

钠离子对 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 三螺旋 DNA 分子呼吸模式的影响*

孟耀勇 刘颂豪

(华南师范大学激光生命科学研究所, 广东, 广州, 510631)

摘要 利用分子结构的螺旋对称性, 建立了一个包括钠离子的三链 DNA 分子 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的晶格动力学模型, 计算了 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的氢键呼吸模式。结果发现钠离子的加入明显地淬灭了位于较低频率的几个最为强烈的 Hoogensteen 氢键呼吸模式, 而对 Watson-Crick 氢键呼吸模式影响不明显, 这说明钠离子能提高 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 三螺旋结构的稳定性, 该计算结果很好地解释了 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的热融化实验。

关键词 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT), 钠离子, 晶格动力学

EFFECTS OF Na⁺ IONS ON BREATHING VIBRATIONAL MODES OF POLY(dT) · POLY(dA) · POLY(dT)*

MENG Yao-Yong LIU Song-Hao

(Institute of Laser Life Science, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510631, China)

Abstract A lattice dynamics model for poly(dT) · poly(dA) · poly(dT), which is one of the best important triplex DNA was presented based on its screw symmetry. In this model, the presence of Na⁺ ions was included explicitly. The breathing modes of poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) were calculated. By comparing the isolated triplex vibrational modes, it was found that the addition of Na⁺ ions could extinguish very strong breathing modes of Hoogensteen hydrogen bond located in 18.4cm⁻¹, 36.4cm⁻¹ and 43.8cm⁻¹. The breathing modes of Watson-Crick hydrogen bond were not changed obviously. These results indicate that Na⁺ ions can increase the stability of poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) and reasonably explain the melting experiment of poly(dT) · poly(dA) · poly(dT).

Key words poly(dT) · poly(dA) · poly(dT), Na⁺ ion, lattice dynamics.

引言

早在 1957 年, 人们就人工合成了第一个三螺旋核酸分子, 近来人们发现寡聚的单链核酸可以通过 Hoogensteen 氢键同双螺旋核酸形成三螺旋核酸。这种结构同双螺旋核酸相比, 具有更高的序列选择性。另外, 三螺旋结构的形成将阻止任何核酸同蛋白质的相互作用, 从而可以用来调控基因表达^[1], 控制蛋白质酶的活性^[2]。因此三螺旋核酸是一种非常有

潜力的基因治疗^[3]。尽管寡聚的单链核酸具有一个精致的序列识别性质, 然而它同双螺旋核酸的结合并不强, 使得三螺旋核酸相对来说不是很稳定, 提高三螺旋核酸的稳定性成为人们研究的一个重要方向^[4]。其实溶液的离子浓度对三螺旋核酸分子的稳定性有显著影响, 尽管已有一些实验工作^[4,5], 但是溶液中离子对三螺旋 DNA 热融化行为影响的机制的理论研究尚未见报道, 我们利用晶格动力学方法, 分析了溶液中钠离子对三螺旋 DNA 分子 poly(dT)

* 广东省自然科学基金(编号: 974133)、广东省重点科技基金(编号: 2KM04502S)、广东高校自然科学基金(编号: 200018)资助项目
稿件收到日期 2001-04-25, 修改稿收到日期 2001-06-04

* The project supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province, China (No. 974133), the Important Science and Technology Projects of Guangdong Province, China (No. 2KM04502S) and the Natural Science Foundation of Universities of Guangdong Province, China (No. 200018)
Received 2001-04-25, and 2001-06-04

• poly(dA) • poly(dT) (下面简称为 TAT) 呼吸模式的影响, 发现钠离子的加入明显地淬灭了位于较低频率的几个最为强烈的 Hoogensteen 氢键呼吸模式, 而对 Watson-Crick 氢键呼吸模式影响不明显, 这一结果很好地解释了分子的热融化实验。

1 计算方法

由于在 DNA 分子脊骨上磷酸脂带有负电荷, 在形成多链时, 为了克服各磷酸脂的排斥作用, 需要在溶液中加入带有正电荷的钠离子. L. Young^[2] 在处理双旋 DNA 一样, 在我们的模型中也假定钠离子位于距磷酸脂游离氧原子 0.27nm 的位置. 每一个磷酸脂吸附一个钠离子. 这样包括钠离子的模型中一个原胞所含原子个数就由不包括钠离子的孤立模型的 61 个原子增加到 64 个原子. 由于钠离子的加入并未打破 TAT 的螺旋对称性, 所以同孤立的 TAT 一样, 在质权笛卡尔坐标下的久期方程可写为^[7]

$$|D^-(\theta)FD(\theta) + D_w^-(\theta)F_{nn}D_{nn}(\theta) - \lambda(\theta)I| = 0, \quad (1)$$

$$D(\theta) = \sum_n B_n R^n \exp(-in\theta), \quad (2)$$

$$D_{nn}(\theta) = \sum_n B_{nn} R^n \exp(-in\theta), \quad (3)$$

式(1)中第 1 项为共价力场项, 第 2 项为非键力场项. 式(2)、(3)中 B_n, B_{nn} 分别是共价内坐标和非键内坐标向质权笛卡尔坐标演化的过渡矩阵, R 为旋转矩阵, n 表示内坐标所关联的原胞序号, F 为共价力常数矩阵, F_{nn} 为非键对角力常数矩阵, θ 为相位角, 本征值 $\lambda(\theta)$ 等于振动频率 ω 的平方, I 为单位矩阵.

同双螺旋 DNA 一样^[8], 我们认为钠离子同 TAT 的作用主要是库仑作用, 钠离子又分布在 TAT 的外围, 不会影响 TAT 分子原子间的介电常数. 所以钠离子加入并不影响 DNA 分子上其它原子间的相互作用. 因而在计算式(1)中 $F, F_{nn}, D(\theta)$ 和 $D_{nn}(\theta)$ 时, 除考虑在结构上每个原胞增加了 3 个钠离子, 在力场上包括了 3 个钠离子同 TAT 的非键作用的变化外, 其它完全同孤立模型一样^[7].

利用固体物理中的晶格动力学方法来处理具有螺旋对称结构的核酸分子能够大大地简化计算. 我们用这种方法对多种核酸的振动模式进行了计算, 并与实验结果进行了比较, 我们认为这样的处理方法是合理的^[9,10].

2 实验结果与讨论

热融化现象是 DNA 分子的基本性质, 研究它对于了解 DNA 的结构和生物学功能具有重要意义. Plum 研究了一个寡聚的嘧啶单链同两条互补的单链形成的三链 DNA 的热稳定性质^[5], 发现在室温下, 200mmol/L 的钠离子浓度足够引起形成完全的三链结构. 低于 24mmol/L 的钠离子, 三链结构就无法形成. 在 200mmol/L ~ 1mol/L 的钠离子溶液中, 三链 DNA 分子的第一个转化点温度 T_{m1} (也就是说第三条嘧啶链的脱落) 同钠离子浓度的对数成正比. 第二个转化点温度 T_{m2} (Watson-Crick 氢键断裂温度) 不受钠离子浓度的影响, 互补的双螺旋链总是存在. M. Riley 等人^[4] 对 TAT 热融化行为的研究表明, 在低盐度下 (更接近孤立模型) TAT 的第二条嘧啶链热融温度 T_{m1} 较低, 在加热过程中它首先脱离. 随着钠离子浓度的增加第二条嘧啶链的脱落温度也随着增高. 然而相对 T_{m1} 而言, 钠离子对 T_{m2} 的影响不大. 第一条和第二条嘧啶链的热融温度变得更接近. 当钠离子浓度增加到 1mol/L 时, Watson-Crick 氢键和 Hoogsteen 氢键将同时断裂, 三螺旋结构的 TAT 直接变成任意弯曲状. 总结起来, 三螺旋 DNA 分子的热融现象的影响有两个特点: 以 Hoogsteen 氢键同双螺旋链相连的第三条嘧啶链的热融温度 T_{m1} 通常比以 Watson-Crick 氢键相连的双螺旋链的热融温度 T_{m2} 低; 另外, 热融温度 T_{m1} 受钠离子浓度的影响很大, 钠离子能明显地提高三链结构的稳定性. 而 T_{m2} 对 Na^+ 浓度不敏感.

图 1 是在布里渊中心具有同相位的 Hoogsteen 氢键的平均伸展幅度, 它们的值对应着一个原胞一个声子的情形. 从图 1 中可见钠离子对 Hoogsteen 氢键呼吸模式的影响非常显著. 没有钠离子加入时, 在 18.4cm^{-1} , 36.4cm^{-1} 和 43.8cm^{-1} 存在着 3 个特别强的呼吸模式; 一旦加入钠离子, 这 3 个特别强的呼吸模式都完全消失, 在低频方面几乎不存在什么强的呼吸模式.

氢键在平衡位置的长度一般为 0.28nm 到 0.30nm, 伸展幅度超过 0.05nm 就明显地增加了链与链间离解的可能性^[11]. 三螺旋 DNA 分子在不包括钠离子情形下, 对于 18.4cm^{-1} 呼吸模式, 从图 1 中可以看到每一个声子产生的 Hoogsteen 氢键的平均伸展幅度是 0.00473nm. 由于声子服从波色分布, 因而温度为 T 时处在能量为 $h\nu$ 的平均声子数为 $N = 1/(\exp(h\nu/kT) - 1)$. 所以温度为 20°C 时, 最可几声

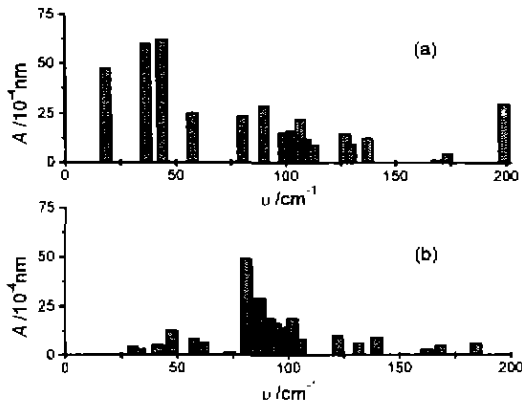


图 1 (a)不包括钠离子的 TAT 分子的 Hoogensteen 氢键平均呼吸幅度 (b)包括钠离子的 TAT 分子的 Hoogensteen 氢键平均呼吸幅度

Fig. 1 (a)The mean breathing amplitude of the Hoogensteen hydrogen-bond for the TAT without Na^+ ions. (b)the mean breathing amplitude of the Hoogensteen hydrogen-bond for the TAT with Na^+ ions

子数为 10.8,这时 Hoogensteen 氢键的平均伸展幅度就达到 0.0511nm,超过了 0.05nm,这就意味着第二条嘧啶链 poly(dT) 将离解。

如果我们的模型包括钠离子的作用,这相应于溶液中的钠离子从无到有,浓度增加了,只有当温度升高到 980℃ 时,最强的呼吸模式 80.7cm^{-1} 的最可几声子数为 10.3, Hoogensteen 氢键的平均伸展幅度达到 0.0509nm,超过了 0.05nm,第二条嘧啶链才离解,可见钠离子明显地提高了第二条嘧啶链的离解温度和三螺旋 DNA 的稳定性。

图 2 给出了在布里渊区中心具有同相位的 Watson-Crick 的平均伸展幅度,它们的值对应着一个原胞一个声子的情形,从图 2 可以看出,不包括钠离子的模型中, Watson-Crick 氢键的呼吸模式位于 90cm^{-1} 附近,当加入钠离子后,对 Watson-Crick 氢键的呼吸模式影响不大,最强的几个呼吸模式仍然位于 90cm^{-1} 附近,无钠离子加入时, Watson-Crick 氢键最强的呼吸模式位于 93.2cm^{-1} ,它在 20℃ 和 980℃ 时的平均伸展幅度分别为 0.0063nm 和 0.0313nm,对于包含钠离子的系统, Watson-Crick 氢键最强的呼吸模式位于 101.2cm^{-1} ,它在 20℃ 和 980℃ 时的平均伸展幅度分别为 0.0056nm 和 0.0297nm,可见,无论有无钠离子的系统中,第二条嘧啶链首先脱落时,即分别在 20℃ 和 980℃ 时, Watson-Crick 氢键最大平均伸展幅度不超过 0.05

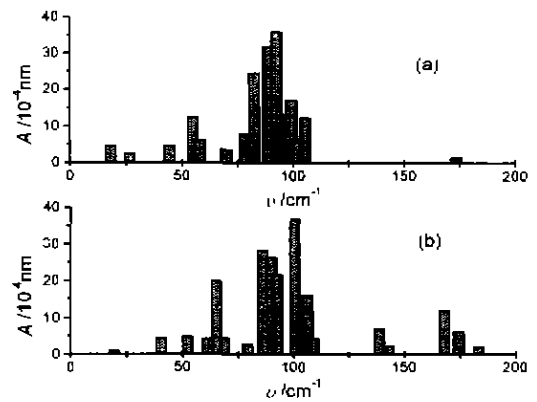


图 2 (a)不包括钠离子的 TAT 分子的 Watson-Crick 氢键平均呼吸幅度 (b)包括钠离子的 TAT 分子的 Watson-Crick 氢键平均呼吸幅度

Fig. 2 (a)The mean breathing amplitude of the Watson-Crick hydrogen-bond for the TAT without Na^+ ions. (b)the mean breathing amplitude of the Watson-Crick hydrogen-bond for the TAT with Na^+ ions

nm,显然不可能使 Watson-Crick 氢键断裂,这就是说,随着温度的升高第二条嘧啶链首先脱落,即 $Tm2$ 大于 $Tm1$,同时我们可以看到钠离子的加入对 Watson-Crick 氢键呼吸模式的影响不大,对 Watson-Crick 氢键的稳定性只有轻微提高,所以随着钠离子浓度的增加,第二条嘧啶链的脱落温度得到提高, Hoogensteen 氢键和 Watson-Crick 氢键的断裂温度逐渐接近,最终出现 Watson-Crick 氢键和 Hoogensteen 氢键同时断裂,三螺旋结构的 TAT 直接变成任意弯曲状,这一理论推测同实验结果完全一致。

需要说明的是,由于我们在用一个声子的呼吸幅度外推接近热融温度的 TAT 分子的呼吸幅度时,假定了非简谐效应很小,实际上,非简谐效应的确改变了我们外推处理的细节,结果使得我们推算的三链 DNA 分子的热融温度要比实际温度高得多,无钠离子参与的 TAT 第二条嘧啶链脱落温度我们外推值是 20℃,实际上,无钠离子参与三螺旋 TAT 结构不能形成,在加入钠离子后,我们外推第二条嘧啶链脱落温度 980℃ 也比实际温度(几十摄氏度)高得多。

3 结语

溶液中钠离子主要是通过库仑作用同三螺旋 DNA 分子 TAT 结合,淬灭了位于较低频率的

Hoogensteen 氢键的呼吸模式,从而提高三螺旋 DNA 分子 TAT 的稳定性,使得 TAT 中第二条嘧啶链的热融温度增加.利用晶格动力学方法来处理具有螺旋对称性的生物大分子可以大大简化计算.同红外和喇曼光谱结合,该方法可以成为研究三螺旋 DNA 分子稳定性的有效手段.

REFERENCES

- [1] Hamel Y, Lacosre J, Frayssinet C, *et al.* Inhibition of gene expression by anti-sense C-5 propyne oligonucleotides detected by a reporter enzyme. *Biochem J.*, 1999, **339** (Pt 3): 547-53
- [2] Vuyisich M, Beal P A. Regulation of the RNA-dependent protein kinase by triple helix formation. *Nucleic Acids Res.*, 2000, **28**(12): 2369-74
- [3] Ray A, Suresh Kumar G, Das S. *et al.* Spectroscopic studies on interaction of Aristololactam- β -D-Glucoside with DNA and RNA double and triple helices: a comparative study. *Biochemistry.* 1999, **38**: 6239-47
- [4] Riley M, Maling B, Chamb M J. Physical and chemical characterization of two-and-three-stranded adenine-thymine and adenine-uracil homopolymer complexes. *J. Mol. Biol.*, 1966, **20**: 359-389
- [5] Plum E G, Park Y, Singleton F S. *et al.* Thermodynamic characterization of the stability and the melting behavior of a DNA triplex: a spectroscopic and calorimetric study. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990, **87**: 9436-9440
- [6] Young L, Prabhu V V, Prohofsky E W. Calculation of far-infrared absorption in polymer DNA. *Phys. Rev.*, 1989, **39A**(6): 3173-3180
- [7] MENG Yao-Yong, LIU Song-Hao. Low-frequency vibrational mode of poly(dT) · poly(dA) · poly(dT). *Acta Optica Sinica* (孟耀勇,刘颂豪.三链 DNA 分子 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的低频振动模式. *光学学报*), 1994, **14**(7): 762-767
- [8] MENG Yao-Yong, LIU Song-Hao. Analysis of poly(dA) · poly(dT) structure by raman spectroscopy and lattice dynamics. *Spectroscopy and Spectral Analysis* (孟耀勇,刘颂豪. Poly(dA) · poly(dT) 结构的喇曼光谱和晶格动力学研究. *光谱学与光谱分析*), 2000, **20**(3): 280-282)
- [9] MENG Yao-Yong, LIU Song-Hao. Structure of poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) and its backbone vibrational modes. *Chinese Journal of Light Scattering* (孟耀勇,刘颂豪.三螺旋 DNA 分子 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的构型和振动谱. *光散射学报*), 1999, **11**(2): 155-160
- [10] MENG Yao-Yong, LIU Song-Hao. Analysis of polyU · polyA · polyU structure by raman spectroscopy and lattice dynamics. *Acta Photonica Sinica* (孟耀勇,刘颂豪.三螺旋核酸 polyU · polyA · polyU 的喇曼光谱和晶格动力学. *光子学报*), 2001, **30**(6) accepted.
- [11] Prohofsky E W, Lu K C, Zandt Van L L. Breathing modes and induced resonant melting of the double helix. *Phys. Lett.*, 1979, **70A**(5-6): 492-494