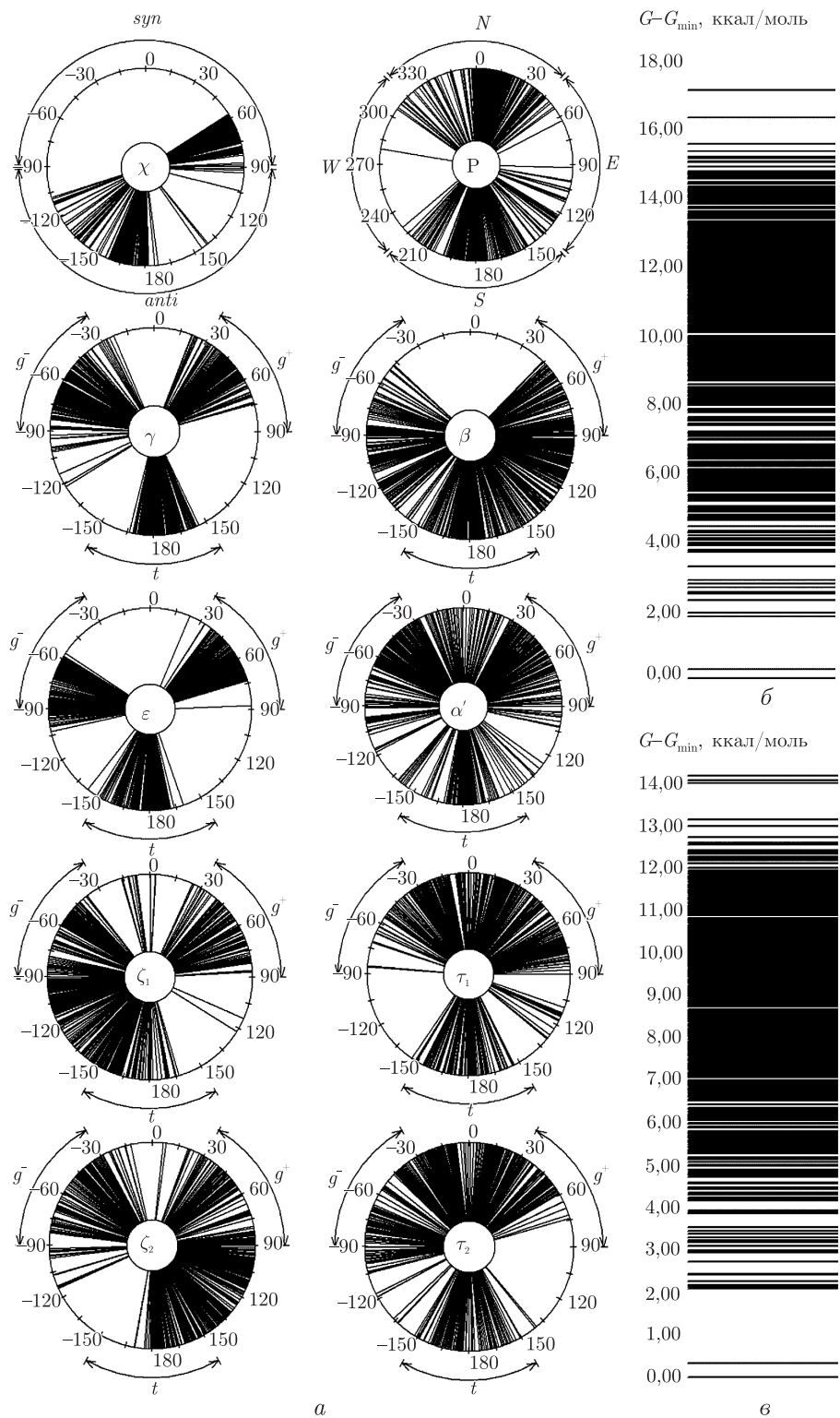


Рис. 4. Розподіл конформерів молекули 2'-дезоксцитидилової кислоти за конформаційними параметрами (а) та енергіями Гіббса (б — при  $T = 0$  К; в — при  $T = 298,15$  К)

із секторів є результатом балансу між крутильною жорсткістю щодо відносного повороту атомних груп “1” і “2” навколо одинарного хімічного зв’язку 1–2 (бар’єром обертання) та “моментом сил”, прикладеним до цих груп. Величина останнього визначається як силовими характеристиками — енергіями водневих зв’язків, у яких беруть участь атоми груп 1 і 2, так і геометричними — розмірами атомних груп 1 і 2.

Другий чинник особливо важливий у випадку кута  $\beta$ , адже в молекулі 2'-дезоксидитидилової кислоти крутильний момент щодо осі  $C_{5'}-O_{5'}$  обумовлений силами притягання, прикладеними до атомів водню гідроксильних груп фосфатної групи і зумовленими участю цих атомів у порівняно сильних водневих зв’язках. Плече цих сил становить не менше 1,60 Å (довжина зв’язку  $O_{5'}-P$ ), тоді як у 2'-дезоксидитидину [1] — не більше 0,97 Å (довжина зв’язку  $O_{5'}-H_{5'}$ : крутильний момент створювали сили, прикладені до атома  $H_{5'}$ ).

Цілком аналогічно, наявність “прогалін” у розподілах кутів  $\zeta_1$ ,  $\zeta_2$  свідчить про те, що орієнтації фосфатної групи та гідроксильних груп у її складі, що відповідають  $\zeta_1 \in gouche^+$  і  $\zeta_2 \in gouche^-$ , відділені від інших порівняно високими потенціальними бар’єрами обертання.

Сектори в розподілі значень кута  $\gamma$  стали ширшими (а прогаліни — вузкими), ніж у молекулі 2'-дезоксидитидину [1], але не зникли взагалі. Це свідчить про велику (порівняно з кутом  $\beta$ ) жорсткість цього ступеня вільності.

*Енергетичні властивості.* Розподіл одержаних конформерів за енергіями Гіббса проілюстровано на рис. 4, б ( $T = 0$  К) та рис. 4, в ( $T = 298,15$  К,  $p = 1$  атм).

Глобальний мінімум енергії Гіббса досягається у конформерів **1** і **2** (див. табл. 1), структури яких (див. рис. 3) відрізняються тільки орієнтацією гідроксильної групи  $OP_2HP_2$  (кутом  $\zeta_2$ ). Цей мінімум є “квазівиродженням”, оскільки різниця енергій  $G_2 - G_1 = 0,3$  ккал/моль є малою, порівняно з величиною енергетичної “щілини” (1,8 ккал/моль) між конформерами **1** і **2** та енергетично найвигіднішим з решти (**3**).

Враховуючи, що імовірність  $p_G$  реалізації конформації молекули з енергією Гіббса  $G$  пропорційна  $\exp(-G/(k_B T))$ , ми розраховували, що сумарна імовірність експериментального спостереження в газовій фазі конформерів **1** і **2** при  $T = 298,15$  К становить 86%. Сумарна імовірність спостереження конформерів **1–13** (див. табл. 1) становить 97%; конформерів з *syn*-орієнтацією нуклеотидної основи — 98%; конформерів з  $P \in [270 \dots 90^\circ]$  — 96% (з яких  $P \in C_{3'}-endo$  — 86 %); з  $P \in C_{2'}-endo$  — 2,9%.

Найменшу енергію Гіббса за умови  $\chi \in anti$  в одержаному сімействі має конформер **12** ( $\Delta G = 3,0$  ккал/моль (див. табл. 1)), за умови  $\chi \in syn$  — конформер **1** ( $\Delta G = 0,0$  ккал/моль). Конформер **1** одночасно є енергетично найвигіднішим з  $P \in C_{3'}-endo$ ; найменшу енергію Гіббса за конформації цукру  $C_{2'}-endo$  має конформер **12** ( $\Delta G = 3,0$  ккал/моль).

*Конформаційна мінливість.* Крім торсійних ступенів вільності, які є найменш жорсткими, було проаналізовано так звані тонкі конформаційні змінні, що описують непланарність кільця нуклеотидної основи і деяких його бічних груп. У табл. 2 наведено середні значення

Таблиця 2. Ендоциклічні торсійні кути кільця нуклеотидної основи (град)

Параметр	Кут					
	$N_3C_2N_1C_6$	$C_2N_1C_6C_5$	$N_1C_6C_5C_4$	$C_6C_5C_4N_3$	$C_5C_4N_3C_2$	$C_4N_3C_2N_1$
$\langle x \rangle$	-0,5	0,3	0,0	-0,1	-0,1	0,4
$\delta_x$	4,2	3,1	1,5	1,5	0,7	3,0
$\max(x - \langle x \rangle)$	24,3	10,1	8,1	11,5	3,8	21,2



$\langle x \rangle$  (з урахуванням періодичності кутових змінних [8]), дисперсії  $\delta_x$  та найбільші відхилення значень від середніх для ендациклічних торсійних кутів кільця нуклеотидної основи, які є мірою його непланарності.

Згідно з одержаними даними, кільце нуклеотидної основи є плоским лише “в середньому”: хоча середні значення всіх шести ендациклічних кутів близькі до нуля, але амплітуда зміни кута  $N_3C_2N_1C_6$  досягає  $24^\circ$ . Кут  $C_5C_4N_3C_2$  є “найжорсткішим”: чотири атоми, що його утворюють, фактично завжди лежать в одній площині (виходять з неї не більше ніж на  $C_5C_4N_3C_2 \leq 3,8^\circ$ ). Саме від атомів  $C_5, C_4, N_3, C_2$  відраховувалися торсійні кути, що описують вихід бічних радикалів нуклеотидної основи з площини її кільця (табл. 3).

Атоми  $N_4, H_5, H_6$  фактично завжди лежать у площині кільця основи (дисперсії відповідних торсійних кутів не перевищують  $3^\circ$ , амплітуди змін —  $10^\circ$ ). Участь атома  $O_2$  у внутрішньомолекулярних водневих зв'язках обумовлює його максимальне відхилення від площини основи (кут  $N_4N_3C_2O_2$ ) у  $17^\circ$ .

Значно лабільнішими є атоми  $H_{41}$  і  $H_{42}$  аміногрупи: дисперсії кутів  $N_3C_4N_4H_{41}$  і  $C_5C_4N_4H_{42}$  перевищують модулі їх середніх значень. Це свідчить про те, що амідний фрагмент  $C_4N_4H_{41}H_{42}$  не тільки не є плоским [5] навіть “у середньому”, але його структура в різних конформерах зазнає віддзеркалення відносно площини кільця основи.

Атом  $C_{1'}$  (глікозидний зв'язок  $N_1C_{1'}$ ) відхиляється від площини кільця нуклеотидної основи найбільше. Так, максимальне відхилення кута  $N_3C_2N_1C_{1'}$  від середнього значення ( $-178,6^\circ$ ) становило  $34^\circ$  (!) і було виявлено у конформера **36** (див. табл. 1, рис. 3). Ми пов'язуємо це з наявністю внутрішньомолекулярних водневих зв'язків  $O_{P1}H \cdots N_3$  і  $C_{2'}H \cdots O_2$ .

У той же час довжина глікозидного зв'язку змінюється мало (див.  $\delta_l/\langle l \rangle$  у табл. 4), порівняно з довжинами хімічних зв'язків гідроксильних груп  $O_{P2}H_{P2}$  і  $O_{P1}H_{P1}$  фосфатної групи. Ця властивість також відрізняє 2'-дезоксцитидилову кислоту від 2'-дезоксцитидину.

*ДНК-подібні конформери.* Конформація нуклеотиду в складі ДНК визначається мінімумом вільної енергії всієї макромолекули. Ця енергія є сумою енергій окремих нуклеотидів та енергії їхньої взаємодії. Для того щоб розрізнити внески цих складових, з одержаного сімейства конформерів молекули 2'-дезоксцитидилової кислоти нами було вибрано ті, у яких значення торсійних кутів є подібними до наявних у ДНК [12–15]. Так, значення торсійних кутів у конформерів **20, 21, 22, 24** і **32** (див. табл. 1) подібні до тих, що реалізуються в ДНК у А-I формі, **35** — у А-II формі, **16, 17, 18, 19, 23** і **28** — у В-I формі, **34** — у Z-I формі, **25, 29, 30** і **31** — у Z-II формі. При цьому структура конформера **25** подібна до виявленої в кристалі моногідрату дезоксицитидин-5'-монофосфату [3]. Енергетично найвигідніший ( $\Delta G = 5,5$  ккал/моль) з ДНК-подібних конформерів (**16**) відповідає В-I формі ДНК.

Таким чином, методами обчислювальної квантової механіки вперше одержано повне сімейство конформерів молекули 2'-дезоксцитидилової кислоти. Показано, що залежно від конформації відносна енергія Гіббса молекули змінюється в діапазоні 0–14,1 ккал/моль, причому існує два енергетично “найвигідніші” конформери, які відділені від решти енергетичною “щільною” в 1,8 ккал/моль.

Присутність фосфатної групи істотно відрізняє розподіл кута  $\beta$  від наявного у 2'-дезоксцитидині, хоча не вносить якісних змін у розподіли кутів  $\gamma$  і  $\epsilon$ . При цьому спостерігається розширення меж секторів, у яких знаходяться значення всіх торсійних кутів.

Визначальним є вплив на конформаційні властивості молекули 2'-дезоксцитидилової кислоти внутрішньомолекулярних водневих зв'язків, зокрема тих, де донором протона є ОН-групи фосфатної групи. Якщо акцептором протона при цьому є атом  $N_3$  нуклеотидної

Таблиця 3. Параметри, що описують відхилення бічних радикалів (град) від площини кільця нуклеотидної основи

Параметр	Радикал							
	C <sub>1'</sub>		N <sub>4</sub>	H <sub>41</sub>	H <sub>42</sub>	O <sub>2</sub>	H <sub>5</sub>	H <sub>6</sub>
	C <sub>5</sub> C <sub>6</sub> N <sub>1</sub> C <sub>1'</sub>	N <sub>3</sub> C <sub>2</sub> N <sub>1</sub> C <sub>1'</sub>	N <sub>3</sub> C <sub>5</sub> C <sub>4</sub> N <sub>4</sub>	N <sub>3</sub> C <sub>4</sub> N <sub>4</sub> H <sub>41</sub>	C <sub>5</sub> C <sub>4</sub> N <sub>4</sub> H <sub>42</sub>	N <sub>4</sub> N <sub>3</sub> C <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	N <sub>3</sub> N <sub>4</sub> C <sub>5</sub> H <sub>5</sub>	N <sub>4</sub> C <sub>5</sub> C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>
$\langle x \rangle$	178,6	-178,6	179,2	-5,3	8,7	-179,6	-179,3	-179,6
$\delta_x$	3,5	4,6	1,0	7,3	11,8	2,5	2,1	1,7
$\max(x - \langle x \rangle)$	20,4	34,1	2,3	18,0	28,8	17,4	8,5	10,4

Таблиця 4. Середні значення і дисперсії (Å) довжин деяких хімічних зв'язків

Параметр	Зв'язок						
	OP <sub>2</sub> HP <sub>2</sub>	OP <sub>1</sub> HP <sub>1</sub>	O <sub>5'</sub> P	PO <sub>P1</sub>	C <sub>1'</sub> N <sub>1</sub>	PO <sub>P2</sub>	O <sub>4'</sub> C <sub>1'</sub>
$\langle l \rangle$	0,972	0,972	1,612	1,611	1,475	1,610	1,421
$\delta_l$	0,009	0,008	0,012	0,011	0,010	0,010	0,009
$\max(l - \langle l \rangle)$	0,033	0,027	0,031	0,035	0,035	0,030	0,037
$\delta_l / \langle l \rangle, \%$	0,88	0,85	0,77	0,69	0,67	0,63	0,63

Примітка.  $\delta_l = \sqrt{\langle (l - \langle l \rangle)^2 \rangle}$ .

основи, то такі зв'язки призводять до “нетипових” значень глікозидного кута  $\chi$  і помітного відхилення глікозидного зв'язку від площини кільця нуклеотидної основи.

Виявлено кореляцію між планарністю фуранозного кільця і *syn*-орієнтацією нуклеотидної основи.

Автори висловлюють щирю вдячність Р. О. Жураківському (Інститут молекулярної біології і генетики НАН України) за надані поради щодо пошуку повного сімейства конформерів; а також корпорації “Gaussian Inc.” (США) за люб'язно наданий Д. М. Говоруну грант — пакет “GAUSSIAN03” для платформи win32.

1. Жураківський Р. О., Говорун Д. М. Вичерпний конформаційний аналіз канонічного нуклеозиду 2'-дезокситидину квантово-механічним методом функціоналу густини // Фізика живого. – 2006. – 14, № 3. – С. 35–48.
2. Fuertes M., Cepeda V., Alonso C., Perez J. Molecular Mechanisms for the B-Z Transition in the Example of Poly[d(G-C)d(G-C)] Polymers. A Critical Review // Chem. Rev. – 2006. – 106. – P. 2045. – 2064.
3. Viswamitra M. A., Reddy B. S., Lin G. H. Y., Sundaraligam M. Stereochemistry of Nucleic Acids and Their Constituents. XVII. Ia Crystal and Molecular Structure of Deoxycytidine 5'-Phosphate Monohydrate. Ib A Possible Puckering for the Furanoside Ring in B-Deoxyribonucleic Acidic // J. Amer. Chem. Soc. – 1971. – 93, issue 18. – P. 4565–4573.
4. Pandit J., Seshardi T. P., Viswamitra M. A. Structure of Disodium Deoxycytidine 5'-Phosphate Heptahydrate, C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>P<sup>2-</sup> · 2Na<sup>+</sup> · 7H<sub>2</sub>O // Acta Cryst. – 1983. – C39. – P. 342–345.
5. Shishkin O. V., Gorb L., Zhikol O. A., Leszczynski J. Conformational Analysis of Canonical 2-Deoxyribonucleotides. 1. Pyrimidine Nucleotides // J. Biomol. Structure & Dynamics. – 2004. – 21, Issue 4. – P. 537–553.
6. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. – Москва: Мир, 1987. – 584 с.
7. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B. et al. Gaussian 03, Revision C. 02 / Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
8. Kitamura K., Wakahara A., Mizuno H. et al. Conformationally “Concerted” Changes in Nucleotide Structures. A New Description Using Circular Correlation and Regression Analyses // J. Amer. Chem. Soc. – 1981. – 103. – P. 3899–3904.
9. Murthy V. L., Srinivasan R., Draper D. E., Rose G. D. A Complete Conformational Map for RNA // J. Mol. Biol. – 1999. – 291. – P. 313–327.
10. Булавін Л. А., Николаєнко Т. Ю., Говорун Д. М. Структурна нежорсткість молекули ортофосфорної кислоти: неемпіричне квантово-механічне дослідження // Доп. НАН України. – 2009. – № 10. – С. 80–87.
11. Foloppe N., Nilsson L., MacKerell A. Ab initio Conformational Analysis of Nucleic Acid Components: Intrinsic Energetic Contributions to Nucleic Acid Structure and Dynamics // Biopolymers. – 2002. – 61, Issue 1. – P. 61–76.
12. Berman H. Crystal studies of B-DNA: The answers and the questions // Ibid. – 1997. – 44, Issue 1. – P. 23–44.
13. Schneide B., Neidle St., Berman H. M. Conformations of the Sugar-Phosphate Backbone in Helical DNA Crystal Structures // Ibid. – 1997. – 42. – P. 113–124.
14. Svozil D., Kalina J., Omelka M., Schneider B. DNA conformations and their sequence preferences // Nucl. Acids Res. – 2008. – 36, No 11. – P. 3690–3706.

15. Gessner R. V., Frederick C. A., Quigley G. J. et al. The Molecular Structure of the Left-handed Z-DNA Double Helix at 1.0-Å Atomic Resolution // J. Biol. Chem. – 1989. – **264**, No 14. – P. 7921–7935.

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

Надійшло до редакції 19.11.2009

**T. Yu. Nikolaienko**, Corresponding Member of the NAS of Ukraine **D. M. Hovorun**

### **Quantum-mechanical conformational analysis of 2'-deoxycytidilic acid molecule — the DNA structural unit**

*The full set of 2'-deoxycytidilic acid molecule conformers has been obtained by ab initio quantum mechanical calculations at the MP2/6-311G++(d,p)//DFT B3LYP/6-31G(d,p) theory level. The distributions of torsion angles are analyzed and compared with those of a 2'-deoxycytidine molecule. The strong correlation between the sugar puckering amplitude and the syn-orientation of the nucleotide base unit is revealed. 'Fine' conformational parameters defining a nonplanarity of the base ring and its side groups are characterized.*