

# Новий фізико-хімічний механізм перетворення вотсон-криківської пари основ ДНК Ade·Thy в пари за участі мутагенних таутомерів Ade\*·Thy і Ade·Thy\*

О.О. Броварець<sup>1,2\*</sup>, Д.М. Говорун<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup> Інститут високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
просп. Академіка Глушкова, 2, корп. 5, Київ, 03127, Україна

<sup>2</sup> Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна

**Резюме.** Квантово-хімічним дослідженням на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) виявлено новий фізико-хімічний механізм перетворення вотсон-криківської пари основ Ade·Thy в пари за участі мутагенних таутомерів (позначено зірочками) Ade\*·Thy і Ade·Thy\* через спільний плоскосиметричний перехідний стан з енергією активації Гіббса 17,38 ккал/моль — іонну пару Ade<sup>+</sup>·Thy<sup>-</sup>, охоплену чотирма Н-зв'язками N6H...O4, N6H...N3<sup>-</sup>, N1<sup>+</sup>H...N3<sup>-</sup> і N1<sup>+</sup>H...O2. Стійкі пари Ade\*·Thy і Ade·Thy\* мають прийнятні відносні енергії Гіббса та дисоціації (9,94 та 12,43 ккал/моль і 6,06 та 1,61 ккал/моль за стандартних умов відповідно) для пояснення походження спонтанних точкових помилок реплікації ДНК.

**Ключові слова:** спонтанні точкові помилки реплікації ДНК, транзиції, мутагенні таутомери основ ДНК, неправильні пари основ ДНК, перехідний стан, міжмолекулярні водневі зв'язки, аналіз топології електронної густини, DFT.

**Вступ.** Неодноразові спроби пояснити походження спонтанних точкових помилок реплікації ДНК, а саме транзицій, із залученням механізму Льовдіна [1, 2], натикаються на труднощі принципового характеру. Вони пов'язані з тим, що процес перетворення пари Ade·Thy в пару Ade\*·Thy\* за участі мутагенних [3-12] таутомерів (позначені зірочками) не має зворотного бар'єра активації Гіббса [13-15]. Це спонукає дослідників шукати нові механізми [16] спонтанної таутомеризації пари Ade·Thy.

У цій праці вперше виявлено новий фізико-хімічний механізм спонтанного перетворення вотсон-криківської пари основ Ade·Thy в пари за участі мутагенних таутомерів Ade\*·Thy і Ade·Thy\* через спільний плоскосиметричний перехідний стан з енергією активації

17,38 ккал/моль — іонну пару Ade<sup>+</sup>·Thy<sup>-</sup>, стабілізовану чотирма Н-зв'язками N6H...O4, N6H...N3<sup>-</sup>, N1<sup>+</sup>H...N3<sup>-</sup> і N1<sup>+</sup>H...O2. Уперше показано, що пари Ade\*·Thy і Ade·Thy\* є стійкими з достатнім бар'єром зворотного переходу і мають прийнятні відносні енергії Гіббса та дисоціації (9,94 і 12,43 ккал/моль та 6,06 і 1,61 ккал/моль за стандартних умов відповідно) для пояснення походження спонтанних точкових помилок реплікації ДНК.

**Об'єкт, предмет і методи дослідження.** Об'єктами дослідження слугували вотсон-криківська пара основ ДНК Ade·Thy, пари за участі мутагенних таутомерів, зокрема пари основ ДНК Ade\*·Thy, Ade·Thy\* і льовдінівська пара Ade\*·Thy\*, а також перехідні стани їхнього взаємного перетворення перенесенням протона. Предмет дослідження — фізико-хімічний механізм взаємоперетворення пар основ ДНК Ade·Thy, Ade\*·Thy, Ade·Thy\* і Ade\*·Thy\* перенесенням протона.

\* Corresponding author.

Tel.: +38068-8148504

E-mail address: brovarets@list.ru

© О.О. Броварець, Д.М. Говорун, 2010

Квантово-механічні розрахунки геометричної та електронної будови досліджуваних об'єктів проведено на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++G(d,p) у вакуумному наближенні, яке для цієї задачі є адекватним [17, 18]. При цьому перехідні стани перетворення пар основ ДНК ідентифікували методом STQN [19, 20]. Усі зоптимізовані структури перевірено на стійкість за відсутністю уявних частот у їхніх коливальних спектрах, які розраховували в гармонійному наближенні. Енергію взаємодії у парах основ визначали на рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-311++G(d,p) з урахуванням так званої BSSE-поправки на базисний набір функцій [21]. Усі квантово-механічні розрахунки проведено із використанням програмного пакета «GAUSSIAN03» [22].

Розподіл електронної густини в досліджуваних парах основ та перехідних станах їхнього взаємного перетворення аналізували, використовуючи теорію Бейдера «Атомів у молекулах» (AIM) [23] і хвильові функції, отримані на рівні теорії B3LYP/6-311++G(d,p). Н-зв'язки [24] встановлювали за наявністю критичної точки зв'язку (3, -1) між двома валентно не зв'язаними атомами. Топологію електронної густини аналізували за допомогою програмного пакету AIM2000 [25], використовуючи стандартні опції. При цьому енергію Н-зв'язків за участі групи C2H Ade як донора протона визначали за формулою, запропонованою авторами роботи [26]:  $E_{\text{HB}}=0,5 \cdot V(r)$ , де  $V(r)$  — значення локальної потенціальної енергії в критичній точці Н-зв'язку.

Енергію класичних Н-зв'язків розраховували за формулою  $(E_{\text{HB}})^2=1,92 \cdot [(\Delta v)-40]$ , отриманою в роботі [27] (збережено авторські позначення [27]).

Константи швидкості для прямої ( $\text{Ade} \cdot \text{Thy} \rightarrow \text{Ade} \cdot \text{Thy}^* / \text{Ade}^* \cdot \text{Thy}$ ) та зворотної ( $\text{Ade} \cdot \text{Thy}^* / \text{Ade}^* \cdot \text{Thy} \rightarrow \text{Ade} \cdot \text{Thy}$ ) таутомеризації визначали за формулою:

$$k = \Gamma \cdot \frac{k_B T}{h} e^{-\frac{\Delta G}{RT}} \quad [28],$$

де  $\Gamma = 1 + \frac{1}{24} \left( \frac{h \nu_i}{k_B T} \right)^2$  — множник Вігнера, що враховує тунелювання (позначення ті ж самі, що і в роботі [28]). Середній час життя  $\tau$  та час напівжиття  $\tau_{1/2}$  обчислювали як  $\tau = 1/k$  і  $\tau_{1/2} = \tau \ln 2$  [29].

**Результати та їхнє обговорення.** Наріжним каменем роботи є ідея про те, що вотсон-криківська пара основ ДНК Ade·Thy може спонтанно, тобто в процесі теплових флуктуацій, перетворюватися за рахунок перенесення протона в пари за участі мутагенних таутомерів Ade\*·Thy і Ade·Thy\*. При цьому джерелом помилок реплікації, зокрема транзицій, є наступна дисоціація останніх на мономери, один із яких є мутагенним і помилково, тобто не за правилом комплементарності Вотсона-Крика, спарюється з основою вхідного нуклеозидтрифосфату при ензиматичному синтезі ДНК. В основі цієї ідеї лежать такі закономірності. По-перше, пари основ ДНК за участі рідкісних таутомерів Ade\*·Thy і Ade·Thy\* квазіізоморфні зміщеним (воблівським) парам Gua·Thy та Ade·Cyt і подібно до того, як останні перетворюються перенесенням протона в пари Gua\*·Thy і Ade·Cyt\*, квазіізоморфні вотсон-криківським парам основ [30], теж можуть перетворюватися за аналогічним механізмом у пару Ade·Thy. По-друге, перехідні стани внутрішньомолекулярної таутомеризації Thy — перетворення канонічної таутомерної форми останнього в енольні, одна з яких є мутагенною, зокрема міграції протона при атомі N3 на атоми O4 або O2 з енергією активації Гіббса 39,09 і 43,86 ккал/моль за стандартних умов відповідно, комплементарні Ade, у результаті чого можна очікувати значного зменшення енергії активації таутомеризації Thy в складі пари Ade·Thy. Іншими словами, є підстави сподіватися на каталізацію аденіном внутрішньомолекулярної таутомеризації тиміну у вотсон-криківській парі основ Ade·Thy з утворенням вищезгаданої пари Ade·Thy\*(O4) та пари Ade·Thy\*(O2) (за участю рідкісних енольних форм Thy, у яких мобільний протон приєднаний до атома O4 чи O2 відповідно) (рис. 1). При цьому остання може переходити в низькоенергетичнішу пару Ade\*·Thy перенесенням протонів уздовж міжмoleкулярних Н-зв'язків.

Ретельним аналізом гіперповерхні потенціальної (електронної) енергії нам уперше вдалося показати, що вотсон-криківська пара основ ДНК Ade·Thy може перетворюватися перенесенням протона в пари основ за участі мутагенних/рідкісних таутомерів Ade\*·Thy і

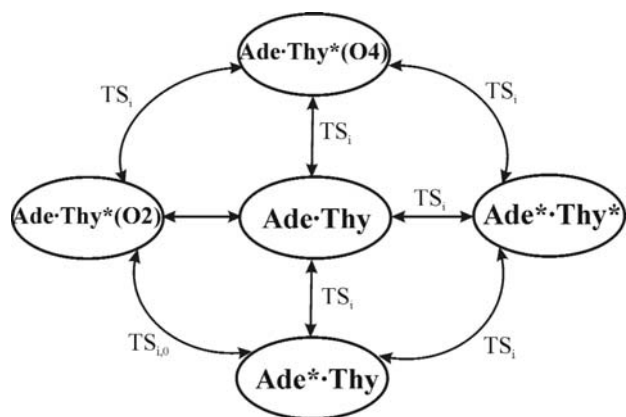


Рис. 1. Схематичне представлення формального взаємного перетворення перенесенням протона вотсон-криківської пари основ ДНК Ade·Thy в пари за участі мутагенних/рідкісних таутомерів основ та взаємного перетворення останніх через спільний перехідний стан  $TS_i$  ( $i=1-6$ ).

Ade·Thy\*(O4)/Ade·Thy\*(O2) (рис. 2), а останні — взаємоперетворюватися в той же спосіб через спільний перехідний стан (рис. 1). Усього виявлено шість перехідних станів (рис. 3, табл. 1): два низькоенергетичні та чотири високоенергетичні з енергіями активації Гіббса 17,38 і 20,75 ккал/моль та 27,33; 28,09; 41,55 і 59,84 ккал/моль за стандартних умов відповідно.

Низькоенергетичні перехідні стани є плоскосиметричними (група симетрії  $C_s$ ) іонними парами  $Ade^+ \cdot Thy^-$ , охопленими Н-зв'язками (рис. 3, табл. 1). Перехідний стан  $TS_1$  із найменшою енергією активації Гіббса 17,38 ккал/моль стабілізується чотирма Н-зв'язками (тут і нижче в дужках подано їхні енергії в ккал/моль)  $N6H \dots O4$  (2,82),  $N6H \dots N3$  (3,24),  $N1^+H \dots N3^-$  (2,55) і  $N1^+H \dots O2$  (4,56), два з яких біфуркують на спільний атом-акцептор  $N3^-$ . Наступний низькоенергетичний перехідний стан  $TS_2$  з енергією активації Гіббса 20,75 ккал/моль стабілізується трьома Н-зв'язками, один із яких є  $C2H \dots N3^-$  (1,60), а два інших —  $N1^+H \dots O4$  (13,32) і  $N6H \dots O4$  (4,01) — біфуркують на спільний атом-акцептор  $O4$  Thy. На відміну від низькоенергетичних, високоенергетичні перехідні стани  $TS_3$ ,  $TS_4$ ,  $TS_5$  і  $TS_6$  з енергіями активації Гіббса 27,33; 28,09; 41,55 і 59,84 ккал/моль відповідно суттєво неплосинні. Перший із них — перехідний стан  $TS_3$  — це іонна пара  $Ade^+ \cdot Thy^-$  (Ade протонований по аміногрупі за

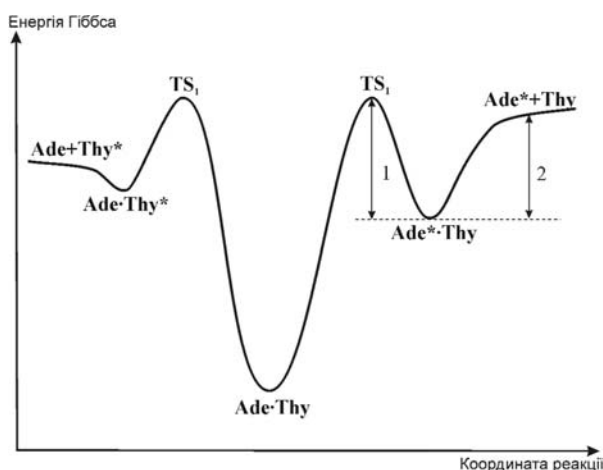


Рис. 2. Перехід вотсон-криківської пари основ ДНК Ade·Thy в пари за участі мутагенних таутомерів  $Ade^* \cdot Thy$  і  $Ade \cdot Thy^*$  з наступною їхньою дисоціацією на мономери. Позначення: 1 — енергія активації Гіббса зворотного переходу; 2 — енергія дисоціації, яка практично збігається з енергією взаємодії Гіббса  $G_{int}$  (див. також табл. 2, 3).

рахунок депротонування іміногрупи  $N3H$  Thy), яка стабілізується двома Н-зв'язками  $N6^+HN \dots N3^-$  (29,06) і  $N6^+HO \dots O4$  (40,07). Другий — перехідний стан  $TS_4$  — є парою мутагенних таутомерів  $Ade^* \cdot Thy^*$ , яка має структуру, суттєво відмінну від Льовднівської [1, 2], і стабілізується Н-зв'язком  $N1H \dots O2$  (6,38) та ван-дер-ваальсівським притягувальним контактом  $N6 \dots N3$  (0,47). Наступний перехідний стан  $TS_5$  являє собою іонну пару  $Ade^- \cdot Thy^+$  (Thy протонований по атому  $O4$  за рахунок депротонування аміногрупи  $NH_2$  Ade) та стабілізується двома Н-зв'язками  $O4^+H \dots N1$  (8,90) і  $N3H \dots N1$  (32,26), які мають спільний акцептор — атом  $N1$  Ade. Причому, аналогічно до геометричної конфігурації перехідного стану  $TS_3$ , у перехідному стані  $TS_5$  Thy розташовується в площині, ортогональній площині пуринового кільця Ade. Перехідний стан  $TS_6$  теж є суттєво неплосинним. Для цього високоенергетичного маршруту його стабілізація практично відсутня і таутомеризація Ade відбувається незалежно від піримідинового партнера по взаємодії: у результаті відносна енергія перехідного стану (59,84 ккал/моль) помітно перевищує енергію внутрішньомолекулярної таутомеризації Ade (45,65 ккал/моль). Зрозуміло, що перехідні стани  $TS_3$ ,  $TS_4$ ,  $TS_5$  і  $TS_6$  представляють лише теоретичний інтерес, оскільки вони ма-

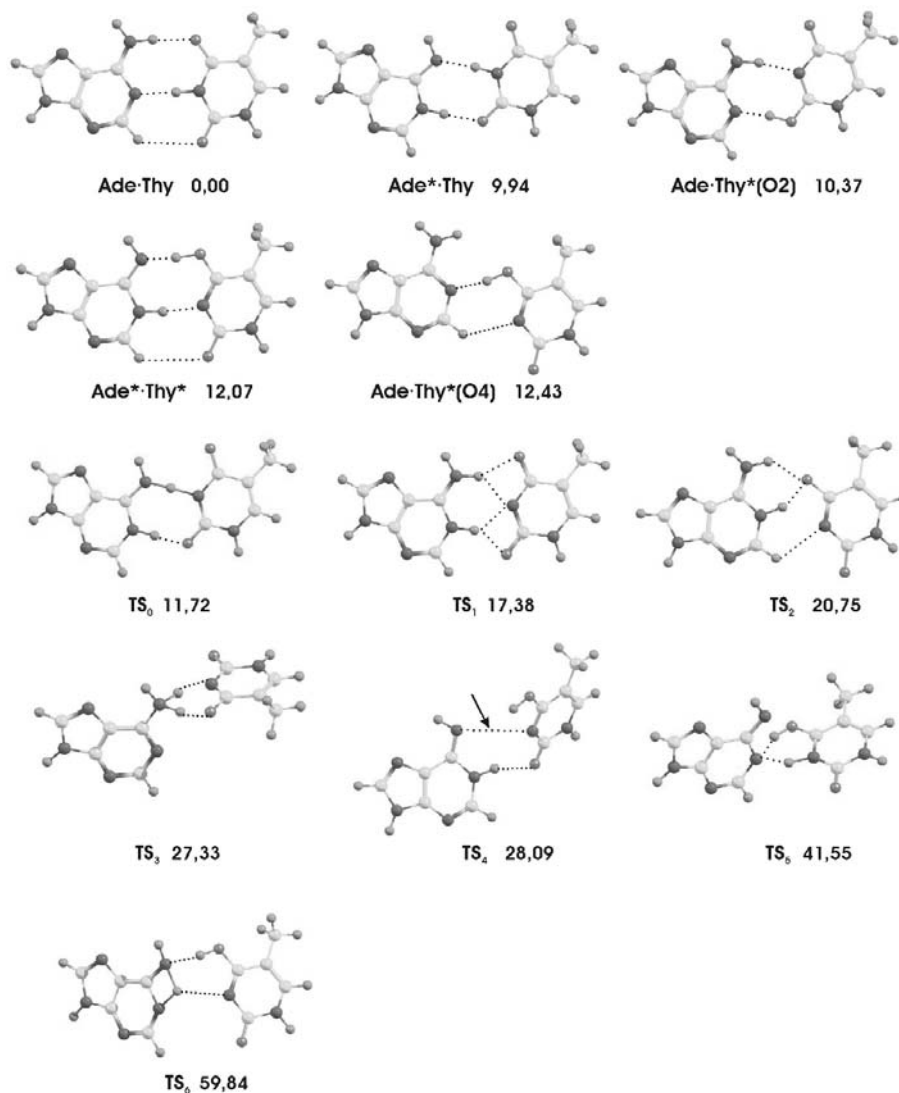


Рис. 3. Геометрична будова досліджуваних комплексів і перехідних станів їхнього взаємного перетворення (розрахунок на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p)). Стрілкою позначено притягувальний ван-дер-ваальсівський контакт, у всіх інших випадках пунктиром — Н-зв'язки. Біля кожної структури вказано її відносну енергію Гіббса в ккал/моль за стандартних умов (див. також табл. 1-3).

ють надто високу енергію активації Гіббса і до того ж не інкорпуються в структуру ДНК через свою суттєву неплоскостність і неізоморфність вотсон-криківським парам основ.

Із двох низькоенергетичних перехідних станів TS<sub>1</sub> і TS<sub>2</sub> біологічне значення має перший із них, оскільки він характеризується мінімальною енергією активації Гіббса (17,38 ккал/моль). Саме через нього відбуваються взаємоперетворення пар основ (рис. 1, табл. 1-3), які обговорюються в цій праці. Привертає до себе увагу той факт, що у всіх структурах, зображених на рис. 3, орієнтація метильної групи Thy відносно піримідинового кільця основи залишається незмінною.

Рисунок 1 потребує додаткових коментарів.

По-перше, треба мати на увазі, що льовднівська пара основ мутагенних таутомерів Ade\*·Thy\* є нестійкою структурою з характерним часом життя 10<sup>-13</sup> с [14, 15], що безбар'єрно в процесі нормальних коливань перетворюється у вотсон-криківську пару основ ДНК Ade·Thy [14, 31]. Тому зображений на рис. 1 перехід Ade·Thy ⇌ Ade\*·Thy\* є, по суті, інтерконверсією пари Ade·Thy, тобто перетворенням самої в себе. Окрім того, взаємне перетворення пар Ade·Thy\*(O2) ⇌ Ade\*·Thy відбувається двома шляхами: на додаток до зображеного на рис. 1 існує інший формальний маршрут — через перехідний стан TS<sub>0</sub> з відносною енергією 11,72 ккал/моль. Проте пара Ade·Thy\*(O2) є нестійкою з причини невеликого зворотного

Таблиця 1

Електронно-топологічні, геометричні, спектрально-коливальні й енергетичні характеристики міжмолекулярних водневих зв'язків у досліджених парах основ ДНК за участі Ade, Thy та їхніх мутагенних таутомерів і перехідних станів TS їхнього взаємного перетворення (див. також рис. 3)

Комплекси	H-зв'язок AH...B	$\rho$ , ат.од.	$\Delta\rho$ , ат.од.	$100 \cdot \varepsilon$	$d_{A...B}$ , Å	$d_{H...B}$ , Å	$\angle AH...B$ , град	$\Delta d_{AH}$ , Å	$-\Delta\nu$ , см <sup>-1</sup>	$E_{HB}$ , ккал/моль
Ade·Thy	N6H...O4	0,026	0,093	4,39	2,946	1,926	173,5	0,014	240,8	4,68
	N3H...N1	0,040	0,093	6,49	2,886	1,841	178,8	0,032	572,7	7,62
	C2H...O2	0,004	0,014	3,40	3,975	2,890	132,3	0,00022	-4,9	0,74
Ade*·Thy	N3H...N6	0,042	0,095	6,21	2,858	1,806	173,3	0,039	674,2	8,31
	N1H...O6	0,034	0,115	4,40	2,845	1,814	177,0	0,018	316,7	5,49
Ade·Thy*(O2)	N6H...N3	0,034	0,088	1,71	2,944	1,915	167,1	0,020	391,9	6,19
	O2H...N1	0,071	0,081	0,86	2,644	1,608	171,9	0,067	1239,6	11,43
Ade*·Thy*	O4H...N6	0,087	0,065	4,56	2,578	1,506	174,8	0,102	1721,1	13,53
	N1H...N3	0,045	0,101	6,24	2,825	1,780	171,1	0,034	594,5	7,77
	C2H...O2	0,003	0,012	16,42	4,098	3,013	125,1	-0,00041	-13,1	0,57
Ade·Thy*(O4)	O4H...N1	0,055	0,100	5,18	2,707	1,693	171,4	0,044	855,6	9,42
	C2H...N3	0,009	0,026	0,79	3,699	2,614	129,0	-0,00056	-19,5	1,41
TS <sub>0</sub>	N1H...O2	0,058	0,141	4,11	2,677	1,616	179,2	–	–	17,81
TS <sub>1</sub>	N6H...O4	0,020	0,065	16,30	3,102	2,070	153,2	0,024	377,5	2,82
	N6H...N3 <sup>-</sup>	0,023	0,075	0,89	3,097	2,064	140,7	0,024	377,5	3,24
	N1 <sup>+</sup> H...N3 <sup>-</sup>	0,022	0,075	53,95	3,136	2,090	139,6	0,032	503,7	2,55
	N1 <sup>+</sup> H...O2	0,034	0,101	4,19	2,893	1,847	150,4	0,032	503,7	4,56
TS <sub>2</sub>	N6H...O4	0,023	0,097	6,47	2,974	1,953	140,6	0,012	188,0	4,01
	N1 <sup>+</sup> H...O4	0,055	0,128	0,19	2,723	1,656	153,6	0,053	1668,9	13,32
	C2H...N3 <sup>-</sup>	0,009	0,030	57,50	3,751	2,665	113,5	0,002	-28,1	1,60
TS <sub>3</sub>	N6 <sup>+</sup> H...O4	0,112	0,078	2,62	2,552	1,380	155,5	0,146	–	40,07*
	N6 <sup>+</sup> H...N3 <sup>-</sup>	0,092	0,051	1,34	2,656	1,504	146,4	0,125	–	29,06*
TS <sub>4</sub>	N6...N3	0,003	0,009	1,56	–	–	–	–	–	0,47**
	N1H...O2	0,026	0,091	4,76	2,952	1,927	163,7	0,012	414,1	6,38
TS <sub>5</sub>	O4 <sup>+</sup> H...N1	0,045	0,092	10,15	2,802	1,792	154,7	0,041	766,6	8,90
	N3H...N1	0,100	0,026	5,90	2,630	1,470	158,1	0,144	–	32,26*
TS <sub>6</sub>	O4H...N6	0,036	0,090	6,00	2,838	1,844	173,2	0,024	1003,5	10,24
	N1/N6H...N3	0,010	0,029	97,20	–	–	–	–	–	1,66*

Примітка:  $\rho$  і  $\Delta\rho$  – значення електронної густини і лапласіану електронної густини в критичній точці відповідно;  $\varepsilon$  – еліптичність;  $d_{A...B}$ ,  $d_{H...B}$  – відстань між атомами A і B та H і B відповідно, які беруть участь у H-зв'язку;  $\angle AH...B$  – кут H-зв'язування;  $\Delta d_{AH}$  – подовження хімічного зв'язку AH при утворенні H-зв'язку AH...B;  $-\Delta\nu$  – зсув частоти валентного коливання  $\nu(AH)$  при втягуванні групи AH у H-зв'язок;  $E_{HB}$  – енергія H-зв'язку, розрахована за методом Йогансена [27]. Енергію біфуркативних H-зв'язків і зв'язків, позначених зірочкою (\*), розраховували за формулою [26]; \*\* – притягувальний ван-дер-ваальсівський контакт.

бар'єра таутомеризації (1,35 ккал/моль або 472,2 см<sup>-1</sup>), під яким не вміщається навіть нульовий коливальний рівень компетентного коливання (3254,6 см<sup>-1</sup>), частота якого стає уявною (864,4і см<sup>-1</sup>) у перехідному стані TS<sub>0</sub>.

Насамкінець, щоб довести фізичну адекватність запропонованого нами механізму таутомеризації пари Ade·Thy, потрібно дати відповідь на два принципових запитання: на-

скільки органічно пари Ade\*·Thy і Ade·Thy\* інкорпуються в структуру подвійної спіралі ДНК, і чи суттєво не перевищує як електронна, так і енергія Гіббса взаємодії основ у них аналогічну величину в парі Ade·Thy з тим, аби не ускладнювати процес їхньої дисоціації порівняно з парою Ade·Thy. Перше питання знімається, оскільки пари Ade\*·Thy і Ade·Thy\* є квазіізоморфними зміщеним парам Gua·Thy і

Таблиця 2

Енергетичні характеристики (у ккал/моль за стандартних умов) досліджених пар основ ДНК за участі Ade, Thy та їхніх мутагенних/рідкісних таутомерів і перехідних станів їхнього взаємного перетворення

Комплекси	$\Delta G$	$\sum E_{\text{НВ}}$	$-\Delta E_{\text{int}}$	$-\frac{\sum E_{\text{НВ}}}{\Delta E_{\text{int}}}, \%$	$-\Delta G_{\text{int}}$
Ade·Thy	0,00	13,03	14,92	87,3	1,43
Ade*·Thy	9,94	13,80	18,10	76,3	6,06
Ade·Thy*(O2)	10,37	17,62	24,75	71,2	11,20
Ade*·Thy*	12,07	21,87	33,80	64,7	22,19
Ade·Thy*(O4)	12,43	10,83	13,44	80,6	1,61
TS <sub>1</sub>	17,39	13,17	123,44	10,7	109,36
TS <sub>2</sub>	20,75	14,83	121,09	12,3	107,85
TS <sub>3</sub>	27,33	69,13	147,99	46,7	137,32
TS <sub>4</sub>	28,09	4,69	10,39	45,2	0,95
TS <sub>5</sub>	41,55	41,15	137,95	29,8	126,73
TS <sub>6</sub>	59,84	8,68	-10,23	-0,9	-0,30

Примітки:  $\sum E_{\text{НВ}}$  — сумарна енергія міжмолекулярних Н-зв'язків;  $-\Delta E_{\text{int}}$  — електронна енергія взаємодії основ у парах;  $-\Delta G_{\text{int}}$  — енергія Гіббса взаємодії основ у парах;  $\Delta G$  — відносна енергія Гіббса.

Ade·Cyt, які вписуються в структуру подвійної спіралі ДНК без значних структурних перешкод [32, 33], а отже, і на них поширюється ця властивість. Результати розрахунків (табл. 2) знімають друге запитання, оскільки електронна енергія взаємодії в парі Ade·Thy становить 14,92 ккал/моль, а в парах Ade\*·Thy і Ade·Thy\* — 18,10 і 13,44 ккал/моль відповідно. Для порівняння зазначимо, що електронна енергія

взаємодії мутагенних таутомерів основ у льовднівській парі Ade\*·Thy\* (21,87 ккал/моль) значно перевищує аналогічну величину для пари Ade·Thy (13,03 ккал/моль), ускладнюючи її дисоціацію на її складові мономери — Ade\* і Thy\*.

Таким чином, виявлений нами механізм спонтанної таутомеризації вотсон-кріківської пари основ ДНК Ade·Thy має вирішальні

Таблиця 3

Основні кінетичні характеристики взаємоперетворення досліджуваних пар основ ДНК

Перехід	$\Delta \Delta G$ , ккал/моль	$k$ , с <sup>-1</sup>	$\tau$ , с	$\tau_{1/2}$ , с	$\Delta G^*$ , ккал/моль	K
Ade·Thy → Ade*·Thy*	17,39	1,10	0,91	0,63	12,07	$1,41 \cdot 10^{-9}$
Ade·Thy ← Ade*·Thy*	5,32	$7,77 \cdot 10^8$	$1,29 \cdot 10^{-9}$	$8,92 \cdot 10^{-10}$	-12,07	$7,08 \cdot 10^8$
Ade·Thy → Ade·Thy*	17,39	1,10	0,91	0,63	12,43	$7,65 \cdot 10^{-10}$
Ade·Thy ← Ade·Thy*	4,96	$1,43 \cdot 10^9$	$6,97 \cdot 10^{-10}$	$4,83 \cdot 10^{-10}$	-12,43	$1,31 \cdot 10^9$
Ade·Thy → Ade*·Thy	17,39	1,10	0,91	0,63	9,94	$5,12 \cdot 10^{-8}$
Ade·Thy ← Ade*·Thy	7,45	$2,14 \cdot 10^7$	$4,67 \cdot 10^{-8}$	$3,23 \cdot 10^{-8}$	-9,94	$1,95 \cdot 10^7$
Ade·Thy* → Ade*·Thy*	4,96	$1,43 \cdot 10^9$	$6,97 \cdot 10^{-10}$	$4,83 \cdot 10^{-10}$	-0,36	1,85
Ade·Thy* ← Ade*·Thy*	5,32	$7,77 \cdot 10^8$	$1,29 \cdot 10^{-9}$	$8,92 \cdot 10^{-10}$	0,36	0,54
Ade*·Thy → Ade*·Thy*	7,45	$2,14 \cdot 10^7$	$4,67 \cdot 10^{-8}$	$3,23 \cdot 10^{-8}$	2,13	$2,76 \cdot 10^{-2}$
Ade*·Thy ← Ade*·Thy*	5,32	$7,77 \cdot 10^8$	$1,29 \cdot 10^{-9}$	$8,92 \cdot 10^{-10}$	-2,13	36,26
Ade·Thy* → Ade*·Thy	4,96	$1,43 \cdot 10^9$	$6,97 \cdot 10^{-10}$	$4,83 \cdot 10^{-10}$	-2,49	66,95
Ade·Thy* ← Ade*·Thy	7,45	$2,14 \cdot 10^7$	$4,67 \cdot 10^{-8}$	$3,23 \cdot 10^{-8}$	2,49	$1,49 \cdot 10^{-2}$

Примітки:  $\Delta \Delta G$  — енергія активації Гіббса переходу;  $k$  — константа швидкості;  $\Delta G^*$  — енергія таутомеризації Гіббса; K — стала таутомерної рівноваги.

переваги над класичним механізмом Льовдіна [1, 2]: стійкі пари за участі мутагенних таутомерів Ade<sup>\*</sup>Thy і Ade<sup>\*</sup>Thy\* (табл. 2) мають вищу енергію активації Гіббса зворотного переходу в пару Ade<sup>\*</sup>Thy (7,45 і 4,96 ккал/моль відповідно), аніж енергія Гіббса дисоціації їх на мономери (6,06 та 1,61 ккал/моль відповідно) (рис. 2).

**Висновки.** Квантово-хімічним методом на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) виявлено новий фізико-хімічний механізм перетворення вотсон-криківської пари основ ДНК Ade<sup>\*</sup>Thy в пари за участі

мутагенних таутомерів Ade<sup>\*</sup>Thy і Ade<sup>\*</sup>Thy\* через спільний плоскосиметричний перехідний стан з енергією активації Гіббса 17,38 ккал/моль — іонну пару Ade<sup>\*</sup>Thy, що стабілізується чотирма Н-зв'язками N6H...O4, N6H...N3<sup>-</sup>, N1<sup>+</sup>H...N3<sup>-</sup> і N1<sup>+</sup>H...O2. Стійкі пари Ade<sup>\*</sup>Thy та Ade<sup>\*</sup>Thy\* мають прийнятні відносні енергії Гіббса й дисоціації (9,94 і 12,43 ккал/моль та 6,06 і 1,61 ккал/моль за стандартних умов відповідно) для пояснення походження спонтанних точкових помилок реплікації ДНК.

Надійшла в редакцію 24.12.2009 р.

**The novel physico-chemical mechanism of the Watson-Crick base pair Ade<sup>\*</sup>Thy transformation to the mispairs involving mutagenic tautomers Ade<sup>\*</sup>Thy and Ade<sup>\*</sup>Thy\***

O.O. Brovarets<sup>1,2</sup>, D.M. Hovorun<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup> Institute of High Technologies of Taras Shevchenko Kyiv National University  
2, Hlushkova Ave., Kyiv, 03187, Ukraine

<sup>2</sup> Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine  
150, Zabolotnoho Str., Kyiv, 03680, Ukraine

**Summary.** On the MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) level of theory it is established the new physico-chemical mechanism of the transformation of watson-crick base pair Ade<sup>\*</sup>Thy to the mispairs formed by the rare tautomers (designated by the asterisk) Ade<sup>\*</sup>Thy and Ade<sup>\*</sup>Thy\* through the same transition state as ion pair Ade<sup>\*</sup>Thy with the Gibbs energy of activation 17.38 kcal/mol which is stabilized by four hydrogen bonds N6H...O4, N6H...N3<sup>-</sup>, N1<sup>+</sup>H...N3<sup>-</sup> and N1<sup>+</sup>H...O2. Stable pairs Ade<sup>\*</sup>Thy and Ade<sup>\*</sup>Thy\* have acceptable relative Gibbs free energy and dissociation (9.94 and 12.43 kcal/mol and 6.06 and 1.61 kcal/mol accordingly) for the explanation of spontaneous point DNA replication errors arising.

**Keywords:** spontaneous point DNA replication errors, transitions, mutagenic tautomers of DNA bases, mispairs, transition state, intermolecular hydrogen bonds, analysis of the electron density topology, DFT.

**Перелік літератури**

1. Löwdin P.-O. Proton tunneling in DNA and its biological implications // Rev. Mod. Phys. — 1963. — Vol. 35, No. 3. — P. 724-732.
2. Löwdin P.-O. Quantum genetics and the aperiodic solid. Some aspects of the biological problems of heredity, mutations, aging and tumors in view of the quantum theory of the DNA molecule // Adv. Quant. Chem. — 1966. — Vol. 2. — P. 213-360.
3. Watson J.D., Crick F.H.C. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid // Nature. — 1953. — Vol. 171, No. 4361. — P. 964-967.
4. Topal M.D., Fresco J.R. Complementary base pairing and the origin of the substitution mutations // Nature. — 1976. — Vol. 263, No. 5575. — P. 285-289.
5. Topal M.D., Fresco J.R. Base pairing and fidelity in codon-anticodon interaction // Nature. — 1976. — Vol. 263, No. 5575. — P. 289-293.
6. Danilov V.I., Anisimov V.M., Kurita N., Hovorun D.M. MP2 and DFT studies of the DNA rare base pairs: the molecular mechanism of the spontaneous substitution mutations conditioned by tautomerism of bases // Chem. Phys. Letters. — 2005. — Vol. 412, No. 4-6. — P. 285-293.
7. Harris V.H., Smith C.L., Cummins W.J. et al. The effect of tautomeric constant on the specificity of nucle-

- otide incorporation during DNA replication: support for the rare tautomer hypothesis of substitution mutagenesis // J. Mol. Biol. — 2003. — Vol. 326, No. 5. — P. 1389-1401.
8. Morgan A.R. Base mismatches and mutagenesis: how important is tautomerism? // Trends Biochem. Sci. — 1993. — Vol. 18, No. 5. — P. 160-163.
9. Данилов В.И., Квенцель Г.Ф. Электронные представления в теории точечных мутаций. — К.: Наукова думка, 1971. — 82 с.
10. Person W.B., Szczepaniak K., Szczepaniak M., Kwiatkowski J.S., Czerminski R.J. Tautomerism of nucleic acid bases and the effect of molecular interactions on tautomeric equilibria // J. Mol. Struct. — 1989. — 194. — P. 239-258.
11. Podolyan Y., Gorb L., Leszczynski J. Ab initio study of the prototropic tautomerism of cytosine and guanine and their contribution to spontaneous point mutations // Int. J. Mol. Sci. — 2003. — 4. — P. 410-421.
12. Gorb L., Podolyan Y., Leszczynski J., Siebrand W., Fernandez-Ramos A., Smedarchina Z. A quantum-dynamics study of the prototropic tautomerism of guanine and its contribution to spontaneous point mutations in *Escherichia coli* // Biopolymers (Nuc. Acid. Sci.) — 2002. — 61. — P. 77-83.

13. Hroudá V., Florian J., Hobza P. Structure, energetics and harmonic vibrational spectra of the adenine-thymine and adenine<sup>\*</sup>-thymine<sup>\*</sup> base pairs: gradient nonempirical and semiempirical study // *J. Phys. Chem.* — 1993. — Vol. 97, No. 8. — P. 1542-1557.
14. Florian J., Hroudá V., Hobza P. Proton transfer in the adenine-thymine base pair // *J. Am. Chem. Soc.* — 1994. — Vol. 116, No. 4. — P. 1457-1460.
15. Florian J., Leszczynski J. Spontaneous DNA mutations induced by proton transfer in the guanine-cytosine base pairs: an energetic perspective // *J. Am. Chem. Soc.* — 1996. — Vol. 108, No. 12. — P. 3010-3017.
16. Kryachko E.S., Sabin J.R. Quantum chemical study of the hydrogen-bonded patterns in A·T base pair of DNA: origins of tautomeric mispairs, base flipping, and Watson-Crick Y Hoogsteen conversion // *Int. J. Quantum Chem.* — 2003. — 91. — P. 695-710.
17. Dewar M.J.S., Storch D.M. Alternative view of enzyme reactions // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1985. — Vol. 82. — P. 2225-2229.
18. Petrushka J., Sowers L.C., Goodman M.F. Comparison of nucleotide interactions in water, proteins, and vacuum: model for DNA polymerase fidelity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1986. — Vol. 83. — P. 1559-1562.
19. Peng C., Schlegel H.B. Combining synchronous transit and quasi-newton methods to find transition states // *Israel J. Chem.* — 1993. — Vol. 33, No. 4. — P. 449-454.
20. Peng C., Ayala P.Y., Schlegel H.B., Frisch M.J. Using redundant internal coordinates to optimize equilibrium geometries and transition states // *J. Comput. Chem.* — 1996. — Vol. 17, No. 1. — P. 49-56.
21. Boys S.F., Bernardi F. The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors // *Mol. Phys.* — 1970. — Vol. 19, No. 4. — P. 553-566.
22. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. et al. Gaussian 03, Revision C. 02 / Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
23. Bader R.W.F. Atoms in molecules. A quantum theory. — Oxford: Calendon Press, 1990. — 436 p.
24. Водородная связь / Ред. Соколов Н.Д., Чулановский В.М. — М.: Наука, 1964. — 340 с.
25. Biegler-Konig F., Schonbohm J., Bayles D. Software news and updates. AIM2000 — a program to analyze and visualize atoms in molecules // *J. Comput. Chem.* — 2001. — Vol. 22, No. 5. — P. 545-559.
26. Espinosa E., Molins E., Lecomte C. Hydrogen bond strengths revealed by topological analyses of experimentally observed electron densities // *Chem. Phys. Lett.* — 1998. — Vol. 285, No. 3-4. — P. 170-173.
27. Iogansen A.V. Direct proportionality on the hydrogen bonding energy and the intensification of the stretching  $\nu(\text{XH})$  vibration in infrared spectra // *Spectrochim. Acta. Part A.* — 1999. — Vol. 55, No. 7-8. — P. 1585-1612.
28. Morpurgo S., Bossa M., Morpurgo G.O. Ab initio study of intramolecular proton transfer reactions in cytosine // *Chem. Phys. Lett.* — 1997. — Vol. 280, No. 3-4. — P. 233-238.
29. Маршелл Э. Биофизическая химия. Принципы, техника и приложения. — М.: Мир, 1981. — 358 p.
30. 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<sup>\*</sup>·Thy і Ade·Cyt<sup>\*</sup> // *Ukr. Bioorg. Acta.* — 2009. — Т. 8, № 2. — С. 12-18.
31. Gorb L., Podolyan Y., Dziekonski P., Sokalski W.A., Leszczynski J. Double-proton transfer in adenine-thymine and guanine-cytosine base pairs. A post-Hartree-Fock ab initio study // *J. Am. Chem. Soc.* — 2004. — Vol. 126, No. 32. — P. 10119-10129.
32. Долинная Н.Г., Громова Е.С. Комплементарные взаимодействия олигонуклеотидов // *Успехи химии.* — 1983. — Т. LII, Вып. 1. — С. 138-167.
33. Долинная Н.Г., Грязнова О.И. Комплексы олиго(поли)нуклеотидов со структурными аномалиями // *Успехи химии.* — 1989. — Т. LVIII, Вып. 8. — С. 1318-1353.