Броварець Ольга Олександрівна. Назва дисертаційної роботи: "Мікроструктурні механізми виникнення спонтанних точкових мутацій"

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

БРОВАРЕЦЬ Ольга Олександрівна

УДК 577.3: 577.32: 577.338

МІКРОСТРУКТУРНІ МЕХАНІЗМИ ВИНИКНЕННЯ СПОНТАННИХ

ТОЧКОВИХ МУТАЦІЙ

03.00.02 – біофізика (фізико-математичні науки)

ДИСЕРТАЦІЯ

на здобуття наукового ступеня

доктора фізико-математичних наук

Науковий консультант:

Говорун Дмитро Миколайович,

доктор біологічних наук, професор,

член-кореспондент НАН України

Київ – 2015

2

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК ОСНОВНИХ ПОНЯТЬ ТА УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ …………………9

ВСТУП ............................................................................................................................11

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ................................................................................25

1.1. Фізико-хімічні механізми виникнення спонтанних точкових мутацій.......25

1.1.1. Структурні особливості неправильних пар основ ДНК ......................27

1.1.2. Таутомерна гіпотеза Вотсона-Крика виникнення спонтанних

точкових мутацій ...............................................................................................28

1.1.3. Механізм Льовдіна подвійного тунелювання протонів вздовж

сусідніх міжмолекулярних H-зв’язків у Вотсон-Криківських парах основ

ДНК .....................................................................................................................31

1.1.4. Пари основ ДНК із Вотсон-Криківською геометрією за участю

мутагенних таутомерів ......................................................................................38

1.1.5. Утворення вобл-пар за участю основ у канонічній таутомерній формі

у подвійній спіралі ДНК....................................................................................39

1.2. Фізико-хімічні механізми функціонування ДНК-полімераз при біосинтезі

ДНК............................................................................................................................41

1.2.1. Фізико-хімічні механізми забезпечення точності реплікації ДНК

ДНК-полімеразами.............................................................................................41

1.2.2. Фізико-хімічні засади стеричної та електронної комплементарності

між ДНК-полімеразою та синтезованою парою основ ..................................44

1.3. Репараційні механізми підвищення точності біосинтезу ДНК....................46

ВИСНОВКИ....................................................................................................................50

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ: МЕТОДОЛОГІЯ

КВАНТОВО-ХІМІЧНОГО ОБЧИСЛЮВАЛЬНОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ ...............51

2.1. Квантово-хімічні розрахунки геометрії, коливальних частот, електронної

енергії та вільної енергії Гіббса..............................................................................51

2.2. Локалізація перехідних станів реакцій таутомеризації ................................52

3

2.3. Розрахунок кінетичних параметрів реацій таутомеризації ..........................52

2.4. Розрахунок енергії взаємодії основ у парах...................................................53

2.5. Ідентифікація специфічних міжмолекулярних контактів та розрахунок

їхньої енергії.............................................................................................................54

РОЗДІЛ 3. СТРУКТУРНО-ЕНЕРГЕТИЧНІ ТА ТАУТОМЕРНІ ВЛАСТИВОСТІ

ПОВНОЇ МНОЖИНИ НЕПРАВИЛЬНИХ ПАР НУКЛЕОТИДНИХ ОСНОВ, ЯКІ

СПРИЧИНЯЮТЬ ВИНИКНЕННЯ СПОНТАННИХ ТОЧКОВИХ МУТАЦІЙ......56

3.1.Структурно-енергетичні властивості повної множини неправильних пар

нуклеотидних основ, які спричиняють спонтанні точкові мутації.....................56

3.1.1. Структурно-динамічні властивості піримідиново-піримідинових пар

основ ДНК з цис-орієнтованими глікозидними зв’язками [88]……………56

3.1.2. Структурний механізм підлашування геометрії довгих пуриновопуринових місметчів ДНК до ензиматично-компетентної конформації [58]

………………………………………………………………………………….62

3.1.3. Молекулярні засади мутагенної дії гіпоксантину – продукту

спонтанного дезамінування аденіну [96] …………………………………...69

3.1.3.1. Прототропна таутомерія гіпоксантину………………………72

3.1.3.2. Молекулярні механізми таутомеризації гіпоксантину……...74

3.1.3.3. Елементарні молекулярні механізми мутагенної дії

гіпоксантину як продукту дезамінування аденіну…………………...79

3.1.4. Молекулярна логіка спонтанного точкового мутагенезу [75]………85

3.2.Таутомерні властивості повної множини неправильних пар нуклеотидних

основ, які спричиняють спонтанні точкові мутації..……………………………93

3.2.1. Таутомеризація подвійним перенесенням протонів вздовж сусідніх

міжмолекулярних Н-зв’язків довгих Вотсон-Криківських пар

нуклеотидних основ….………………………..……………………………...93

3.2.1.1.Таутомеризація H∙H↔H\*∙H\* [80] …………………………….93

3.2.1.2.Таутомеризація H·H\*↔H\*·H [78].……………………………95

4

3.2.1.3.Таутомеризація H·A↔H\*·A\* [67]..…………………………...97

3.2.1.4.Таутомеризація A·A\*↔A\*·A [79].…………………………..100

3.2.1.5.Таутомеризація A·G↔A\*·G\* [70] …………………………..102

3.2.1.6.Таутомеризація G·G\*↔G\*·G [66]...…………………………104

3.2.2. Таутомеризація подвійним перенесенням протонів вздовж сусідніх

міжмолекулярних Н-зв’язків неправильних пар нуклеотидних основ із

геометрією, подібною до Вотсон-Криківської…………………………….107

3.2.2.1.Взаємна таутомеризація пар A\*·C і A·C\* [64].……..………108

3.2.2.2.Взаємна таутомеризація пар G·T\* і G\*·T [62]..…………….110

3.2.2.3.Взаємна таутомеризація пар H∙C і H\*∙C\* [80]……………....113

3.2.2.4.Взаємна таутомеризація пар H\*∙T і H∙T\* [80]..……………..114

3.2.3. Таутомеризація подвійним перенесенням протонів вздовж сусідніх

міжмолекулярних Н-зв’язків коротких Вотсон-Криківських пар основ

ДНК...……………..……………..……………..……………..…………..…..116

3.2.3.1.Таутомеризація пари C·С\* [76] ..……………..……………...116

3.2.3.2.Таутомеризація пари C·T [77] ..……………..…………….....120

3.2.3.3.Таутомеризація пари T·T\* [72]∙ ..……………..……………..123

3.2.4. Таутомеризація подвійним перенесенням протонів вздовж сусідніх

міжмолекулярних Н-зв’язків пар основ ДНК, у яких один із мономерів

знаходиться у син-орієнтації відносно цукрового

залишку..……………..…………….....……………..……………...………...125

3.2.4.1.Таутомерне перетворення місметчу G·G\*

syn [74]…...………125

3.2.4.2.Таутомерне перетворення місметчу Топала-Фреско А\*·Аsyn

[71]…….……...…………………...…………………...………………130

3.2.4.3.Таутомерне перетворення місметчів G·Asyn та A\*·G\*

syn [69]

…….……...…………………...…………………...…………………...134

ВИСНОВКИ..................................................................................................................139

5

РОЗДІЛ 4. КЛАСИЧНІ МЕХАНІЗМИ ТАУТОМЕРИЗАЦІЇ ПОДВІЙНИМ

ПЕРЕНЕСЕННЯМ ПРОТОНІВ ВЗДОВЖ СУСІДНІХ МІЖМОЛЕКУЛЯРНИХ НЗВ’ЯЗКІВ ВОТСОН-КРИКІВСЬКИХ, ВОБЛІВСЬКИХ ПАР ОСНОВ ДНК ТА

МОДЕЛЬНИХ БІЛКОВО-НУКЛЕЇНОВИХ КОМПЛЕКСІВ..................................142

4.1. Таутомеризація Вотсон-Криківської пари основ ДНК А·Т за механізмом

Льовдіна [73]...........................................................................................................143

4.2. Тунелювання протонів у Вотсон-Криківській парі основ ДНК А·Т: міф чи

реальність? [53] ......................................................................................................151

4.3. Таутомеризація Вотсон-Криківської пари основ ДНК G·C за механізмом

Льовдіна [65]...........................................................................................................153

4.4. Таутомеризація вобл-пари G·T за механізмом Льовдіна............................156

4.5. Таутомеризація модельних білково-нуклеїнових комплексів подвійним

перенесенням протонів вздовж сусідніх міжмолекулярних Н-зв’язків [86] ...160

ВИСНОВКИ................................................................................................................165

РОЗДІЛ 5. ВЗАЄМНІ ТАУТОМЕРНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ ПАР ОСНОВ ДНК ІЗ

ВОТСОН-КРИКІВСЬКОЮ ТА ВОБЛІВСЬКОЮ ГЕОМЕТРІЄЮ ЯК КЛЮЧ ДО

МІКРОСТРУКТУРНИХ МЕХАНІЗМІВ ВИНИКНЕННЯ СПОНТАННИХ

ТОЧКОВИХ МУТАЦІЙ............................................................................................167

5.1. Нові структурні іпостасі Вотсон-Криківських пар основ ДНК A·T і G·C,

спричинені їхньою мутагенною таутомеризацією у воблівські пари [52].......167

5.1.1. Мутагенна таутомеризація Вотсон-Криківської пари основ ДНК А·Т

у воблівські місметчі .......................................................................................169

5.1.2. Мутагенна таутомеризація Вотсон-Криківської пари основ ДНК G·C

у воблівські місметчі. ......................................................................................175

5.2. Мікроструктурний механізм та біологічна важливість таутомерного

перетворення між вобл-парою А·С та парою A·C\* із Вотсон-Криківською

геометрією [59].......................................................................................................185

6

5.3. Скількома шляхами таутомеризації неправильна пара основ ДНК

A∙C\*(WC) зв’язана із воблівськими місметчами? .............................................191

5.4. Дослідження усіх можливих шляхів взаємного таутомерного перетворення

пари G\*·T з Вотсон-Криківською геометрією та вобл-пари G·T [60]..............203

5.4.1. Біологічна значущість отриманих результатів: критичне обговорення

............................................................................................................................214

5.5. Вплив модифікації урацилу на бар’єр таутомеризації зміщеної пари

Gua∙

5XU у пару з Вотсон-Криківською геометрією G\*∙5XU [81, 87]...............220

5.6. Нові фізико-хімічні механізми мутагенної таутомеризації неправильних

пар основ ДНК A·G і C·T із Вотсон-Криківською архітектурою Н-зв’язування

[56]...........................................................................................................................224

5.6.1. Мутагенна таутомеризація довгої Вотсон-Криківської пари основ

ДНК A·G ...........................................................................................................225

5.6.2. Мутагенна таутомеризація короткої Вотсон-Криківської пари основ

ДНК С·Т............................................................................................................230

5.6.3. Біологічна значущість нового фізико-хімічного механізму мутагенної

таутомеризації пар основ ДНК A∙G та C∙T із Вотсон-Криківською

архітектурою Н-зв’язування ...........................................................................234

5.7. Таутомерні переходи у неправильних гомопуринових парах основ ДНК як

ключ до інтимних механізмів спонтанних трансверсій [55].............................238

5.7.1. Вобл↔Вотсон-Крик таутомеризація гомопар за участю А ..............238

5.7.2 Вобл↔Вотсон-Крик таутомеризація гомопар за участю G ...............243

5.7.3 Біологічна значущість отриманих результатів ....................................246

5.8. Нова концепція виникнення спонтанних трансверсій, спричинених

таутомерними переходами у гомопіримідинових місметчах ДНК ..................249

ВИСНОВКИ................................................................................................................260

7

РОЗДІЛ 6. МІЖМОЛЕКУЛЯРНІ Н-ЗВ'ЯЗКИ CH···O/N У ПАРАХ

НУКЛЕОТИДНИХ ОСНОВ ТА ЇХНЯ РОЛЬ У СПОНТАННОМУ ТОЧКОВОМУ

МУТАГЕНЕЗІ.............................................................................................................263

6.1. Всебічне квантово-хімічне вивчення міжмолекулярних Н-зв'язків

CH···O/N у біологічно важливих парах канонічних нуклеотидних основ [68]

..................................................................................................................................264

6.2. Вичерпне квантово-хімічне дослідження міжмолекулярних Н-зв'язків

CH···O/N у біологічно важливих парах модифікованих основ ДНК і РНК [61] ..

..................................................................................................................................273

6.3. Квантово-хімічне дослідження структурно-енергетичних властивостей

чотирьох біологічно важливих конфігурацій пар Вотсон-Криківських пар

основ ДНК A·T і G·C.............................................................................................282

6.3.1. Структурно-енергетичні властивості чотирьох конфігурацій пари

основ ДНК А∙Т [83]….…………….....……………..……………...………..282

6.3.2. Фізико-хімічний механізм “дихання” пари основ ДНК G∙C за

Хугстином [84]…...…..…………….....……………..……………...………..286

6.4. Квантово-хімічне підтвердження гіпотези Вахтерсхаузера про еволюційне

походження комплементарних пар основ ДНК [82] ..........................................290

ВИСНОВКИ..................................................................................................................296

РОЗДІЛ 7. ВИЧЕРПНИЙ КОНФОРМАЦІЙНИЙ АНАЛІЗ МУТАГЕНІВ –

ПОХІДНИХ АДЕНІНУ, ГУАНІНУ ТА ЦИТОЗИНУ ..............................................299

7.1. Квантово-хімічне вивчення внутрішньомолекулярної таутомеризації та

конформаційної мінливості мутагенів – похідних пуринових основ ДНК [91]

..................................................................................................................................299

7.2. Квантово-хімічне дослідження внутрішньомолекулярної таутомеризації та

конформаційної мінливості деяких класичних мутагенів - похідних цитозину

[90]. ..........................................................................................................................314

ВИСНОВКИ..................................................................................................................330

8

ПІДСУМКОВІ ВИСНОВКИ.......................................................................................331

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....................................337

9

ПЕРЕЛІК ОСНОВНИХ ПОНЯТЬ ТА УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВКР – внутрішня координата реакції

ДМСО – диметилсульфоксид

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

дНТФ – дезоксинуклеозидтрифосфат

КМ – квантова механіка

КТ – ключова точка

КТЗ – критична точка зв’язку

НК – нуклеїнова кислота

ППП – подвійне перенесення протонів

УФ – ультрафіолет

ЯМР – ядерний магнітний резонанс

A – аденін

2AP – 2-амінопурин

5BrU – 5-бромурацил

CH3COOH – оцтова кислота

5ClU – 5-хлорурацил

C – цитозин

P – 6H,8H-3,4-дигідро-піримідо[4,5-c][1,2]-оксазин-7-он

EHB – енергія водневого зв’язку

5

FU – 5-фторурацил

G – гуанін

Н-зв’язок – водневий зв’язок

1Н ЯМР – ядерний магнітний резонанс на ядрах атомів водню

H – гіпоксантин

h – стала Планка

10

in vitro – поза клітиною

in vivo – у клітині

k – константа швидкості

kБ – стала Больцмана

К – стала таутомерної рівноваги

R – універсальна газова стала

T – абсолютна температура

T – тимін

TS – перехідний стан

ε – діелектрична проникність

µ – дипольний момент

ν – частота коливання

νi – уявна частота

ρ – електронна густина

Δρ – лапласіан електронної густини

τ – час життя

τ99,9%

– час, за який досягається 99,9% рівноважної концентрації реагенту

та продукту реакції таутомеризації

τ1/2 – час напівжиття

ΔEdef – електронна енергія деформації

ΔEint – електронна енергія взаємодії

ΔG – відносна енергія Гіббса

ΔGint – енергія Гіббса взаємодії

11

ВСТУП

Актуальність теми. Пошук елементарних фізико-хімічних механізмів

виникнення спонтанних та індукованих аналогами нуклеотидних основ точкових

мутацій ДНК, з-поміж яких левову частку складають транзиції та трансверсії, є

однією із центральних задач молекулярної та квантової біофізики [1-8]. Попри

помітні теоретичні успіхи, досягнуті у цій біологічно важливій царині знань,

отримання, накопичення та систематизація експериментального матеріалу

помітно випереджає темпи його осмислення та інтерпретації на

мікроструктурному рівні [9-13]. Аналіз літератури вказує на те, що причиною

цього є відсутність продуктивних модельних уявлень якісно нового ґатунку [14-

22].

Нині достеменно відомо, що першопричиною виникнення спонтанних

точкових мутацій є утворення у кишені впізнавання високоточної ДНКполімерази неправильних пар основ ДНК, здатних набувати ензиматичнокомпетентної конформації, що гарантує їхню хімічну інкорпорацію у структуру

подвійної спіралі ДНК, що синтезується. Водночас експериментальні дані

стосовно структури неправильних пар нуклеотидних основ, утворення яких

спричиняє виникнення мутацій, залишаються вельми обмеженими: виняток

становлять лише дві пуриново-піримідинові пари А·С і G·T [23-25]. Методом

рентгеноструктурного аналізу встановлено, що їхньою ензиматичнокомпетентною конформацією є Вотсон-Криківська будова, яка реалізується за

умови перебування однієї із двох основ у кожній парі у мутагенній, рідкісній

таутомерній формі [10, 11]. Для решти неправильних пар, активних гравців на

полі спонтанного точкового мутагенезу, експериментальні дані про їхню

ензиматично-компетентну конформацію, яка реалізується у закритому стані

високоточної ДНК-полімерази, відсутні. Такий стан речей стримує дослідження

12

структурно-динамічних властивостей як ДНК-реплікативної машинерії, так і

реплісоми.

Більше того, до цього часу так і не викристалізувалася усталена точка зору

щодо елементарних фізико-хімічних механізмів виникнення спонтанних та

індукованих аналогами нуклеотидних основ точкових мутацій.

Одні дослідники притримуються таутомерної гіпотези, яка пов’язує

точковий мутагенез із спонтанним переходом основ ДНК із канонічної у

мінорну, мутагенну таутомерну форму [26]. "Вузьким місцем" таких підходів є

відсутність чітких уявлень про механізми виникнення рідкісних таутомерів

нуклеотидних основ [27]. Так, класична модель Льовдіна [28, 29] зводить процес

формування мутагенних таутомерів у складі Вотсон-Криківських пар основ ДНК

до подвійного перенесення протонів вздовж сусідніх міжмолекулярних Нзв'язків. Тривалий час вона вважалася адекватною, проте останні дослідження

вказують на те, що таутомеризовані пари Льовдіна A\*∙T\* та G\*∙C\* є

короткоживучими структурами [30], які можуть "вислизати із рук" інертної

реплікативної машинерії, не спричиняючи мутацій.

Такий стан речей спонукає до розробки альтернативних моделей

мутагенної таутомеризації основ ДНК. Найобґрунтованішим із таких підходів є

таутомеризація основ поодинокою молекулою води [31] – найбільшою його

вадою є постулювання у суттєво гідрофобному активному центрі ДНКполімерази [32-36], що входить до складу реплісоми, молекул води.

Інші вчені переконані, що спонтанні точкові мутації спричиняються

неправильними парами, до складу яких входять основи ДНК у основній,

канонічній таутомерній формі [37]. У цьому разі залишається незрозумілим

механізм адаптації вобл-пар до ензиматично-компетентних розмірів у доволі

жорсткій, слабко деформовній кишені впізнавання високоточної ДНКполімерази [38].

13

Об’єднує ці два підходи лише те, що у обох випадках відсутня загальна

фізико-хімічна концепція природи спонтанних точкових помилок і виникнення

кожної із 12 з них розглядається як унікальне явище. У літературі не

представлені спроби чи ідеї, спрямовані на об’єднання вищезгаданих підходів у

єдину, внутрішньо несуперечливу концепцію.

Наразі створення такої концепції як розв’язання важливої наукової

проблеми є вкрай актуальною міждисциплінарною задачею, покликаною

нагальними фундаментальними і прикладними потребами. Так, без розуміння

елементарних механізмів виникнення спонтанних точкових мутацій неможливо

просунутися вперед у розробці стратегії управління нестабільністю геному, у

розумінні фізико-хімічних підвалин еволюції, при дизайні високоефективних

мутагенів – аналогів нуклеотидних основ із адресною дією для цільового

використання, зокрема, у антивірусній та антиканцерній терапії, сподіватися на

істотне підвищення у недалекому майбутньому точності нанопристроїв

біомолекулярної електроніки, які використовують ДНК як носій інформації,

створення синтетичних макромолекулярних структур, здатних реплікуватися із

наперед заданою точністю тощо.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертацію

виконано відповідно до плану науково-дослідної роботи відділу молекулярної та

квантової біофізики Інституту молекулярної біології і генетики (ІМБіГ) НАН

України за держбюджетною темою "Фізико-хімічна природа спонтанних та

індукованих аналогами нуклеотидних основ транзицій та трансверсій"

(№ держреєстрації: 0110U000690, 2011-2015 р.р.), у рамках низки грантів,

отриманих на конкурсних засадах, за науковим керівництвом здобувача: гранту

Президента України для обдарованої молоді на 2012 рік "Квантово-хімічний

скринінг високоефективних мутагенів медико-біологічного призначення"

(договір № 30/2012 від 16.10.2012 р.), гранту Президента України для підтримки

наукових досліджень молодих учених на 2012 рік "Молекулярна природа

14

точкових мутацій, індукованих модифікованими основами ДНК: модельне

квантово-хімічне дослідження" (проект № GP/F44/086, № держреєстрації:

0112U006872), гранту Президента України для підтримки наукових досліджень

молодих учених на 2013 рік "Молекулярні механізми точкових мутацій ДНК,

спричинених окисненням її пуринових основ: модельне квантово-хімічне

дослідження" (проект № GP/F49/024, № держреєстрації: 0113U005884), гранту

Президента України для підтримки наукових досліджень молодих учених на

2014 рік "Мутагенна таутомеризація Вотсон-Криківських пар основ ДНК

одинарним перенесенням протону: квантово-хімічне дослідження" (проект

№ GP/F56/074, № держреєстрації: 0114U006522), гранту Президента України для

підтримки наукових досліджень молодих учених на 2015 рік "Фізико-хімічна

природа спонтанних точкових помилок реплікації ДНК: квантово-механічне

дослідження" (проект № GP/F61/028, № держреєстрації: 0115U005424), гранту

НАН України на реалізацію проектів науково-дослідних робіт молодих учених

НАН України "Фізико-хімічні механізми спонтанних точкових мутацій:

модельне квантово-хімічне дослідження" (№ держреєстрації: 0115U004564,

2015-2016 р.р.) та гранту УНТЦ–НАН України "Розробка апаратури для

отримання іонних та рентгенівських мікропучків з використанням

електростатичних прискорювачів та дослідження радіаційних пошкоджень

клітин при адронній терапії: квантово-хімічне дослідження опромінених

біооб'єктів" (№ держреєстрації: 0114U005202, 2013-2014 р.р.); у рамках

міжнародних грантів, у яких дисертант була відповідальним виконавцем:

українсько-російського гранту "Теоретичне дослідження біологічно важливих

молекулярних систем у рамках континуальної моделі середовища, що явно

враховує його неоднорідність" (проект № F 40.4/039, № держреєстрації:

0111U006629/0112U003651, 2011-2012 р.р.), українсько-словенського гранту

"Конформаційна мінливість 2'-дезоксирибонуклеозидів та 2'-рибонуклеозидів:

квантово-хімічне дослідження" (проект № F 40.4/039, № держреєстрації:

15

0111U007526/0112U005368, 2011-2012 р.р.), українсько-японського гранту

"Дослідження прямої та непрямої дії радіаційного опромінення на біологічні

системи" (проект № F 52.2/001, № держреєстрації: 0113U006456, 2013-2014 р.р.),

а також у рамках гранту Науково-навчального центру "Державна ключова

лабораторія молекулярної та клітинної біології" "Макромолекули та їх

комплекси в реалізації генетичної інформації" (проект № F 46.1/011,

№ держреєстрації: 0111U005988, 2011-2012 р.р.).

Мета і завдання досліджень. Мета роботи – розв’язати наукову

проблему – встановити елементарні мікроструктурні механізми, які визначають

молекулярну логіку спонтанного точкового мутагенезу – виникнення та

закріплення помилок включення і реплікації при біосинтезі ДНК.

Для реалізації цієї мети вирішувалися наступні комплексні завдання:

1. Спираючись на літературні джерела та власний досвід, вибрати належний

рівень квантово-хімічної теорії, який би ґарантував оптимальний компроміс між

витратами часу, необхідного для високопродуктивних обчислень, та точністю

останніх і дозволяв кваліфікувати комп’ютерні розрахунки як числовий

експеримент. Розробити формат подачі результатів обчислювального

експерименту.

2. Враховуючи попередній власний досвід та підходи інших авторів,

представлені у літературі, обґрунтувати адекватність робочої моделі – Нзв’язаних пар нуклеотидних основ.

3. Із усіх можливих пуриново-пуринових, пуриново-піримідинових та

піримідиново-піримідинових неправильних пар основ ДНК виокремити

структури із цис-орієнтованими глікозидними зв’язками, здатні набувати у

процесі теплових флуктуацій розмірів, характерних для канонічних пар основ

ДНК.

4. Розробити методику дослідження механізмів перенесення протонів у

біологічно-важливих парах нуклеотидних основ, яка би дозволяла

16

відслідковувати зміни геометричних, енергетичних, полярних, зарядових та

електронно-топологічних характеристик міжмолекулярних Н-зв’язків вздовж

внутрішньої координати реакції (ВКР) таутомеризації, чисельно оцінювати

кооперативність останніх та робити об’єктивний висновок про характер перебігу

реакції.

5. Вивчити фізико-хімічні механізми таутомеризації пар основ ДНК, які є

структурними учасниками процесів спонтанного точкового мутагенезу,

закцентувавши особливу увагу на мутагенну таутомеризацію як канонічних, так

і неправильних пар нуклеотидних основ. Дослідити усі можливі маршрути

таутомеризації пар та вибрати із них найприйнятніші з огляду на їхні

енергетичні та кінетичні характеристики. Встановити, у який спосіб реалізується

спонтанна мутагенна таутомеризація Вотсон-Криківських пар основ ДНК та як

вобл-пари нуклеотидних основ набувають каталітично-компетентної

конформації безпосередньо у гідрофобній кишені впізнавання високоточної

ДНК-полімерази.

6. Розробити підходи щодо механізмів розпізнавання та видалення із геному

репараційними системами неправильних пар основ ДНК, які спричиняють

спонтанні точкові мутації.

7. Спираючись на геометричні критерії Н-зв’язування, вибрати із

літературних джерел пари канонічних та модифікованих нуклеотидних основ із

специфічними міжмолекулярними контактами СН···O/N. Використовуючи

найширший арсенал квантово-хімічних підходів, ідентифікувати серед них Нзв’язки та визначити їхні основні фізико-хімічні параметри. Встановити

найнадійніші дескриптори Н-зв’язків СН···O/N та окреслити можливу біологічну

роль останніх.

8. Провести вичерпний конформаційний аналіз класичних мутагенів –

модифікованих пуринових та піримідинових нуклеотидних основ. Встановити

17

основні фізико-хімічні чинники, відповідальні за таутомерні та конформаційні

рівноваги.

9. Співставити результати обчислювального експерименту із даними

молекулярно-біологічних та біофізичних експериментів, представлених у

літературі. Узагальнити результати досліджень та зробити висновки.

Об’єкт дослідження – мікроструктурні засади виникнення спонтанних та

індукованих деякими класичними мутагенами – аналогами нуклеотидних основ

– транзицій і трансверсій та механізми їхнього контролю репараційними

системами.

Предмет дослідження – фізико-хімічні механізми таутомерних

взаємоперетворень усіх можливих пуриново-пуринових, пуриновопіримідинових та піримідиново-піримідинових пар основ ДНК за участю

канонічних основ у відповідні пари з Вотсон-Криківською геометрією, які

містять рідкісні (мутагенні) таутомери, подвійним перенесенням протонів, що

супроводжуються або ні суттєвою зміною геометрії комплексу, що

таутомеризується; фізико-хімічні механізми набуття неправильними парами

основ ДНК, активними учасниками спонтанного точкового мутагенезу,

ензиматично-компетентної конформації.

Методи дослідження – неемпіричні (ab initio) квантово-хімічні

розрахункові методи, які реалізовано з використанням програмного пакету

«Gaussian’09» [39], а саме – методи функціоналу електронної густини (DFT) –

гібридні функціонали B3LYP [40] та M05 [41], метод теорії збурень другого

порядку Меллера-Плесета (MP2) [42]; метод STQN локалізації перехідного стану

(TS) [43]; розрахунок шляху реакції вздовж її ВКР [44]; методи фізико-хімічної

кінетики, які ґрунтуються на теорії перехідного стану [45]; метод спектральної

"калориметрії" за Йогансеном [46]; аналіз топології електронної густини за

Бейдером (так звана теорія "Атомів у молекулах") [47] із використанням

програмного пакету AIMAll [48]; метод оцінки енергії класичних Н-зв’язків за

18

формулою Ніколаєнка-Булавіна-Говоруна [49]; метод оцінки енергії слабких Нзв’язків СН···O/N та притягувальних ван-дер-ваальсових контактів за формулою

Еспінози-Молінса-Лекомте (ЕМЛ) [50]; часткове дейтерування кислих груп

основ ДНК як метод запобігання механічним резонансам

внутрішньомолекулярних коливань; статистичні методи оцінки похибок та

апроксимації даних обчислювального експерименту тощо.

Наукова новизна одержаних результатів. Наукова новизна

дисертаційного дослідження визначається низкою вперше отриманих у його

рамках пріоритетних результатів, що стосуються розв’язання важливої наукової

проблеми – встановлення мікроструктурних механізмів виникнення спонтанних

точкових мутацій.

1. Пари основ ДНК (класичні, довгі та короткі) із Вотсон-Криківською

геометрією та вобл-пари, до складу яких входять одні й ті ж самі основи,

знаходяться у повільній у порівнянні із часом, який витрачає високоточна ДНКполімераза на інкорпорацію одного нуклеотиду у подвійну спіраль ДНК,

таутомерній рівновазі, тобто взаємно перетворюються одна в одну

внутрішьопарним перенесенням протонів через високостабільний перехідний

стан – тісну іонну пару типу (протонована основа)·(депротонована основа).

Це важливо для розуміння мікроструктурних механізмів виникнення

мутагенних таутомерів основ ДНК, набуття неправильними парами

нуклеотидних основ ДНК ензиматично-компетентної конформації безпосередньо

у гідрофобній кишені впізнавання високоточної ДНК-полімерази та оцінки

імовірності цих процесів.

2. Класичні, довгі та короткі Вотсон-Криківські (за винятком пар A·A\* i

C·C\*) і вобл-пари основ ДНК не таутомеризуються подвійним перенесенням

протонів вздовж міжмолекулярних Н-зв’язків. Це означає, що таутомерний

статус цих структур залишається незмінним при їхній дисоціації ДНК-

19

реплікативною машинерією на мономери: це важливо для розуміння механізмів

закріплення мутацій при наступних раундах реплікації ДНК.

3. Якщо припустити, що репараційні системи розпізнають са́ме воблівську

(w) конфігурацію неправильних пар основ ДНК, то тоді точність видалення

останніх буде визначатися таутомерною рівновагою w↔WC. Чим сильніше ця

рівновага зсунута праворуч (Вотсон-Криківська (WC) геометрія неправильної

пари – це "схованка" від її репарації), тим більша імовірність уникнення

неправильною парою її репарації.

Ґрунтуючись на таких уявленнях, відтворено молекулярну логіку

взаємоперетворень, що зв’язує скінченну множину пар основ ДНК, – зародження

та закріплення спонтанних точкових мутацій, – яка задовільно віддзеркалює

експериментальні факти:

T·G/G·T > A·C/C·A >> C·T/T·C > A·A > G·A/A·G >> G·G ≈ C·C [9].

4. У рамках розвиненої теорії спонтанного точкового мутагенезу вперше

з’ясовано мікроструктурні механізми мутагенної дії класичних мутагенів –

аналогів нуклеотидних основ – галоген-похідних урацилу, 2-амінопурину та

модифікованого цитозину.

Як підсумок – у роботі вперше встановлено елементарні мікроструктурні

механізми, які визначають молекулярну логіку спонтанного точкового

мутагенезу – виникнення та закріплення помилок включення і реплікації при

біосинтезі ДНК, та зроблено висновок про те, що спонтанні точкові мутації

еволюційно запрограмовані у електронній будові канонічних основ ДНК і відтак

є невідворотними.

Наукові праці здобувача, у яких викладено результати дисертаційного

дослідження, активно цитуються міжнародною науковою спільнотою у

поважних фахових журналах, таких, зокрема, як Nature, Acc. Chem. Res., Angew.

Chem. Int. Ed., Neuroscientist, J. Chem. Theory Comput., Chemistry, J. Phys. Chem.

С, В, А, Phys. Chem. Chem. Phys., CrystEngComm, RSC Adv., ChemPhysChem, J.

20

Chem. Phys., J. Biomol. Struct. & Dyn. та ін. Дисертант посідає шосте місце у

рейтингу п’ятдесяти найцитованіших молодих науковців України, складеному за

показниками наукометричної бази даних Scopus, із індексом Гірша 19.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані у дисертації

результати можуть бути використані у науково-дослідній практиці при вивченні

механізмів таутомеризації H-зв’язаних комплексів будь-якого походження та

будови, при з’ясуванні елементарних фізико-хімічних механізмів мутагенної дії

на ДНК модифікованих нуклеотидних основ, при плануванні "прицільних"

молекулярно-біологічних експериментів у області спонтанного та індукованого

аналогами нуклеотидних основ точкового мутагенезу, при ідентифікації та

встановленні можливої біологічної значущості слабких неканонічних Н-зв’язків

та притягувальних ван-дер-ваальсових контактів, при плануванні ЯМР- і

рентгеноструктурних експериментів, спрямованих на з’ясування

мікроструктурних засад точності кодон-атикодонових взаємодій, та інтерпретації

отриманих за їхньою допомогою даних. Узагальнений висновок дисертанта про

природу екстремумів першої похідної електронної енергії комплексу за ВКР

його таутомеризації значно розширює сфери ефективного застосування цієї

функції, зокрема, у фізичній хімії та молекулярній фізиці при дослідженні

процесів протонної мобільності. Отримані у дисертації дані можуть бути

корисними також при розробці алгоритмів комп’ютерного скринінгу

потенційних мутагенів – похідних нуклеотидних основ із адресною дією, у

біомолекулярній наноелектроніці, для дизайну високоефективних мутагенів для

потреб антивірусної та антиканцерної терапії, а також при викладанні спецкурсів

та проведенні лабораторних робіт, що стосуються механізмів нестабільності

геному, студентам ВНЗ України, котрі спеціалізуються у галузі молекулярної

біології та молекулярної біофізики. Значну частину дисертаційного матеріалу

впроваджено у навчальний процес при читанні курсу "Молекулярна та квантова

біофізика" студентам, які навчалися у магістратурі Інституту високих технологій

21

Київського національного університету імені Тараса Шевченка протягом 2011-

2015 навчальних років, проф. Говоруном Д.М. за безпосередньої участі

дисертанта.

Дослідження за темою дисертації відзначено низкою нагород, зокрема:

Премією Президента України для молодих вчених за роботу "Біологічно важливі

структурно-конформаційні властивості деяких білків та нуклеїнових кислот"

(2010 р.), Премією Верховної Ради України найталановитішим молодим ученим

в галузі фундаментальних і прикладних досліджень та науково-технічних

розробок за роботу "Елементарні квантово-хімічні моделі точкових мутацій

ДНК" (2012 р.), Премією Кабінету Міністрів України за особливі досягнення

молоді у розбудові України у номінації "За наукові досягнення" (2012 р.),

Премією Національної академії наук України для молодих учених за серію робіт

"Природа спонтанних точкових мутацій ДНК: квантово-хімічні моделі" (2013 р.)

та ін.

Особистий внесок здобувача. Усі наукові результати, положення і

висновки, що складають суть дисертації і виносяться на її захист, отримано та

сформульовано здобувачем особисто.

Дисертантом одноосібно здійснено пошук, аналіз та опрацювання

літературних джерел, оформлення табличних та графічних даних, а також

текстів усіх статей. Мету та постановку задачі, обговорення та аналіз результатів

досліджень, а також підготовку до друку та публікацію наукових праць

здійснено разом із науковим консультантом – членом-кореспондентом НАН

України, проф. Говоруном Д.М.

Особистий внесок дисертанта до основних робіт [51-110] полягає у

наступному. У розділі монографії [51] здобувач брала безпосередню участь у

пошуку, аналізі та опрацюванні літературних джерел, а також написанні тексту

розділу, власноруч провела квантово-хімічні розрахунки, узагальнила отримані

дані, оформила табличні та графічні дані. У працях [52-60, 62-67, 69-80]

22

дисертант брала безпосередню участь у вивченні мікроструктурних механізмів

та пошуку всіх можливих шляхів таутомеризації Вотсон-Криківських пар основ

ДНК та неправильних пар нуклеотидних основ подвійним перенесенням

протонів, використовуючи методи квантової хімії, отриманні фізико-хімічних

параметрів, що характеризують таутомеризацію Н-зв’язаних комплексів вздовж

ВКР, аналізі отриманих даних та оформленні результатів досліджень як

наукових статей. У працях [61, 68] здобувачу належить провідна роль у пошуку в

літературних джерелах та кристалографічних базах даних пар основ, які містять

контакти CH···O/N, дослідженні квантово-хімічними методами їхніх

геометричних, коливальних та енергетичних характеристик, оформленні

отриманих даних, побудові кореляційних залежностей; також вона брала

безпосередню участь у формулюванні проблеми, обговоренні отриманих

результатів та оформленні статей. У роботах [85, 86, 89-92] автор самостійно

проводила квантово-хімічні дослідження таутомеризації нуклеотидних основ у

модельних білково-нуклеїнових комплексах, внутрішньомолекулярної

таутомеризації та конформаційного різноманіття класичних мутагенів –

похідних цитозину та пуринів, ІЧ-спектрів Н-зв’язаних пар основ та мутагенних

властивостей гіпоксантину, брала безпосередню участь у інтерпретації

отриманих результатів, оформленні табличних та графічних даних, а також у

написанні текстів статей. Роботи [81-84, 87, 88] виконано автором одноосібно.

Здобувачем зроблено низку усних і стендових доповідей на українських та

міжнародних наукових фахових конференціях та симпозіумах.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертації доповідалися та

обговорювалися на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях у вигляді

усних та стендових доповідей, а саме: ХІI Міжнародна конференція з біоніки і

прикладної біофізики (м. Київ, Україна, 2013 р.), IХ International ScienceTechnical Conference «Modern Trends in Biological Physics and Chemistry»

(Sevastopol, Ukraine, 2013), VII Annual Conference of Young Scientist of the

23

Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine dedicated to 175

anniversary of O.Ya. Danylevsky (Kyiv, Ukraine, 2013), 5

th International Symposium

«Methods and Applications of Computational Chemistry» (Kharkiv, Ukraine, 2013),

VIII International Science-Technical Conference «Modern Trends in Biological

Physics and Chemistry» (Sevastopol, Ukraine, 2012), International Conference

«Modeling & Design of Molecular Materials 2012» (Wrocław, Poland, 2012),

International Scientific Conference «Actual Problems of Chemistry and Technology of

Organic Substances» (Lviv, Ukraine, 2012), 6

th Annual Scientific Meeting of

RECOOP HST Consortium «Bridges in Life Sciences» (Bratislava, Slovak Republic,

2011), XVIII International Youth Scientific Forum «Lomonosov-2011» (Moscow,

Russia, 2011), VII Міжнародна науково-технічна конференція «Актуальні

питання біологічної фізики та хімії» (Севастополь, Крим, Україна, 2011 р.),

Науково-практична конференція з міжнародною участю «YouthNanoBioTech2011. Молодіжний форум з нанобіотехнологій», присвячена 170-річчю кафедри

фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету

імені О.О. Богомольця (Київ, Україна, 2011 р.), II International Conference For

Young Scientists «Low Temperature Physics» (Kharkiv, Ukraine, 2011), V З'їзд

Українського біофізичного товариства (Луцьк, Україна, 2011 р.), 4th International

Symposium «Methods and Applications of Computational Chemistry» (Lviv, Ukraine,

2011), 14th International Conference «Applications of Density Functional Theory in

Chemistry and Physics» (Athens, Greece, 2011), International Conference «Modeling

Interactions in Biomolecules V» (Kutná Hora, Czech Republic, 2011),

XX International School-Seminar of Galyna Puchkovska «Spectroscopy of Molecules

and Crystals» (Beregove, Crimea, Ukraine, 2011), International Conference «MultiPole Approach to Structural Biology» (Warsaw, Poland, 2011) та I Міжнародна

конференція молодих вчених «Хімія та хімічні технології» (Львів, Україна, 2010

р.), а також на наукових семінарах відділу молекулярної та квантової біофізики

24

ІМБіГ НАН України та загальноінститутських наукових семінарах ІМБіГ НАН

України (2010-2015 р.р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 60 наукових праць – 1

розділ у міжнародній монографії, 40 статей (з-поміж них – 6 одноосібних) у

вітчизняних та міжнародних фахових наукових журналах, які входять до

наукометричних баз даних, зокрема Scopus (Physical Chemistry Chemical Physics

(IF=4,493), RSC Advances (IF=3,840), Journal of Computational Chemistry

(IF=3,589), Journal of Biomolecular Structure & Dynamics (IF=2,919), Chemical

Physics Letters (IF=1,897), Structural Chemistry (IF=1,837), Journal of Molecular

Modeling (IF=1,736), Molecular Physics (IF=1,720), Optics and Spectroscopy

(IF=0,723), Ukrainian Journal of Physics, Biopolymers and Cell та Ukrainian

Biochemical Journal), із сумарним імпакт-фактором 90,11 та 19 тез доповідей на

вітчизняних та міжнародних наукових фахових конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається із переліку

основних понять та умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів і

методів дослідження, результатів власних досліджень та їхнього обговорення,

які викладено у п’яти розділах, висновків і переліку використаних літературних

джерел, який налічує 395 найменувань. Зміст дисертації викладено на 380

сторінках машинописного тексту, вона містить 104 рисунки і 67 таблиць.

ВИСНОВКИ

Показанощооскількимутагеннітаутомерипохіднихпуринових

основДНКмаютьзначнийчасжиттяупорівняннізхарактернимчасом

елементарногоактубіосинтезуДНКтонанихформальноможебути

поширенатаутомернагіпотезаВотсонаіКрикаУцьомузв’язкуцілком

логічнопов’язатимутагеннівластивостіі

зїхньоюполегшеною

здатністюупорівняннізканонічнимиосновамиіпереходитиу

мутагеннутаутомернуформуВодночасдляіРтребашукати

поясненняїхньоїмутагенноїактивностізамежамитаутомерноїгіпотезиу

класичномуїїрозумінніоскількивониупорівнянніздемонструютьзначно

гіршуздатністьпереходитиумутагеннутаутомернуформу

Показанотакожщоувсіхдослідженихсполукахокрім

модифікаціязаважаєспарюваннюякумутагеннійтаківканонічній

таутомернійформізосновою–партнеромповзаємодіїЦейефектможе

притлумлюватиїхніймутагеннийпотенціалВстановленотакожщона

дослідженімолекулиформальнопоширюєтьсятаутомернагіпотезаВотсонаКрикаоскількичасжиттяїхніхмутагеннихтаутомерівнабагатоперевищує

характернийчасякийвитрачаємашинеріябіосинтезуДНКнаінкорпорацію

однієїпаринуклеотидівМожнаочікуватищоврамкахцієїгіпотезивдасться

адекватнопояснитимеханізмимутагенноїдії







ісамеці

мутагенимаютьвигіднішуіміннутаутомернуформуніжамінну



ПІДСУМКОВІВИСНОВКИ

Уроботірозв’язанонауковупроблему–встановленоелементарні

мікроструктурнімеханізмияківизначаютьмолекулярнулогікуспонтанного

точковогомутагенезу–виникненнятазакріпленняпомилоквключенняі

реплікаціїприбіосинтезіДНКтазробленопідсумовуючийвисновокпроте

щоспонтанніточковімутаціїеволюційнозапрограмованіуелектронній

будовіканонічнихосновДНКівідтакєневідворотними

Впершевиокремленоповнумножинунеправильнихпар

нуклеотиднихоснов–А·СС·А····

·

·

····–якінабуваючиукишенівпізнавання

високоточноїДНКполімеразиензиматичнокомпетентноїконформації

інкорпоруютьсяуструктуруДНКпідчасїїбіосинтезуПоказанощоця

сукупністьпаросновДНКєспільноюякдляпомилоквключеннятакі

помилокреплікаціїДетальновивченоїхніструктурноенергетичні

властивостізокремамеханізминабуттянеправильнимипарамиоснов

ензиматичнокомпетентноїконформації

Впершепоказанощонеправильніпаринуклеотиднихоснов

····єспільнимиінтермедіатамивиникненнявідповідних

помилокреплікаціїтавключенняЗ’ясованоконформаційнімеханізми

набуттяцимипарамиензиматичнокомпетентноїконформації

ВпершевивченомеханізмитаутомеризаціїпарА·С↔А·Сі

·↔·щомаютьгеометріюподібнудоВотсонКриківськоїподвійним

перенесеннямпротоніввздовжсусідніхміжмолекулярнихНзв’язків

ДоведенощокороткоживучіслабкозаселеніпариА·Сі·є

постачальникамидовгоживучихензиматичнокомпетентнихпарА·Сі

·привиникненніпомилокреплікаціїДНК

Порівняннямрозрахунковихданихізрезультатами

рентгеноструктурногоаналізувпершепоказанощонеправильніпариосновз

ВотсонКриківськоюгеометрієюА·Сі·знаходятьсяуактивномуцентрі



високоточноїДНКполімеразиуїїзакритомустаніутаутомернихформах

А·Сі·яківідповідаютьглобальномумінімумовівільноїенергії

Впершедослідженофізикохімічнімеханізмитаутомеризації

подвійнимперенесеннямпротоніввздовжсусідніхміжмолекулярнихНзв’язківнеправильнихпаросновДНКякіспричиняютьвиникнення

спонтаннихточковихпомилоквключенняіреплікаціїПоказанощоїхня

примусовадисоціаціяреплікативноюмашинерієюнамономеривідбувається

беззмінитаутомерногостатусуостанніхУвипадкусиметричнихпар

····А·АА·Аі··мутагеннітаутомериоснов

розподіляютьсяприцьомуміжобомамономерамиізоднаковоюімовірністю

ВпершепоказанощокласичниймеханізмЛьовдінанезабезпечує

мутагенноїтаутомеризаціїВотсонКриківськихтавоблпаросновДНК

подвійнимперенесеннямпротоніввздовжсусідніхНзв’язків–причиною

цьогоєдинамічнанестійкістьтаутомеризованихпар

ДоведенощоізтієїжсамоїпричиниДНКзв’язувальнібілки

взаємодіючикарбоксильнимигрупамивідповіднихамінокислотнихзалишків

ізосновамиДНКнепереводятьостанніумутагеннітаутомерніформи

подвійнимперенесеннямпротоніввздовжсусідніхНзв’язків

Впершевиявленоновупринципововажливудлярозумінняприроди

спонтанноготочковогомутагенезуфізикохімічнувластивістьпар

нуклеотиднихосновізвоблтаВотсонКриківськоюгеометрієювзаємно

перетворюватисявнутрішньопарнимперенесеннямпротонівякадозволяє

зрозумітизодногобокууякийспосібнеправильніпариосновДНК

набуваютьензиматичнокомпетентноїконформаціїбезпосередньоу

гідрофобнійкишенівпізнаваннявисокоточноїДНКполімеразиазіншого–

механізммутагенноїтаутомеризаціїВотсонКриківськихпаросновДНКА·Ті

·Впершепоказанощоцейбіологічноважливийпроцесєкінетично

контрольованимвідбуваєтьсябезрозривупартабезпрямоїучастімолекул

водиконтролюєтьсявисокостабільнимперехіднимстаномщоєтісною

іонноюпароютипупротонованаоснова·депротонованаосноваі



підтримуєтьсяпатернамиспецифічнихміжмолекулярнихвзаємодійщо

включаютьНзв’язкиАН···Врозрихленіхімічнізв’язкиАНВтаудеяких

випадкахпритягувальнівандерваальсовіконтактиА···Вякіпослідовно

змінюютьодинодноговздовжВКРтаутомеризації

Впершезапропонованомікроструктурнийсценарійзародженняі

закріпленняусіхбезвиняткуспонтаннихточковихпомилоквключенняі

реплікаціїЧисловіоцінкиімовірностіцихпроцесівузгоджуютьсяіз

експериментальнимиданимищовказуєнаадекватністьзапропонованих

модельнихуявлень

Впершествореновнутрішньонесуперечливулогічнозамкнуту

теоріюспонтанноготочковогомутагенезуУїїрамкахвпершез’ясовано

мікроструктурнімеханізмимутагенноїдіїкласичнихмутагенів–галогенпохіднихурацилуамінопуринутадеякихпохіднихцитозину–підвищувати

упорівнянніізканонічнимиосновамиімовірністьвиникненняпомилок

включенняіреплікаціїякийполягаєузниженніпрямогобар’єру

таутомеризаціївоблпаруВотсонКриківськіпариякімістятьмутагени

таабопідвищеннізаселеностіїхніхтаутомеризованихстанів

Впершерозробленометодикуякадозволяєвідслідкуватиеволюцію

усіхфізикохімічнихпараметрівщохарактеризуютьтаутомеризаціюбудьякихНзв’язанихкомплексіввздовжїїВКРВпершевведенопоняттяпро

ключовіточкищохарактеризуютьперебігцихпроцесівяківикористанодля

вичерпногоаналізуостанніхВпершедоведенощонезалежновідприроди

процесутаутомеризаціїсупроводжуєтьсявінсуттєвоюзміноюгеометрії

комплексащотаутомеризуєтьсячиніекстремумипершоїпохідноївід

електронноїенергіїзаВКРзбігаютьсяізключовимиточкамидругоюі

передостанньоюуякихзануляєтьсялапласіанелектронноїгустиниу

відповіднихкритичнихточкахводневихмістківвздовжякихмігрують

протони

ВпершепоказанощогіпоксантинутворюєНзв’язанікомплексиіз

усімаканонічнимиосновамиДНКіРНКгеометріяякихблизькадоВотсон



Криківськоїцеважливодлярозумінняприродипомилокспарюванняякі

трапляютьсяпідчаскодонантикодоновихвзаємодій

ВпершеізмножиниекспериментальноспостереженихНзв’язаних

парнуклеотиднихосновдоскладуякихвходятьякканонічнітакі

модифікованінуклеотидніосновивиокремленоспираючисьнагеометричні

критеріїНзв’язуванняструктуризміжмолекулярнимиконтактамиСН···

Використовуючинайширшийарсеналквантовохімічнихпідходівдоведено

щовонизадовольняютьусімзагальноприйнятимкритеріямНзв’язування

визначеноосновніфізикохімічніхарактеристикиНзв’язківСН···

показанощонайнадійнішимиїхнімидескрипторамиєзначенняелектронної

густиниувідповіднійкритичнійточцітаенергіявзаємодіїприродних

зв’язувальнихорбіталейВисунутотаобґрунтованогіпотезищодобіологічної

значущостіцихНзв’язківупроцесахспонтанноготочковогомутагенезу

Впершепроведеновичерпнийконформаційнийаналізкласичних

мутагенів–похіднихцитозинуаденінутагуанінуВизначеноосновні

структурноенергетичніхарактеристикиконформерівтадинамічніпараметри

конформаційнихпереходівПоказанощодалеконезавждиенергетично

найвигіднішаконформаціямутагенуєбіологічнофункціональною





Висловлюющирувдячністьсвоємунауковомуконсультанту–членукореспондентуНАНУкраїнипрофесорузаслуженомудіячевінаукиітехніки

УкраїниГоворунуДмитруМиколайовичу–занеоціненнудопомогупри

постановцізадачдослідженняприпроведенніобчислювального

експериментуобговореннітааналізіотриманихрезультатівінаписанні

статейатакожзачуйнеделікатнеітерплячеставленнядоменеСердечне

ВамспасибізатещодопомоглименіпроторитидорогууВеликуНаукуяка

дляменесталаіпрофесієюізахопленнямівеликоюлюбов’ю

ВисловлююглибокуповагутавдячністьдиректоруІнституту

молекулярноїбіологіїігенетикиНАНУкраїниакадемікуНАНУкраїни

професорузаслуженомудіячевінаукиітехнікиУкраїниЄльськійГанні

Валентинівнізаможливістьвиконаннядисертаційноїроботинабазі

інститутузапідтримкутазажиттєвушколу

ВисловлююподякуНТКІнститутмонокристалівНАНУкраїни

ІнститутусцинтиляційнихматеріалівНАНУкраїнитаІнституту

теоретичноїфізикиімММБоголюбоваНАНУкраїнизалюб’язнонадані

обчислювальніресурситапрограмнезабезпеченняускладіУкраїнського

національногоҐріду



ЩирудякуюДержавномуфондуфундаментальнихдослідженьДФФД

Українивособідоктораекономічнихнаукзаслуженогодіячанаукиітехніки

УкраїниКиякаБогданаРомановичазафінансовупідтримкуроботи

Вдячнакорпорації“Гаусіан”уособіДрФернандоКлементеза

технічнупідтримкупривиконанніроботи

Вельмивдячнаколективувідділумолекулярноїтаквантовоїбіофізики

ІнститутумолекулярноїбіологіїігенетикиНАНУкраїнизачуйністьтаувагу

доменетамоїхнауковихінтересів–цезначноюміроюсприяловдалійроботі

наддисертацієюатакожусімспівавторампублікаційтаколегамзаплідну

співпрацюнасампереддхнснсІЯДубеюкбнснсІМКоломієць

кбнснсЄПЮренкукбнснсММІльченкукфмн

РОЖураківськомутакфмнІСВойтешенку

Насамкінецьхочуподякуватисвоїмбатькамзавзаєморозуміння

підтримкуідопомогуатакожБогутаДолізаприхильністьдомене