

## КВАНТОВО-ХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕЛЕМЕНТАРНИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ МЕХАНІЗМІВ ПІРИМІДИНОВО-ПУРИНОВИХ ТРАНСВЕРСІЙ

О. О. БРОВАРЕЦЬ, Д. М. ГОВОРУН

*Інститут високих технологій Київського національного університету  
імені Тараса Шевченка, Україна;  
Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;  
e-mail: brovarets@list.ru*

*На рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) у вакуумному наближенні, що адекватно моделює гідрофобне середовище активного центру високоточних реплікативних ДНК-полімераз, виявлено та охарактеризовано пуриново-пуринові пари основ ДНК (при цьому основа, що належить матриці, знаходиться в анти-конформації відносно цукрового залишку, а основа вхідного нуклеотиду – у син-конформації), відповідальні за виникнення спонтанних піримідиново-пуринових трансверсій.*

*Ключові слова: спонтанні помилки реплікації та включення, трансверсії, анти- та син-конформації, таутомери основ ДНК, неправильні пари основ ДНК, міжмолекулярні водневі зв'язки, топологія електронної густини, DFT, MP2.*

**Х**арактеризуючи сучасний стан теорії спонтанного точкового мутагенезу ([1] і наведена там бібліографія), можна з упевненістю констатувати, що елементарні молекулярні механізми (тобто утворення неправильних пар основ ДНК в активному центрі високоточної реплікативної ДНК-полімерази) транзицій досліджено набагато краще, ніж трансверсій. Аналіз літератури [2, 3] свідчить про те, що, з одного боку, це пов'язано із певними експериментальними труднощами, оскільки частоти виникнення трансверсій на порядки менші, ніж транзицій [4–6], а з іншого – з недостатністю або навіть відсутністю нових модельних уявлень та підходів. Маємо, по суті, лише кілька теоретичних робіт [7–9], присвячених цій біологічно важливій проблемі.

У наведеній нижче праці, що є логічним продовженням наших попередніх робіт [10, 11], виявлено, охарактеризовано та досліджено шляхи утворення в активному центрі високоточної реплікативної ДНК-полімерази неправильних пуриново-пуринових пар нуклеотидних основ, що відповідають за виникнення спонтанних піримідиново-пуринових трансверсій.

### Матеріали і методи

Методологія дослідження, яка є найважливішим чинником одержання адекватних результатів, полягала в тому, що, спираючись на

якісні стереохімічні уявлення [8], ми одержали повну множину пуриново-пуринових пар основ ДНК, в яких основа, що належить матриці, знаходиться в анти-конформації відносно цукрового залишку (у позначеннях пар вона завжди стоїть ліворуч), а основа вхідного нуклеотиду – в син-конформації (у позначеннях пар, наведених нижче, вона стоїть праворуч). Із цієї множини ми вибрали термодинамічно стабільні пари з енергією взаємодії Гіббса  $\Delta G_{\text{int}} < 0$  (в окремих випадках, коли  $\Delta G_{\text{int}} > 0$ , нами зроблено спеціальні застереження), здатні в розумному інтервалі теплових енергій, що ненабагато перевищують кТ при фізіологічній температурі, набувати уотсон-криківської геометрії, коли глікозидні атоми азоту і напрямки глікозидних зв'язків збігаються з такими в уотсон-криківських парах Gua-Cyt чи Ade-Thy залежно від того, яка основа належить матриці. Ці властивості ми розглядаємо як запоруку впізнавання неправильної пари ДНК-полімеразою з усіма наслідками, що з цього випливають. Окрім того, ми дослідили усі можливі шляхи утворення пар, які відповідають за трансверсії, із пар, які такими не є, але можуть утворюватися в активному центрі ДНК-полімерази.

Квантово-хімічні розрахунки геометричної та електронної будови досліджуваних об'єктів проведено на рівні теорії DFT (Density Functional Theory) B3LYP/6-311++G(d,p) у вакуумному наближенні, яке для цієї задачі є

адекватним [12, 13]. Енергію Гіббса визначали так званими розрахунками в одній точці (single point calculations), проведеними на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd) з використанням геометрії, отриманої методом DFT (рівень теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p)). Перехідні стани перетворення пар основ ДНК ідентифікували методом STQN (Synchronous Transit-guided Quasi-Newton) [14, 15]. Усі зоптимізовані структури перевірено на стійкість за відсутністю уявних частот в їхніх коливальних спектрах, розрахованих у гармонійному наближенні. Енергію взаємодії в парах основ визначали на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) з урахуванням так званої BSSE-поправки (Basis Set Superposition Error) на суперпозицію функцій базисного набору [16]. Ця енергія включає в себе електростатичні, індукційні, дисперсійні взаємодії та енергії близькодіючих сил відштовхування між основами в парі, проте не включає енергію деформації, тому що в розрахунках не було враховано так звану поправку на релаксацію геометрії мономерів порівняно з їхньою геометрією в парі. Ці взаємодії роблять внесок у стабілізацію комплексів, тобто зниження відносної енергії Гіббса  $\Delta G$ . Про адекватність отриманих значень енергії взаємодії свідчить кореляція їх із експериментально оціненими значеннями ентальпії асоціації азотистих основ у вакуумі за результатами мас-спектрометрії [17]. Перетворення реагенту у продукт реакції і навпаки вивчали в рамках концепції внутрішньої координати реакції (IRC – Intrinsic Reaction Coordinate). Усі дослідження проведено із використанням програмного пакету «GAUSSIAN03» [18].

Розподіл електронної густини в парах основ та перехідних станах їхнього взаємного перетворення аналізували, використовуючи теорію Бейдера «Атоми в молекулах» [19] та хвильові функції, отримані на рівні теорії B3LYP/6-311++G(d,p). Н-зв'язки [20] встановлювали за наявністю критичної точки (3, -1) між двома валентно незв'язаними атомами. Топологію електронної густини аналізували за допомогою програмного пакету AIM2000 [21], використовуючи стандартні опції.

### Результати та обговорення

*Трансверсії AdeAde.* Трансверсії цього типу, що являють собою змішані помилки реплікації-включення (при цьому змінюються канонічні кодові властивості як основи ДНК, що належить матриці, так і основи вхідного нуклеотиду), контролюються планарною па-

рою Топала–Фреско [7] Ade\*·Ade<sub>syn</sub> (тут і нижче зірочками позначено мутагенні таутомери) з відносною енергією Гіббса  $\Delta G=5,94$  ккал/моль, яка стабілізується двома Н-зв'язками N1H...N7 і N6H...N6 (рис. 1, табл. 1). Ця пара є термодинамічно стійкою ( $\Delta G_{int}=-3,93$  ккал/моль) і у процесі теплових флуктуацій може відносно легко ( $\Delta E_{def}=2,18$  ккал/моль) адаптуватися до розмірів уотсон-криківської пари Ade·Thu. За трансверсії – помилки включення – відповідає планарна пара Ade·Ade\*<sub>syn</sub> ( $\Delta G=20,38$  ккал/моль,  $\Delta G_{int}=-14,40$  ккал/моль), яка стабілізується двома Н-зв'язками N7H...N1 і N6H...N6. Вона є динамічно нестійкою і безбар'єрно через перехідний стан TS<sub>1</sub> з енергією активації Гіббса 19,50 ккал/моль скочується у вищезгадану пару Топала–Фреско. Характерно, що для обох цих пар енергія взаємодії Гіббса перевищує аналогічну величину для пар Ade\*·Cyt ( $\Delta G_{int}=-10,76$  ккал/моль) і Ade·Cyt\* ( $\Delta G_{int}=-2,02$  ккал/моль), квазіізоморфних уотсон-криківським парам.

Крім того, трансверсії Ade·Ade як помилки включення можуть відбуватися й за іншим механізмом, а саме шляхом утворення пар Ade·Ade<sub>syn1,2</sub> і Ade·Ade за участю основ у канонічній формі (рис. 1, табл. 1). При цьому планарна «довга» пара Ade·Ade ( $\Delta G=1,04$  ккал/моль), яка погано вбудовується в активний центр ДНК-полімерази [22], через неплотий перехідний стан TS<sub>2</sub> з енергією активації Гіббса 2,12 ккал/моль, який стабілізується Н-зв'язками N6H...N1 і C2H...N1 перетворюється у непланарну пару Ade·Ade<sub>syn</sub> ( $\Delta G=1,34$  ккал/моль), яка інтерконверсує через планарний стан TS<sub>3</sub> з енергією активації Гіббса 2,50 ккал/моль. У свою чергу пари Ade·Ade<sub>syn1</sub> та Ade·Ade<sub>syn2</sub> з відносними енергіями Гіббса 0,00 і 1,34 ккал/моль через перехідні стани TS<sub>4</sub> і TS<sub>5</sub> з енергіями активації Гіббса 29,41 і 21,51 ккал/моль відповідно перетворюються у термодинамічно стабільну пару Топала–Фреско Ade\*·Ade<sub>syn</sub> ( $\Delta G=5,94$  ккал/моль). Цікавою структурною особливістю TS<sub>5</sub>, що являє собою, як і TS<sub>4</sub>, іонну пару, є те, що він стабілізується двома Н-зв'язками N6H...N6<sup>-</sup> і N<sup>+</sup>H...N6<sup>-</sup> та двома вандерваальсовими контактами N7...N6 і N7...N1<sup>+</sup>. Вочевидь цей механізм спрацьовує лише в тому випадку, коли термодинамічно нестабільні у вільному стані пари основ Ade·Ade і Ade·Ade<sub>syn</sub> стабілізуються стекінговими взаємодіями. Таким чином, спонтанні транзиції типу Ade·Ade повністю визначаються парою Топала–Фреско.

*Трансверсії Ade·Gua.* За трансверсії цього типу, що є змішаними помилками реплікації-включення, відповідає планарна, тер-

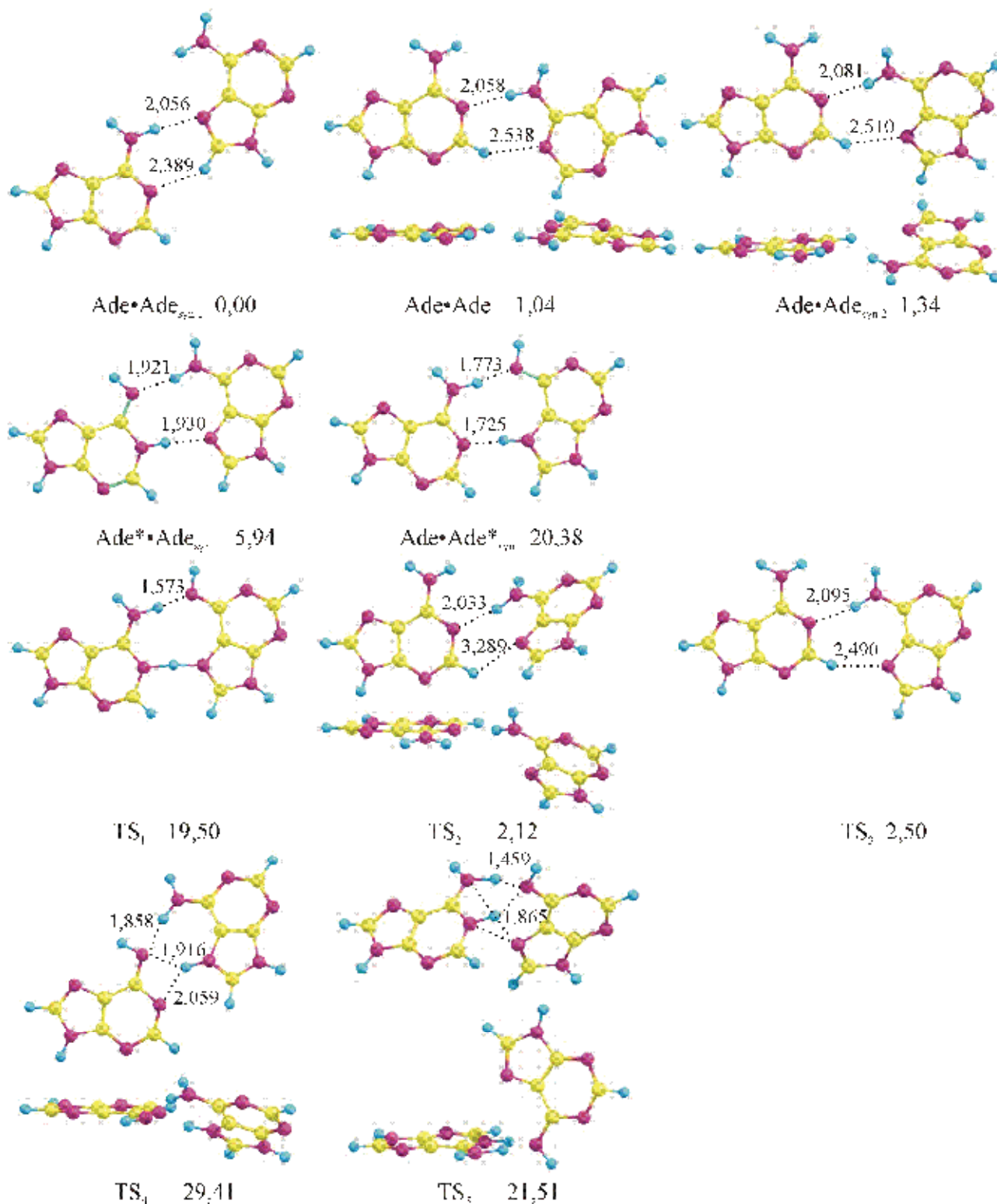


Рис. 1. Геометрична будова досліджених пуриново-пуринових пар нуклеотидних основ Ade-Ade та перехідних станів TS їхнього взаємного перетворення. Тут і на рис. 2–4 пунктиром позначено H-зв'язки AH...B (біля кожного H-зв'язку наведено його довжину H...B в Å). Біля кожної структури вказано її відносну енергію Гіббса у ккал/моль за стандартних умов (див. також табл. 1); біля непланарних комплексів подано їхню «ортогональну» проекцію

Таблиця 1. Енергетичні характеристики (у ккал/моль за стандартних умов) досліджених пар нуклеотидних основ Ade·Ade та перехідних станів TS їхнього взаємного перетворення

Комплекси	$\Delta G$	$\Delta E_{\text{def}}$	$-\Delta E_{\text{int}}$	$-\Delta G_{\text{int}}$
Ade·Ade <sub>syn1</sub>	0,00	—	8,70	-4,84
Ade·Ade	1,04	—	6,91	-5,90
Ade·Ade <sub>syn2</sub>	1,34	—	7,06	-6,19
Ade*·Ade <sub>syn</sub>	5,94	2,18	16,73	3,93
Ade·Ade* <sub>syn</sub>	20,38	—	27,75	14,40
TS <sub>2</sub>	2,12	—	6,81	-7,05
TS <sub>3</sub>	2,50	—	7,01	7,23
TS <sub>4</sub>	29,41	—	123,89	111,63
TS <sub>5</sub>	21,51	—	134,41	123,64

Позначення тут і в табл. 2–4:  $\Delta G$  – відносна енергія Гіббса,  $\Delta E_{\text{def}}$  – електронна енергія деформації пари до уотсон-кріківських розмірів;  $-\Delta E_{\text{int}}$  – електронна енергія взаємодії основ у парах;  $-\Delta G_{\text{int}}$  – енергія Гіббса взаємодії основ у парах

модинамічно стійка ( $\Delta G_{\text{int}} = -11,51$  ккал/моль) пара Ade\*·Gua\*<sub>syn</sub> ( $\Delta G = 9,60$  ккал/моль) (рис. 2, табл. 2). У процесі теплових флуктуацій вона може відносно легко ( $\Delta E_{\text{def}} = 3,26$  ккал/моль) набувати розмірів уотсон-кріківської пари Ade·Thy. Трансверсії – помилки включення – виникають внаслідок утворення планарної пари Ade·Gua\*<sub>syn</sub> ( $\Delta G = 11,38$  ккал/моль,  $\Delta G_{\text{int}} = -13,06$  ккал/моль), яка стабілізується двома Н-зв'язками N7H...N1 і N6H...O6. Після утворення в активному центрі ДНК-полімерази вона безбар'єрно через перехідний стан TS<sub>1</sub> з енергією активації Гіббса 11,63 ккал/моль «скочується» у вищезгадану пару Ade\*·Gua\*<sub>syn</sub>.

Окрім того, помилки включення можуть відбуватися й за іншим механізмом: спочатку утворюється «довга» пуриново-пуринова пара Ade·Gua ( $\Delta G = 0,00$  ккал/моль,  $\Delta G_{\text{int}} = -3,58$  ккал/моль), яка через перехідний стан TS<sub>2</sub> з енергією активації Гіббса 10,00 ккал/моль таутомеризується в пару Ade\*·Gua\* ( $\Delta G = 9,76$  ккал/моль,  $\Delta G_{\text{int}} = -11,02$  ккал/моль), яка, у свою чергу, через ортогональний перехідний стан TS<sub>3</sub> з енергією активації Гіббса 7,00 ккал/моль, який стабілізується одним Н-зв'язком O6H...N6 перетворюється в пару Ade\*·Gua\*<sub>syn</sub>. Зазначимо, що пара Ade·Gua стабілізується трьома Н-зв'язками

Таблиця 2. Енергетичні характеристики (у ккал/моль за стандартних умов) досліджених пар нуклеотидних основ Ade·Gua та перехідних станів TS їхнього взаємного перетворення

Комплекси	$\Delta G$	$\Delta E_{\text{def}}$	$-\Delta E_{\text{int}}$	$\Delta G_{\text{int}}$
Ade·Gua	0,00	—	17,44	3,58
Ade*·Gua* <sub>syn</sub>	9,60	3,26	23,00	11,51
Ade*·Gua*	9,76	—	23,61	11,02
Ade·Gua* <sub>syn</sub>	11,38	—	26,38	13,06
Ade*·Gua* <sub>syn</sub>	21,27	—	11,46	2,08
TS <sub>2</sub>	10,00	—	110,34	98,20
TS <sub>3</sub>	16,76	—	13,71	1,80
TS <sub>4</sub>	3,00	—	15,5	4,20
TS <sub>5</sub>	6,57	—	16,20	2,31
TS <sub>6</sub>	12,60	—	21,45	8,44
TS <sub>7</sub>	15,71	—	30,05	17,76

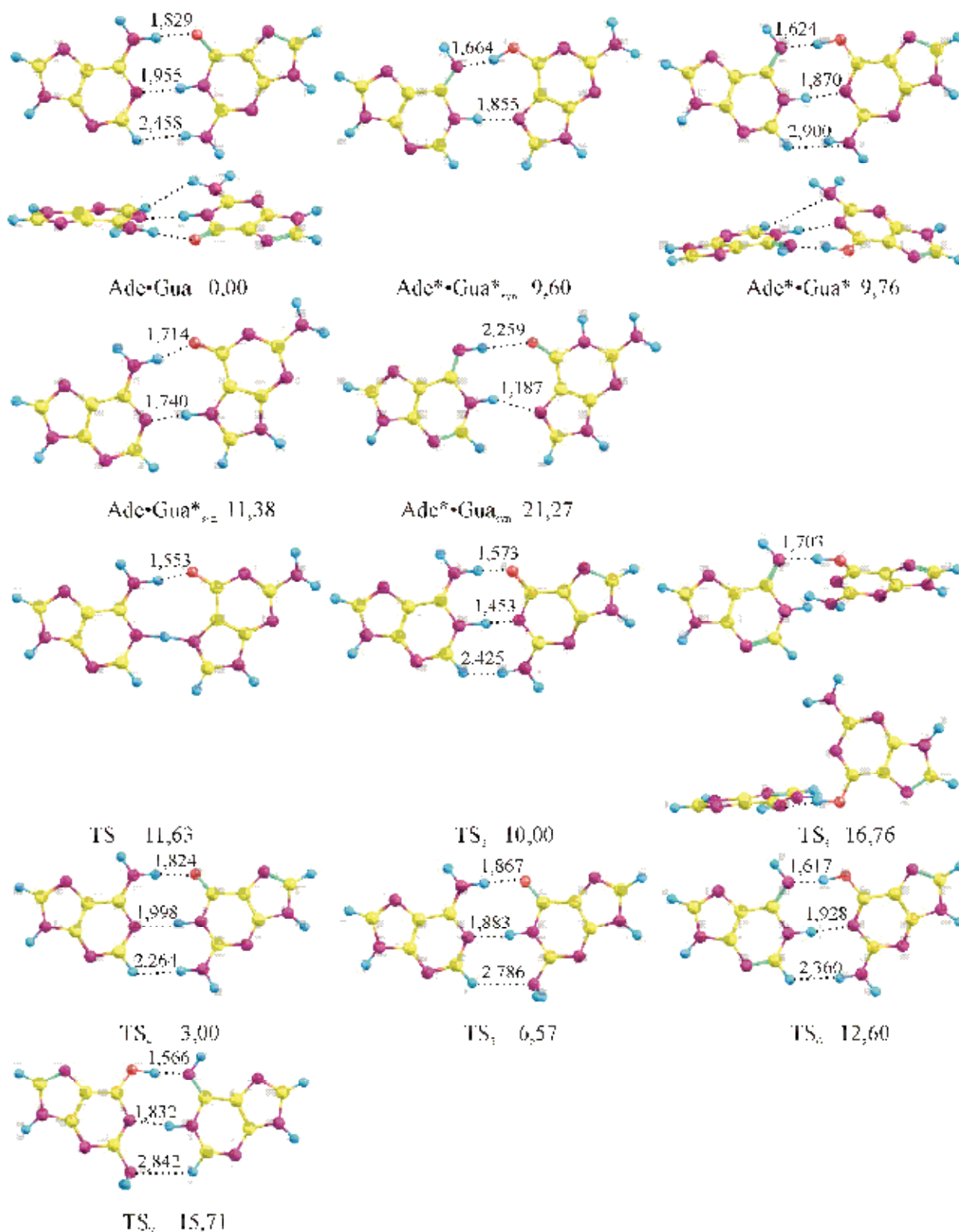


Рис. 2. Геометрична будова досліджених пар нуклеотидних основ Ade-Gua та перехідних станів TS їхнього взаємного перетворення (див. також табл. 2)

N6H...O6, N1H...N1 і C2H...HN2 і є непланарною. Її дзеркально-симетричні конформери взаємно перетворюються двома енергетично і топологічно нееквівалентними шляхами – через планарний TS<sub>4</sub> і плоскосиметричний TS<sub>5</sub> з енергіями активації Гіббса 3,00 і 6,57 ккал/моль відповідно. При цьому TS<sub>4</sub> стабілізується тими самими Н-зв'язками, що і пара Ade·Gua, а в TS<sub>5</sub> замість Н-зв'язку C2H...HN2 з'являється Н-зв'язок C2H...N2. Дзеркально-симетричні конформери пари Ade\*·Gua\* перетворюються через планарний TS<sub>6</sub> і плоскосиметричний TS<sub>7</sub> перехідні стани з енергіями активації Гіббса 12,60 і 15,71 ккал/моль відповідно.

Характерно, що енергія взаємодії Гіббса в парах Ade\*·Gua\*<sub>syn</sub> і Ade·Gua\*<sub>syn</sub> перевищує аналогічну величину для пар Ade\*·Cyt (ΔG<sub>int</sub> = -10,76) і Ade·Thy (ΔG<sub>int</sub> = -1,43 ккал/моль) відповідно. Таким чином, спонтанні трансверсії Ade·Gua контролюються в кінцевому підсумку парою основ Ade\*·Gua\*<sub>syn</sub>.

Планарну пару Ade\*·Gua\*<sub>syn</sub> (ΔG = 21,27 ккал/моль, ΔG<sub>int</sub> = -2,08 ккал/моль) (рис. 2, табл. 2), яку свого часу запропонували Топал і Фреско [7] для пояснення спонтанних трансверсій Ade·Gua, слід виключити із розгляду. Основна причина цього полягає в тому, що під час реплікації пари Ade·Thy ДНК виникають мутагенні таутомери Ade з *транс*-орієнтацією групи N6H відносно зв'язку N1C6 [22]: перехід цього таутомера в таутомер з *цис*-орієнтацією групи N6H реалізується через перехідний стан з енергією активації Гіббса 38,64 ккал/моль, тобто не встигає відбутися за

час, який витрачає ДНК-полімераза на один елементарний крок біосинтезу ДНК [23–25].

*Трансверсії Gua·Ade.* Спонтанні трансверсії – помилки включення Gua·Ade – контролюються неплосинною, термодинамічно стійкою парою Gua·Ade<sub>syn</sub> (ΔG = 0,73 ккал/моль, ΔG<sub>int</sub> = -2,86 ккал/моль), яка стабілізується двома Н-зв'язками N6H..O6 і N1H..N7 (рис. 3, табл. 3) та може бути підлаштована під розміри уотсон-кріківської пари Gua·Cyt у процесі теплових флуктуацій (ΔE<sub>def</sub> = 3,62 ккал/моль). Дзеркально-симетричні конформери цієї пари взаємно перетворюються двома топологічно і енергетично нееквівалентними шляхами – через площинний і плоскосиметричний перехідні стани TS<sub>1</sub> і TS<sub>2</sub> з енергіями активації Гіббса 3,25 і 6,75 ккал/моль відповідно. Перехідний стан TS<sub>1</sub> стабілізується тими ж Н-зв'язками, що і пара Gua·Ade<sub>syn</sub>; перехідний стан TS<sub>2</sub> відрізняється в цьому сенсі від пари Gua·Ade<sub>syn</sub> тим, що Н-зв'язок останньої C2H...HN2 заміщається на Н-зв'язок C2H...N2.

Окрім того, помилки включення цього типу можуть виникати шляхом утворення «довгої» пари Gua·Ade, структурно-динамічні властивості якої ми вже аналізували вище, з наступним її перетворенням у пару Gua·Ade<sub>syn</sub> з відносною енергією Гіббса 0,73 ккал/моль через перехідний стан TS<sub>3</sub> з енергією активації Гіббса 8,28 ккал/моль, який стабілізується одним Н-зв'язком N1H...N6 та одним вандервальсовим контактом O6...N6. Таким чином, помилки включення зводяться врешті-решт до утворення в активному центрі ДНК-полімера-

Таблиця 3. Енергетичні характеристики (у ккал/моль за стандартних умов) досліджених пар нуклеотидних основ Gua·Ade та перехідних станів TS їхнього взаємного перетворення

Комплекси	ΔG	ΔE <sub>def</sub>	-ΔE <sub>int</sub>	-ΔG <sub>int</sub>
Gua·Ade	0,00	–	17,44	3,58
Gua·Ade <sub>syn</sub>	0,73	3,62	17,00	2,86
Gua*·Ade <sub>syn1</sub>	4,26	2,30	12,78	0,09
Gua*·Ade <sub>syn2</sub>	6,26	–	10,42	-2,69
Gua*·Ade <sub>syn3</sub>	25,51	–	14,55	1,49
TS <sub>1</sub>	3,25	–	15,30	0,68
TS <sub>2</sub>	6,75	–	16,22	2,15
TS <sub>3</sub>	8,28	–	7,95	-5,17
TS <sub>4</sub>	12,09	–	12,75	-0,19
TS <sub>5</sub>	24,30	–	147,66	132,49
TS <sub>6</sub>	20,25	–	132,45	114,54

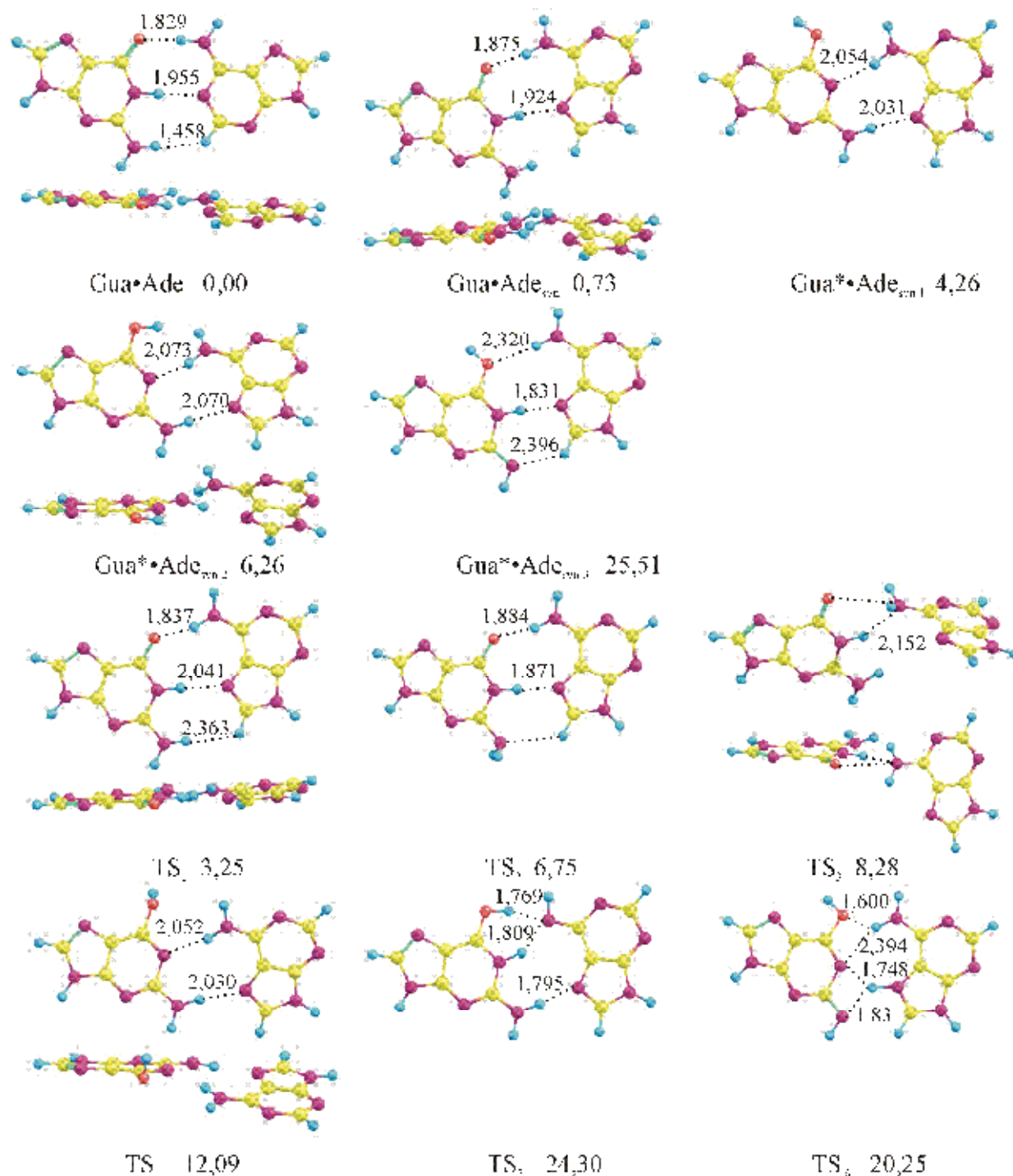


Рис. 3. Геометрична будова досліджених пар нуклеотидних основ Gua•Ade та перехідних станів TS їхнього взаємного перетворення (див. також табл. 3)

зи пари основ Gua•Ade<sub>syn</sub> за участю основ у канонічній формі.

Спонтанні трансверсії Gua•Ade – помилки реплікації цілком логічно пов'язати із площинною, динамічно стійкою парою основ Gua\*•Ade<sub>syn1</sub> ( $\Delta G=4,26$  ккал/моль,  $\Delta G_{\text{int}}=-0,09$  ккал/моль), яка стабілізується дво-

ма Н-зв'язками N6H...N1 і N2H...N7 (рис. 3, табл. 3). Для своєї адаптації до розмірів уотсон-кріківської пари Gua•Cyt вона потребує теплової енергії  $\Delta E_{\text{def}}=2,30$  ккал/моль. У зв'язку з цим можливі два варіанти розвитку подій. Якщо деформована до уотсон-кріківських розмірів пара Gua\*•Ade<sub>syn1</sub> не втрачає

своєї термодинамічної стійкості за рахунок стекінгових взаємодій, то тоді саме вона і відповідає за помилки реплікації. В іншому ж разі вона через перехідний стан TS<sub>4</sub> з енергією активації Гіббса 12,09 ккал/моль перетворюється у неплщинну пару Gua\*·Ade<sub>syn2</sub> (ΔG=6,26 ккал/моль) – інтермедіат, який у свою чергу через перехідний стан TS<sub>5</sub> з енергією активації Гіббса 24,30 ккал/моль переходить у пару Gua·Ade<sub>syn2</sub>, з розгляду якої ми розпочинали цей підрозділ.

Планарна пара Gua\*·Ade<sub>syn3</sub> (ΔG=25,51 ккал/моль; ΔG<sub>int</sub>=1,49 ккал/моль), яку свого часу запропонували Топал і Фреско [7] для пояснення спонтанних трансверсій Gua·Ade, має бути елімінована з наукового обігу щонайменше з двох причин. По-перше (і це головна причина), рідкісний таутомер Gua\*, який входить до складу цієї пари, не утворюється при реплікації пари основ Gua·Cyt ДНК [26]; по-друге, ця пара основ є нестійкою і через перехідний стан TS<sub>6</sub> з енергією активації Гіббса 20,25 ккал/моль скочується у пару Gua\*·Ade<sub>syn1</sub>, яку ми вже розглядали.

*Трансверсії Gua·Gua.* Одержані нами результати (рис. 4, табл. 4) безумовно вказують на те, що помилки включення цього типу реалізуються за рахунок термодинамічно стійкої (ΔG<sub>int</sub>=-3,11 ккал/моль), неплщинної пари Gua·Gua<sub>syn2</sub> (ΔG=10,19 ккал/моль), яка стабілізується двома Н-зв'язками N1H...O6 та N2H...N7, і доволі легко переходить у дзеркально-симетричний стан через площинний

перехідний стан TS<sub>1</sub> з енергією активації Гіббса 0,90 ккал/моль, що лише у півтора раза перевищує kT=0,62 ккал/моль за стандартних умов, або ж повертанням аміногрупи Gua через перехідний стан TS<sub>2</sub> з енергією активації Гіббса 8,07 ккал/моль. Пара Gua·Gua<sub>syn2</sub> утворюється в активному центрі ДНК-полімерази або безпосередньо, або ж переходом енергетично вигіднішої планарної пари Gua·Gua<sub>syn1</sub> (ΔG=0,00 ккал/моль, ΔG<sub>int</sub>=-16,11 ккал/моль), яка стабілізується двома еквівалентними Н-зв'язками N1H...O6 через перехідний стан TS<sub>3</sub> з енергією активації Гіббса 11,00 ккал/моль. Вона без істотних енергетичних затрат (ΔE<sub>def</sub>=4,68 ккал/моль) під впливом теплових флуктуацій може набувати геометрії уотсон-кріківської пари Gua·Cyt.

Єдиною структурою, яка здатна пояснити виникнення змішаних помилок реплікації-включення, є термодинамічно стійка, непланарна пара Gua\*·Gua\*<sub>syn</sub> (ΔG=11,07 ккал/моль, ΔG<sub>int</sub>=-4,55 ккал/моль), яка стабілізується трьома Н-зв'язками O6H...N1, N2H...N7 і O6H...O6. Її два дзеркально-симетричні конформери взаємно перетворюються через планарний перехідний стан TS<sub>4</sub> з енергією активації Гіббса 2,00 ккал/моль, або ж шляхом повертання аміногрупи Gua через перехідний стан TS<sub>5</sub> з енергією активації Гіббса 11,92 ккал/моль.

Пара Gua\*·Gua<sub>syn</sub> (ΔG=15,23 ккал/моль, ΔG<sub>int</sub>=1,72 ккал/моль) не може претендувати на цю роль, оскільки вона є термодинамічно нестабільною і потребує для під-

Таблиця 4. Енергетичні характеристики (у ккал/моль за стандартних умов) досліджених пар нуклеотидних основ Gua·Gua та перехідних станів TS їхнього взаємного перетворення

Комплекси	ΔG	ΔE <sub>def</sub>	-ΔE <sub>int</sub>	-ΔG <sub>int</sub>
Gua·Gua <sub>syn1</sub>	0,00	—	28,37	16,11
Gua·Gua <sub>syn2</sub>	10,19	4,68	14,41	3,11
Gua*·Gua* <sub>syn</sub>	11,07	—	17,08	4,55
Gua*·Gua <sub>syn</sub>	15,23	5,20	8,96	-1,72
TS <sub>1</sub>	11,09	—	14,11	3,38
TS <sub>2</sub>	18,26	—	14,96	4,10
TS <sub>3</sub>	11,00	—	11,05	1,5
TS <sub>4</sub>	13,07	—	14,00	3,25
TS <sub>5</sub>	22,90	—	14,94	2,57
TS <sub>6</sub>	18,13	—	14,22	3,20
TS <sub>7</sub>	25,23	—	14,80	2,31
TS <sub>8</sub>	40,00	—	127,87	110,07



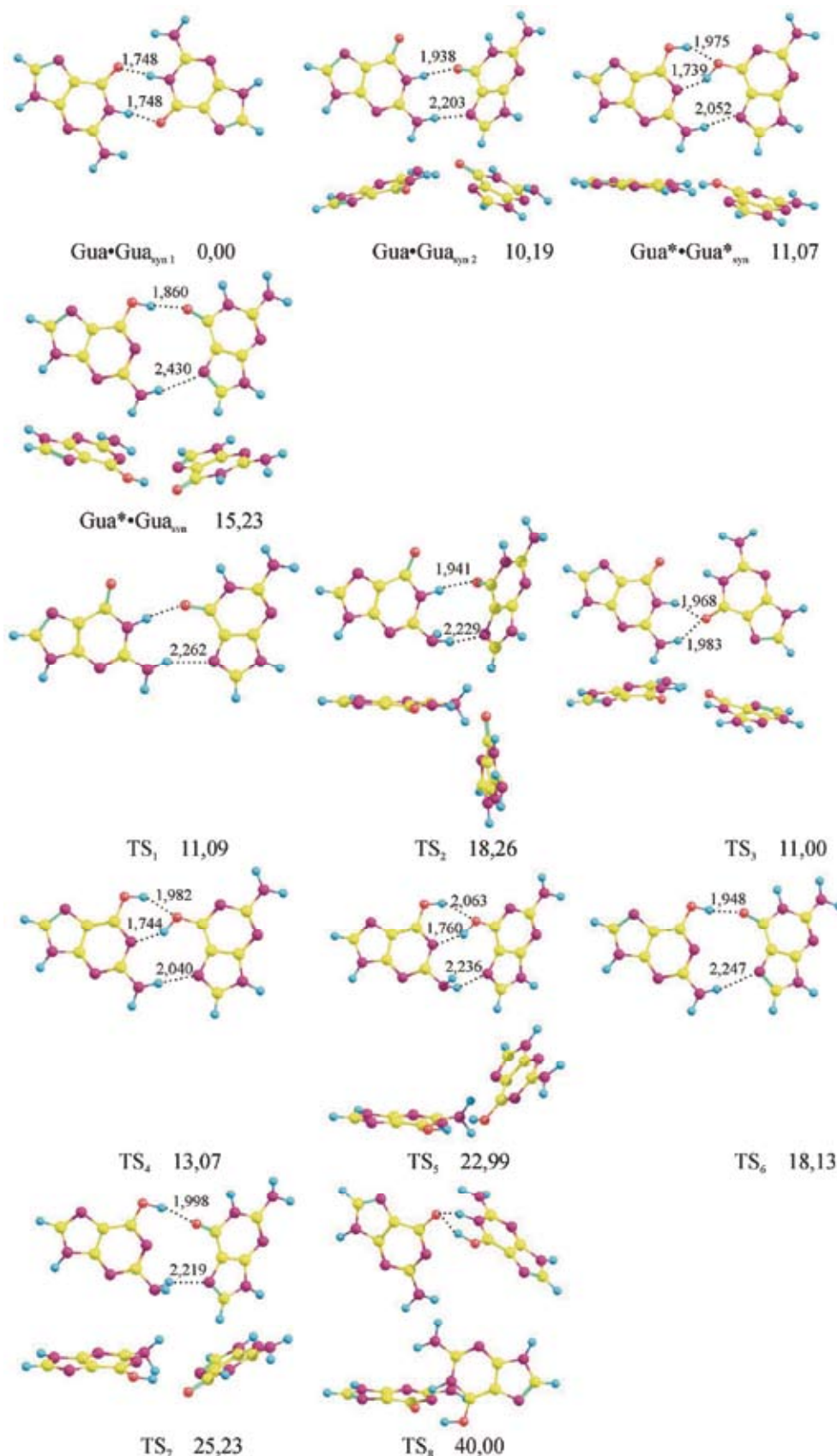


Рис. 4. Геометрична будова досліджених пар нуклеотидних основ Gua•Gua та перехідних станів TS їхнього взаємного перетворення (див. також табл. 3)

гонки до уотсон-кріківських розмірів найбільшої з-поміж досліджених структур енергії ( $\Delta E_{\text{def}}=5,20$  ккал/моль). Два її дзеркально-симетричні конформери взаємно перетворюються через планарний перехідний стан  $TS_6$  з енергією активації Гіббса 2,90 ккал/моль або ж шляхом повертання аміногрупи Gua через перехідний стан  $TS_5$  з енергією активації Гіббса 10,00 ккал/моль. У кращому разі, за умов її стабілізації стекінговими взаємодіями, вона через перехідний стан  $TS_8$  з енергією активації Гіббса 24,77 ккал/моль перетворюється у пару  $Gua \cdot Gua_{\text{syn}2}$ , з якої ми розпочали цей підрозділ. Характерно, що за абсолютною величиною енергії взаємодії Гіббса для пар  $Gua \cdot Gua_{\text{syn}1}$  (-16,11 ккал/моль),  $Gua \cdot Gua_{\text{syn}2}$  (-3,11 ккал/моль) і  $Gua^* \cdot Gua^*_{\text{syn}}$  (-4,55 ккал/моль) помітно менші, ніж аналогічні значення для пар  $Gua \cdot Thy^*$  (-20,54 ккал/моль) і  $Gua^* \cdot Thy$  (-7,17 ккал/моль) відповідно.

Таким чином, на основі аналізу структурно-енергетичних характеристик усіх можливих пуриново-пуринових пар основ та їхнього взаємоперетворення досліджено елементарні молекулярні механізми утворення в активному центрі реплікативної ДНК-полімерази неправильних пуриново-пуринових пар нуклеотидних основ, які відповідають за виникнення спонтанних піримідиново-пуринових трансверсій.

Автори сподіваються, що одержані в цій роботі результати стосовно елементарних молекулярних механізмів спонтанних піримідиново-пуринових трансверсій ініціюють молекулярно-динамічні обчислювальні експерименти на високомолекулярних моделях реплікативних ДНК-полімераз [22].

Автори висловлюють щирю вдячність Інституту теоретичної фізики ім. М. М. Боголюбова НАН України за люб'язно надані програмне забезпечення та обчислювальні ресурси.

### КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕМЕНТАРНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ПИРИМИДИНОВО-ПУРИНОВЫХ ТРАНСВЕРСИЙ

*О. А. Броварец, Д. Н. Говорун*

Институт высоких технологий Киевского национального университета имени Тараса Шевченко, Украина;  
Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев;  
e-mail: brovarets@list.ru

На уровне теории MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) в вакуумном приближении, которое адекватно моделирует гидрофобную среду активного центра высокоточных репликативных ДНК-полимераз, выявлены и охарактеризованы пуриново-пуриновые пары оснований ДНК (при этом основание, принадлежащее матрице, находится в *анти*-конформации относительно сахарного остатка, а основание входящего нуклеотида — в *син*-конформации), ответственные за возникновение пиридиново-пуриновых трансверсий.

Ключевые слова: спонтанные ошибки репликации и включения, трансверсии, *анти*- и *син*-конформации, таутомеры оснований ДНК, неправильные пары оснований ДНК, межмолекулярные водородные связи, топология электронной плотности, DFT, MP2.

**QUANTUM-CHEMICAL  
INVESTIGATION OF THE  
ELEMENTARY MOLECULAR  
MECHANISMS OF PYRIMIDINE-  
PURINE TRANSVERSIONS**

*O. O. Brovarets', D. M. Hovorun*

Institute of High Technologies, Taras Shevchenko  
Kyiv National University, Ukraine;  
Institute of Molecular Biology and Genetics,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: brovarets@list.ru

**S u m m a r y**

Purine-purine mispairs of DNA (thus involving template base in *anti*-conformation along the glycosidic bond and base of the incoming nucleotide – in *syn*-conformation) leading to pyrimidine-purine “transversions”-type point mutations were revealed and characterized at the MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) level of theory in vacuum approach adequately modeling hydrophobic environment of the active centre of high-fidelity replicative DNA-polymerases.

**Key words:** replicational and incorporational errors, transversions, *anti*- and *syn*-conformations, DNA base tautomers, mispairs of DNA bases, intermolecular hydrogen bonds, electron density topology, DFT, MP2.

1. Echols H., Goodman M. F. // *Annu. Rev. Biochem.* – 1991. – **60**. – P. 477–511.
2. Von Borstel R. C. // *Mutat. Res.* – 1994. – **307**, N 1. – P. 131–140.
3. Drake J. W. // *Annu. Rev. Genet.* – 1991. – **25**. – P. 125–146.
4. Sankoff D., Cedergren R. J., Lapalme G. // *J. Mol. Evol.* – 1976. – **7**, N 2. – P. 133–149.
5. Cox E. C., Yanofsky Ch. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1967. – **58**, N 5. – P. 1895–1902.
6. Boosalis M. S., Mosbaugh D. W., Hamatake R. et al. // *J. Biol. Chem.* – 1989. – **264**, N 19. – P. 11360–11366.
7. Topal M. D., Fresco J. R. // *Nature.* – 1976. – **263**, N 5575. – P. 285–289.
8. Полтев В. И., Брусков В. И. // *Мол. биол.* – 1977. – **11**, Вып. 3. – С. 661–670.
9. Кочина О. С., Юренко Є. П., Говорун Д. М. // *Біополімери і клітина.* – 2007. – **23**, № 3. – С. 167–171.
10. Броварець О. О., Говорун Д. М. // *Ukr. Bioorg. Acta.* – 2010. – **9**, № 1. – С. 3–9.
11. Броварець О. О., Говорун Д. М. // *Ibid.* – 2009. – **8**, № 2. – С. 12–18.
12. Dewar M. J. S., Storch D. M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1985. – **82**, N 8. – P. 2225–2229.
13. Petrushka J., Sowers L. C., Goodman M. F. // *Ibid.* – 1986. – **83**, N 6. – P. 1559–1562.
14. Peng C., Schlegel H. B. // *Israel J. Chem.* – 1993. – **33**, N 4. – P. 449–454.
15. Peng C., Ayala P. Y., Schlegel H. B., Frisch M. J. // *J. Comput. Chem.* – 1996. – **17**, N 1. – P. 49–56.
16. Boys S. F., Bernardi F. // *Mol. Phys.* – 1970. – **19**, N 4. – P. 553–566.
17. Sukhodub L. F. // *Chem. Rev.* – 1987. – **87**, N 3. – P. 589–606.
18. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B. et al. *Gaussian 03, Revision C.02 / Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2004.*
19. Bader R. W. F. *Atoms in molecules. A quantum theory.* – Oxford: Clarendon Press, 1990. – 436 p.
20. *Водородная связь.* Ред. Соколов Н. Д., Чулановский В. М. – М.: Наука, 1964. – 340 с.
21. Biegler-Konig F., Schonbohm J., Bayles D. // *J. Comput. Chem.* – 2001. – **22**, N 5. – P. 545–559.
22. Harris V. H., Smith C. L., Cummins W. J. et al. // *Org. Biomol. Chem.* – 2003. – **1**, N 12. – P. 2070–2074.
23. Pham P., Bertram J. G., O'Donnell M. et al. // *Nature.* – 2001. – **409**, N 6818. – P. 366–370.
24. Tang M., Shen X., Frank E. G. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – **96**, N 16. – P. 8919–8924.
25. Kornberg A., Baker T. *DNA replication / W. H. Freeman & Co, New York, 2nd ed.* – 1992. – 931 p.
26. Броварець О. О., Говорун Д. М. // *Укр. біохім. журн.* – 2010. – **82**, № 3. – С. 55–60.

Отримано 21.07.2010