

УДК 577.3+544.141+544.572

БИОХИМИЯ

В. И. ДАНИЛОВ

О ПРИРОДЕ ГИПОХРОМНОГО ЭФФЕКТА В ДВУТЯЖЕВЫХ ПОЛИНУКЛЕОТИДАХ: РОЛЬ ВОДОРОДНЫХ СВЯЗЕЙ

(Представлено академиком А. С. Спириным 23 V 1975)

Хотя гипохромный эффект в полинуклеотидах был объяснен в работах (^{1, 2}), тем не менее вопрос о роли водородных связей (Н-связей) в гипохромизме первой полосы поглощения двутяжевых полинуклеотидов до последнего времени оставался невыясненным. Этот вопрос обсуждался в ряде экспериментальных работ (³⁻⁸), однако их авторы пришли к противоречивым выводам (более подробно см. (⁹)). Ни в одной из теоретических работ роль Н-связей специально не рассматривалась (¹⁰⁻¹²).

Нами (⁹) предложен подход, позволивший впервые получить для гипохромизма простейших гомополинуклеотидов количественное согласие теории с экспериментом, что сделало возможным определить вклад его составляющих, обусловленных внутри- и межтяжевыми взаимодействиями (¹³). Проведенные расчеты в рамках π -электронного приближения показали, что часть гипохромизма полинуклеотидов, которая обусловлена образованием Н-связей, мала. Однако при исследовании природы гипохромного эффекта в двутяжевых полинуклеотидах использование π -электронного приближения может оказаться недостаточным. Во-первых, при этом не учитывается в явном виде σ -остов, поляризующий π -электронную подсистему. Во-вторых, при учете влияния на гипохромизм далеких вакуумных π - π^* -переходов следовало бы учесть также (σ, π^*) -, (π, σ^*) - и (σ, σ^*) -состояния, так как часть из них лежит ниже (π, π^*) -состояний, на что указывает анализ типов возбужденных состояний в основаниях (¹⁴). В-третьих, использование π -электронного приближения не позволяет достаточно хорошо описать Н-связи.

В связи с этим мы вычислили гипохромизм пар А·Т и Г·С с помощью теории возмущений в дисперсионном приближении на основе характеристик оснований, рассчитанных методом CNDO/2, учитывающим все валентные электроны. При этом были учтены 112 однократно возбужденных конфигураций (см. (¹⁴)). Так же как и ранее, был использован подход (⁹) с наиболее корректной аппроксимацией матричных элементов оператора взаимодействия. Среди 112 возбужденных состояний основной вклад в гипохромизм первой полосы поглощения дают лишь (π, π^*) - и (σ, σ^*) -состояния, поскольку при учете (π, σ^*) - и (σ, π^*) -состояний матричный элемент оператора взаимодействия в дисперсионном приближении (формулы см. в (⁹)) становится равным нулю из-за симметрии орбиталей. Это позволяет значительно уменьшить число учитываемых возбужденных состояний в выражении для гипохромизма и упростить вычисления.

Результаты расчетов показали, что гипохромизм пары А·Т составляет 5%, а пары Г·С равен 3%. Видно, что, как и в прежних расчетах, выполненных в π -электронном приближении (⁹), гипохромизм, обусловленный образованием уотсон-криковских пар, мал. Однако, чтобы судить о роли Н-связей в возникновении гипохромного эффекта, необходимо вы-

числить гипохромизм двутяжевых полинуклеотидов. Для используемых нами мономерных функций эта задача технически сложна, поэтому при вычислении гипохромизма полинуклеотидов мы воспользовались приближением ближайших соседей, предложенным Печеной (¹⁵).

Согласно этому приближению, выражение для гипохромизма двутяжевого гомополинуклеотида $\text{poly}(X) \cdot \text{poly}(Y)$ имеет вид

$$H = \frac{N-1}{N} \cdot \frac{2(f_X H_{XpX} + f_Y H_{YpY})}{f_X + f_Y} + H_{XY} + \frac{N-1}{N} (H_{\uparrow X \downarrow Y} + H_{\uparrow Y \downarrow X}),$$

где N — число пар оснований, H_{XpX} , $H_{\uparrow X \downarrow Y}$ и $H_{X \cdot Y}$ — гипохромизм димеров, встречающихся в данном полимере, f_X — сумма сил осцилляторов электронных переходов, входящих в первую полосу поглощения мономера X .

Первое слагаемое этой формулы определяется внутритяжевыми взаимодействиями (H_1), второе — взаимодействиями оснований в парах за счет Н-связей (H_2), третье — перекрестными взаимодействиями (H_3). Видно, что гипохромизм, обусловленный образованием Н-связей, входит в общую величину гипохромизма полинуклеотида как аддитивная добавка.

Необходимые для вычисления силы осцилляторов оснований и величины гипохромизма димеров даны в табл. 1.

Используя данные табл. 1 и приведенную формулу, мы вычислили гипохромизм $\text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$ и $\text{poly}(\text{dG}) \cdot \text{poly}(\text{dC})$ и его отдельные составляющие для бесконечно длинного полимера (уже при $N=100$ полимер можно считать бесконечно длинным с точностью до 1%). Ниже приведены полученные результаты (в %):

	H	H_1	H_2	H_3
$\text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$	43	31	5	7
$\text{poly}(\text{dG}) \cdot \text{poly}(\text{dC})$	35	28	3	4

Рассчитанные величины гипохромизма находятся в хорошем согласии с экспериментальными данными, приведенными в (⁹, ¹³). Как видно из приведенных выше данных, главная роль в возникновении гипохромного эффекта принадлежит внутритяжевым взаимодействиям, вклад которых $H_1=72-80\%$. Гипохромизм, обусловленный образованием Н-связей, составляет лишь 9—12% общей величины гипохромизма полинуклеотида; однако эта цифра завышена, так как приближение ближайших соседей не учитывает некоторые внутритяжевые и перекрестные взаимодействия. Более важным, чем вклад Н-связей, является вклад в гипохромизм перекрестных взаимодействий $H_3=11-16\%$, на что мы уже обращали внимание раньше (⁹, ¹³). Впервые важность учета вклада перекрестных взаимодействий в гипохромизм ДНК была отмечена Спириним и др. (⁵).

Указанные выводы находятся в хорошем согласии с результатами, полученными в π -электронном приближении как при учете взаимодействий между всеми мономерами (⁹, ¹³), так и при использовании приближения ближайших соседей (¹⁵).

Таблица 1
Данные для вычисления гипохромизма гомополинуклеотидов в приближении ближайших соседей

Димер	H , %	Мономер	f_X
ApA	20	A	0,293
TrT	12	T	0,394
$\uparrow_A T \downarrow + \uparrow_A T \downarrow$	7		
A · T	5		
GpG	15	G	0,620
CpC	11	C	0,145
$\uparrow_G C \downarrow + \uparrow_G C \downarrow$	4		
G · C	3		

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ *I. Tinoco jr.*, J. Am. Chem. Soc., v. 82, № 18, 4785 (1960); v. 83, № 24, 5047 (1961).
- ² *W. Rhodes*, J. Am. Chem. Soc., v. 83, № 17, 3609 (1961). ³ *R. C. Warner*, J. Biol. Chem., v. 229, № 2, 711 (1957).
- ⁴ *А. С. Спири́н, Л. П. Га́врилова, А. Н. Бело́зерский*, Биохимия, т. 24, № 4, 600 (1959). ⁵ *G. J. Thomas jr., Y. Kuogoku*, J. Am. Chem. Soc., v. 89, № 16, 4170 (1967).
- ⁶ *Д. Шугар*, В кн.: Нуклеиновые кислоты, М., 1962, стр. 44.
- ⁷ *А. Микельсон*, Химия нуклеозидов и нуклеотидов, М., 1966, стр. 631. ⁸ *К. Смит, Ф. Хэннеуолт*, Молекулярная фотобиология, М., 1972, стр. 69.
- ⁹ *V. I. Danilov*, Studia biophysica, v. 46, № 2, 115 (1974).
- ¹⁰ *H. De Voe, I. Tinoco jr.*, J. Mol. Biol., v. 4, № 6, 518 (1962).
- ¹¹ *T. Miyata, S. Yomosa*, J. Phys. Soc. Japan, v. 27, № 3, 727 (1969).
- ¹² *E. Brown, E. S. Pysh*, J. Chem. Phys., v. 56, № 1, 31 (1972).
- ¹³ *V. I. Danilov*, FEBS Letters, v. 47, № 1, 155 (1974).
- ¹⁴ *Н. В. Желтовский, В. И. Данилов*, Препринт ИТФ-73-70Р, Киев, 1973; Биофизика, т. 19, № 5, 784 (1974).
- ¹⁵ *V. I. Pechenaya*, Preprint ИТФ-74-68Е, Киев, 1974.