

Строение нуклеиновых кислот

Лекция 11

Межнуклеотидные взаимодействия.

Взаимодействие оснований нуклеиновых кислот: копланарные, стопочные.

Конформации одноцепочечных полинуклеотидов. Регулярные структуры.

Двухцепочечные структуры полинуклеотидов. Двойная спираль. Степени свободы, спиральные параметры. Регулярные формы двойной спирали: A, B, Z. Структурные особенности. Условия существования различных форм.

Стабильность форм. Зависимость стабильности и детальной конформации двойной спирали от контекстного состава.

Конформационная подвижность ДНК.

Межнуклеотидные взаимодействия

Два основных типа взаимодействий оснований нуклеиновых кислот:

- копланарные - основания в одной плоскости
- стопочные - основания в параллельных плоскостях

Столочные взаимодействия –
ван дер ваальсовы взаимодействия

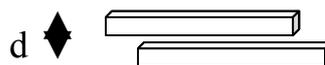
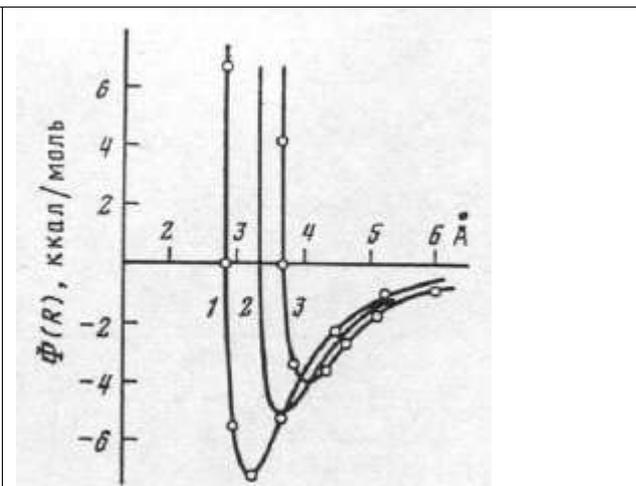


Таблица. Параметры столочных ван дер ваальсовых взаимодействий
Нуклеиновых оснований

основание	d min, Å	- ε, kcal/mol
A	3.25	7.2
G	3.25	7.5
T	3.35	5.9
U	3.30	5.1
C	3.25	5.4

Столочные взаимодействия не параллельных плоскостей оснований
быстро уменьшаются –

Рис. 11-1. Уменьшение энергии столочных взаимодействий оснований А/А в непараллельной стопке, угол $\delta=0$ (1), 20° (2), 30° (3)



Взаимодействия копланарных оснований

- значительное количество доноров и акцепторов водородной связи атомов оснований и рибозы допускает большое количество конфигураций пар оснований, взаимодействующих несколькими водородными связями

Номенклатура типов конфигураций взаимодействующих пар

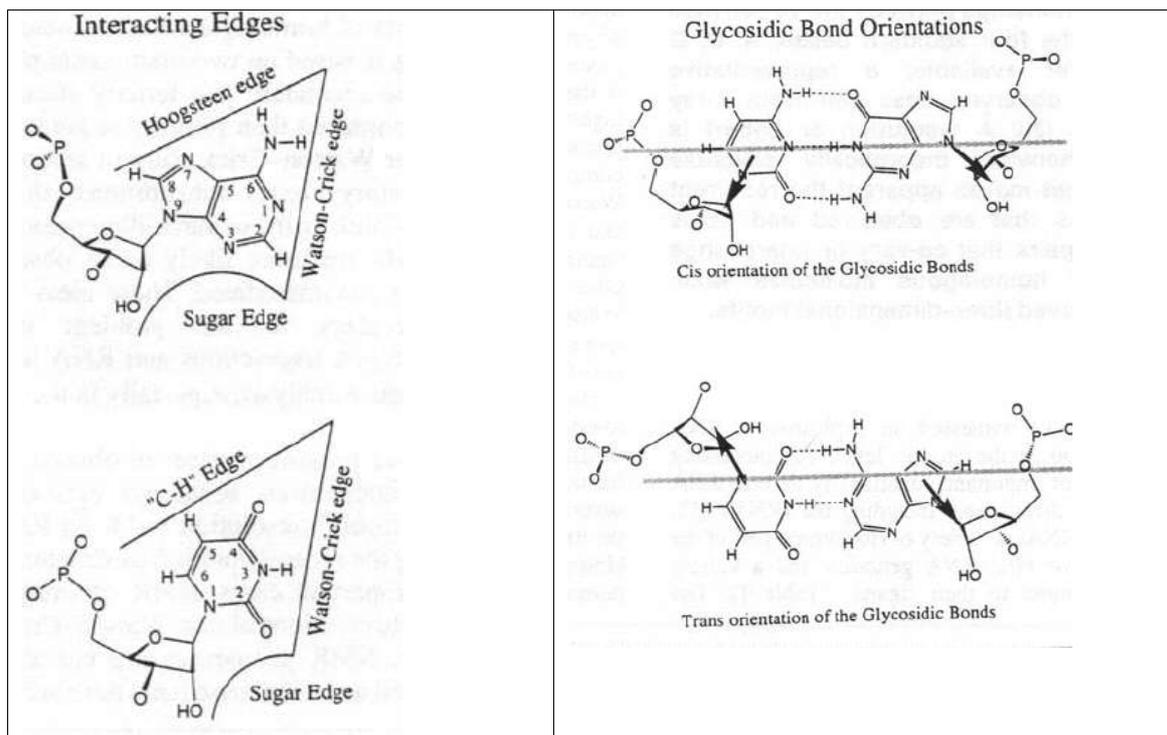


Рис.11-2.

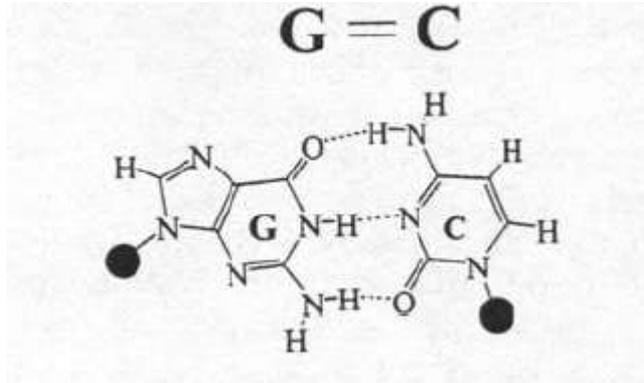
Максимальное количество конфигураций для пары оснований X-Y
 Гребни(X)*гребни(Y)*Ориентации Гликозидной связи(X-Y) =
 $3*3*2 = 18$

Максимальное количество конфигураций для всех возможных пар оснований (A,G,C,T) : $4*3* 18 = 216$

(N. B. Leontis et al. Nucl. Acid. Res. 2002, 30, n.16, 3497-3591)

Канонические пары оснований – комплиментарные пары

Cis/WC-WC



Cis/WC-WC

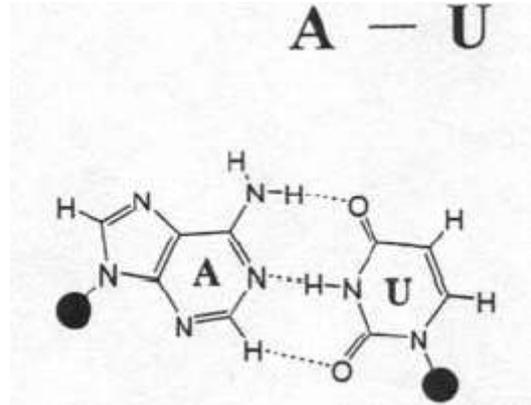


Рис. 11-3.

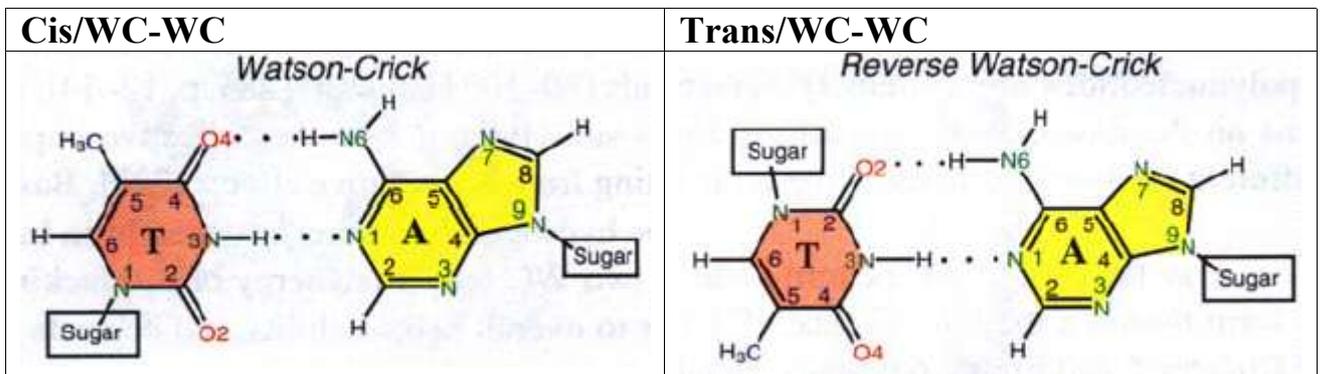
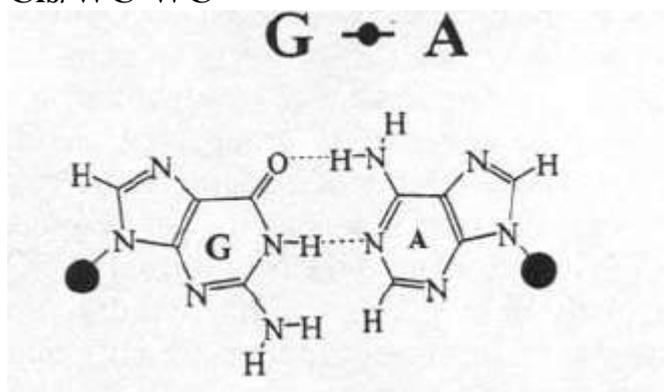


Рис. 11-4.

Энергия Н-связей:
WC(GC) > WC(AT) (AU)

Не канонические пары оснований

Cis/WC-WC



Cis/WC-WC

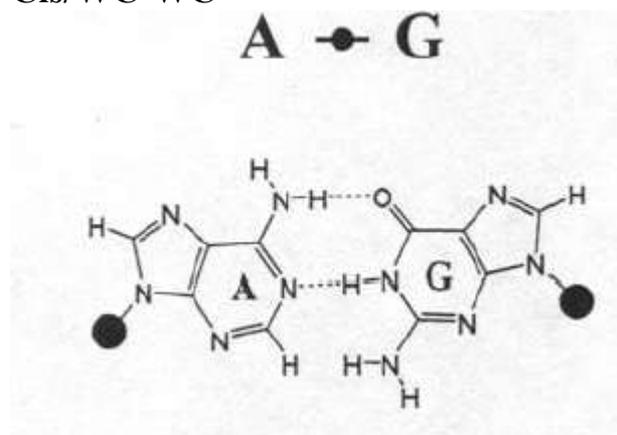


Рис. 11-5.

Примеры пар Cis/WC-HS

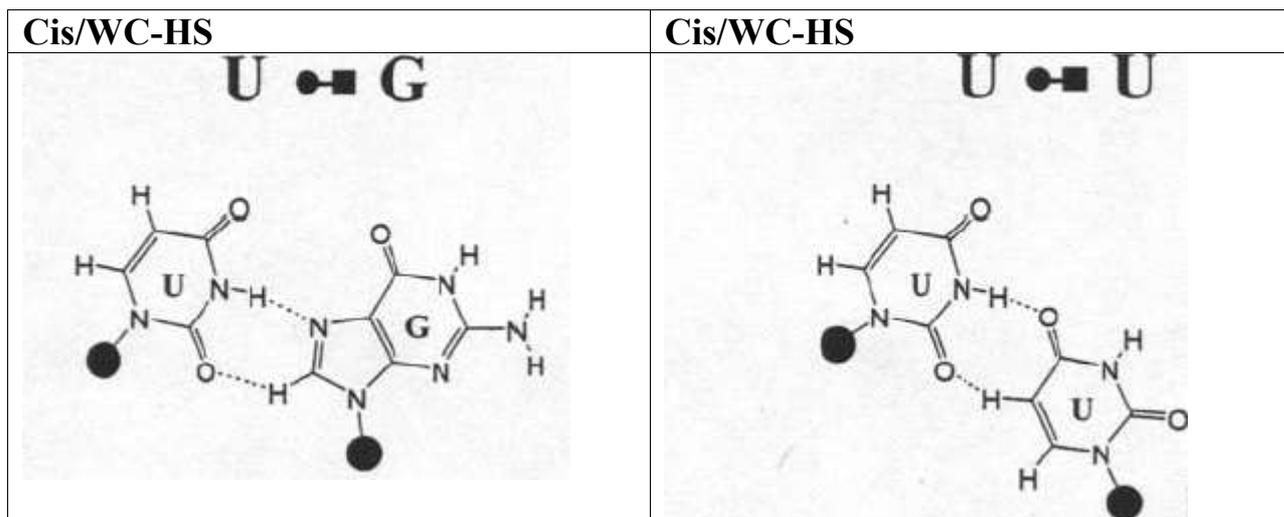


Рис. 11-6.

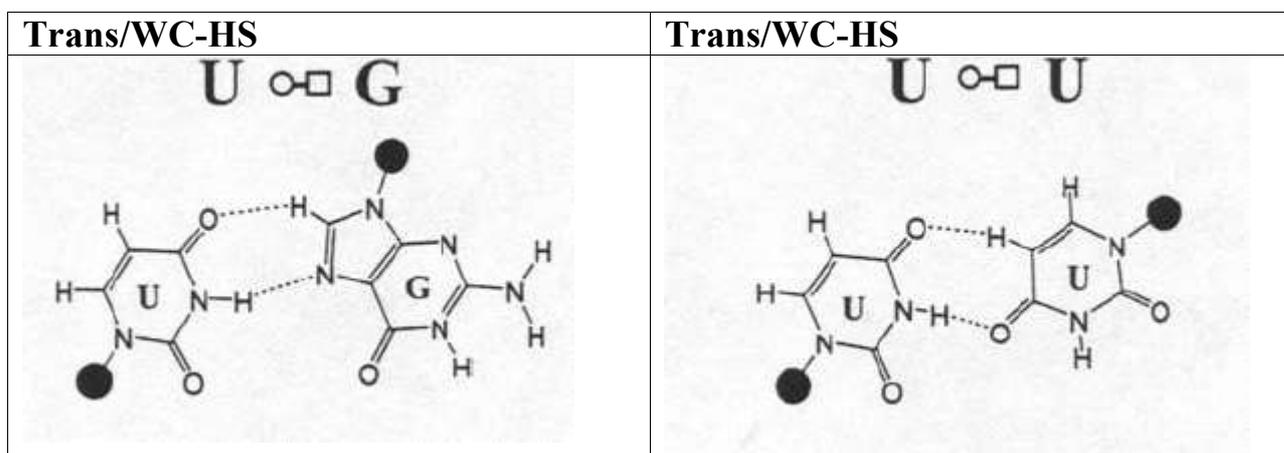


Рис. 11-7.

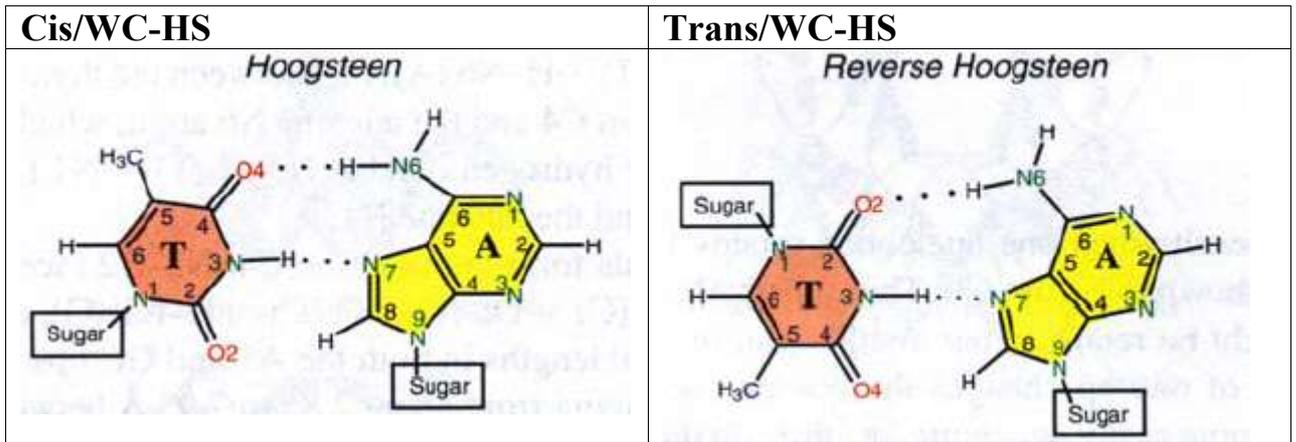


Рис. 11-8.

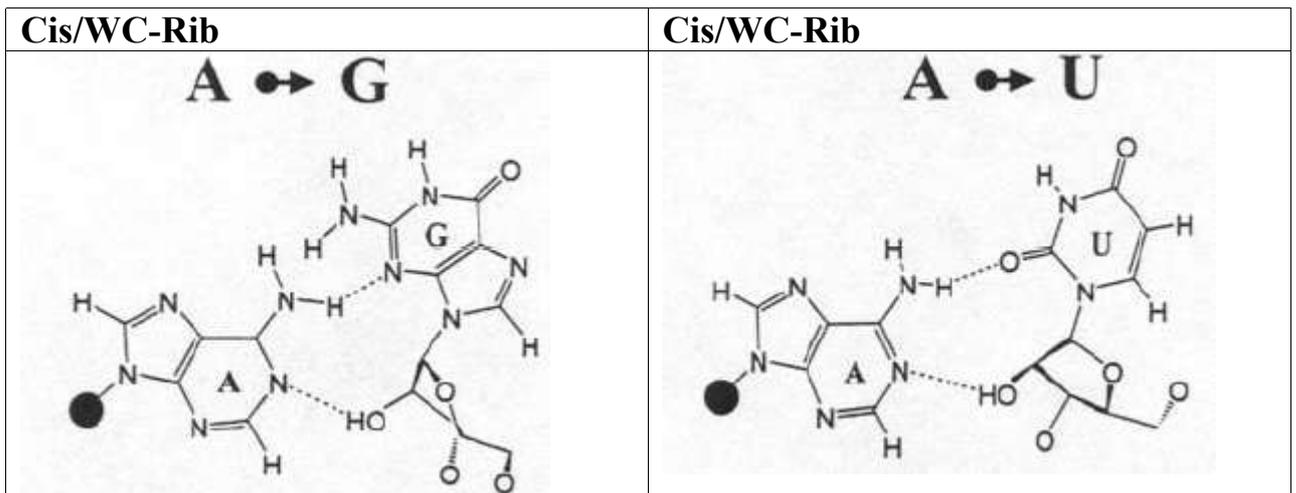


Рис. 11-9.

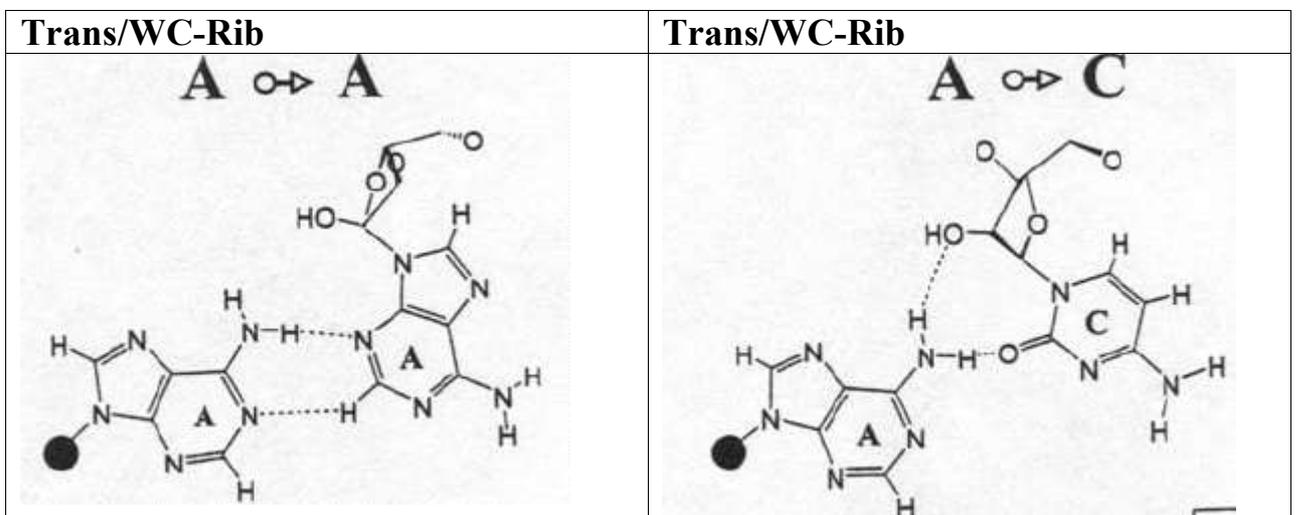


Рис. 11-10.

Энергии копланарных взаимодействий оснований

для 20 конфигураций пар, образующих две и более Н-связи варьируют:

-21.0 (GC) > -19.5 (GG) > -16.9 (AG) > -12.5 (AT) > ... > -4.4 (TC)

(Воробьев Ю.Н. 1984. Молекулярная биология т.18, в.4, 933-944)

Триплеты и квартеты копланарных оснований

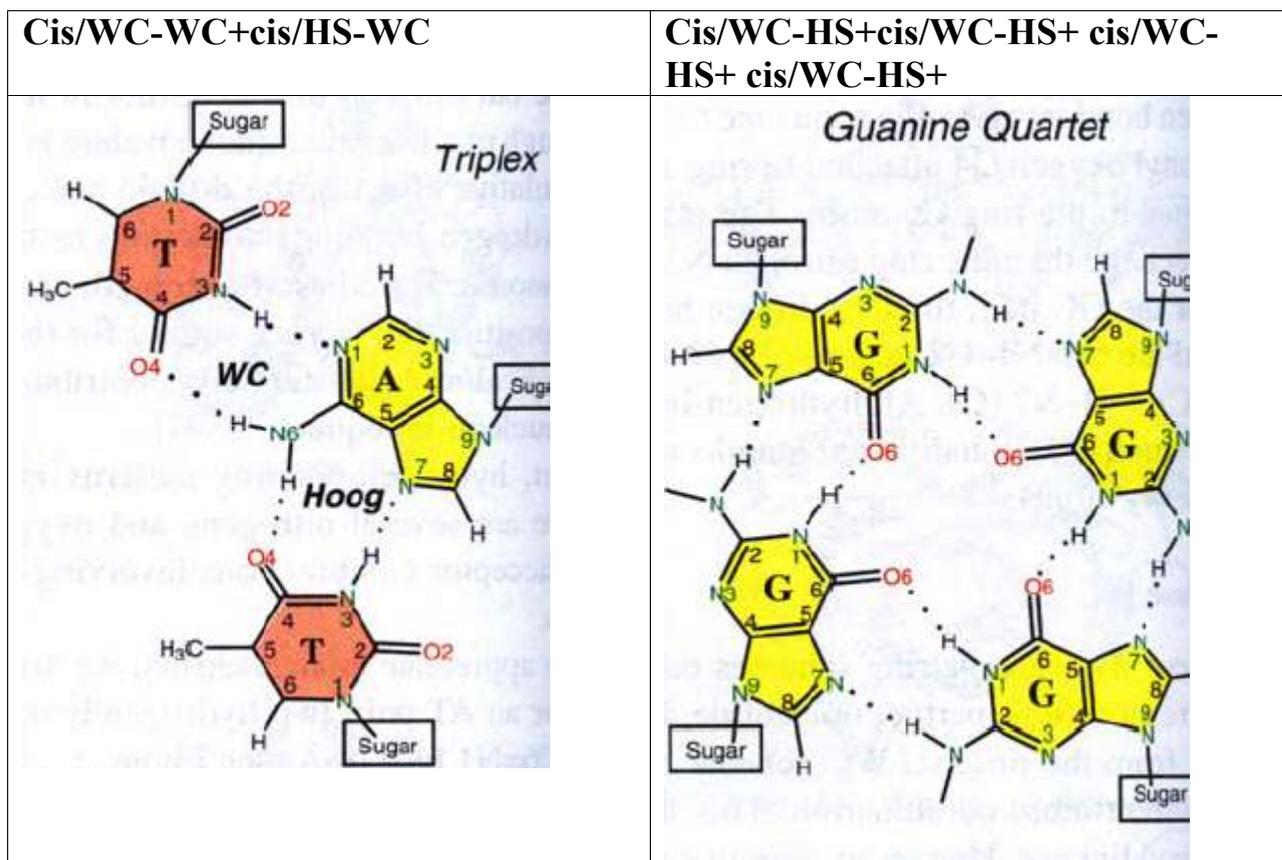


Рис. 11-11.

Найдены в реальных структурах

Конформации одноцепочечных полинуклеотидов.

Регулярные структуры – спирали

Основные энергетические детерминанты структуры –

- **каноническая** конформация мономерной единицы +
- максимальные **стопочные** взаимодействия между основаниями

поли-(dA)₁₀

спирали характерны для **коротких** < 10 нуклеотидов гомо-нуклеотидных цепей

длинные одноцепочечные полинуклеотиды формируют сложные **вторичные** и **пространственные** и структуры

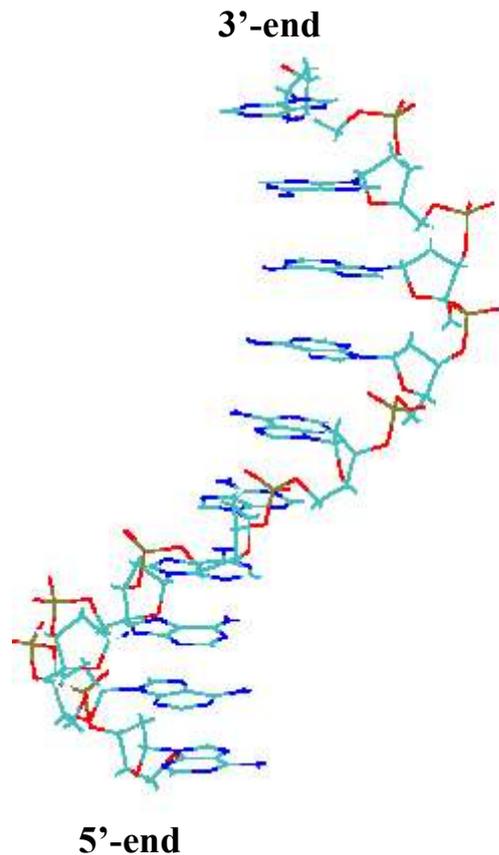


Рис. 11-12.

Двухцепочечные структуры полинуклеотидов Двойная спираль ДНК

- важнейшая биомолекула –

Watson-Crick – исходные биохимические данные:

- две **комплиментарные** анти параллельные цепи
- 5'ATCGCGTA3'
- 3'TAGCGCAT5'
- рентгеноструктурные данные очень низкого разрешения
- симметрия спирали
- расстояние между основаниями вдоль оси спирали

→ пространственная модель в виде двойной спирали

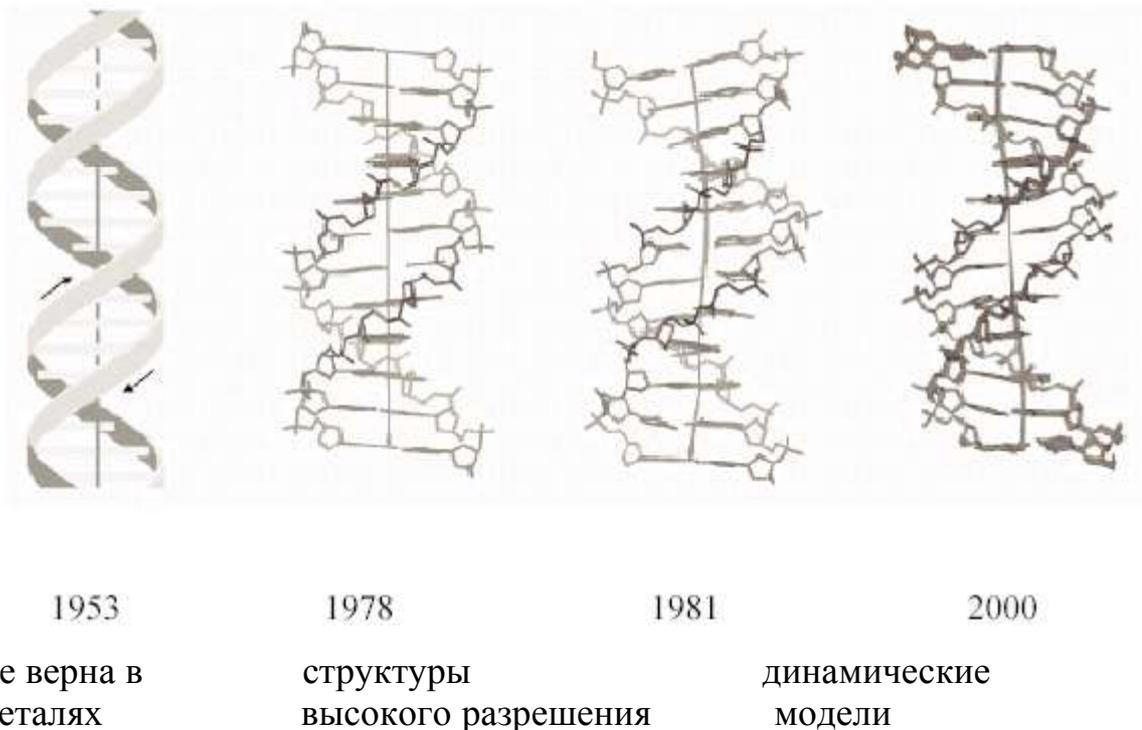


Рис. 11-13.

(В.Иванов Ж.Молек.Биол. 1983, т.17, №8, с.616)

Спиральные параметры

- основные энергетические детерминанты
- канонические конформации нуклеотидов
- взаимодействия оснований :
 - компланарные комплиментарных пар
 - стопочные взаимодействия соседних по цепи пар оснований

Конформационные параметры двойной спирали – детальное расположение пар оснований

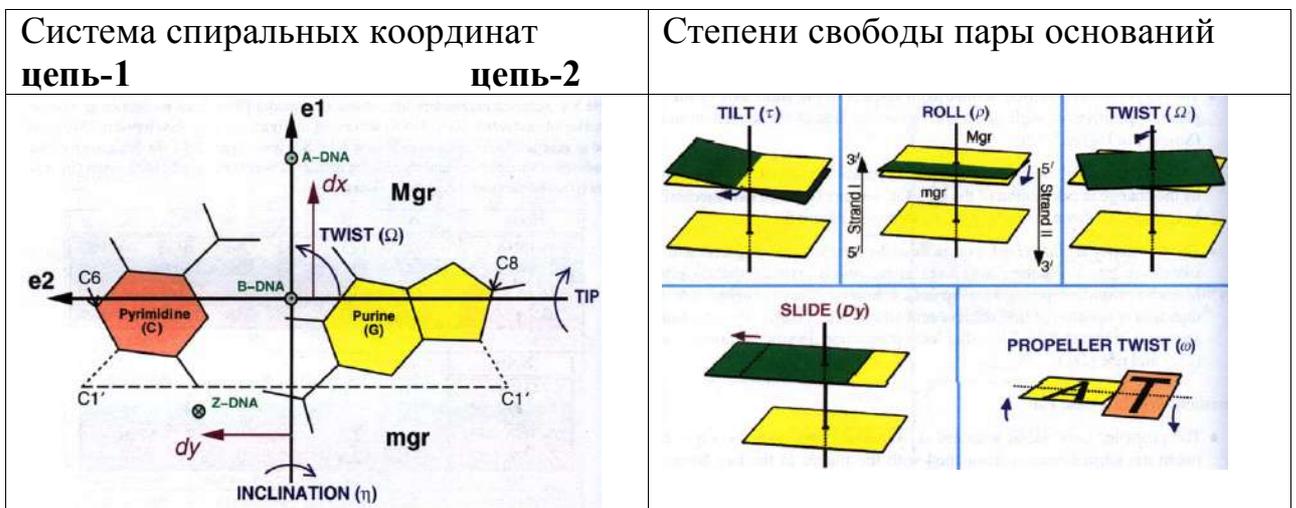


Рис. 11-14.

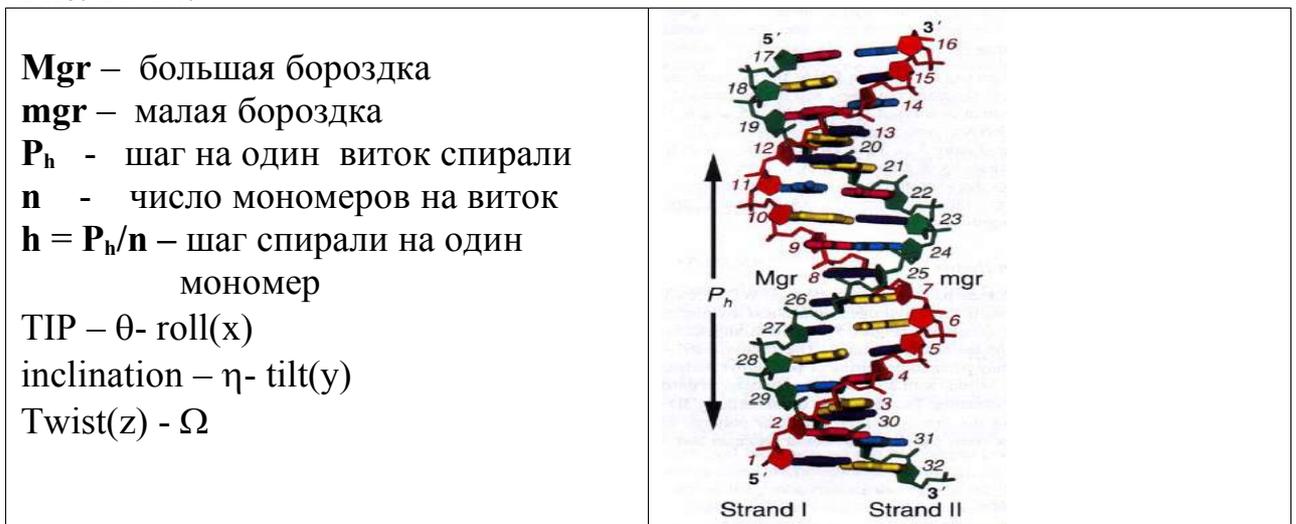


Рис. 11-15.

Регулярные формы двойной спирали: А, В, Z

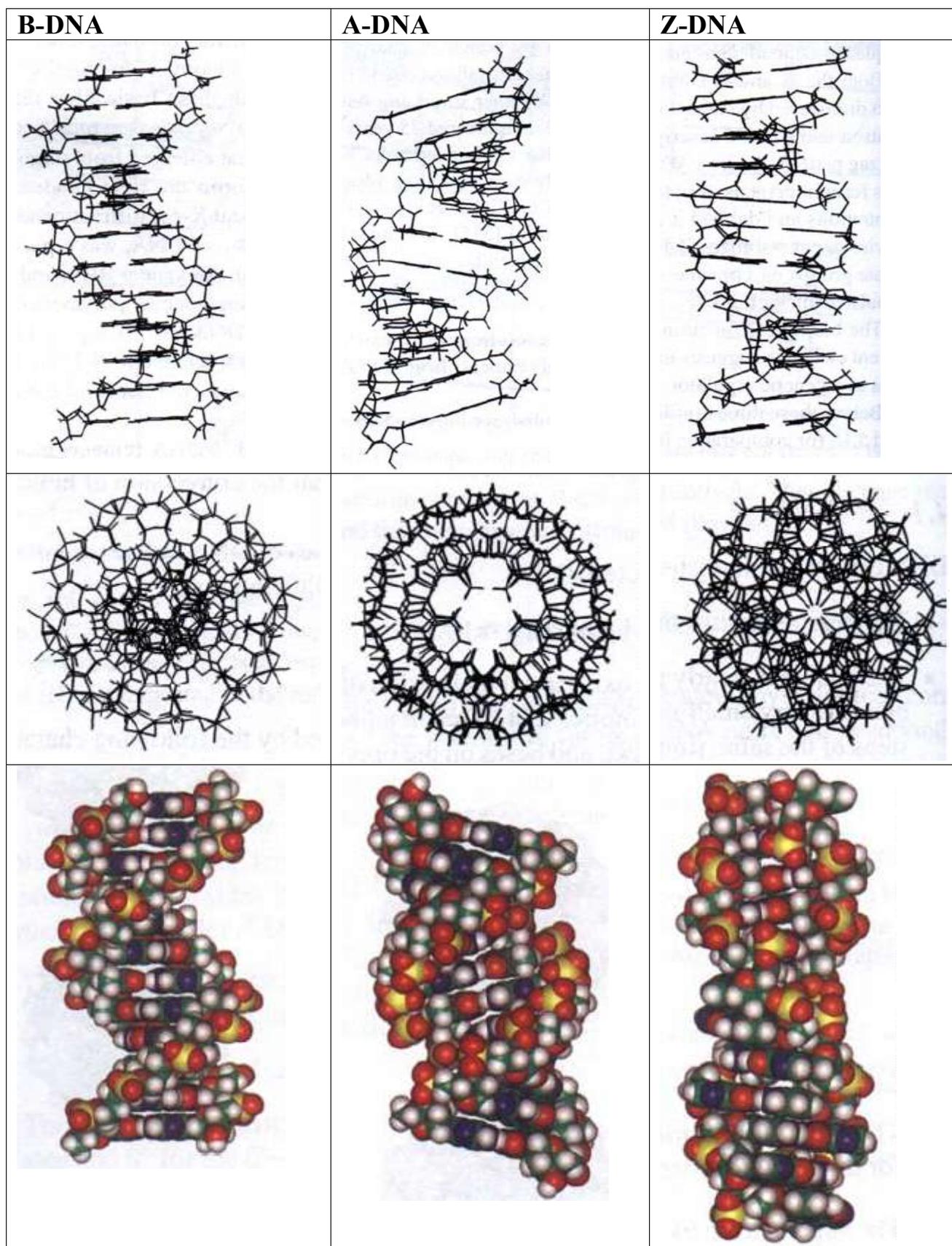


Рис. 11-16.

Регулярные формы двойной спирали: А, В, Z

Таблица 11-1. Значения спиральных параметров и структурные особенности

параметр	A-DNA	B-DNA	Z-DNA
Спираль Типичная последовательность	Правая GGGGGG G-богатые	Правая AAAAAA А- богатые	Левая GCGCGCGCGC Poly-(GC)
Пар на виток h, Å шаг на моном. диаметр спирали, Å шаг на виток	11 2.6 26 28	10 3.4 20 34	12 3.8 18 45
Twist° - Ω Вр наклон к оси° - η Конформация рибозы Конф гликозидной связи	33 20 C3'-endo анти	36 0 C2'-endo анти	-60 dimer -7 C2'-endo (C) C3'-endo (G) анти (C) син (G)
Большая бороздка Малая бороздка	Узкая, глубокая Широкая, мелкая	Широкая, глубокая Узкая, глубокая	Выпуклая Узкая, глубокая

Средние значения конформационных параметров форм ДНК

Таблица 11-2. Средние значения конформационных параметров рибозо-фосфатного остова

	α P- O5'	β O5'-C5' ,	γ C5'-C4'	δ P C4'-C3'	ϵ C3'-O3'	ξ O3'-P	χ C1'-N
A-DNA	-62	173	52	88 3	178	-50	-160
B-DNA	-63	171	54	123 131	155	-90	-117
Z-DNA(G)	47	179	-165	9	256	48	68
Z-DNA(C)	-137	-139	56	138 152	266	223	-159

Таблица 11-3. Средние значения спиральных параметров

	dx	dy	h	ϑ_y	η_x	Ω_z	Rph, A	Dpp, A
A-DNA	4.0	0.0	2.87	0	13.5	32.2	8.8	5.6
B-DNA	0	0	3.33	0	0	36.0	9.1	6.9
Z-DNA (G)	-3.0	2.5	-3.72	0	-7	-52 G-C	8.0	4.7
Z-DNA (C)	-3.0	2.5	-3.72	0	-7	-8 C-G	6.9	7.1

**Конформации нуклеотидов
наблюдаемые в кристаллах ДНК дуплексов**

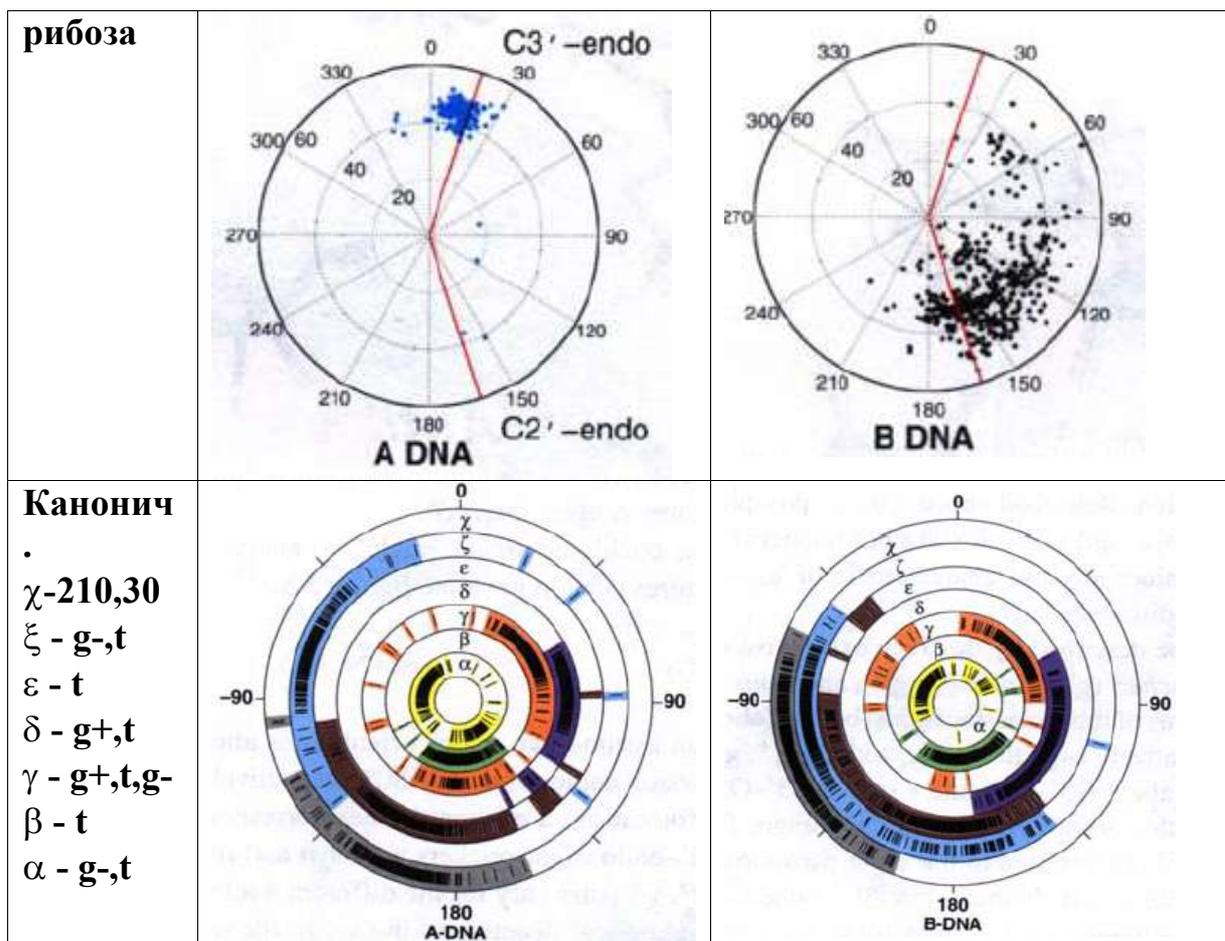


Рис. 11-17.

Условия существования различных форм

ДНК формы переходят друг в друга при изменении условий внешней среды

- **В** форма **стабильна** при нормальных физиологических условиях
- **дегидратация**, понижение относительной влажности до **75%** инициирует переход **В→А**
- в смеси вода-этанол(метанол) при росте доли спирта $> 75\%$, переход **В→А**
- при увеличении концентрации соли $\sim 5 \text{ M}$ **В → Z** для $(GC)_n$

Таблица 11-4. Разность свободных энергий форм ДНК при физиологических условиях

В→А d(AA)	1.5 ккал/моль/пару
В→А d(GG)	0.5
В→А d(GC)	1.4
В→Z d(GC)	0.8
В→Coil d(GC)	1.2

Зависимость детальной конформации и стабильности двойной спирали от контекстного состава

- анализ экспериментально определенных атомных 3Д структур ДНК дуплексов показал наличие **контекстной зависимости** спиральных параметров от типа соседних оснований

Таблица 11-5. Десять типов дидуплексов ДНК

5' A...T	5' A...T	5' A...T	5' A...T	5' T...A
1 ↓ ↑	2 ↓ ↑	3 ↓ ↑	4 ↓ ↑	5 ↓ ↑
3' A...T	3' T...A	3' G...C	3' C...G	3' A...T
5' T...A	5' T...A	5' G...C	5' G...C	5' C...G
6 ↓ ↑	7 ↓ ↑	8 ↓ ↑	9 ↓ ↑	10 ↓ ↑
3' G...C	3' C...G	3' G...C	3' C...G	3' G...C

Таблица 11-6. Спиральные параметры динуклеотидных шагов в ДНК дуплексах

		Pur A		Pur G		Pyr T		Pyr C	
		Dna P	Dna- P	Dna P	Dna- P	Dna P	Dna- P	Dna	Dna-P
Pyr T	θ	2.6	3.3						
	η	0	0						
	Ω	40.0	37.8						
Pyr C	θ	1.1	4.7	6.6	5.4				
	η	0.6	0.5	0	0				
	Ω	36.9	37.3	31.1	36.1				
Pu r A	θ	0.5	0.7	2.9	4.5	-0.6	1.1		
	η	-0.4	-1.4	-2.0	-1.7	0	0		
	Ω	35.8	35.1	30.5	31.9	33.4	29.3		
Pu r G	θ	-0.1	1.9	6.5	3.6	0.4	0.7	-7.0	0.3
	η	-0.4	-1.5	-1.1	-0.1	-0.9	-0.1	0	0
	Ω	39.3	36.3	33.4	32.9	35.8	31.5	38.3	33.6

Dna - ДНК дуплексы

Dna-P - комплексы с белками

красные – большие различия для Dna /Dna-P

A.Gorin et al. 1995 J.Mol.Biol. v.247, p.34-48

W.K.Olson, et al. 1998. Proc.Natl.Acad.Sci. USA v.95, p.11163-68

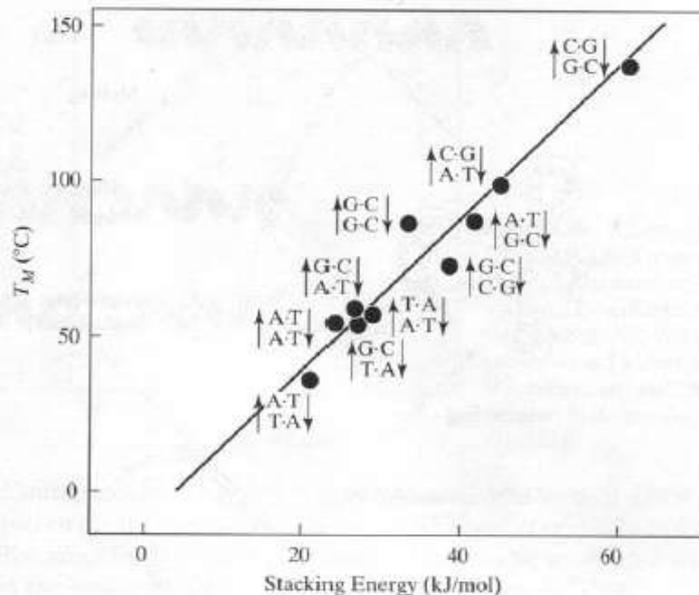
Зависимость стабильности двойной спирали от контекстного состава

Термодинамическая стабильность GC богатых участков ДНК выше, чем AT богатых.

Термодинамическая стабильность = сумма стопочных и копланарных взаимодействий оснований

Рис. 11-18. Энергия стопочных взаимодействий в 10 типах элементарных динуклеотидных дуплексов

O. Gotoh et al (1981)
Biopolymers, v.20, p.1033



Конформационная подвижность ДНК

Кристаллические структуры ДНК дуплексов показывают –
значительный разброс значений конформационных параметров

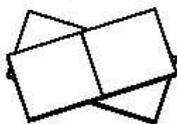
ДНК дуплекс в водном растворе – конформационно подвижная система
- значительные флуктуации в окрестности В-формы

Метод Молекулярной динамики – моделирование термических флуктуаций

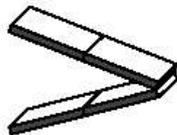
Таблица. Величины термических флуктуаций конформационных параметров, T=300 К в водном растворе. Метод молекулярной динамики

$\langle \Delta \Omega_z^2 \rangle^{1/2}$	$\langle \Delta \eta_x^2 \rangle^{1/2}$	$\langle \Delta \theta_y^2 \rangle^{1/2}$	$\langle \Delta \text{Prop}^2 \rangle^{1/2}$
4.7°	6.4°	10.2°	16.6°

Twist (°) - TZ



Tilt (°) - TX



Roll (°) - TY



Propeller - Pro



Рис. 11-19.

Молекулярная Динамика дуплекса ДНК в водном растворе

днк14 : 5'(ACGTTGAACGACTG)3'

Рис. 11-19. Флуктуации угла спирального вращения **Twist** для шагов T4T5 и A7A8 – **синий** (черный) и **зеленый** (серый) цвета, соответственно.

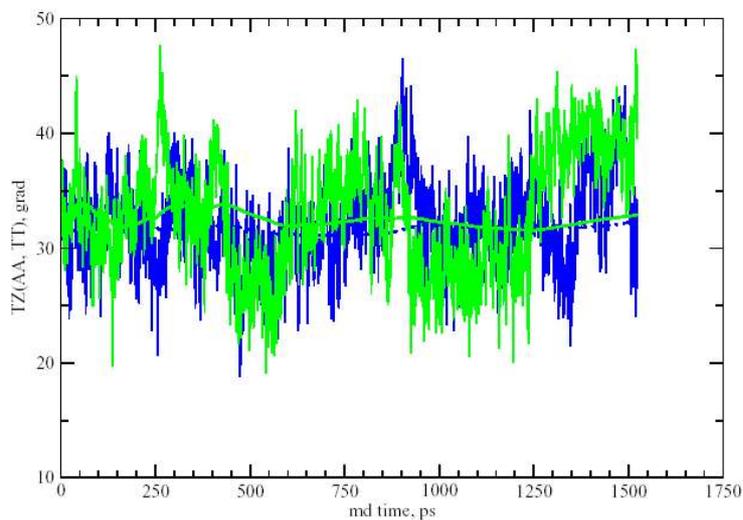


Рис. 11-20. Значения спирального параметра – Twist, Roll для пар оснований днк дуплекса; **зеленый** (серый) - по результатам моделирования методом молекулярной динамики; **синий** – структура в кристалле.

