

Чи стабілізують водневі зв'язки СН...О пари основ у ДНК? Квантово-хімічне обґрунтування

Є.П. Юренко

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03680*

Резюме. Геометричний, спектрально-коливальний та електронно-топологічний аналіз пар основ за участі канонічних і рідкісних таутомерів на рівнях теорії MP2/6-31G(d,p) та DFT B3LYP/6-31G(d,p) дав змогу встановити, що контакти СН...О у парах є водневими зв'язками, їхня енергія становить близько 1 ккал/моль.

Ключові слова: водневі зв'язки, таутомери, пари основ ДНК, топологічний аналіз електронної густини.

Водневі (Н) зв'язки між комплементарними основами у ДНК значною мірою визначають її просторову будову [1]. Усі ключові процеси, що відбуваються за участі ДНК, — реплікація, транскрипція, репарація — супроводжуються розривом старих і утворенням нових Н-зв'язків [2].

Вважають, що пара GC охоплена трьома Н-зв'язками, а АТ — двома. Проте ще в 1966 р. Ф. Крик наголошував [3], що відсутність третього зв'язку в парі АТ з боку малої борозенки ДНК може бути потенційним джерелом структурно-динамічної нестійкості останньої. Питання наявності зв'язку СН...О у вотсон-криківській та хугстинівській парах уперше порушується в роботі [4], де йому приписується важлива стабілізуюча роль. Е. Старіков та Т. Штайнер [5] перевірили цю гіпотезу за допомогою квантово-хімічних розрахунків (на рівнях теорії MP2/6-31G(d,p) і HF/6-31G(d,p)) на експериментальній кристалічній геометрії аденіліл-3'-5'-уридину, а також модельних фрагментах, які апроксимували вотсон-криківську АУ-пару з контактом С2Н...О2 та без нього. У результаті виявилось, що за наявності

контакту електронна енергія взаємодії між компонентами пари АУ зростає, тобто він дійсно є стабілізуючим, і його внесок в загальну енергію зв'язування становить близько 6 %.

Проте навіть така невелика енергія зв'язку може викликати ефект «останньої краплі», тобто він може бути вирішальним при взаємодії ДНК з білками, зокрема полімеразами [6]. Що ж стосується самої природи контакту, то домінуючою його складовою є електростатичне притягання між групою $C2^{\delta+}-H^{\delta+}$ та негативним кінцем диполя $O2^{\delta-}=C^{\delta+}$ [5]. Згодом у роботі [7] уперше за допомогою топологічного аналізу електронної густини за Бейдером виявлено критичну точку (3,-1) і градієнтний шлях між атомами Н2 та О2 в парі АТ. У статті П. Хобзи та ін. [8] методом аналізу натуральних зв'язуючих орбіталей (NBO) досліджено електронну природу взаємодії С2Н...О2 в парі АУ. Виявлено, що електронна густина незв'язуючої орбіталі σ^* , що відповідає зв'язку С2-Н2, при утворенні пари не змінюється, а відносний заряд на атомі О2 стає навіть більш негативним. Отже, усі вищезгадані дані не заперечують і навіть частково підтверджують можливість утворення неklasичного (blue-shifting [9]) зв'язку СН...О у вотсон-криківських парах АТ та АУ, проте, попри це, питання про його існування досі залишається відкритим, оскільки до цього

* Corresponding author.

Tel.: +38044-5261109

E-mail address: yevgen.yurenko@gmail.com

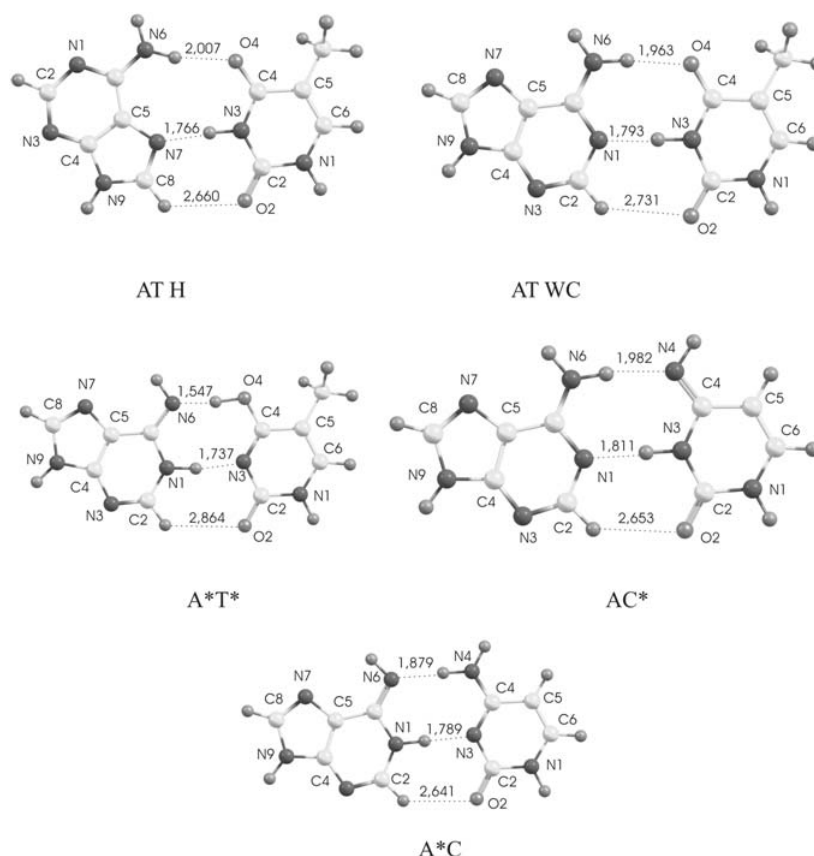


Рис. 1. Геометрії пар нуклеотидних основ, оптимізовані на рівні теорії MP2/6-31G(d,p). Пунктирні лінії позначають Н-зв'язки. Їхні довжини (між воднем та атомом-акцептором) наведено в Å.

часу достеменно не встановлено, чи задовольняє взаємодія C2H...O2 усі загальноприйняті квантово-механічні критерії Коха і Попельє [10].

У цій роботі ми провели вичерпний геометричний, коливальний та електронно-топологічний аналіз Н-зв'язків у п'яти парах за участі канонічних (кетто-амінних) і рідкісних (іміно-єнольних) таутомерів. Останні, згідно з класичною таутомерною гіпотезою [11], можуть бути потенційним джерелом точкових мутацій у ДНК. Як відомо, при біосинтезі ДНК гуанін (G) зазвичай утворює пару з цитозином (C), а аденін (A) — з тиміном (T). Проте іміноформа цитозину (C*), яка може виникнути під впливом різних чинників, спарюється з А замість G, а іміноформа A* — з С замість Т. Що стосується високоенергетичної пари A*T*, то вона є результатом подвійного перенесення протонів і характеризується доволі пологим локальним мінімумом. Проте, як можна припустити, імовірність її утворення може збільшитися під дією різних факторів *in vivo* (катиони, білки тощо).

Спільним для всіх досліджуваних пар є наявність контакту СН...О, раніше зафіксованого в парі AC* [12].

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження слугували п'ять воднево-зв'язаних пар (рис. 1) за участі канонічних та рідкісних таутомерів, а саме: вотсон-криківська пара АТ (надалі позначатиметься як АТ WC), хугстинівська пара АТ (Hoogsteen) [13], а також пари A*T*, A*C та AC* (зірочка позначає рідкісний іміно- або єнольний таутомер). Геометрії пар отримано на двох рівнях теорії — DFT (гібридний обмінно-кореляційний функціонал електронної густини в узагальненому градієнтному наближенні B3LYP) та MP2 (теорія Мелера-Плесета другого порядку) — з використанням стандартного набору гаусівських функцій 6-31G(d,p). Усі зоптимізовані структури перевірено на стійкість за відсутності уявних частот в їхніх коливальних спектрах, які розраховували в гармонійному наближенні.

Відносні електронні, вільні енергії Гіббса та енергії взаємодії в комплексах визначали на рівні теорії MP2/6-31G(d,p) (останні — з ура-

хуванням так званої BSSE-поправки на похибку суперпозиції базисного набору функцій, оціненої за методом Бойза-Бернарді).

Н-зв'язки ідентифікували топологічним аналізом електронної густини, який ґрунтується на квантовій теорії атомів у молекулах (QTAIM) [14], уперше розробленій Бейдером. Наявність критичної точки (3,-1) — bond critical point (BCP) — і градієнтного шляху електронної густини, а також позитивне значення лапласіану електронної густини вважали необхідними умовами існування Н-зв'язку. Крім того, усі Н-зв'язки були протестовані за так званими «двомолекулярними» критеріями Коха та Попельє [10], які оперують змінами атомних характеристик водню при утворенні Н-зв'язку в порівнянні з вільним мономером (збільшення позитивного заряду Δq , зменшення дипольної поляризації ΔM та атомного об'єму Δv , енергетична дестабілізація ΔE , а також взаємна проникність водню та атома-акцептора $\Delta r_H + \Delta r_A$, де $\Delta r_H > 0$ та $\Delta r_A > 0$ — зміна атомних радіусів водню та акцептора відповідно).

Хвильові функції обчислювали на тому ж рівні теорії, що й оптимізували геометрію, з використанням програмного пакета «Gaussian 03» для платформи Win32. Аналіз топології електронної густини проводили за допомогою програмного пакета AIMall.

Міцність водневих зв'язків ОН...О та NH...О у комплексах оцінювали за комплексним показником Грабовського Δ_{com} [15], який оперує геометричними та топологічними параметрами валентного зв'язку Х-Н (зокрема, у нашому випадку Х=О, N):

$$\Delta_{com} = \left\{ \left[\frac{(r_{X-H} - r_{X-H}^0)}{r_{X-H}^0} \right]^2 + \left[\frac{(\rho_{X-H}^0 - \rho_{X-H})}{\rho_{X-H}^0} \right]^2 + \left[\frac{(\nabla^2 \rho_{X-H} - \nabla^2 \rho_{X-H}^0)}{\nabla^2 \rho_{X-H}^0} \right]^2 \right\}^{1/2} \quad (1),$$

де r_{H-X} , ρ_{H-X} та $\nabla^2 \rho_{H-X}$ — параметри валентного зв'язку, який є донором протона при Н-зв'язуванні (довжина зв'язку Х-Н, електронна густина в критичній точці (3,-1) зв'язку та лапласіан електронної густини відповідно), а r_{X-H}^0 , ρ_{X-H}^0 , $\nabla^2 \rho_{X-H}^0$ — ці ж самі параметри для незбуреного зв'язку Х-Н у вільному мономері.

Абсолютні значення енергії класичних (ОН...О та ОН...N) Н-зв'язків оцінювалися

двома методами — на основі спектральних та електронно-топологічних характеристик. Перший метод ґрунтується на використанні емпіричної формули Йогансена:

$$-\Delta H_{freq} = 0,33(\Delta\nu - 40)^{3/2} \quad (2),$$

де $-\Delta H$ — ентальпія Н-зв'язку в ккал/моль, $\Delta\nu$ — зсув частоти (у cm^{-1}) валентного коливання $\nu(\text{OH})$ або $\nu(\text{NH})$ в червону область при наявності Н-зв'язку. При цьому у випадках взаємодії декількох валентних коливань використовували процедуру адресного дейтерування, що дозволило чітко виокремити бажані моди в ІЧ-спектрі. Для порівняння також використовували іншу формулу Йогансена:

$$-\Delta H_{intens} = 2,92(I/I_0)^{3/2} \quad (3),$$

де I_0 — інтегральна інтенсивність моди незбуреного валентного коливання (за відсутності Н-зв'язку); I — аналогічна інтенсивність для Н-зв'язаної групи ОН або NH.

Інший метод (Еспінози-Молінса-Леконта, надалі — ЕМЛ) дозволив нам оцінити енергію Н-зв'язку на основі розподілу електронної густини в його критичній точці (3,-1) за формулою:

$$E_{HB} = 0,5V(r) \quad (4),$$

де $V(r)$ — значення локальної потенціальної енергії в критичній точці.

Результати й обговорення. Оптимізовані пари основ на рівні MP2/6-31G(d,p) зображено на рис. 1. Їхні енергетичні характеристики наведено в табл. 1. Привертає увагу факт, що пара АТ(Н) є енергетично вигіднішою (має менше значення вільної енергії ΔG за нормальних умов), ніж вотсон-криківська АТ. Можливо, саме тому пара АТ(Н) була експериментально виявлена найпершою [13] у кристалічному стані за допомогою рентгеноструктурного аналізу. Найменш стабільною серед АТ-пар є рідкісно-таутомерна пара А*Т*, яка утворюється в результаті взаємного перенесення двох протонів. Що стосується пар АС, то АС* стабілізується краще, ніж А*С. Порівняння енергетичних, структурних і полярних характеристик структур, оптимізованих на рівнях DFT B3LYP та MP2, (табл. 1, 2, рис. 1) дає змогу дійти таких висновків.

1. Краще врахування електронної кореляції методом MP2 (зокрема, включення лондонівських дисперсійних взаємодій між мультиполями) призводить до незначного скорочення

відстані між парами, а отже, посилює енергію взаємодії компонентів у комплексах. Що стосується енергій міжмолекулярних взаємодій (табл. 1, 2), то їхні значення також зростають на рівні MP2. Виняток становлять лише Н-зв'язки за участі аміногруп: їхнє послаблення на рівні MP2 пояснюється тим, що метод DFT B3LYP занижує ефект неплосциності амінофрагментів $\geq\text{CNH}_2$, тому кути Н-зв'язування $\angle\text{АН...В}$ на рівні MP2 стають меншими. Крім того, на рівні DFT B3LYP енергія взаємодії O4Н...N6 в парі A^*T^* істотно більша, ніж на MP2. При цьому довжина хімічного зв'язку O4Н є аномально великою і становить 1,104 Å (1,053 Å на MP2). У середньому ж довжини Н-зв'язків $d_{\text{Н...В}}$ на рівні MP2 скорочуються на 0,004 Å у порівнянні з B3LYP.

2. B3LYP занижує значення дипольних моментів (особливо відчутно цей ефект проявляється у випадку пари A^*T^*).

3. Щодо маллікенівських зарядів на атомах донорів та акцепторів Н-зв'язування (табл. 3), то у випадку класичних Н-зв'язків вони є електронегативнішими на рівні MP2.

Проте, попри всі вищезгадані відмінності, значення геометричних параметрів та енергій Н-зв'язків на обох рівнях теорії є досить близькими. Зокрема, розбіжності між енергіями, розрахованими методом ЕМЛ, не перевищують 20 % (за винятком вищезгаданого зв'язку O4Н...N6 у парі A^*T^*). Це дозволяє зробити висновок, що рівень теорії DFT B3LYP/6-31G(d,p) є адекватним наближенням для дослідження Н-зв'язків у парах нуклеотидних основ. Цікаво, що у всіх випадках, за винятком пари A^*C , сумарна ентальпія Н-зв'язків у парі, знайдена за методом ЕМЛ на рівнях DFT B3LYP та MP2 (табл. 1, 2), перевищує енергію стабілізації пари. Це наштовхує на думку, що метод ЕМЛ дає змогу встановити, швидше за все, верхню межу енергії для конкретного Н-зв'язку без урахування поправки на обмінне відштовхування електронних оболонок. Також варто зазначити, що величина похибки суперпозиції базисного набору функцій (BSSE) є суттєвою (5,72÷6,54 ккал/моль на рівні MP2/6-31G(d,p), табл. 1), тому нею в жодному разі не можна нехтувати при оцінці енергій взаємодії.

Аналіз класичних Н-зв'язків ОН...О та

ОН...N дозволяє констатувати, що вони задовольняють усі геометричні критерії Н-зв'язування (дані на рівні MP2): кути $\angle\text{АН...В}$ лежать у діапазоні 170,8-179,1°; відстані між воднем й атомом-акцептором становлять 1,547-2,007 Å, що значно менше, ніж сума ван-дер-ваальсівських радіусів Бонді (2,72 Å для Н та О і 2,75 Å для N та О); довжини хімічних зв'язків АН подовжуються в межах 0,007-0,081 Å. Топологічний аналіз електронної густини за Бейдером засвідчив, що діапазони значень електронної густини ρ (0,004÷0,076 а.о.) і лапласіану електронної густини $\Delta\rho$ (0,017÷0,113 а.о.) у критичній точці (3,-1) також знаходяться у межах, встановлених раніше Кохом і Попельє [10]. Малі значення еліптичностей $100^*\epsilon$ (табл. 1, 2) вказують на стійкість цих взаємодій. При цьому енергії класичних Н-зв'язків, оцінені за методом ЕМЛ, лежать у діапазоні 5,45-22,30 ккал/моль і задовільно корелюють із показником Грабовського Δ_{com} (коефіцієнт кореляції становить 0,95). Це є підтвердженням тому, що комплексна величина Δ_{com} є адекватною характеристикою міцності класичних Н-зв'язків.

Також на рівні B3LYP/6-31G(d,p) досліджено спектрально-коливальні характеристики міжмолекулярних Н-зв'язків у парах основ (табл. 4). Передусім слід відзначити, що у випадку класичних Н-зв'язків ОН...О та ОН...N частоти характеристичних валентних коливань $\nu(\text{ОН})$ і $\nu(\text{NH})$ зсуваються в червону область, а інтенсивності відчутно зростають у порівнянні з вільними основами. Оцінка енергій зв'язків ОН...О та ОН...N за двома емпіричними формулами Йогансена (2) і (3) продемонструвала, що лише перша з них, яка оперує зсувом частоти, дає достовірні результати. Очевидно, це пов'язано з тим, що неемпіричні квантово-хімічні розрахунки переоцінюють ефект зростання інтенсивностей валентних коливань при формуванні Н-зв'язків. У всіх випадках, крім пари A^*C , співвідношення між сумарною ентальпією Йогансена всіх Н-зв'язків у парі та електронною енергією стабілізації пари близьке до одиниці. У парі A^*C , окрім Н-зв'язків, велика роль, очевидно, належить віддаленим ван-дер-ваальсівським взаємодіям, зокрема лондонівській дисперсії. Цікаво, що частоти неплосцинних (out-of-plane) коли-

Таблиця 1
Енергетичні, геометричні та електронно-топологічні характеристики пар нуклеотидних основ та внутрішньомолекулярних взаємодій, що їх стабілізують, отримані на рівні теорії MP2/6-31G(d,p)

Пара основ	ΔG^a	E_{BSSSE}^b	BSSSE ^c	D ^d	Н-зв'язок	$d_{A...B}^e$	$d_{H...B}^f$	$\angle AH...B^g$	Δd_{AH}^h	$\Delta_{H...B}^i$	ρ^j	$\Delta\rho^k$	$100 \cdot \epsilon^l$	E^m	Δ_{com}^n	$\sum_{I=1}^3 \frac{E_I}{E_{BSSSE}} \cdot 10^4$
АТН	0,00	-12,83	5,72	5,92	N6H...O4	3,009	2,007	169,3	0,007	0,71	0,022	0,063	1,42	5,45	0,045	1,3305
					N3H...N7	2,803	1,766	173,9	0,029	0,98	0,045	0,109	4,66	10,29	0,150	
					C8H...O2	3,458	2,660	121,0	0,0002	0,06	0,007	0,025	12,01	1,33	0,035	
АТWC	0,62	-12,05	5,78	2,07	N6H...O4	2,976	1,963	173,9	0,010	0,76	0,025	0,070	1,88	6,08	0,057	1,3983
					N3H...N1	2,837	1,793	178,7	0,032	0,96	0,043	0,100	5,03	9,65	0,171	
					C2H...O2	3,571	2,731	134,0	0,0003	-0,01	0,006	0,021	6,36	1,12	0,031	
А*Т*	14,01	-22,47	6,54	1,82	O4H...N6	2,598	1,547	175,1	0,081	1,20	0,076	0,092	4,12	22,30	0,478	1,5412
					N1H...N3	2,773	1,737	170,8	0,032	1,01	0,049	0,113	4,95	11,54	0,192	
					C2H...O2	3,609	2,864	126,0	-0,0004	-0,14	0,004	0,017	19,39	0,79	0,053	
А*С*	0,00	-12,63	5,59	3,36	N6H...N4	3,000	1,982	173,1	0,016	0,77	0,028	0,070	5,78	6,03	0,092	1,3120
					N3H...N1	2,852	1,811	177,5	0,030	0,94	0,041	0,097	5,14	9,16	0,163	
					C2H...O2	3,504	2,653	134,9	0,0002	0,10	0,007	0,024	4,99	1,38	0,034	
А*С	4,74	-19,60	5,81	4,67	N4H...N6	2,910	1,879	175,7	0,027	0,87	0,035	0,085	5,78	7,51	0,142	0,9571
					N1H...N3	2,828	1,789	179,1	0,028	0,96	0,043	0,103	5,48	9,83	0,159	
					C2H...O2	3,474	2,641	133,2	0,0000	0,08	0,007	0,025	6,04	1,42	0,035	

Примітка: ^a Відносна вільна енергія Гіббса пари за нормальних умов, ккал/моль; ^b Енергія взаємодії між основами в парі з урахуванням похибки су-перпозиції базисного набору (BSSSE); ^c Похибка су-перпозиції базисного набору; ^d Дипольні моменти (дебай); ^e Відстань між атомами донором (А) та акцептором (В) Н-зв'язку, А; ^f Відстань між атомами Н і В, А; ^g Кут Н-зв'язку, градус; ^h Подовження хімічного зв'язку АН при Н-зв'язуванні, А; ⁱ Різниця між сумою ван-дер-ваальсівських радіусів Бонді водню та атома акцептора та відстанню між ними, А; ^j Значення електронної густини в критичній точці (3,-1), а.о.; ^k Значення латасіану електронної густини в критичній точці (3,-1), а.о.; ^l Еліптичність Н-зв'язку; ^m Енергія Н-зв'язку, розрахована методом ЕМЛ; ⁿ Комплексний показник міцності Н-зв'язку Грабовського; ^o Відношення сумарної енергії всіх Н-зв'язків у парі до енергії стабілізації пари.

Таблиця 2
Енергетичні, геометричні та електронно-топологічні характеристики пар нуклеотидних основ та внутрішньомолекулярних взаємодій, що їх стабілізують, на рівні теорії ВЗЛУР/6-31G(d,p)

Пара основ	ΔG	E_{BSSE}	BSSE	D	H-зв'язок	$d_{A...B}$	$d_{H...B}$	AH...B	Δd_{AH}	$\Delta_{H...Y}$	ρ	$\Delta\rho$	$100^* \varepsilon$	E	Δ_{com}	$\sum_{i=1}^3 \frac{E_i}{E_{BSSE}}$
AT H	0,00	-12,81	4,16	5,90	N6H...O4	2,977	1,968	170,0	0,012	0,75	0,024	0,067	1,52	5,74	0,047	1,27
					N3H...N7	2,816	1,773	174,4	0,033	0,98	0,045	0,103	4,69	9,52	0,148	
					C8H...O2	3,441	2,742	122,1	0,000	-0,022	0,006	0,021	14,99	0,98	0,032	
AT WC	1,04	-12,30	4,37	1,56	N6H...O4	2,938	1,919	174,6	0,015	0,80	0,028	0,076	2,08	6,31	0,059	1,33
					N3H...N1	2,846	1,797	180,0	0,036	0,95	0,043	0,095	5,25	9,13	0,161	
					C2H...O2	3,632	2,803	132,9	0,000	-0,08	0,005	0,018	8,79	0,86	0,028	
A*Г*	13,14	-37,72	5,12	0,39	O4H...N6	2,543	1,442	175,2	0,131	1,31	0,103	0,008	3,99	33,72	0,670	1,24
					N1H...N3	2,749	1,698	172,3	0,044	1,05	0,055	0,112	5,07	12,50	0,200	
					C2H...O2	3,643	2,892	126,4	0,000	-0,17	0,004	0,016	20,68	0,67	0,041	
AC*	0,00	-13,01	3,78	2,93	N6H...N4	2,965	1,939	173,9	0,023	0,81	0,031	0,074	5,88	6,35	0,094	1,24
					N3H...N1	2,858	1,811	178,4	0,035	0,94	0,042	0,093	5,34	8,66	0,154	
					C2H...O2	3,566	2,725	133,8	0,000	-0,005	0,006	0,021	6,86	1,07	0,029	
A*С	4,19	-20,27	3,91	3,74	N4H...N6	2,880	1,836	176,1	0,036	0,91	0,039	0,088	5,80	7,99	0,159	0,91
					N1H...N3	2,834	1,790	179,3	0,031	0,96	0,044	0,099	5,59	9,27	0,135	
					C2H...O2	3,530	2,703	132,6	0,000	0,02	0,006	0,022	7,98	1,13	0,040	

Примітка: ^a Відносна вільна енергія Гіббса пари за нормальних умов, ккал/моль; ^b Енергія взаємодії між основами в парі з урахуванням похибки суперпозиції базисного набору (BSSE); ^c Похибка суперпозиції базисного набору; ^d Дипольні моменти (дебай); ^e Відстань між атомами донором (A) та акцептором (B) H-зв'язку, Å; ^f Відстань між атомами H і B, Å; ^g Кут H-зв'язку, град; ^h Подовження хімічного зв'язку АН при H-зв'язуванні, Å; ⁱ Різниця між сумою ван-дер-ваальсівських радіусів Бонді водню та атома акцептора та відстанню між ними, Å; ^j Значення електронної густини в критичній точці (3,-1), а.о.; ^k Значення латласіану електронної густини в критичній точці (3,-1), а.о.; ^l Еліптичність H-зв'язку; ^m Енергія H-зв'язку, розрахована методом ЕМЛ; ⁿ Комплексний показник міцності H-зв'язку Грабовського; ^o Відношення сумарної енергії всіх H-зв'язків у парі до енергії стабілізації пари.

Таблиця 3

Маллікенівські заряди (в одиницях $|e|$) атомів донора, водню та акцептора, отримані на рівнях теорії DFT B3LYP/6-31G(d,p) і MP2/6-31G(d,p) відповідно

Пара/Н-зв'язок	DFT B3LYP	MP2
АТН		
N6H...O4	-0,660; 0,320; -0,533	-0,703; 0,348; -0,507
N3H...N7	-0,635; 0,353; -0,600	-0,709; 0,395; -0,502
C8H...O2	0,306; 0,157; -0,524	0,280; 0,187; -0,505
АТWC		
N6H...O4	-0,665; 0,322; -0,541	-0,804; 0,391; -0,673
N3H...N1	-0,635; 0,350; -0,605	-0,893; 0,456; -0,817
C2H...O2	0,248; 0,130; -0,511	0,376; 0,198; -0,636
А*Т*		
O4H...N6	-0,574; 0,425; -0,735	-0,710; 0,523; -0,888
N1H...N3	-0,599; 0,369; -0,657	-0,834; 0,481; -0,883
C2H...O2	0,288; 0,157; -0,542	0,424; 0,221; -0,667
АС*		
N6H...N4	-0,668; 0,332; -0,635	-0,818; 0,411; -0,658
N3H...N1	0,634; 0,358; -0,602	-0,880; 0,466; -0,816
C2H...O2	0,245; 0,129; -0,514	0,375; 0,198; -0,642
А*С		
N4H...N6	-0,651; 0,350; -0,685	-0,800; 0,440; -0,818
N1H...N3	-0,592; 0,353; -0,645	-0,831; 0,469; -0,872
C2H...O2	0,284; 0,154; -0,537	0,420; 0,223; -0,668

вань зростають при Н-зв'язуванні як у випадку традиційних, так і неklasичних зв'язків. Спостереження за співвідношенням інтенсивностей неполюційних мод I_{op}/I_{op0} не дозволяє, на відміну від валентних коливань, достеменно стверджувати про існування якоїсь стійкої закономірності.

Аналіз усіх Н-зв'язків у парах основ з канонічними й рідкісними таутомерами за додатковими «двомолекулярними» критеріями Коха та Попельє засвідчив, що класичні Н-зв'язки задовольняють необхідні вимоги (табл. 5).

Деяко інша ситуація складається з нетрадиційними Н-зв'язками СН...О. Як видно з таблиць 1 і 2, геометричні критерії не дають можливості однозначно підтвердити їхнє існування. Так, кути $\angle AN...B$ лежать у діапазоні значень $121,0 \div 134,9^\circ$, відстані між воднем та ймовірним акцептором Н-зв'язування наближаються до суми ван-дер-ваальсівських радіусів Бонді й у деяких випадках навіть її перевищують (параметр $\Delta_{H...B}$ у табл. 1, 2), довжини хімічних зв'язків потенційних груп-донорів СН майже не змінюються. Аналіз розподілу маллікенівських зарядів на атомах дає цікавий результат (табл. 3): на обох рівнях теорії (DFT

та MP2) у всіх групах СН, які є потенційними донорами Н-зв'язків, атом вуглецю несе на собі більший позитивний заряд, ніж водень. Не проливає світла на проблему і спектрально-коливальний аналіз (табл. 4): частоти валентних коливань незначно (на $10 \div 16 \text{ см}^{-1}$) зміщуються в синю область, а інтенсивності спадають (за винятком зв'язку C8H...O2 в парі АТН). При цьому значення частот неполюційних мод збільшуються, як і для класичних зв'язків.

Отже, у цій ситуації топологічний аналіз електронної густини за Бейдером видається майже безальтернативним підходом. Дослідження хвильових функцій на рівнях теорії MP2 та DFT B3LYP дало змогу встановити в усіх без винятку парах наявність критичної точки (3,-1) та градієнтного шляху між воднем і потенційним атомом-акцептором Н-зв'язку. Уже це є необхідною та достатньою умовою наявності зв'язку (взаємодії), характерного для систем із закритими електронними оболонками (closed-shell interactions). Але чи можна його вважати водневим? Спираючись на метод ЕМЛ, ми провели оцінку енергій цих взаємодій у парах (табл. 1): вони змінюються від 0,79 ккал/моль у парі А*Т* до 1,33 ккал/моль у парі АТН і, та-

Спектрально-коливальні характеристики Н-зв'язків у парах нуклеотидних основ за участі канонічних та рідкісних таутомерів, отримані на рівні теорії B3LYP/6-31G(d,p)

Пара основ	Н-зв'язок	Δv_{str}	I_{str}/I_{0str}	$\frac{v_{op}}{v_0^0}$	I_{op}/I_{op0}	ΔH_{freq}	ΔH_{intens}	$\frac{\sum_{i=1}^3 \Delta H_{freq}^i}{E_{BSSE}}$
АТН	N6H...O4	210	13,1	1,5	0,3	4,30	10,57	0,94
	N3H...N7	592	34,8	1,5	1,0	7,75	17,23	
	C8H...O2	-10	3,6	1,03	2,7	-	5,77	
АТWC	N6H...O4	258	14,4	1,5	8,0	4,87	11,08	1,05
	N3H...N1	638	37,8	1,5	0,9	8,07	17,95	
	C2H...O2	-13	0,14	1,03	5,6	-	-	
А*Т*	O4H...N6	1876	4,1	2,0	6,1	14,14	5,91	0,95
	N1H...N3	766	45,7	1,5	0,6	8,89	19,74	
	C2H...O2	-16	0,04	1,04	11,7	-	-	
АС*	N6H...N4	403	24,8	1,5	31,7	6,29	14,5	1,09
	N3H...N1	617	32,0	1,5	0,7	7,93	16,52	
	C2H...O2	-12	0,13	1,03	1,2	-	-	
А*С	N4H...N6	619	38,10	1,7	8,1	7,94	18,02	0,76
	N1H...N3	554	37,4	1,6	3,0	7,48	17,86	
	C2H...O2	-11	0,32	1,07	2,4	-	-	

Примітка: Δv_{str} — зсув частоти валентного коливання $\nu(\text{OH})$, $\nu(\text{NH})$ або $\nu(\text{CH})$ відносно мономера, см^{-1} . Як мономери брали вільні нуклеотидні основи з планарними аміногрупами, оптимізовані на рівні теорії DFT B3LYP/6-31G(d,p); I_{str}/I_{0str} — відношення інтенсивностей стичного валентного коливання за наявності та відсутності Н-зв'язку; $\frac{v_{op}}{v_0^0}$ — відношення частот непоштинного характерного коливання групи OH, NH або CH; I_{op}/I_{op0} — відношення інтенсивностей непоштинного коливання; ΔH_{freq} та ΔH_{intens} — ентальпії Н-зв'язків за Йогансеном, встановлені на основі зсувів частот і відношень інтенсивностей валентних коливань відповідно. $\frac{\sum_{i=1}^3 \Delta H_{freq}^i}{E_{BSSE}}$ — співвідношення між сумарними енергіями Н-зв'язків та взаємодії основ у парі. Усі частоти коливань множились на масштабний множник 0,9608.

ким чином, перевищують значення кТ (0,62 ккал/моль) за нормальних умов. Що ж стосується еліптичностей у критичній точці, то вони теж є характерними для стійких Н-зв'язків цього типу. Тестування взаємодій СН...О за двомолекулярними критеріями Коха та Попельє остаточно підтвердило, що всі вони є Н-зв'язками, бо задовольняють основну умову, яка передбачає взаємну проникність атомів водню та акцептора (тобто збільшення їхніх атомних радіусів). Інші фізичні характеристики атомів водню ($q(\text{H})$, $M(\text{H})$, $\nu(\text{H})$, $E(\text{H})$) теж змінюються в необхідному напрямку.

Отже, QТАІМ однозначно підтверджує утворення водневих зв'язків СН...О в досліджених парах нуклеотидних основ. На нашу думку, їх можна віднести до категорії blue-shifting Н-зв'язків. Цей термін вказує на те, що їхнє утворення супроводжується зсувом

частоти валентного коливання в синю область (blue-shift). Відомо, що всі Н-зв'язки АН...В перебувають під впливом двох протилежних факторів: 1) електронна афінність атома А є причиною накопичення електронної густини в районі зв'язку А-Н у присутності акцептора В, що сприяє скороченню зв'язку А-Н; 2) притягання між позитивно зарядженим воднем Н та акцептором В є причиною подовження А-Н. У випадку традиційних Н-зв'язків з полярними групами А-Н (А=О, N) останній фактор завжди переважає. Що ж стосується Н-зв'язків з неполярними групами С-Н, то в їхній поведінці перший фактор може відігравати вирішальну роль. Інколи два чинники урівноважують один одного. Як наслідок, ця теорія пояснює і наявність червоного або синього зсуву (чи його відсутність) в ІЧ-спектрах та зміни інтенсивності відповідних валентних коливань. На на-

Таблиця 5

Аналіз Н-зв'язків у парях нуклеотидних основ за «двомолекулярними» критеріями Коха та Потелє. Наведені значення фізичних параметрів атомів водню, залучених у Н-зв'язування, а також їхні зміни в порівнянні з вільними мономерами. Геометрії та хвильові функції розраховувалися на рівні теорії MP2/6-31G(d,p). Взаємодія C2H...O2 в парі АТ WC, крім наближення MP2/6-31G(d,p)-1, додатково досліджували на рівнях теорії MP2/6-311G(2df,pd)-2 та ВЗЛур/6-31G(d,p)-3

Пара	Н-зв'язок АН...В	q(H)	Δq	M(H)	-ΔM	v(H)	-Δv	E(H)	-E(H)	ΔE	r(H)	r(B)	Δr(H)	Δr(B)
АТ WC	N6H...O4	0,515	0,088	0,132	0,043	18,3	10,4	0,394	0,054		1,31	2,40	1,22	0,90
	N3H...N1	0,547	0,085	0,119	0,048	14,8	12,2	0,366	0,061		1,10	2,29	1,42	1,23
		1	0,100	0,059	0,138	0,003	43,6	4,0	0,595	0,028		2,11	3,07	0,43
АТ Н	C2H...O2	0,129	0,014	0,159	0,022	43,9	2,2	0,563	0,009		1,93	2,98	0,59	0,42
	2	0,075	0,039	0,125	0,008	44,9	2,6	0,605	0,018		2,15	3,10	0,39	0,20
	3	0,517	0,085	0,137	0,034	19,0	9,1	0,392	0,056		1,35	2,44	1,18	0,96
А*Т*	N6H...O4	0,541	0,079	0,115	0,052	14,8	12,2	0,372	0,055		1,08	2,26	1,44	1,26
	N3H...N7	0,103	0,030	0,120	0,014	43,1	3,8	0,589	0,013		2,05	2,99	0,48	0,41
	О4Н...N6	0,651	0,044	0,083	0,068	9,8	10,1	0,297	0,053		0,86	2,06	1,64	1,46
А*С	N1H...N3	0,543	0,094	0,112	0,059	13,9	13,9	0,374	0,061		1,06	2,23	1,46	1,29
	C2H...O2	0,119	0,071	0,139	0,007	43,9	3,5	0,585	0,035		2,24	3,19	0,3	0,21
	N4H...N6	0,481	0,068	0,143	0,035	19,8	9,2	0,417	0,040		1,17	2,38	1,35	1,14
АС*	N1H...N3	0,552	0,116	0,126	0,048	15,6	12,7	0,361	0,082		1,10	2,28	1,43	1,24
	C2H...O2	0,540	0,091	0,117	0,054	14,5	13,3	0,379	0,056		2,02	2,98	0,52	0,42
	N6H...N4	0,095	0,047	0,120	0,012	43,2	4,2	0,598	0,021		1,27	2,48	1,25	1,04
АС*	N3H...N1	0,523	0,096	0,133	0,042	17,7	11,0	0,384	0,064		1,11	2,31	1,42	1,21
	C2H...O2	0,538	0,078	0,119	0,047	15,1	11,8	0,372	0,057		2,03	2,98	0,51	0,42

Примітка: q(H) — атомний заряд, M(H) — дипольна поляризація, v(H) — атомний об'єм, E(H) — енергія атому, r(H) і r(B) — радіуси водню та атома акцептора при Н-зв'язуванні, Δr(H) і Δr(B) — зміни цих величин у порівнянні з вільними мономерами. Усі характеристики вказано в атомних одиницях.

шу думку, наявність зміщення в синю область може також зумовлюватися впливом сусідніх Н-зв'язків у комплексі, які спричиняють перерозподіл електронної густини в гетероциклічному кільці.

Нарешті відзначимо, що проблема надійного експериментального встановлення Н-зв'язків СН...О у парах основ ДНК, зокрема методами ЯМР та кристалографії, досі залишається відкритою і чекає на своє вирішення.

Висновки. Уперше на рівнях теорії MP2/6-31G(d,p) та DFT B3LYP/6-31G(d,p) детально досліджено фізико-хімічні характеристики Н-зв'язків у парах нуклеотидних основ за участі канонічних і рідкісних таутомерів. Топологічний аналіз електронної густини дозволив дати однозначну відповідь на питання, чи

є взаємодії СН...О в парах основ ДНК справжніми Н-зв'язками. На відміну від інших взаємодій, зокрема електростатичних, у всіх випадках спостерігається взаємна проникність водню та атома-акцептора, що однозначно вказує на формування Н-зв'язків. Встановлено, що енергії Н-зв'язків СН...О лежать в інтервалі 0,79-1,33 ккал/моль, перевищуючи таким чином значення кТ за нормальних умов.

Автор висловлює щире вдячність члену-кореспонденту НАН України Д.М. Говоруну за увагу до роботи, а також корпорації «Gaussian» (США) за наданий програмний пакет Gaussian 03 для платформи Win 32.

Надійшла в редакцію 15.09.2010 р.

Do СН...О hydrogen bonds really stabilize DNA base pairs? Results of quantum chemical analysis

Ye.P. Yurenko

Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine
150 Zabolotnoho Str., Kyiv, 03680, Ukraine

Summary. We have performed a comprehensive geometrical, vibrational and electron topological analysis of hydrogen bonds in DNA base pairs involving canonical and rare tautomers. Quantum chemical calculations at the MP2/6-31G(d,p) and DFT B3LYP/6-31G(d,p) levels of theory allowed to establish that СН...О contacts are real hydrogen bonds, whose strengths are close to 1 kcal/mol, i.e. exceed кТ value at the room temperature.

Keywords: hydrogen bonds, tautomers, DNA base pairs, topological analysis of electron density.

Перелік літератури

1. *Зенгер В.* Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. — Москва: Мир, 1987. — 584 с.
2. *Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж.* Молекулярная биология клетки. — Москва: Мир, 1994. — Т. 1. — 520 с.
3. *Crick F.H.C.* Codon-anticodon pairing: the wobble hypothesis // *J. Mol. Biol.* — 1966. — Vol. 19. — P. 548-555.
4. *Leonard G.A., McAuley-Hecht K., Brown T., Hunter W.N.* Do СН...О hydrogen bonds contribute to the stability of nucleic acid base pairs? // *Acta Cryst. D.* — 1995. — Vol. 51. — P. 136-139.
5. *Starikov E.B., Steiner T.* Computational support for the suggested contribution of C-H...O=C interactions to the stability of nucleic acid base pairs // *Acta Cryst. D.* — 1997. — Vol. 53. — P. 345-347.
6. *Mandel-Gutfreund Y., Margalit H., Jernigan R.L., Zhurkin V.B.* A role for СН...О interactions in protein-DNA recognition // *J. Mol. Biol.* — 1998. — Vol. 277. — P. 1129-1140.
7. *Parthasarathi R., Amutha R., Subramanian V., Nair B.U., Ramasami T.* Bader's and reactivity descriptors' analysis of DNA base pairs // *J. Phys. Chem. A.* — 2004. — Vol. 108. — P. 3817-3828.
8. *Hobza P., Sponer J., Cubero E., Orozco M., Luque F.J.* СН...О contacts in the adenine...uracil Watson-Crick and uracil...uracil nucleic acid base pairs: nonempirical ab initio study with inclusion of electron correlation effects // *J. Phys. Chem. B.* — 2000. — Vol. 104. — P. 6286-6292.
9. *Hobza P., Havlas Z.* Blue-shifting hydrogen bonds // *Chem. Rev.* — 2000. — Vol. 100. — P. 4253-4264.
10. *Koch U., Popelier P.L.A.* Characterization of C-H...O hydrogen bonds on the basis of the charge density // *J. Phys. Chem.* — 1995. — Vol. 99. — P. 9747-9754.
11. *Watson J.D., Crick F.H.C.* The structure of DNA // *Cold Spring Harbor Symposia on Quant. Biol.* — 1953. — Vol. 18. — P. 123.
12. *Броварець О.О., Говорун Д.М.* Фізико-хімічний механізм перетворення зміщених пар основ ДНК Gua^{*}Thy і Ade-Cyt у пари за участі мутагенних таутомерів Gua^{*}Thy і Ade-Cyt^{*} // *Ukr. Bioorg. Acta.* — 2009. — № 2. — С. 12-18.
13. *Hoogsteen K.* The crystal and molecular structure of a hydrogen-bonded complex between 1-methylthymine and 9-methyladenine // *Acta. Cryst.* — 1963. — Vol. 16. — P. 907-916.
14. *Бейдер Р.* Атомы в молекулах. Квантовая теория. — Москва: Мир, 2001. — 532 с.
15. *Grabowski S.J.* A new measure of hydrogen bonding strength -ab initio and atoms in molecules studies // *Chem. Phys. Lett.* — 2001. — Vol. 338. — P. 361-366.