

Обзор

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-15>

УДК 577.3

ВОДОРОДНАЯ СВЯЗЬ И ДНК: 66-ЛЕТНЯЯ РЕТРОСПЕКТИВА (в кратком изложении)

Е.С. Крячко

*Институт теоретической физики им. Н.Н. Боголюбова НАН Украины,
ул. Метрологическая, 14-б, Киев, 03143, Украина*

e-mail: e.kryachko@yahoo.com

Поступила в редакцию 14 мая 2019 г.

Принята 18 июня 2019 г.

Актуальность. Как однажды сказал Ю.П. Благой, памяти которого посвящается настоящая работа: «Молекулярная структура ДНК — знаменитая двойная спираль — стабилизируется молекулами воды и ионами металлов». Центральным, ключевым взаимодействием, определяющим как двухспиральное строение ДНК, так и ее функционирование (генетический код, репликация, мутагенез), есть водородно-связанное взаимодействие.

Цель работы. Демонстрация многообразных проявлений водородной связи в структуре и функционировании ДНК.

Материалы и методы. В работе было использовано компьютерное моделирование, основанное на методе функционала плотности.

Результаты. В работе представлен широкий спектр водородно-связанных взаимодействий, определяющих ключевые стороны как структуры ДНК, так и функциональные особенности, относящиеся к наследственности (репликация, мутагенез).

Выводы. С одной стороны, в приоткрытых парах со встроенной молекулой воды на внешней водородной связи создаются более благоприятные условия для переходов протонов между основаниями по центральной водородной связи. В этом случае водородные связи оснований в меньшей степени препятствуют переходу протона из-за меньшего электростатического отталкивания (большого расстояния) между ними. Поэтому приоткрытые пары с большей вероятностью могут быть источником образования таутомерных форм нуклеиновых оснований и обуславливать вероятный механизм образования точечных мутаций в ДНК. При этом центральные водородные связи с участием иминогрупп оснований в парах остаются неповрежденными.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Ю.П. Благой; ДНК; водородная связь; гидратация; мутация; перенос протона; приоткрывание двойной спирали ДНК.

HYDROGEN BONDING AND DNA: 66-YEAR RETROSPECTIVE (in brief)

E.S. Kryachko

Bogolyubov Institute for Theoretical Physics, 14-b Metrolohichna Str., Kyiv, 03143, Ukraine

Background: As Yu.P. Blagoi, the memory of who is dedicated to this work, once said: "The molecular structure of DNA — the famous double helix — is stabilized by water molecules and metal ions". The central, key interaction that determines both the double-helix structure of DNA and its functioning (the genetic code, replication, mutagenesis) is hydrogen-bonded interaction.

Objectives: Demonstration of the diverse manifestations of the hydrogen bond in the structure and functioning of DNA.

Materials and Methods: A computer simulation based on the density functional method was used.

Results: This paper identifies a wide range of hydrogen-bonded interactions that determine key aspects of both DNA structures and functional features related to heredity (replication, mutagenesis).

Conclusions: The preopenness of DNA base pairs with an embedded water molecule on the exterior hydrogen bond create more favorable conditions for proton transitions between bases along the central hydrogen bond. In this case, the hydrogen bonds of the bases to a lesser extent hinder the transition of the proton due to the smaller electrostatic repulsion (due to a larger distance) between them. Therefore, the preopened pairs are likely to form tautomeric forms of nucleic acid bases and to originate a probable mechanism for the formation of point mutations in DNA. At the same time, the central hydrogen bonds with the imino groups of bases in pairs remain intact.

KEY WORDS: Yu.P. Blagoi; DNA; hydrogen bond; hydration; mutation; proton transition; preopenness of DNA duplex.

ВОДНЕВИЙ ЗВ'ЯЗОК І ДНК: 66-РІЧНА РЕТРОСПЕКТИВА (в короткому викладі)

Є.С. Крячко

*Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України,
вул. Метрологічна, 14-б, Київ, 03143 Україна*

Актуальність. Як одного разу сказав Ю.П. Благой, пам'яті якого присвячується ця робота: «Молекулярна структура ДНК — знаменита подвійна спіраль — стабілізується молекулами води та іонами металів». Центральною, ключовою взаємодією, визначальною як для двухспіральної будови ДНК, так і її функціонування (генетичний код, реплікація, мутагенез), є воднево-зв'язана взаємодія.

Мета роботи. Демонстрація різноманітних проявів водневого зв'язку в структурі та функціонуванні ДНК.

Матеріали та методи. В роботі використане комп'ютерне моделювання, засноване на методі функціонала густини.

Результати. У роботі наведено широкий спектр воднево-зв'язаних взаємодій, що визначають ключові сторони як структури ДНК, так і її функціональні особливості, які стосуються спадковості (реплікація, мутагенез).

Висновки. З одного боку, в напіввідкритих парах з вбудованою молекулою води на зовнішньому водневому зв'язку створюються більш сприятливі умови для переходів протонів по центральному водневому зв'язку між парами. В цьому випадку водневі зв'язки в меншій мірі перешкоджають переходу протона через менше електростатичне відштовхування (через більшу відстань) між ними. Тому напіввідкриті пари з більшою ймовірністю можуть служити джерелом утворення таутомерних форм нуклеїнових основ і обумовлювати ймовірний механізм утворення точкових мутацій в ДНК. При цьому, центральні водневі зв'язки за участю іміногрупи основ в парах залишаються неушкодженими.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: Ю.П. Благой; ДНК; водневий зв'язок; гідратація; мутація; перехід протона; напіввідкриття подвійної спіралі ДНК.

«Учитывая важнейшую роль водородной связи в формировании структуры биологических молекул, можно сделать заключение, что если бы не было этого вида взаимодействия, то не существовала бы жизнь на Земле в том виде, в котором она реализуется».

Ю. П. Благой [1]

ПОСВЯЩЕНИЕ

Памяти Юрия Павловича Благого (29.07.1929–24.04.2018) [2] посвящается: год спустя.

Ю.П. Благой закончил Харьковский государственный университет, физфак, в 1952 г., и, следовательно, 66 лет (что также фигурирует в названии настоящей статьи) своей жизни он отдал науке, в частности молекулярной биофизике. В этом есть что-то знаковое, мне думается.

Настоящая работа представляет собой эссе, а отнюдь не всеобъемлющий обзор, как ожидается, если судить по поводу и теме. Тем не менее, в каком-то смысле, это обзор нескольких взаимосвязанных мыслей, идей и тем, навеянных как дискуссиями лично с Ю.П. Благим, так и его работами, и изложенных в некотором «полифоническом» формате, который был мною выбран по одной причине — наиболее последовательно рассказать о водородных связях в ДНК и их роли в механизме образования точечных мутаций в аденин-тиминовой паре ДНК, «приоткрываемой» молекулой воды.

Работа Дж. Уотсона и Ф. Крика [3] по расшифровке структуры двойной спирали ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты) вышла в журнале Nature 25 апреля 1953 г. За

открытие структуры молекулы ДНК они совместно с Морисом Х.Ф. Уилкинсом были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине в 1962 г. 40-летию открытия ДНК был посвящен выпуск *Анналов Нью-Йоркской Академии наук* [4]. 50-летний юбилей расшифровки структуры ДНК был отмечен в *Nature* статьями [5] и [6] и коллекцией статей "The double helix — 50 years" [6–24] (включая оригинальные [8, 9]), вводная статья к которой под названием "The eternal molecule" («Вечная молекула») была написана редакторами журнала [7] и начинается словами: «Немногие молекулы так пленяют, как ДНК. Она увлекает ученых, вдохновляет художников и бросает вызов обществу. Во всех смыслах это современная икона. Определяющим моментом для исследования ДНК стало открытие ее структуры полвека назад. 25 апреля 1953 года в статье в *Nature* Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик описали переплетенные объятия двух нитей дезоксирибонуклеиновой кислоты. При этом они предоставили основу для понимания молекулярного повреждения и восстановления, репликации и наследования генетического материала, разнообразия и эволюции видов».

Отмечу также, что Маклин Маккарти, автор работы [11], — единственный доживший до 50-летия открытия ДНК соавтор Освальда Эвери и Колина Маклауда, которые вместе в 1944 г. «сделали замечательное открытие, что ДНК является материалом наследственности» (*Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. J. Expt. Medicine. 1944; 79(2):137–158; Reproduced in Molecular Medicine. 1995; 1(4): 344–365*). Это опередило на десятилетие открытие структуры самой ДНК. В [11] он делится своими личными взглядами на те времена и на то, как открытие двойной спирали изменило всю логику биологии.

В одной из своих книг [25] Дж. Уотсон в авторском предисловии описал, как планировалось отметить 50-летие открытия ДНК (см. также [26]). 60-летию же открытия была посвящена статья «Двойная спираль ДНК: открытие, приведшее к 60 годам биологической революции» в газете "The Guardian" от 25 апреля 2013 г. Наконец, ежегодно 25 апреля в разных странах мира отмечается Международный День ДНК (DNA Day), в знак признания важности генетики и научных достижений в этой области.

ПРЕДИСЛОВИЕ

«Ничего не останавливается и ничего не начинается. Просто так льется жизнь».

Валентин Ткач «Так говорил вуйко Дезьо»

Повод появления настоящей работы — без сомнения, грустный и печальный. В чем тогда состоит смысл жизни, ежели бытует такая традиция вспоминать о человеке после его кончины? Ответ на этот вопрос был дан еще Николаем Бердяевым: «Смысл жизни в творчестве». И действительно, нетленным, по крайней мере, в пределах жизни его последователей, остается творчество Юрия Павловича Благого. В частности, его книга [27] «Металлокомплексы нуклеиновых кислот в растворах», написанная совместно с В.Л. Галкиным, Г.О. Гладченко, С.В. Корниловой, В.А. Сорокиным и А.Г. Шкорбатовым, изданная «Науковой думкой» в 1991 г., и им же сердечно подаренная «... на добрую память...» (Sic!) автору настоящей работы, тема которой навеяна всем творчеством Юрия Павловича — достаточно взглянуть на первый вышеприведенный эпиграф и сравнить его с названием данной работы. Я вспоминаю те многочисленные случаи, когда имел удовольствие обсуждать с Юрием Павловичем и его сотрудниками бесконечные проблемы структуры ДНК. Размышления и спорные вопросы, которые были результатом этих обсуждений, частично легли в основу данной

работы, которую я изложил в несколько замкнутом и логически последовательном формате.

Опять вспоминаю — ведь это эссе воспоминаний, не правда ли? — слова Ю.П. Благого: «Молекулярная структура ДНК — знаменитая двойная спираль — стабилизируется молекулами воды и ионами металлов...». В самом деле, тема настоящей работы, безусловно, важна — не зря же Г.А. Джеффри (G.A. Jeffrey) и В. Зенгер (W. Saenger) ([28], с. 3) отметили, что «Открытие водородной связи помогло бы кому-то выиграть Нобелевскую премию, но этого не произошло» ("The discovery of the Hydrogen Bond could have won someone the Nobel Prize, but it didn't."). В большей степени, очевидно, это было бы благодаря структуре ДНК.

Я же в настоящей работе остановлюсь на некоторых штрихах темы структуры ДНК, подсказанных самим Юрием Павловичем (см. в [1]): «В образовании биологически активной структуры нуклеиновых кислот (НК), так же как и в работе ферментов, существенное участие принимают низкомолекулярные вещества — ионы металлов, химические соединения различной природы, которые принято относить к биологически активным веществам (БАВ). Некоторые из этих веществ, находясь в микроколичествах в клетке и изменяя структуру НК, нарушают процессы передачи генетической информации (репликацию, транскрипцию и трансляцию), вызывают одно- и двунитевые разрывы в ДНК, блокируют синтез белка и приводят к генетическим аномалиям...», которые я дополню другим его высказыванием ([27], с. 3): «Механизм биологического действия ионов определяется возникновением мутаций типа транзиций и трансверсий при связывании ионов этих металлов с ДНК».

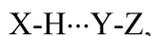
ВОДОРОДНАЯ СВЯЗЬ: ПАРА КРУПНЫХ МАЗКОВ

Исследование водородной связи как типа меж-, так и внутримолекулярного взаимодействия, было начато в работах Т.С. Мура и Т.Ф. Уинмилла (т.н. "weak union", 1912 г.) [29], М.Л. Хаггинса (который, по-видимому, первым предложил термин «водородная связь» или, по-немецки, "Wasserstoffbrücke" для объяснения таутомерии эфиров ацетоуксусной кислоты; 1919 г.) [30], В.М. Латимера и В.Х. Родебуша ("hydrogen nucleus held between 2 octets constitutes a weak 'bond'; 1920 г.) [31], Л. Полинга [32] и др. Хотя, в действительности, идея слабого специфического взаимодействия, непосредственно обусловленного атомом водорода, была впервые сформулирована В. Нернстом [33] в 1891 г., А. Вернером ("Nebervalenz"; [34]), Г. Оддо и Е. Пукседду [35], а также П. Пфайффером [36]. Г.В. Юхневич [37] считает, что идея водородной связи как частного случая гипервалентной связи была впервые предложена М.А. Ильинским в 1888 г. на заседании Русского физико-химического общества в его докладе о своей теории атомности (валентности). Краткое сообщение о теории Ильинского было опубликовано в 1897 г. в «Журнале Русского физико-химического общества. Часть химическая», Т. 29, вып. 5, под заглавием «Некоторые обобщения теории атомности».

По-видимому, первая ссылка на водородную связь была дана Г.Н. Льюисом [38] в 1923 году ("it seems to me that the most important addition to my theory of valence lies in the suggestion of what has become known as the hydrogen bond.").

С тех пор было дано множество более-менее точных определений водородной связи [39], каждое из которых имеет как свои преимущества, так и недостатки. Наиболее современное определение, данное в «Золотой Книге» IUPAC [40–42] (оригинальный текст следующий: "The hydrogen bond is an attractive interaction between a hydrogen atom from a molecule or a molecular fragment X–H in which X is more

electronegative than H, and an atom or a group of atoms in the same or a different molecule, in which there is evidence of bond formation. A typical hydrogen bond may be depicted as X–H ··· Y–Z, where the three dots denote the bond. X–H represents the hydrogen bond donor. The acceptor may be an atom or an anion Y, or a fragment or a molecule Y–Z, where Y is bonded to Z.)», гласит, что водородная связь — это «притягивающее взаимодействие между атомом водорода молекулы или молекулярного фрагмента X–H, в котором X является более электроотрицательным, чем H, и атомом или группой атомов в той же или другой молекуле, у которого существуют признаки образования связи. Типичная водородная (или H-) связь может быть изображена как



где троеточие обозначает водородную связь. X–H представляет собой ее донор. Акцептором может быть атом или анион Y, или фрагмент, или молекула Y–Z, где Y связан с Z». Как тип взаимодействия, водородную связь можно количественно описать, введя понятие силы водородной связи. Последнюю обычно выражают в терминах сродства к протону $PA(Y-Z)$ (по этому поводу см. [43]).

По-видимому, вышеприведенное определение неприемлемо или неудобно в компьютерных расчетах, которые можно, в некотором смысле, рассматривать как компьютерный эксперимент, поскольку фраза «у которого существуют признаки образования связи» относится к эксперименту, в основном спектроскопическому (см., например, [39, 44, 45]). По этой причине обычно используется такое определение водородной связи (см., например, [46] и приведенные там ссылки) — существует явное доказательство того, что образованная связь X–H···Y включает атом водорода H, связанный с Y приблизительно вдоль направления X–H, и выполняются следующие критерии:

1. По отношению к мономеру, мода $\nu(X-H)$ валентных колебаний подвергается сдвигу

$$\Delta\nu(X-H) \equiv \nu_{X-H \cdots Y}(X-H) - \nu_{X-H}(X-H)$$

либо в сторону низкочастотных колебаний (т. н. красный сдвиг: $\Delta\nu(X-H) < 0$; каноническая водородная связь), либо высокочастотных (синий сдвиг: $\Delta\nu(X-H) > 0$). В некотором смысле, водородную связь с красным сдвигом и водородную связь с синим сдвигом можно идентифицировать с символами *инь* и *янь* из китайской философии (Рис. 1);

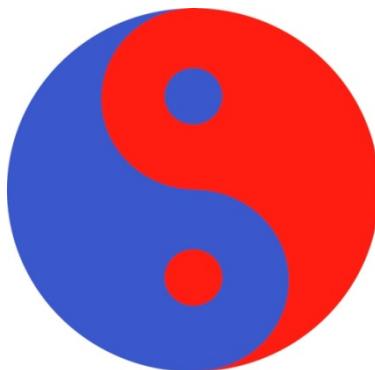


Рис. 1. Водородные связи с красным и синим сдвигами как китайские символы «инь» и «янь» (правильные цвета рисунка представлены в электронной версии статьи).

2. Соответственно, связь X–H либо удлиняется, т.е.

$$\Delta R(X-H) \equiv R_{X-H \cdots Y}(X-H) - R_{X-H}(X-H) > 0,$$

либо укорачивается, т. е.

$$\Delta R(X-H) \equiv R_{X-H...Y(X-H)} - R_{X-H}(X-H) < 0,$$

по отношению к связи в мономере, что свидетельствует об ослаблении ковалентной связи.

СТРУКТУРА ДНК

ДНК — это икона, главная молекула [17, 47, 48] (Рис. 2) жизни вообще, и, без сомнения, жизни и творчества Юрия Павловича Благого, в частности.

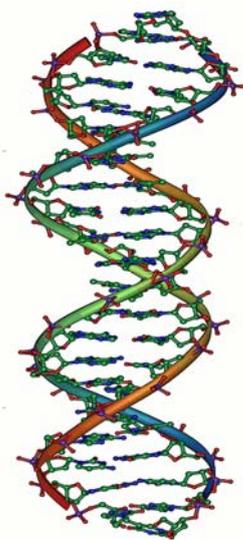


Рис. 2. Модель вторичной структуры «двойной спирали» ДНК Уотсона-Крика, В-форма (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA_Overview.png, автор Michael Strock (mstroeck) [CC BY-SA 3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>)]). Она состоит из двух полинуклеотидных нитей (тяжей), закрученных вправо с образованием двойной спирали диаметром до 2 нм («правосторонность» означает, что тяжи вращаются по часовой стрелке при их взаимном отдалении, если смотреть снизу, во всю длину двойной спирали. Два боковых тяжа образуют остов двойной спирали. Они образованы пентозо-фосфатными группами, заряжены отрицательно за счет углеводных остатков и фосфатных групп. Между ними, стопками, расположены пары оснований А·Т и G·C в виде двух комплементарных цепей, закрученных в двойную спираль. Спаривание оснований охватывает миллионы звеньев. Фактически, ДНК не является структурно и монотонно однородной спиралью. В силу этого цепи ДНК на протяжении всего тяжа образуют два желоба (или бороздки), «малый» и «большой».

ДНК существует в нескольких полиморфных формах: А, С, D, и Z [49]. Самая известная из них и преобладающая в клетке — это т. н. В-форма. Структура В-формы в виде двойной спирали ДНК была расшифрована более 65 лет назад [3, 50] (по данным журнала Nature последняя статья цитировалась 5599 раз. В самом деле, идея спиральности макромолекул буквально витала в воздухе в те годы. Так, в 1952 году В. Кочран, Ф. Крик и В. Ванд [51] предложили описание спиральных макромолекул; вскоре, Р. Франклин и Р. Гослинг [9] опубликовали высококачественные рентгенограммы В-ДНК тимуса телят и предложили их классическую интерпретацию, основываясь на следующем предположении: «...Поэтому представляется разумным предположить, что в структуре В структурные единицы (ДНК) относительно свободны от влияния соседних молекул, причем каждая единица защищена оболочкой из воды» (в оригинале: "It therefore seems reasonable to suppose that in structure B the structural units (DNA) are relatively free from the influence of neighboring molecules, each unit being shielded by a sheath of water"). Рентгенография определенно показала, что ДНК *in vivo* является двойной спиралью [8, 52], хотя выдвигались и четырехтяжевые модели [53]. Точнее говоря, «двойная спираль» ДНК представляет собой т.н. двойной винт или геликоид, в котором винтовая линия может быть правой (А- и В-формы ДНК) или левой (Z-форма) [18].

В работе [8] Дж. Уотсон и Ф. Крик писали ([8], стр. 125): «Мы предложили структуру, в которой две цепи закручены вокруг общей оси и соединены между собой водородными связями между нуклеотидными основаниями. ...Обе цепи следуют по правосторонним спиральям, но последовательности атомов в фосфатно-сахарных цепях проходят в противоположные направления и связаны диадой, перпендикулярной оси спирали.

Фосфаты и сахарные группы находятся снаружи спирали, в то время как основания находятся внутри. Расстояние атома фосфора от оси волокна составляет 10 Å...».

Вообще говоря, интересную историю вокруг открытия ДНК, помимо известных из книги «Двойная спираль» Дж. Уотсона [54] (я бы также порекомендовал книгу А. Азимова [55]), недавно поведала ВВС. Это история о пабе, в котором Уотсон и Крик впервые анонсировали свое расшифрование структуры ДНК. Как пишут сами Дж. Уотсон и Ф. Крик [3], они «были стимулированы знанием общего характера неопубликованных экспериментальных результатов и идей Мориса Уилкинса, Розалинды Франклин (см., в частности, статьи [12, 56]) и их коллег в Королевском колледже в Лондоне» ("having been simulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Wilkins, Franklin and their coworkers at King's College, London"). Я бы здесь добавил работы Лайнуса Полинга, показавшего, что в длинных молекулах — каковыми являются, в частности, белки — могут образовываться связи, закручивающие молекулу в спираль. Некоторые моменты открытия Уотсона и Крика освещены в статье [57].

Л. Брэгг в предисловии к книге «Двойная спираль» [54] написал: «Открытие структуры ДНК со всеми его биологическими последствиями было одним из крупнейших научных событий нашего века». Г. Стент (Gunther Stent) в своей работе «Апериодический кристалл наследственности» ([4], стр. 25–31) отметил следующее: «На уроке истории в старших классах школы Гайд-парка, ... я узнал, что Ренессанс начался 29 мая 1453 года, в день, когда Константинополь был захвачен турками. В тот день, я думаю, все вдруг осознали, что Средневековье прошло и что пришло время заново открыть для себя искусство и науки классической античности. Так что меня всегда изумляло то сверхъестественное совпадение, что молекулярная биология началась ровно через пятьсот лет после наступления Ренессанса, с совпадением почти до дня, 25-го апреля 1953 года, дня, когда в Nature появилась статья двух молодых людей, Джеймса Уотсона... и Фрэнсиса Крика, сообщившая об открытии двойной спирали ДНК». Там же ([4], стр. 356–365) Д. Джексон (David Jackson) сравнивает открытие ДНК с т. н. «сдвигом в парадигме», который, согласно книге Т. Куна [58], вызывает научную революцию.

По Уотсону и Крику, ДНК — это огромная молекула в виде двойной спирали, две антипараллельные нити которой (цепочки или тяжи) образованы пентозо-фосфатными группами, состоящими из молекул сахара, кислорода и фосфора (Рис. 2). Каждая такая нить содержит наборы из четырех химических соединений, называемых азотистыми основаниями: А (аденин), Т (тимин), Г (Г, гуанин) и С (Ц, цитозин), т.н. «генетический алфавит». Эти две нити (или тяжи) ДНК соединяются друг с другом уотсон-криковскими (WC-) комплементарными парами, [A·T]_{WC} и [G·C]_{WC}.

Азотистые основания А и Г относятся к пуринам (purine, по лат. "purus" — чистый и -in(e) — суффикс, обозначающий «подобный»), Т и Ц — к пиримидинам (pyrimidine, по греч. "pyr" — огонь, франц. "imide" — измененный амид, и лат. -in(e) — «подобный»). Интересно, что в конце 40-х годов Эрвин Чаргафф (Erwin Chargaff) показал, что во всех ДНК содержится равное количество Т и А, и Г и Ц, а относительное содержание Т/А и Г/Ц специфично для каждого вида. Четыре основания ДНК — это алфавит, используемый нашими клетками: аденин спаривается с тиминем, цитозин с гуанином, образуя уникальную комбинацию из 3,2 миллиарда букв (каждая клетка нашего тела содержит полную копию 3,2 миллиарда пар оснований ДНК или букв, которые кодируют наш человеческий геном [59]). Поскольку некоторые генетические заболевания вызваны мутацией всего одной буквы, некоторые из

применений CRISPR (мощного инструмента генной инженерии — направленного редактирования геномов), имеют дело с исправлением этой однобуквенной разницы.

На Земле в генетическом материале некоторых вирусов есть пятое основание — урацил, отличающееся от Т отсутствием метильной группы в С5 в пиримидиновом кольце, которое обычно заменяет Т в РНК. В этой связи любопытны недавние работы в *Science* и *Nature* об удвоении генетического алфавита [60, 61]. Авторы [60] под руководством С. Бэннера (S. Benner) создали системы, подобные ДНК и РНК, из восьми нуклеотидных «букв» и назвали их хатимодзи-ДНК и -РНК (от японского 八 "hachi" — восемь и 文字 "moji" — буква). Журнал «Популярная Механика» (№ 4, 2019) назвал хатимодзи-ДНК «инопланетной». Такие синтетические ДНК созданы не впервые. Ранее, в 2015 г. С. Бэннер с сотр. синтезировали ДНК из шести-нуклеотидного алфавита [62]. Подобные работы по созданию искусственной жизни как часть «синтетической биологии» появились еще в 1980-х годах, когда была предложена концепция «ковалентной пары оснований» (см., например, [63] и приведенные там ссылки). Забегая вперед, скажу, что особенностью таких пар оснований является отсутствие мутаций, вызванных переносом атома водорода по уотсон-криковским водородным связям.

Как уже говорилось ранее, пунктирные линии в обозначении пар оснований ДНК обозначают водородно-связанное спаривание. Из Рис. 3 следует что, спаривание в $[A \cdot T]_{WC}$ осуществляется такими водородными связями: $N6-H6(A) \cdots O4(T)$, $N3-N3(T) \cdots N1(A)$, и $C2-H2(A) \cdots O2(T)$. Последняя, весьма слабая энергетически, водородная связь характеризуется синим сдвигом $\Delta\nu(C2-H2(A)) = 6 \text{ cm}^{-1}$ ([46], LXIX, p. 313), тогда как первые две являются каноническими, с красным сдвигом.

Вообще говоря, роль Н-связей в ДНК многогранна. Обычно акцентируют внимание на двух из них [28, 64–67]. Одна определяет т. н. электронную комплементарность. Так, в G-C паре спаривание осуществляется тремя каноническими водородными связями. По этой причине экспериментальная энтальпия образования G-C пары в газовой фазе, равная $-21,0 \text{ ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$ [68], сильнее энтальпии образования A-T пары $-13,0 \text{ ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$ [67].

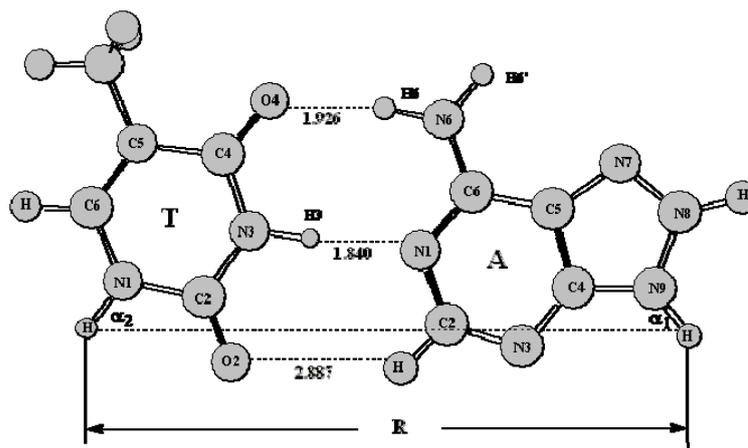


Рис. 3. Комплементарная пара $[A \cdot T]_{WC}$ ДНК, рассчитанная в настоящей работе методом B3LYP/6-311++G(d,p).

Другая роль водородных связей — поддерживать т.н. комплементарную форму. Геометрически, последнее означает, что, во-первых, расстояние R (см. Рис. 3) находится в интервале $10,6 - 10,8 \text{ \AA}$, во-вторых, N-гликозидные углы связи $\alpha_1 \equiv \angle N9N9(A)N1(T)$ и $\alpha_2 \equiv \angle N1N1(T)N9(A)$ находятся в интервале $[52^\circ, 70^\circ]$ [28, 65, 66]. В

настоящей работе $R = 10,18 \text{ \AA}$, $\alpha_1 = 54,0^\circ$, $\alpha_2 = 54,6^\circ$, которые хорошо согласуются с таковыми из работы [69] (см. также недавнюю работу [70]).

Ниже мы будем основываться на следующей вычислительной методологии: все расчеты по оптимизации геометрии, без всяких ограничений на возможную планарность, выполненные в данной работе, были проведены с использованием пакета программ GAUSSIAN [71] методом функционала плотности Ли-Янга-Парра (Lee-Yang-Parr), B3LYP, в базе 6-311++G(d,p), который, как известно, является достаточно удовлетворительным для данной системы и обычно адекватно предсказывает как нейтральные, так протонированные структуры. Нами были рассчитаны энергии, термодинамические характеристики полученных структур и соответствующие, некалированные, энергии нулевых колебаний (ZPE) и (также некалированные) гармонические колебания.

СТРУКТУРА ДНК И МУТАЦИИ

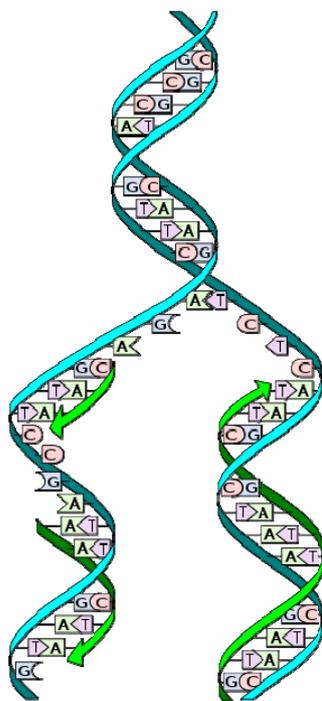


Рис. 4. Модель репликации ДНК (https://ru.wikipedia.org/wiki/Репликация_ДНК#/media/Файл:DNA_replication_split.svg, автор Madprime [CC BY-SA 3.0, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>]):

Стадии репликации:

1. Расплетание (unwinding; или приоткрытие — pre-opening) двойной спирали ДНК;
2. Образование «репликационной вилки»;
3. Синтез комплементарных цепочек ДНК-полимеразой.

Нельзя сказать, что такая би-спиральная или, точнее, би-винтовая комплементарность, свойственная модели ДНК Уотсона и Крика, была канонической, или, другими словами, осталась единственной. Ровно десять лет спустя после их работы, Карст Хугстин [72] продемонстрировал кристаллическую структуру соединения, в котором А и Т формируют пары, геометрия которых существенно отличается от уотсон-криковской (см., например, рисунок 6.7 в книге Зенгера [65], рисунок 3 в [73] и рисунок 1 в работе М.Д. Франк-Каменецкого [74]). Водородные связи в неканонической хугстиновской $[A \cdot T]_H$ паре такие: $N6-H6(A) \cdots O4-C4(T)$ и $N7(A) \cdots N3-N3(T)$.

Стоит, наверное, сказать несколько слов о других формах ДНК. Напомним, что Z-ДНК была открыта в 1979 г. Позднее были открыты квадруплексы, соединения Холлидея, спаривание Хугстина и другие (см. базу данных <http://ndbserver.rutgers.edu>). На 2003-й год было известно более 600 дезоксирибонуклеотидов [75].

Неканонические спаривания, т. е. нарушения (или повреждения), имеют место и собственно в модели ДНК Уотсона-Крика. Это, в частности, т. н. несовершенства в

спаривании (*mis-pairing*) и несоответствия (*mismatch*), характеризующиеся как другими водородными связями, так и их числом по сравнению с присущими каноническим парам.

Вообще говоря, (см. например, работу [76] и приведенные там ссылки), в 1953 г. Уотсон и Крик предложили свою иконную структуру двойной спирали для ДНК, основываясь на весьма незначительном наборе экспериментальных данных. Несмотря на этот факт, их структура является наиболее известной для двойной спирали. Ее наиболее важные до сего времени черты — это специфическое спаривание пуриновых оснований с пиримидиновыми (Г с Ц и А с Т) посредством комплементарных водородных связей, что придает структуре возможность самовоспроизводства, «репликации», производя, таким образом, ДНК. Это делает ее переносчиком генетической информации [77], а не белки, как широко верилось в 50-е годы. Отметим, что уотсон-криковское спаривание соединяет основания в их наиболее вероятной таутомерной форме и, что представляется наиболее важным, подобные формы реализуются для всех четырех пар комбинаций, лежащих в основе организации двойной спирали.

Также отметим, что модель двуспиральной ДНК настолько проста, гениальна и даже изящна, что позволила Уотсону и Крику понять, как она описывает репликацию: итак, для того, чтобы скопировать молекулу ДНК, нужно разделить («приоткрыть») ее цепочки и достроить вдоль каждой новую — в результате получатся две идентичные молекулы. Простота процесса репликации в модели Уотсона-Крика также очевидна (Рис. 4, см. также [47]) и включает следующие стадии: синтез дочерней молекулы ДНК на матрице родительской ДНК; при делении материнской клетки дочерняя клетка получает по одной копии молекулы ДНК, которая идентична ДНК исходной материнской клетки, если нет мутаций (от латинского *mutatio* — изменение или, попросту, ошибка). Очевидно, что в процессе копирования огромного алфавита (кода) несложно ошибиться. Ясно, что ошибки постоянно возникают. Большая часть из них исправляется специальными системами клетки, но не все. В тексте возникают изменения — мутации — причина существования наследственных заболеваний и эволюции. И, как было недавно показано (см., например, [78, 79]), известный и характерный голубой цвет глаз собак породы сибирской хаски вызван генетическими мутациями.

Кстати, я, как, по-видимому, и сам Ю.П. Благой, смотрели фильм Андрея Тарковского «Сталкер», снятый по фантастической повести братьев Стругацких «Пикник на обочине» (1972), которую в те 70-е годы прочитали все или почти все ученые СССР. Помню, что в те годы в Харькове был — не совсем открытый — клуб любителей кино. Меня туда водил Юрий Я. Томчук, ученик Наума И. Ахиезера и доцент кафедры высшей математики ХИРЭ С.Д. Бермана. Там я впервые смотрел «Сталкер» и «Зеркало». В этой повести идет речь об удивительном открытии т. н. радианта Пильмана, за которое доктор Валентин Пильман был удостоен Нобелевской премии по физике за 19... год: вдоль проекции радианта Пильмана на поверхности Земли расположены шесть т. н. «Зон», в которых происходят странные явления, противоречащие законам физики. Зоны возникли на поверхности Земли после Посещения чужеродных сил.

В этих Зонах было обнаружено множество артефактов, представляющих собой, по гипотезе ученого Пильмана, космический мусор, оставленный инопланетянами. Некоторые из этих артефактов могут лечить болезни, другие — весьма опасны. Влияние Зоны выражается в форме генетических мутаций. Все население Зон было срочно эвакуировано, поскольку в них жить нельзя ни людям, ни животным — они

испытывают мутагенное воздействие Зоны: «подвергаются изменениям — как фенотипическим, так и генетическим». Те, кого не удалось вовремя эвакуировать, пострадали: либо ослепли, либо перенесли другие, неизвестные человечеству заболевания. По одной из легенд, в некоторой из областей Зоны живут люди, пережившие мутации — «они мутировали... приспособились к новым условиям». Эти мутации могут рассматриваться как новый шаг в эволюции.

Наследственные свойства биологических систем определяются непосредственно сохранностью и точностью передачи генетической информации, согласно центральной догме биологии [80], от молекул ДНК к молекулам РНК, и далее к белкам. Изменения в биологических макромолекулах, охватывающие протяженные участки ДНК или РНК, могут привести к значительным изменениям в белках. Первые называются мутациями [80]. Это такое изменение генотипа, которое происходит под влиянием внутренней или внешней среды и которое может быть унаследовано при репликации, т.е. потомками данной клетки. Мутации обычно делят на две категории [81]: точечные мутации и крупные перестройки. Процесс возникновения мутаций называется мутагенезом, этот термин был предложен С. Коржинским в 1899 г. [82] и Х. де Фризом в 1903 г. [83] (см. также [84–86]).

Существует несколько моделей мутагенеза [87]: полимеразная, таутомерная, ультрафиолетовая, и др. Среди мутаций различают спонтанные и индуцированные. Первые возникают самопроизвольно, без внешнего воздействия, в нормальных для организма условиях окружающей среды, и происходят, в отличие от вторых, с очень малой вероятностью и не являются регулярными. Вторые возникают в результате процессов, происходящих в живой клетке, таких как репликация ДНК [88], нарушения репарации ДНК [89], транскрипции [90] и генетической рекомбинации [91].

Большой интерес вызывают точечные изменения в генетическом аппарате клетки, которые обычно связаны с ошибками на уровне отдельных нуклеиновых оснований — изменение (либо замена формы) основания в комплементарной паре. Это так называемые точечные мутации. Такие повреждения могут иметь систематический характер и быть причиной появления ряда хронических заболеваний. Как отмечено в [87] (стр. 6), известны два механизма спонтанных мутаций — таутомерный и ионизационный. Первый механизм связан с существованием таутомерных форм, в которые переходит молекулярный носитель информации посредством квантовых скачков. Это предположение впервые было высказано М. Дельбрюком, Н.В. Тимофеевым-Ресовским [92] и Э. Шредингером [93].

Хотелось бы в этом месте сделать маленькую паузу и вспомнить первую главу «От новой физики к новой биологии» книги М.Д. Франк-Каменецкого [47], повествующей о Максе Дельбрюке (1906-1981). В дополнение к написанному там ([47], стр. 6) стоит отметить следующее (см. также [94]): «будучи молодым, Макс Дельбрюк искал себе поле деятельности. Его выбор астрономии оказался неудачным, поскольку захватывающей наукой, разрабатываемой в середине 1920-х годов, была квантовая механика. Весной 1925 года 23-летний В. Гейзенберг задумал совершенно новый способ описания атомов и их частиц. В следующем году Э. Шредингер последовал их примеру со своей версией новой физики, названной волновой механикой. В начале 1926 года Гейзенберг приехал в Берлин, чтобы провести семинар, на котором присутствовал М. Дельбрюк. Хотя Макс не понимал ни слова из этого семинара, он понял, собрав замечания Альберта Эйнштейна, который сидел в первом ряду, что он стал свидетелем очень важного шага научного развития. Поэтому Макс перевел свой круг интересов на изучение новой квантовой теории. Он поступил в Геттинген в качестве аспиранта Макса Борна, в конце концов защитив «довольно скучную» (по его

словам) докторскую диссертацию «Тезисы о молекуле лития». Работая над этим, он начал задумываться об актуальности нового революционного понимания природы материи и света. В то время, благодаря стипендии Фонда Рокфеллера, Макс проводил некоторые постдокторские исследования в институте Бора в Копенгагене. На самом деле он не был счастлив быть физиком, поскольку дни великих открытий, казалось, закончились в 1928 году, когда Полу Дираку удалось объединить квантовую механику и теорию относительности. Конечно, нужно было проработать много деталей, но Макс не переключился со звезды на квант, чтобы сделать это. Он искал область, которая нуждалась в новых идеях, и он увидел свой шанс, когда посетил лекцию Бора 1932 года под названием «Свет и жизнь» [95]». В этой лекции Дельбрюка захватила идея комплементарности концепций волны и частицы: «В физике очевидно, что даже в самом простом случае, таком как электрон, бегущий вокруг протона, можно заниматься классической физикой до самого последнего дня и никогда не вытащить из него атом водорода. Чтобы достичь этого, нужно использовать дополнительный подход. Если взглянуть даже на самый простой вид клетки, известно, что она состоит из обычных элементов органической химии и, в этом случае, подчиняется законам физики. Можно проанализировать любое количество соединений, содержащихся в ней, но никогда не получишь из них живую бактерию, если не представишь совершенно новые и взаимодополняющие точки зрения» [96]. Идея взаимодополняемости была описана в таких деталях, потому что она важна для мышления М. Дельбрюка: «В течение многих лет она была единственной мотивацией для моей работы», как писал Дельбрюк в 1962 году, когда пригласил Бора прочесть еще одну лекцию о свете и жизни 30 лет спустя [97]».

Так вот, Э. Шредингер писал ([93], стр. 40): «Отбор не дает результаты, потому что малые, непрерывные различия не наследуются. Они, очевидно, не обусловлены строением наследственного вещества, они случайны. Но около 40 лет назад голландец де Фриз открыл, что в потомстве даже совершенно чистосортных линий появляется очень небольшое число особей — скажем, два или три на десятки тысяч — с небольшими, но скачкообразными изменениями. Выражение *скачкообразные* означает в этом случае не то, что изменения очень значительны, а только факт прерывности, так как между неизменными особями и немногими измененными нет промежуточных форм. Де Фриз назвал это *мутацией*. Здесь существенна именно прерывность. Физику она напоминает квантовую теорию — там тоже не наблюдается промежуточных ступеней между двумя соседними энергетическими уровнями атома. Физик был бы склонен мутационную теорию де Фриза фигурально назвать *квантовой теорией биологии* (курсив — авт.). Позже мы увидим, что это значительно больше, чем фигуральное выражение. Своим происхождением мутации действительно обязаны “квантовым скачкам” в генной молекуле» (см. также [44], стр. 9; отметим, что квантовые скачки — тема весьма деликатная в квантовой механике).

Заметим также, что Шредингер в своей книге [93] на стр. 49 ссылается на статью [92]: «В действительности при расчете мы следуем М. Дельбрюку (совместная работа его с Н.В. Тимофеевым-Ресовским и К.Г. Циммером)... Простейшее истолкование этого результата сводится к тому, что имеется достаточная вероятность возникновения данной мутации, если ионизация (или возбуждение) происходит не далее, чем на расстоянии около 10 атомов от определенного места в хромосоме...». Д. Гранин в романе «Зубр» о Тимофееве-Ресовском также вспоминает эту работу (стр. 81): «Позже, однако, на эту статью сослался Шредингер в своей нашумевшей книге «Что такое жизнь с точки зрения физики», и тогда открытие Зубра стало сенсацией».

Согласно таутомерной гипотезе Уотсона и Крика [50] (см. также [3, 98, 99]; среди недавних работ в этой области отметим работы ([100] и приведенные там ссылки)), которая звучит следующим образом ([50], стр. 130): «В нашей схеме дублирования специфичность репликации достигается посредством специфического спаривания между пуриновым и пиримидиновым основаниями; аденин с тимином и гуанин с одним из цитозинов. Эта специфичность проистекает из нашего предположения, что каждое из оснований обладает одной таутомерной формой, которая намного более устойчива, чем любая из других возможностей. Однако тот факт, что соединение является таутомерным, означает, что атомы водорода могут иногда менять свое местоположение. Нам кажется правдоподобным, что спонтанная мутация, которая, как мы подразумевали ранее, является изменением в последовательности оснований, происходит из-за того, что основание встречается очень редко в одной из менее вероятных таутомерных форм, в момент, когда комплементарная цепь формируется», точечные мутации могут возникать в результате таутомерных превращений (сдвигов) в основаниях комплементарных, т. н. уотсон-криковских, пар: аденин(А)-тимин(Т), гуанин(Г)-цитозин(С), связанных между собой двумя или тремя водородными связями, соответственно (см. Рис. 5 на примере А-Т пары).

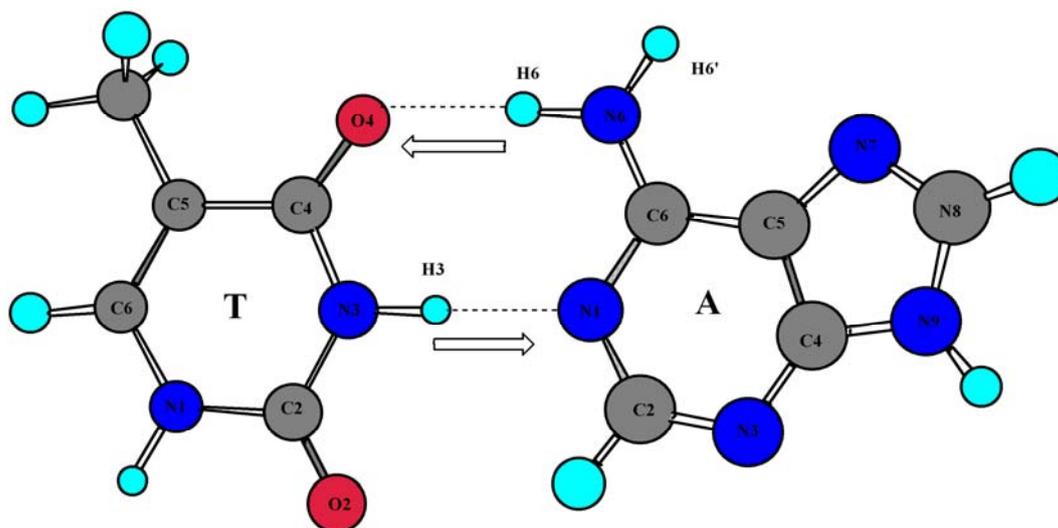


Рис. 5. Комплементарная пара $[A \cdot T]_{WC}$ ДНК. Стрелки обозначают переходы протонов по водородным связям. Различают два одинарных протонных переноса, см. формулы (2): 1. $N3-H3(T) \cdots N1(A) \Rightarrow N3(T) \cdots H3(T) - N1(A)$; 2. $N6-H6(A) \cdots O4(T) \Rightarrow N6(A) \cdots H6(A) - O4(T)$. Их суммарный перенос определяет двухпротонный перенос, $[A \cdot T]_{WC} \Leftrightarrow A^* \cdot T^*$, лежащий в основе туннельного механизма Лёвдина.

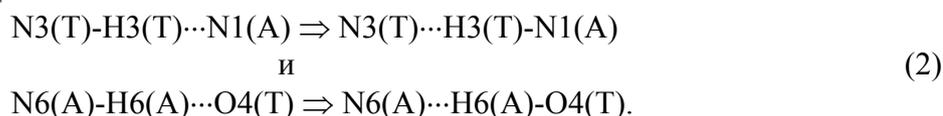
Каждое из оснований ДНК [101] обладает своей основной, равновесной таутомерной формой (как на Рис. 3): например, А — амина (-N6(A)H2), Т — кето (=O4(T)), характеризуемой определенными положениями атомов водорода. Для каждого основания, кроме того, существуют неравновесные, минорные таутомерные формы, возникающие в результате скачков протона между различными положениями, возможными у основания [102–104]: для А — это имино- (-N6(A)H-), А*, для Т — энольная (=O4(T)H), форма, Т* (более подробно см. [65] и [87]).

Существует три сценария таутомерной модели Уотсона-Крика, по которым в паре $[A \cdot T]_{WC}$ в двойной спирали ДНК происходят точечные мутации



Они таковы: (i) путем переходов протонов по водородным связям; (ii) за счет изменения места связывания протонов в основаниях пары; (iii) за счет образования

внутри- и внемолекулярных водородно-связанных мостиков, по которым протон(ы) может перемещаться от основной таутомерной формы к минорной. Такие мостики могут образовываться благодаря воде [105, 106]. Тем не менее, строго говоря, (1) не является таутомерным переходом ни в собственно А, ни в собственно Т, поскольку, по определению, Т* образуется вследствие перехода протона (атома водорода) НЗ(Т) от N3(Т) к О4(Т), а А* вследствие перехода Н6(А) от N6(А) к N1(А). (1), по сути, есть суммарный переход



Строго говоря, его стоит отнести к парной таутомеризации.

К первым относится т. н. механизм туннельного двухпротонного переноса (ДПП), предложенный П.-О. Лёвдиным [107, 108]. Лёвдин ([107], стр. 726) отмечает, что такой механизм находится в полном соответствии с идеями, выраженными Дельбрюком и обсуждаемыми Шредингером в его вышеупомянутой книге. Несмотря на огромный научный и практический интерес к этим исследованиям (см., например, [69]), механизм возникновения точечных мутаций до настоящего времени не изучен в достаточной мере. Это обусловлено сложностью макромолекулярных комплексов, в которых происходит передача информации, и трудностями прямого наблюдения образования неправильных форм нуклеиновых оснований *in vivo*.

Есть несколько моментов при сравнении одно- и двухпротонного переноса протона в уотсон-криковских парах, которые хотелось бы обсудить. Поскольку в паре [А·Т]_{WC} есть только две классические водородные связи, то в ней возможен единственный двухпротонный перенос, который описан в формуле (2) и который сохраняет общую нейтральность пары.

Отнюдь несправедливым здесь является вопрос об устойчивости таутомерной пары А*·Т* (см., например, [109]). Известно (см. [69]), что таутомерная пара А*·Т* лежит только на 0,22 ккал·моль⁻¹ ниже упомянутого выше барьера, тем самым ставя под вопрос существование по крайней мере одного связанного состояния в данной яме, которое определяет стабильность А*·Т*, если исходить из постулата Лёвдина [110, 111, 43] о молекуле, гласящего, что: «Система электронов и атомных ядер образует молекулу, если кулоновский гамильтониан Н, из которого выделено движение центра масс, имеет дискретное значение энергии основного состояния» (приведем оригинальное определение: "A system of electrons and atomic nuclei is said to form a molecule if the Coulombic Hamiltonian Н — with the centre of mass motion removed — has a discrete ground state energy E₀"). Или из определения молекулы, данного в IUPAC Gold Book [112]: «Молекула — это электрически нейтральное образование, состоящее из более чем одного атома (n > 1). Строго говоря, молекула, в которой n > 1, должна отвечать такой яме на поверхности потенциальной энергии, которая достаточно глубокая, чтобы содержать по крайней мере одно колебательное состояние».

Ход рассуждений авторов работы [69] был следующий: 0,22 ккал·моль⁻¹ примерно равно 77 см⁻¹. Как известно (см., например, [39]), низколежащие колебательные моды Н-связи А-Н...В, в частности, т. н. моды растяжения σ (или трансляции) и деформации γ, лежат в области ω ≥ 100 см⁻¹, так что в интервал 0–77 см⁻¹ может поместиться, в гармоническом приближении, только основное состояние с энергией (1/2)ω, если ω ≤ 154 см⁻¹. В этом контексте, пара А*·Т* существует и стабильна. Отметим, что рассчитанная в работе [113] методом MP2/6-311++G(d,p), глубина потенциальной ямы с парой А*·Т* составляет 49 см⁻¹ (см. Табл. 1 в [113]), что неслабо коррелирует с данными [69]. Тем не менее, в работе [69] на Рис. 4 показано, что локальный минимум,

отвечающий таутомерной паре, отсутствует на поверхности свободной энергии Гиббса (с учетом вклада нулевых колебаний в энтропию). Вообще, стоит отметить некоторую противоречивость в выводах ряда работ по глубине ямы с таутомерной парой оснований. Прежде всего, вопрос о глубине этой ямы почему-то был сведен к тому, каков на самом деле механизм перехода $[A-T]_{WC} \Rightarrow A^*-T^*$, туннельный, как предполагал Лёвдин, или классический, надбарьерный. Так, Годбир с соавторами [114] считает, что в ряде работ [69, 113] утверждалось, что туннельный механизм либо невозможен, либо маловероятен в силу статистической незначительности (В оригинале: "Some have claimed that tunnelling in DNA... is either not possible or so unlikely as to be statistically negligible"). Очевидно, такое утверждение несостоятельно, поскольку в первой и во второй цитируемых работах [69] существование пары A^*-T^* вообще отрицается, что подразумевает отсутствие конечного состояния при туннелировании.

Таким образом, указанная высота барьера свидетельствует о метастабильности пары A^*-T^* и, следовательно, о противоречивости концепции ДПП для объяснения вышеуказанной таутомерной мутации. В противном случае, метастабильность будет дополнительным фактором, определяющим частоту данной мутации. Авторы работы ([115], стр. 1460) считают, что «Это, однако, не опровергает возможную применимость гипотезы мутаций Лёвдина в случае пары оснований гуанин-цитозин, где ранее рассчитывалась меньшая разница в энергии обычных и редких таутомеров (по сравнению с $A \cdot T$ парой) и вклад релаксации геометрии еще предстоит определить. В этом месте следует отметить, что предложение Лёвдина не основано на чистых энергетических соображениях. Оно также предполагает, что после двойного переноса протонов и открытия двухцепочечной ДНК, основания остаются не-водородно-связанными до образования комплекса с другим основанием. Это предположение не вполне реалистично из-за наличия молекул воды, способных образовывать водородно-связанные комплексы с редкими таутомерами в матрице и способствующими обратному таутомерному переходу к каноническим формам оснований» (в оригинале: "This however does not disprove a possible applicability of the Lowdin mutation hypothesis in the case of the guanine-cytosine base pair, where a smaller difference in the energy of ordinary and rare tautomers (as compared with the AT pair) was previously calculated and the contribution of geometry relaxation still remains to be determined. It should be noted at this place that the proposition of Löwdin is not based on pure energetic grounds. It also assumes that after double proton transfer and the opening of the double stranded DNA, the bases remain non-hydrogen bonded until complex formation with another base. This assumption is not completely realistic because of the presence of water molecules, which are capable of forming hydrogen-bonded complexes with the rare tautomers in the template and which can possible promote the reverse tautomeric transition toward canonical forms of the bases").

Суммируя вышесказанное, мы наблюдаем некоторую дискриминацию между уотсон-криковскими парами по отношению к образованию точечных мутаций по ДПП-механизму Лёвдина. Ежели в паре $[G-C]_{WC}$ возможно такое образование точечной мутации, то в другой паре $[A \cdot T]_{WC}$ это невозможно в виду неустойчивости таутомерной пары $A^* \cdot T^*$. С одной стороны, очевидно, это противоречит разумному смыслу и известным экспериментам. С другой, упрощает таутомерную картину возникновения точечных мутаций.

Однако, не все так просто. Данный вопрос имеет несколько пластов. Первый: «Прежде всего, сам по себе туннельный переход протона в ДНК еще не приводит к мутации: для появления последней необходим хотя бы один акт репликации. Однако такой акт обязательно включает расхождение спиралей, после чего основания оказываются окруженными молекулами воды. Так как время установления равновесия

в растворе значительно меньше времени осаждения нуклеотида на матрице, то еще задолго до завершения цикла репликации установится равновесная для данного раствора концентрация ионизированных и редких таутомерных форм оснований ДНК. Для последующей судьбы этих форм безразлично, с помощью какого механизма они образовались: путем туннельного перехода или просто отщеплением (присоединением) протона в растворе. В результате, если не предполагать, что механизм Лёвдина почему-либо нарушает больцмановское распределение, оказывается, что по своим проявлениям в спонтанном мутагенезе он не может быть отличен от классического механизма мутаций, обусловленного таутомеризацией или ионизацией оснований. Положение существенно изменяется, если считать, что конфигурация тяжёлой ДНК во время репликации не позволяет внедряться между ними воде», — так считают В.И. Данилов и Г.Ф. Квенцель ([87], с. 28; здесь авторы [87] ссылаются на работы [116, 117] и на аналогичное замечание, высказанное Л.А. Блюменфельдом в 1965 г.). Второй: при внимательном взгляде вывод о невозможности образования таутомерной точечной мутации в $[A\cdot T]_{WC}$ был сделан при условии, что последняя пара изолирована и находится в газовой фазе.

Чтобы разобраться в данной ситуации, нам придется рассмотреть ее послыбно и вспомнить слова Ю.П. Благого из предисловия: «Молекулярная структура ДНК... стабилизируется молекулами воды и ионами металлов...». Эти две точки зрения получают продолжение в следующем разделе.

ДНК И ВОДА: ГИДРАТАЦИЯ, ПРИОТКРЫТИЕ ПАРЫ

«Структура (ДНК — авт.) открытая, содержание воды в ней довольно высокое. При более низком содержании воды можно ожидать, что основания наклонятся, чтобы конструкция стала более компактной».

Уотсон и Крик ([3], стр. 737);

оригинальный текст следующий:

"The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact."

In vivo, в макромолекуле ДНК происходит множество флуктуационных процессов на временах от пико- до миллисекунд и на расстояниях от долей до десяти ангстрем [118, 119]. В действительности, ДНК — это сложное молекулярное наноформирование, состоящее из водородно- и стэкинг-связанных пар оснований и образованное молекулами воды, объединяющимися в гидратные оболочки, и противоионами (см., например, [120–125] и приведенные там ссылки). В физиологическом солевом растворе (0,15 М раствор NaCl) это полиэлектролит, обычно отрицательно заряженный, в котором одна двухтяжевая молекула ДНК сильно отталкивает другую. Вообще говоря, в клетках и вирусах ДНК обычно находится в очень компактном состоянии [126].

Можно сказать, что вода является естественной средой «обитания» ДНК. От среды (растворителя) зависит, какую конформацию (В-ДНК, А-ДНК или Z-ДНК) будет принимать ДНК. Организация гидратированной среды ДНК выявила ключевую роль следующих взаимодействий: (i) планарные взаимодействия между основаниями, которые приводят к образованию водородно-связанных пар, имеющих в основном электростатическую природу; (ii) вертикальные взаимодействия, приводящие к формированию «стопочных» (стэкинг-структур), обусловленных ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями, в которых основной вклад дают лондоновские

дисперсионные взаимодействия (см., например, [22]) благодаря большой поляризуемости оснований; и *(iii)* взаимодействие между противоионами и молекулами воды как основными естественными компонентами среды, окружающей ДНК. Из многочисленных рентгеновских данных известно, что примерно два десятка (максимум 17) молекул воды необходимо для адекватного описания первой гидратной оболочки пары оснований [127–132].

Во многих работах исследовали *in silico* первую гидратную оболочку уотсон-криковских пар, в частности $[A \cdot T]_{WC}$, используя различные методы, от Монте-Карло и молекулярной динамики, до *ab initio* квантово-химических. Очевидно, молекула воды $w = H_w-O_w-H_w'$ в первой гидратной оболочке $[A \cdot T]_{WC}$ пары будет образовывать следующие водородные связи с O2(T), O4(T), C2(A)-H2, N6(A)-H'6: O2(T)···H_w-O_w-H_w'; O_w···H'6-N6-(A); O2(T)···H_w-O_w-H_w'; C2(A)-H2···O_w.; N9(A)-H9···O_w; N3(A)···H_w-O_w-H_w'; и O4(T)···H_w-O_w-H_w' (предпочтительные сайты гидратации можно увидеть на рисунке 5(a) работы [69]; в последней изображена $[A \cdot T]_{WC}$ пара, гидратированная семью молекулами воды).

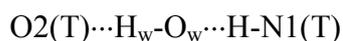
Дабы иметь некоторое представление об энергетике гидратации, рассчитанной методом перекрывающихся мультиполей, давайте взглянем на Табл. 1 [127].

Таблица 1 [127]. Схема моно-гидратации $[A \cdot T]_{WC}$ пары молекулой воды $H_w-O_w-H_w'$. Сайт моногидратации обозначается соответствующей(ими) характеристической(ими) водородной(ыми) связью(ями)

Характеристическая водородная связь	Энергия гидратации, ккал·моль ⁻¹ [127]
O2(T)···H _w -O _w -H _w '	-10,76
O _w ···H'6-N6-(A)	-10,13
O2(T)···H _w -O _w -H _w ' C2(A)-H2···O _w .	-9,50
N9(A)-H9···O _w .	-8,91
N3(A)···H _w -O _w -H _w '	-8,66
O4(T)···H _w -O _w -H _w '	-6,59

Несмотря на простоту этого вычислительного подхода, можно ожидать относительную слабость гидратации на атоме O4(T) — энергия гидратации здесь составляет всего лишь $-6,59$ ккал·моль⁻¹. Структура такого комплекса, далее именуемая как $[A-w-T]_o$, рассчитанная в настоящей работе в рамках указанного выше компьютерного метода B3LYP/6-311++G(d,p), представлена на Рис. 6.

B3LYP/6-311++G(d,p)-энергия взаимодействия данного комплекса оказывается равной $-4,0$ ккал·моль⁻¹, что представляется более реалистичной оценкой. Отметим, что в работе [130], использующей вычислительный уровень RI-MP2/cc-pVDZ, было исследовано 337 структур на потенциальной энергетической поверхности (ПЭП) взаимодействия A·T пары с молекулой воды. Среди 20 наиболее устойчивых структур, отличающихся энергиями стабилизации менее чем на 3 ккал·моль⁻¹, было найдено 12 планарных водородно-связанных и 5 стэкинг-структур $[A \cdot T]_{WC}$ пары с молекулой воды. Глобальный минимум данной ПЭП занимает, согласно [130], структура с энергией взаимодействия, равной $-7,06$ ккал·моль⁻¹, которая отвечает комплексу HB8 (в обозначениях рисунка 2(a) работы [130]) $[A \cdot T]-H_w-O_w-H_w'$, в котором молекула воды образует водородный мостик



и в котором [A·T] пара не является, к нашему удивлению, ни уотсон-криковской, ни хугстеновской, а образуется благодаря водородным связям O4(T)···H8(T)-N8(A) и N3(T)-H3(T)···N3(A).

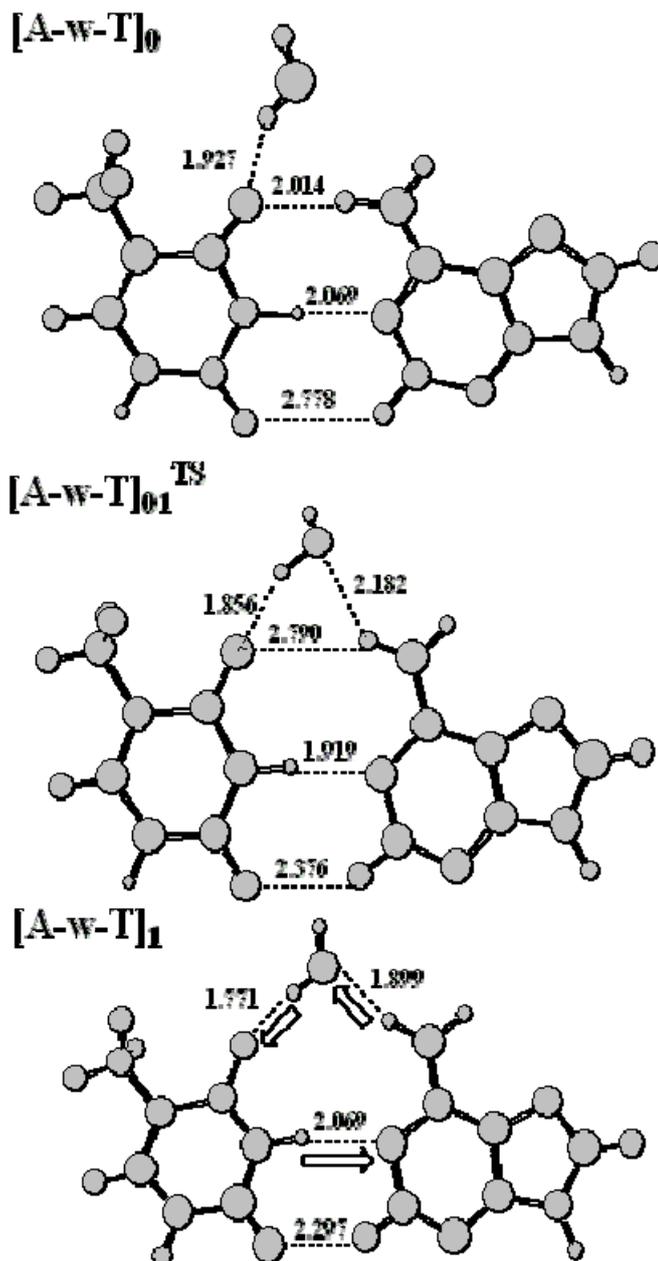


Рис. 6. Геометрии моно-гидратированных пар оснований, описывающих приоткрытие молекулой воды [A·T]_{wc}. В последней паре стрелки указывают возможные пути переноса протона, о котором идет речь ниже.

Указанный выше комплекс [A-w-T]₀, в некотором смысле, предваряет процесс, в котором молекула воды w внедряется во внутрь [A·T]_{wc} пары со стороны большого желоба — в результате образуется структура [A-w-T]₁, которая была найдена нами впервые в работах [133, 134]. Последняя также изображена на Рис. 6, где видна

некоторая «приоткрытость» (приоткрытие пары определяется разностью углов $\Delta\alpha_3 = \alpha_3 - \alpha_3^{WC}$ и $\Delta\alpha_4 = \alpha_4 - \alpha_4^{WC}$, где α_3 и α_4 определены в Табл. 2) уотсон-криковской пары А·Т (точнее, $[A\cdot T]_{WC}$), а именно ее внешней водородной связи со стороны большого желоба. Энергетические затраты на такое «приоткрытие» составляют примерно $6,5 \text{ ккал}\cdot\text{моль}^{-1}$. Такая приоткрытая пара $[A-w-T]_0$ может встраиваться в двойную спираль ДНК без существенных нарушений её регулярности, что было подтверждено в работах по молекулярно-динамическому моделированию подвижности оснований в парах ДНК в водном растворе [135] и в кристаллографических исследованиях по открытой G-C паре [136]. Действительно, достаточно взглянуть на Рис. 7, иллюстрирующий переход от $[A-w-T]_0$ к $[A-w-T]_1$, затраты на который составляют примерно $0,9 \text{ ккал}\cdot\text{моль}^{-1}$. Вообще говоря, известно, что гидратация ДНК может как стабилизировать обе пары, А·Т и G·С, так и дестабилизировать их, причем, либо только последнюю, либо обе. Обычно (см., например, [133, 134, 69] и приведенные там ссылки), компьютерные модели гидратации ДНК не нарушают целостности ее пар. В этом смысле, структура $[A-w-T]_1$ определенно отличается от известных структур гидратирования пары $[A\cdot T]_{WC}$.

Таблица 2. Параметры оснований нуклеиновых кислот изучаемых структур А·Т пар оснований без и с молекулой воды, А-w-T, рассчитанные методом B3LYP/6-31+G(d): R — расстояние между N9(A) и N1(T), $\alpha_1 = \angle N9(A)N9N1(T)$, $\alpha_2 = \angle N1(T)N1N9(A)$. Остальные углы $\alpha_3 = \angle N1(A)N3C4(T)$, $\alpha_4 = \angle N3(T)N1C6(A)$, $\alpha_5 = \angle C2C3(T)C6N3(A)$, и $\alpha_6 = \angle N1C4(A)N3C6(T)$ определяют, соответственно, приоткрывание, пропеллер (твист) и openings, propeller (twist), и изгиб, согласно определению, данному в [137].

Структура	R (Å)	α_1 (°)	α_2 (°)	α_3 (°)	α_4 (°)	α_5 (°)	α_6 (°)
$[A\cdot T]_{WC}$	10,184 10,10 ¹	54,0 54,5 ¹	54,6 55,5	116,1	123,6	0,0	0,77
$[A-w-T]_0$	9,510	65,3	67,7	125,2	139,7	26,4	178,67
$[A-w-T]_{01}^{TS}$	9,126	60,89	68,3	129,1	133,2	45,8	174,87
$[A-w-T]_1$	9,158 9,191 ²	64,4 63,7 ²	70,3 68,8 ²	131,1 130,0 ²	132,5 132,7 ²	-32,6 -33,0 ²	-179,13 179,85 ²
$[A-w-T]_{12}^{TS}$	9,144	62,6	75,0	139,8	126,8	22,5	-175,49
$[A-w-T]_2$	9,326	63,7	78,1	144,2	123,6	-15,0	177,09

¹Табл. 1 из работы [69]. ² Настоящая работа: B3LYP/6-311++G(d,p).

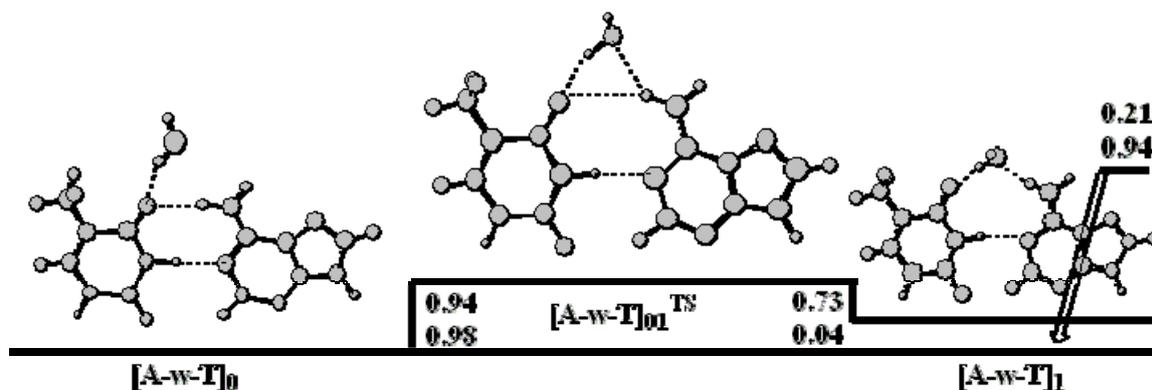


Рис. 7. Потенциальная поверхность приоткрывания водой комплементарной пары $[A\cdot T]_{WC}$. Геометрические характеристики указанных на рисунке пар оснований представлены на Рис. 6. Величина барьера определяется двумя цифрами (в $\text{ккал}\cdot\text{моль}^{-1}$): верхняя — без учета нулевых колебаний, нижняя — с учетом. Переходное состояние характеризуется отрицательной частотой перехода $\nu_{TS} = 46 \text{ i cm}^{-1}$.

В нашей, совместно с С.Н. Волковым, работе [70] мы предлагаем компьютерную модель механизма образования таутомерных мутаций в паре А-Т со встроенной молекулой воды. Мы показываем, что этот механизм в корне отличается от механизма Лёвдина двойного переноса протона благодаря тому, что встроенная молекула воды разрушает симметрию водородных связей, существующую в уотсон-криковской паре. Но это уже совсем другая история.

Суммируя вышесказанное, важно отметить следующее: с одной стороны, в приоткрытых парах со встроенной молекулой воды на внешней водородной связи создаются более благоприятные условия для переходов протонов между основаниями по центральной водородной связи. В этом случае водородные связи оснований в меньшей степени препятствуют переходу протона из-за меньшего электростатического отталкивания (большого расстояния) между ними. Поэтому приоткрытые пары с большей вероятностью могут служить источником образования таутомерных форм нуклеиновых оснований и служить вероятным механизмом образования точечных мутаций в ДНК. При этом, центральные водородные связи с участием иминогрупп оснований в парах остаются неповрежденными.

ПОСЛЕСЛОВИЕ

"We used to think our fate was in our stars. Now we know, in large measures, our fate is in our genes."

J.D. Watson, quoted in Time magazine, 20 March, 1989; [138]

«... знать, для чего живешь, или же все пустяки, трын-трава».

Маша (А.П. Чехов «Три сестры»)

Для меня, так, я думаю и уверен, и для Юрия Павловича, статья Уотсона и Крика об открытии структуры ДНК была откровением: для меня, естественно, позже — оно продолжается и поныне. Здесь же, в этой работе я попытался как-то обозначить вклад Юрия Павловича Благого в такой ретроспективе истории открытия ДНК и роли водородных связей в ее двуспиральной структуре, ее функционировании — посредством мутаций — в эволюции, и на фоне вкладов других ученых в таком срезе. И посему решил закончить эту работу любимой чеховской фразой — «Знать, для чего живешь». Убежден, Ю.П. Благой знал, для чего и ради чего жил.

Наконец, подведем итоги. Зная, благодаря Уотсону и Крику, структуру ДНК, мы предсказали ее некоторые свойства — в основном, ее мутагенные свойства. Вообще говоря, предсказание функциональных свойств по структуре — это такая же старая цель, как молекулярная биология, да и сама биология: очевидно, первый взгляд на анатомию животного, как и первый взгляд на белок или ДНК, должен был родить вопрос «Как это работает?». В этом — убежден — и была цель жизни Юрия Павловича Благого!

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор не имеет никаких конфликтов интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящая работа выполнена в рамках темы «Конформационная механика биологических макромолекул» лаборатории биофизики макромолекул Института теоретической физики им. Н.Н. Боголюбова НАН Украины. Я хотел бы выразить

благодарность Юрию П. Благому, Сергею Н. Волкову, Леониду Г. Горбу, Виктору И. Данилову, Галине И. Довбешко, Илье Г. Каплану, Энрико Клементи, Джине Коронджу, Светлане В. Корниловой, Яношу Ладику, Пер-Олов Лёвдину, Ежи Лещинскому, Владимиру Я. Малееву, Альберте и Бернарду Пульманам, Джеку Сабину, Леониду Ф. Суходубу, Максиму Д. Франк-Каменецкому, Фрэнку Харрису, Вольфраму Зенгеру и Георгию В. Юхневичу за те минуты и часы многократных обсуждений многогранных проблем ДНК и водородной связи в течение многих последних лет, которые, несомненно, помогли мне сформулировать круг задач, составляющих данную работу и выполнить ее так, чтобы не было стыдно посвятить ее памяти Юрия Павловича Благого. В заключение, я также хотел бы поблагодарить художницу Алёну Сергей за неожиданно-чудесную *инь-янь* композицию на Рис. 1, объединяющую красно- и синесдвинутые водородные связи.

Author's ORCID ID

E. S. Kryachko  <https://orcid.org/0000-0002-8179-1849>

REFERENCES

1. Blagoi YP. DNA interaction with biologically active substances (metal ions, dyes, drugs). *Soros Educational Journal*. 1998;10:18–24. Available from: https://web.archive.org/web/20061209031559/http://journal.issep.rssi.ru/articles/pdf/9810_018.pdf (in Russian)
2. Karachevtsev VO, Kosevich MV, Zhigalova NM. In memory of Professor Yuri P. Blagoi. *Biophysical bulletin*. 2018;39(1):81–2. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2018-39-07> (in Ukrainian)
3. Watson JD, Crick FHC. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953;171:737–8. <https://doi.org/10.1038/171737a0>
4. Chambers DA, editor. DNA: The Double Helix. Perspective and Prospective at 40 Years. *Ann N Y Acad Sci*. 1995;758:1–441. Available from: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/toc/17496632/1995/758/1>
5. Pearson H. Beyond the double helix. *Nature*. 2003;421:310–2. <https://doi.org/10.1038/421310a>
6. Gilbert W. Life after the helix. *Nature*. 2003;421:315–6. <https://doi.org/10.1038/421315a>
7. Dennis C, Campbell P. The eternal molecule. *Nature*. 2003;421:396. <https://doi.org/10.1038/nature01396>
8. Wilkins MHF, Stokes AR, Wilson HR. Molecular structure of nucleic acids: Molecular structure of deoxyribose nucleic acids. *Nature*. 1953;171:738–40. <https://doi.org/10.1038/171738a0>
9. Franklin RE, Gosling RG. Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature*. 1953;171:740–41. <https://doi.org/10.1038/171740a0>
10. Olby R. Quiet debut for the double helix. *Nature*. 2003;421:402–5. <https://doi.org/10.1038/nature01397>
11. McCarty M. Discovering genes are made of DNA. *Nature*. 2003;421:406. <https://doi.org/10.1038/nature01398>
12. Maddox B. The double helix and the 'wronged heroine'. *Nature*. 2003;421:407–8. <https://doi.org/10.1038/nature01399>
13. Pääbo S. The mosaic that is our genome. *Nature*. 2003;421:409–12. <https://doi.org/10.1038/nature01400>
14. Chakravarti A., Little A. Nature, nurture and human disease. *Nature*. 2003;421:412–4. <https://doi.org/10.1038/nature01401>
15. Bell JI. The double helix in clinical practice. *Nature*. 2003;421:414–6. <https://doi.org/10.1038/nature01402>
16. Kemp M. The *Mona Lisa* of modern science. *Nature*. 2003;421:416–20. <https://doi.org/10.1038/nature01403>
17. Ball P. Portrait of a molecule. *Nature*. 2003;421(6921):421–2. <https://doi.org/10.1038/nature01404>
18. Bustamante C, Bryant Z, Smith SB. Ten years of tension: single-molecule DNA mechanics. *Nature*. 2003;421:423–7. <https://doi.org/10.1038/nature01405>
19. Seeman NC. DNA in a material world. *Nature*. 2003;421:427–31. <https://doi.org/10.1038/nature01406>
20. Alberts B. DNA replication and recombination. *Nature*. 2003;421:431–5. <https://doi.org/10.1038/nature01407>
21. Friedberg EC. DNA damage and repair. *Nature*. 2003;421:436–40. <https://doi.org/10.1038/nature01408>
22. Nossal GJV. The double helix and immunology. *Nature*. 2003;421:440–4. <https://doi.org/10.1038/nature01409>
23. Hood L, Galas D. The digital code of DNA. *Nature*. 2003;421:444–8. <https://doi.org/10.1038/nature01410>
24. Felsenfeld G, Groudine M. Controlling the double helix. *Nature*. 2003;421:448–53. <https://doi.org/10.1038/nature01411>

25. Watson JD, Berry A. DNA: the Secret of Life. New York: Alfred A. Knopf; 2003. 446 p. ISBN: 0-375-41546-7.
26. Hovorun D. Gold anniversary of DNA double helix discovery. *Biopolym Cell*. 2003;19(3):209–10. <https://doi.org/10.7124/bc.19.3> (in Ukrainian)
27. Blagoi YP, Galkin VL, Gladchenko GO, et al. Metallokompleksy nukleinykh kislot v rastvorakh [Metal-containing complexes of nucleic acids in solutions]. Maleev V.Ya, editor. Kyiv: Naukova dumka; 1991. 270 p. ISBN 5-12-002499-0 (In Russian).
28. Jeffrey GA, Saenger W. Hydrogen Bonding in Biological Structures. Berlin: Springer-Verlag; 1991. 569 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-85135-3>
29. Moore TS, Winmill TF, CLXXVII. — The state of amines in aqueous solution. *J Chem Soc, Trans*. 1912;101:1635–76. <https://doi.org/10.1039/CT9120101635>
30. Huggins ML. 50 Years of Hydrogen Bond Theory. *Angew Chem Int Ed*. 1971;10:141–52. <https://doi.org/10.1002/anie.197101471>
31. Latimer WM, Rodebush WH. Polarity and ionization from the standpoint of the Lewis theory of valence. *J Am Chem Soc*. 1920;42(7):1419–33. <https://doi.org/10.1021/ja01452a015>
32. Pauling L. The shared-electron chemical bond. *PNAS*. 1928;14(4):359–62. <https://doi.org/10.1073/pnas.14.4.359>
33. Nernst W. Verteilung eines Stoffes zwischen zwei Lösungsmitteln und zwischen Lösungsmittel und Dampfraum. *Z Phys Chem*. 1891;8(1):110–39. <https://doi.org/10.1515/zpch-1891-0806> (in German)
34. Werner A. Über Haupt- und Nebenvalenzen und die Constitution der Ammoniumverbindungen. *Justus Liebigs Annal Chem*. 1902;322:261–97. <https://doi.org/10.1002/jlac.19023220302> (in German)
35. Oddo G, Puxeddu E. Sui 5-azoeugenoli e la costituzione dei cosidetti o-ossiazocomposti. *Gazz Chim Ital*. 1906;36(II):1–48.
36. Pfeiffer P, Fischer Ph, Kuntner J, Monti P, Pros Z. Zur theorie der Farblacke, II. *Justus Liebigs Annal Chem*. 1913;398:137–96. <https://doi.org/10.1002/jlac.19133980203>
37. Yuhnevich G.V. Vodorodnaja svjaz' – chastnyj sluchaj gipervalentnoj svjazi M.A. Il'inskogo [Hydrogen bond is a particular case of hypervalent bond by M.A. Illinski]. Idlis GM, editor. *Issledovaniya po istorii fiziki i mehaniki [Studies in the history of physics and mechanics]*. Moscow: Nauka; 2003. p. 220–36. ISBN: 5-02-002834-7 (in Russian).
38. Lewis GN. Valence and Structure of Atoms and Molecules. New York: The Chemical Catalog Company, Inc.: 1923. 172 p.
39. Pimentel GC, McClellan AL. The Hydrogen Bond. Moscow: Mir; 1964. 462 p. (in Russian).
40. International Union of Pure and Applied Chemistry. Compendium of Chemical Terminology, Gold Book, Version 2.3.3, 2014-02-24. Available from: <http://goldbook.iupac.org/files/pdf/goldbook.pdf>
41. Arunan E, Desiraju GR, Klein RA, Sadlej J, Scheiner S, Alkorta I, et al. Definition of the hydrogen bond (IUPAC Recommendations 2011). *Pure Appl Chem*. 2011;83(8):1637–41. <https://doi.org/10.1351/PAC-REC-10-01-02>
42. Arunan E, Desiraju GR, Klein RA, Sadlej J, Scheiner S, Alkorta I, et al. Defining the hydrogen bond: An account (IUPAC Technical Report). *Pure Appl Chem*. 2011;83:1619–36. <https://doi.org/10.1351/PAC-REP-10-01-01>
43. Kryachko ES. The concept of protonation in examples: From atoms and molecules to Watson-Crick base pairs of DNA. In: Germogen A, editor. *Protonation: properties, applications and effects*. New York: Nova Science Publishers; 2019. p. 143–236. ISBN: 978-1-53614-886-2
44. Pauling L. The nature of the chemical bond and the structure of molecules and crystals: An introduction to modern structural chemistry. 3rd ed. New York: Cornell University Press; 1960. 644 p. ISBN-13: 978-0801403330
45. Kaplan I.G. Vvedenie v teoriyu mezhmolekuliarnykh vzaimodeystvii. [Introduction to the theory of intermolecular interactions]. Moscow: Nauka; 1982. 312 p. (in Russian)
46. Kryachko ES. Neutral blue-shifting and blue-shifted hydrogen bonds. In: Grabowski S, editor. *Hydrogen Bonding — New Insights*. Dordrecht: Springer; 2006. p. 293–336. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4853-1_8
47. Frank-Kamenetskii MD. Samaia glavnaia molekula [The most important molecule]. Moscow: Nauka; 1983. 160 p. (in Russian).
48. Sinden RR. DNA twists and flips. *Nature*. 2005;437:1097–8. <https://doi.org/10.1038/4371097a>
49. Volkov SN. The conformational dependence of low-frequency vibrations of DNA macromolecule. *Biopolym Cell*. 1991;7(1):40–9. <https://doi.org/10.7124/bc.0002B0> (in Russian)
50. Watson JD, Crick FHC. The structure of DNA. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1953;18:123–31. <https://doi.org/10.1101/SQB.1953.018.01.020>
51. Cochran W, Crick FHC, Vand V. The structure of synthetic polypeptides. I. The transform of atoms on a helix. *Acta Cryst*. 1952;5:581–6. <https://doi.org/10.1107/S0365110X52001635>

52. Wilkins MHF, Wilson HR, Hamilton LD. Secondary structure of DNA. PNAS. 1970;65(3):761–2. <https://doi.org/10.1073/pnas.65.3.761>
53. Wu TT. Secondary structures of DNA. PNAS. 1969;63(2):400–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.63.2.400>
54. Watson JD. The Double Helix. A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA. New York: Atheneum; 1968. 226 p.
55. Asimov A. Geneticheskii kod [The Genetic Code]. Moscow: Tsentropoligraf; 2006. 202 p. (in Russian). ISBN: 5-9524-2230-6
56. Elkin LO. Rosalind Franklin and the Double Helix. Physics Today. 2003;56(3):42–8. <https://doi.org/10.1063/1.1570771>
57. Manchester KL. Did a tragic accident delay the discovery of the double helical structure of DNA? Trends Biochem Sci. 1995;20(3):126–8. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(00\)88981-1](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(00)88981-1)
58. Kuhn TS. Struktura nauchnykh revoliutcii [The structure of scientific revolutions]. Moscow: Progress; 1977. 300 p. (in Russian).
59. Dufour F. The Realities of 'Reality' — Part II: Making Sense of Why Modern Science Advances (Volume 1). 2018. Chapter XI: The Molecular Biology Revolution; p. 204–18. Available from: <https://ssrn.com/abstract=3251682>
60. Hoshika S, Leal NA, Kim M-J, Kim M-S, Karalkar NB, Kim H-J, et al. Hachimoji DNA and RNA: A genetic system with eight building blocks. Science. 2019;363:884–7. <https://doi.org/10.1126/science.aat0971>
61. Warren M. Four new DNA letters double life's alphabet. Nature. 2019;566:436. <https://doi.org/10.1038/d41586-019-00650-8>
62. Georgiadis MM, Singh I, Kellett WF, Hoshika S, Benner SA, Richards NGJ. Structural basis for a six nucleotide genetic alphabet. J Am Chem Soc. 2015;137(21):6947–55. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b03482>
63. Kryachko ES. The origin of spontaneous point mutations in DNA via Löwdin mechanism of proton tunneling in DNA base pairs: Cure with covalent base pairing. Int J Quantum Chem. 2002;90(2):910–23. <https://doi.org/10.1002/qua.975>
64. Jeffrey GA. An Introduction to Hydrogen Bonding. New York: Oxford University Press; 1997. 320 p. ISBN 0-19-509549-9
65. Saenger W. The Principles of Nucleic Acid Structure. Moscow: Mir; 1987. 584 p. (in Russian).
66. Sinden RR. DNA Structure and Function. Academic Press: San Diego; 1994. 398 p. ISBN: 9780126457506
67. Bulavin LA, Hovorun DM, Nikolaienko TYu. Structure of the monomers of DNA. Kyiv: Naukova Dumka; 2014. 205 p. <https://doi.org/10.13140/2.1.2257.1208> (in Russian)
68. Sukhodub LF. Interactions and hydration of nucleic acid bases in a vacuum. Experimental study. Chem Rev. 1987;87(3):589–606. <https://doi.org/10.1021/cr00079a006>
69. Gorb L, Podolyan Y, Dziekonski P, Sokalski WA, 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;126(32):10119–29. <https://doi.org/10.1021/ja049155n>
70. Kryachko ES, Volkov SN. To the understanding of the mechanism of formation of point mutations in DNA. Dopov Nac acad nauk Ukr. 2018;7:103–12. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.07.103> (in Ukrainian).
71. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. *Gaussian 09*, Revision C.01; Gaussian, Inc.: Wallingford CT, 2010. Available from: <https://gaussian.com/>
72. Hoogsteen K. The crystal and molecular structure of a hydrogen-bonded complex between 1-methylthymine and 9-methyladenine. Acta Cryst. 1963;16:907–16. <https://doi.org/10.1107/S0365110X63002437>
73. Nikolova EN, Kim E, Wise AA, O'Brien PJ, Andricioaei I, Al-Hashimi HM. Transient Hoogsteen base pairs in canonical duplex DNA. Nature. 2011;470:498–502. <https://doi.org/10.1038/nature09775>
74. Frank-Kamenetskii MD. DNA breathes Hoogsteen. Artificial DNA: PNA & XNA. 2011;2(1):1–3. <https://doi.org/10.4161/adna.2.1.15509>
75. Subirana JA. DNA discoveries through crystallography. Nature. 2003;423(6941):683. <https://doi.org/10.1038/423683b>
76. Nikolova EN, Zhou H, Gottardo FL, Alvey HS, Kimsey IJ, Al-Hashimi HM. A historical account of Hoogsteen base-pairs in duplex DNA. Biopolymers. 2013;99:955–68. <https://doi.org/10.1002/bip.22334>
77. Ichas M. Biologicheskii kod [Biological code]. Moscow: Mir. 1971. 352 p. (in Russian)
78. Six thousand pet dogs help find mutation for one breed's striking blue eyes. Nature. 2018;562:310. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-06987-w>
79. Deane-Coe PE, Chu ET, Slavney A, Boyko AR, Sams AJ. Direct-to-consumer DNA testing of 6,000 dogs reveals 98.6-kb duplication associated with blue eyes and heterochromia in Siberian Huskies, PLoS Genet. 2018;14(10), e1007648. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007648>
80. Lehninger AL. Biochemistry: The Molecular Basis of Cells Structure and Function. Moscow: Mir; 1976. 960 p. (in Russian).

81. Stent GS, Kjelindar R. Molekuliarnaia genetika [Molecular genetics]. Moscow: Mir; 1974. 614 p. (in Russian).
82. Korzhinskii S. Geterogenesis i evolyutsiya. K teorii proishozhdeniya vidov [Heterogenesis and evolution. On theory of the origin of species]. Mémoires de l'Académie Impériale des Sciences de St. Pétersbourg. Série VIII. 1899;9(2):1–94. Available from: <http://libarch.nmu.org.ua/bitstream/handle/GenofondUA/7317/4150d1dd5615e1288e0666d6427c6a47.djvu?sequence=1&isAllowed=y> (in Russian).
83. Friz E. Molekuliarnyi mekhanizm mutatsii [Molecular mechanism of mutations] In: Belozerskii AN, editor. Molekuliarnaia genetika [Molecular genetics]. Part I. Moscow: Mir; 1964. p. 226–91. (in Russian)
84. De Friz G. Izbrannye proizvedeniia [Selected works]. Moscow: Gosudarstvennoe medicinskoe izdatel'stvo; 1932. 148 p. (in Russian). ISBN: 978-5-4458-1972-1
85. Chetverikov SS. O nekotorykh momentakh evoliutsionnogo protessa s tochki zreniia sovremennoi genetiki [On some moments of evolutionary process from the viewpoint of the modern genetics]. Biull. Moskovskogo obshchestva ispytatelei prirody. Otdel biologicheskii [Bull. Moscow Society of nature investigators. Biology department]. 1965;70(4). (in Russian)
86. Soifer V. Ochen lichnaia kniga. Vospominaniia o velikikh rossiiskikh uchenykh Sergee Chetverikove i Nikolae Timofeeve-Resovskom [A very private book. Memoirs on the great Russian scientists S. Chetverikov and Nikolai Timofeev-Resovski.]. Novyi Mir. 2009;3. (in Russian). Available from: https://magazines.gorky.media/novyi_mi/2009/3/ochen-lichnaya-kniga.html
87. Danilov VI, Kventcel GF. Elektronnye predstavleniia v teorii tochechnykh mutatsii [Electronic representations in point mutation theory]. Kyiv: Naukova dumka; 1971. 84 p. (in Russian)
88. Meselson M, Stahl FW. The replication of DNA in Escherichia coli. PNAS. 1958;44(7):671–82. <https://doi.org/10.1073/pnas.44.7.671>
89. Friedberg EC, Walker GC, Siede W, Wood RD, Schultz RA, Ellenberger T. DNA repair and mutagenesis. 2nd ed. Washington: ASM Press; 2006. Part 3, DNA damage tolerance and mutagenesis. p. 461-750. <https://doi.org/10.1128/9781555816704>
90. Jonczyk P, Fijalkowska I, Ciesla Z. Overproduction of the subunit of DNA polymerase III counteracts the SOS mutagenic response of Escherichia coli. PNAS. 1988;85(23):9124–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.23.9124>
91. Nee S. Deleterious mutation and genetic recombination. Nature. 1988;331:308. <https://doi.org/10.1038/331308a0>
92. Timoféeff-Ressovsky NW, Zimmer KG, Delbrück M. Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. Nachrichten der Gesellschaft der Wissenschaften zu Göttingen (VI). 1935;1:189–245. Available from: <https://www.ini.uzh.ch/~tobi/fun/max/timofeffZimmerDelbruck1935.pdf>
93. Schrödinger E. What is life? The Physical Aspect of the Living Cell. Cambridge University Press; 1944. 194 p.
94. Fischer EP. Max Delbrück. Genetics. 2007;177(2):673–6. Available from: <https://www.genetics.org/content/177/2/673.article-info>
95. Bohr N. Light and Life. Nature. 1933;131:421–3. <https://doi.org/10.1038/131421a0>
96. Fischer EP, Lipson CP. Thinking About Science: Max Delbrück and the Origin of Molecular Biology. New York: W.W. Norton & Co Inc. 1988. 334 p. ISBN: 978-0393025088
97. Bohr N. Licht und Leben-noch einmal. Naturwissenschaften. 1963;50:725–7. <https://doi.org/10.1007/BF00627713> (in German)
98. Topal MD, Fresco JR. Complementary base pairing and the origin of substitution mutations. Nature. 1976;263:285–9. <https://doi.org/10.1038/263285a0>
99. Goodman MF. Mutations caught in the act. Nature. 1995;378:237–8. <https://doi.org/10.1038/378237a0>
100. Brovarets' OO, Hovorun DM. Tautomeric transition between wobble A·C DNA base mispair and Watson-Crick-like A·C* mismatch: microstructural mechanism and biological significance. Phys Chem Chem Phys. 2015;17:15103–10. <https://doi.org/10.1039/c5cp01568e>
101. Freese EB. On the molecular explanation of spontaneous and induced mutations. Brookhaven Symp Biol. 1959;12:63–75.
102. Pullman B, Pullman A. Electronic aspects of purine tautomerism. Adv Heterocycl Chem. 1971;13:77–159. [https://doi.org/10.1016/S0065-2725\(08\)60349-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2725(08)60349-9)
103. Kwiatkowski JS, Pullman B. Tautomerism and electronic structure of biological pyrimidines. Adv Heterocycl Chem. 1975;18:199–335. [https://doi.org/10.1016/S0065-2725\(08\)60131-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2725(08)60131-2)
104. Colominas C, Luque FJ, Orozco M. Tautomerism and protonation of guanine and cytosine. Implications in the formation of hydrogen-bonded complexes. J Am Chem Soc. 1996;118(29):6811–21. <https://doi.org/10.1021/ja954293l>
105. Clementi E. Structure of water and counter ions for nucleic acids in solution. In: Clementi E, Sarma RH, editors. Structure and Dynamics: Nucleic Acids and Proteins. N.Y.: Academic Press; 1983. p. 321–64.

106. Masoodi HR, Bagheri S, Abareghi M. The effects of tautomerization and protonation on the adenine–cytosine mismatches: a density functional theory study. *J Biomol Struct Dyn*. 2016;34(6):1143–55. <https://doi.org/10.1080/07391102.2015.1072734>
107. Löwdin P-O. Proton tunneling in DNA and its biological implications. *Rev Mod Phys*. 1963;35:724. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.35.724>
108. Löwdin P-O. Effect of Proton Tunnelling in DNA on Genetic Information and Problems of Mutations, Aging, and Tumors. *Biopolymers Symp*. 1964;1:161–81.
109. Brovarets' OO, Hovorun DN. How stable are the mutagenic tautomers of DNA bases? *Biopolym Cell*. 2010;26(1):72–6. <https://doi.org/10.7124/bc.000147> (in Ukrainian).
110. Löwdin P-O. The mathematical definition of a molecule and molecular structure. In: Maruani J, editor. *Molecules in physics, chemistry, and biology. Physical aspects of molecular systems. Volume 2*. Dordrecht: Springer; 1988. p. 3–60. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-2851-0>
111. Löwdin P-O. On nuclear motion and the definition of molecular structure. *J Mol Struct: THEOCHEM*. 1991;230:13–5. [https://doi.org/10.1016/0166-1280\(91\)85169-8](https://doi.org/10.1016/0166-1280(91)85169-8)
112. McNaught AD, Wilkinson A. *IUPAC Compendium of Chemical Terminology (the "Gold Book")*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1997. Available from: <http://goldbook.iupac.org>
113. Brovarets' OO, Hovorun DM. Proton tunnelling in the A·T Watson-Crick DNA base pair: myth or reality? *J Biomol Struct Dyn*. 2015;33:2716–20. <https://doi.org/10.1080/07391102.2015.1092886>
114. Godbeer AD, Al-Khalili JS, Stevenson PD. Modelling proton tunnelling in the adenine-thymine base pair. *Phys Chem Chem Phys*. 2015;17:13034–44. <https://doi.org/10.1039/C5CP00472A>
115. Florián J, Hroudá V, Hobza V. Proton transfer in the adenine-thymine base pair. *J Am Chem Soc*. 1994;116(4):1457–60. <https://doi.org/10.1021/ja00083a034>
116. Platt JR. Chemical aspects of genetics. *Annu Rev Phys Chem*. 1965;16:503–24. <https://doi.org/10.1146/annurev.pc.16.100165.002443>
117. Löwdin P-O. Some Properties of the Hydrogen Bonds in Biochemistry with Particular Reference to the Stability of the Genetic Code. *Pontificiae Academiae Scientiarum. Scripta Varia. Semaine d'Etude sur les Forces Moléculaires*, 18-23 avril 1966. 1967 ;31:637–708.
118. Frank-Kamenetskii MD. Fluktuatsionnaia podvizhnost DNK [Fluctuation mobility of DNA]. *Mol Biol. (Moscow)*. 1983;17:639–52. (in Russian)
119. Frank-Kamenetskii MD, Prakash S. Fluctuations in the DNA double helix: A critical review. *Phys Life Rev*. 2014;11(2):153–70. <https://doi.org/10.1016/j.plrev.2014.01.005>
120. Jacobson B. Hydration structure of deoxyribonucleic acid and its physico-chemical properties. *Nature*. 1953;172:666–7. <https://doi.org/10.1038/172666a0>
121. Semenov MA, Maleev VYa. Energetika gidratatsii DNK [Energetics of DNA hydration]. *Biophysics (Russian)*. 1986; 31(5):764–71. (in Russian)
122. Maleev VYa, Semenov MA, Gasan AI. Energeticheskie aspekty gidratatsii DNK [Energetic aspects of the hydration of DNA]. In: *Ravnovesnaia dinamika struktury biopolimerov [Equilibrium dynamics of biopolymers' structure]*. Pushhino; 1990. (in Russian)
123. Yanson IK, Teplitsky AB, Sukhodub LF. Experimental studies of molecular interactions between nitrogen bases of nucleic acids. *Biopolymers*. 1979;18(5):1149–70. <https://doi.org/10.1002/bip.1979.360180510>
124. Verkin BI, Yanson IK, Sukhodub LF. Vzaimodeistviia biomolekul: Novye eksperimentalnye podkhody i metody [The interactions of biomolecules: New experimental approaches and methods]. Kyiv: Naukova Dumka; 1985. 164 p. (in Russian)
125. Perepelytsya SM. Dynamical ordering of metal ions around DNA double helix. *Visn Nac Akad Nauk Ukr*. 2014;1:89–95. (In Ukrainian). <https://doi.org/10.15407/visn2014.01.089>
126. Eisenberg B. Computing the field in proteins and channels. *J Membrane Biol*. 1996;150:1–25. <https://doi.org/10.1007/s002329900026>
127. Goldblum A, Perahia D, Pullman A. Hydration scheme of the complementary base-pairs of DNA, *FEBS Lett*. 1978;91(2):213–5. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(78\)81175-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(78)81175-2)
128. Clementi E, Corongiu G. A theoretical study of the water structure for nucleic acids bases and base pairs in solution at T=300K. *J Chem Phys*. 1980;72(7):3979–92. <https://doi.org/10.1063/1.439676>
129. Clementi E. Structure of water and counterions for nucleic acids in solution. In: Clementi E, Sarma RH, editors. *Structure and Dynamics: Nucleic Acids and Proteins*. New York: Adenine Press; 1983. p. 321–64.
130. Kabeláč M, Zendlova L, Řeha D, Hobza P. Potential energy surfaces of an adenine-thymine base pair and its methylated analogue in the presence of one and two water molecules: Molecular mechanics and correlated ab initio study. *J Phys Chem B*. 2005;109(24):12206–13. <https://doi.org/10.1021/jp045970d>
131. Poltev VI, Gonzalez EH, Teplukhin AV. Possible role of rare tautomers of DNA bases in mutagenesis: Evaluation of hydration effect on tautomeric equilibrium by Monte Carlo simulation. *Mol Biol. (Moscow)*. 1995;29(2): 213–9.

132. Danilov VI, Dailidonis VV, Mourik T, Fruchtl HA. A study of nucleic acid base-stacking by the Monte Carlo method: Extended cluster approach. *Cent Eur J Chem.* 2011;9(4):720–7. <https://doi.org/10.2478/s11532-011-0056-0>
133. Kryachko ES, Volkov SN. Preopened states of DNA base pair. *Physics of the Alive.* 2000;7(2):118–24.
134. Kryachko ES, Volkov SN. Preopening of the DNA base pairs. *Int J Quantum Chem.* 2001;82:193–204. <https://doi.org/10.1002/qua.1040>
135. Giudice E, Várnai P, Lavery R. Base pair opening within B-DNA: free energy pathways for GC and AT pairs from umbrella sampling simulations. *Nucl Acids Res.* 2003;31(5):1434–43. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg239>
136. van Aalten DMF, Erlanson DA, Verdine GL, Joshua-Tor L. A structural snapshot of base-pair opening in DNA. *PNAS.* 1999;96(21):11809–14. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.21.11809>
137. Diekmann S. Definitions and nomenclature of nucleic acid structure parameters. *J Mol Biol.* 1989;205(4):787–91. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(89\)90324-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(89)90324-0)
138. Jaroff I. The gene hunt. *Time.* 1989;133(12):62–7.