

DNA 分子的远红外和低频喇曼光谱的研究

刘颂豪 孟耀勇

(华南师范大学激光生命科学实验室, 广东, 广州, 510631)

评述了 DNA 分子低频模式涉及到的构型变化、解链过程和孤子现象的研究, 指出远红外和低频喇曼光谱将成为研究 DNA 分子结构和生物学功能的有力工具。

关键词: 脱氧核糖核酸(DNA), 远红外光谱, 喇曼光谱。

1 引言

脱氧核糖核酸(DNA)是由两条长链绕一个共同的轴而形成的双螺旋结构, 两条链之间由氢链相连, 每条长链都由核苷酸串联而成; 核苷酸由一个糖环, 一个磷酸和一个碱基组成。碱基有四种可能, 即: 腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)和胞嘧啶(C)。在形成 DNA 分子时, 两条长链的碱基有一定的配对原则, 即: A 只能同 T 配对, 而 C 只能同 G 配对。DNA 分子是生物遗传基因的载体, 因而其分子结构、物理和化学性质, 特别是生物学功能, 如复制和转录, 一直受到人们的关注。而 DNA 的生物学功能常常又同它的振动模式有关, 特别是与低频($< 300 \text{ cm}^{-1}$)模式关系密切, 所以远红外和低频喇曼光谱技术在 DNA 分子的研究中有着重要应用。

2 DNA 分子的振动模式

对于 DNA 分子的振动模式的计算, 现已发展了晶格动力学^[1,2], 分子动力学^[3,4]和非线性动力学^[5,6], 其中运用最广泛的是 1974 年由 Eyster 和 Prohofskey^[1]提出的晶格动力学方法。这种方法把 DNA 分子双螺旋链中由氢键相连的一对核苷酸视为一个原胞, 整个 DNA 分子是这种原胞经过一定的平移和转动后而形成的一维晶格。根据 Bloch 定理, 对于一个无限长的晶格, 每个原胞内的原子同另一个原胞的原子除了有位相差外, 都是一样的。所以研究整个晶格的问题就归结为研究一个原胞中的原子。

当原子的坐标、质量、电荷和力常数给出后, 便可得到晶格的势能和动能及运动方程, 这样, 久期方程也就可找到。在质权笛卡儿位移坐标(MWC)下, 久期方程可写为

$$|B^+(\theta)FB(\theta) - \omega^2 I| = 0; \quad (1)$$

方程(1)中 $B^+(\theta)FB(\theta)$ 可写为

$$B^+(\theta)FB(\theta) = [B^+(\theta)FB(\theta)]_v + [B(\theta)FB(\theta)]_{nv};$$

第一项包括共价键和价键力常数, 第二项包括非键作用. $B^+(\theta)FB(\theta)$ 中; F 是内坐标的力常数对角矩阵. $B(\theta)$ 使 F 转化到 MWC 坐标下, 同时考虑到相距 n 个原胞的位相差 θ , 所以

$$B(\theta) = \sum_n B^n R^n e^{in\theta};$$

式中 R 是旋转矩阵.

通过求解方程(1), 就可得到 DNA 分子振动频率和幅度, 进而求得光谱线的位置和峰值.

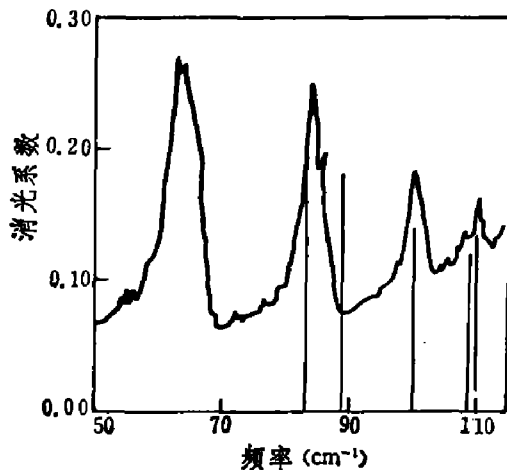


图1 7K下具有最低盐度的真空干燥的 Poly(dA)·Poly(dT) 的消光系数谱
Fig. 1 Extinction coefficient spectrum of minimal salt, vacuum-dried poly(dA)·poly(dT) at 7 K

poly(dA)·poly(dT)是指一条链只含 A 碱基, 而另一条只含 T 碱基的 DNA 分子. L. Young^[2] 等人对这种寡聚的 poly(dA)·poly(dT) 的远红外吸收光谱进行了计算, 并同 Powell^[7] 等人在 7 K 下测得的 Na-poly(dA)·poly(dT) 的远红外光谱比较, 结果如图 1 所示, 图中竖直线为理论计算得到的各模式消光系数的峰值. 由图 1 可见, 除 63cm^{-1} 模式外, 其它模式都符合得很好. 此后, L. Young 还发现, 当考虑到 DNA 分子的碱基对的两个环形平面绕它们共同轴相反的方向旋转, 即平行扭转效应, 在 60cm^{-1} 附近可以出现大的吸收峰. 这说明 63cm^{-1} 模式的出现, 可能是由于 DNA 分子的平行扭转造成的. 对 63cm^{-1} 处的吸收峰的另一种解释^[8]是由于氢键软化而产生的局部缺陷模式. 由

于 DNA 分子运动的复杂性, 所以还很缺乏对其模式的指定.

3 DNA 分子的构型变化

DNA 分子有多种构型, 如 A 型、B 型、Z 型等^[9]. A 型和 B 型 DNA 分子都为右旋双螺旋结构, A 型的螺距较 B 型短一些, A 型每一螺距内有 11 叠, 每叠之间的角度为 $\psi = 32.7^\circ$, 碱基对的轴相对螺旋轴有一定倾斜. 而 B 型每一螺距内只有 10 叠, 每叠之间的角度为 $\psi = 36^\circ$, 碱基对的轴是垂直于螺旋轴的. 体外实验表明, DNA 分子的构型变化不受温度影响, 主要是与湿度和反离子有关. DNA 分子在水溶液和高湿度的胶体中, 含有很多结合水, 其构型为 B 型, 当环境相对湿度低于 92% 时, 它就转化为 A 型.

休止态(resting)的细胞中, 其 DNA 分子通常是 B 型的. 由于核糖核酸(RNA)只有 A 型结构, 因而在 DNA 分子的转录过程中, DNA 分子的局部必须转化为 A 型. 可见 DNA 的构型变化是具有生物学意义的.

在研究 DNA 分子构型变化中, 固体物理中的软模理论得到应用^[1,10]. 软模预言的产生

是基于这样一个事实: 对于 A 型 DNA 分子计算得到的波矢 $q=0$ 处, 最低光学模式 11.48 cm^{-1} 的本征矢非常接近为研究构型变化而构造的序参数. 序参数是通过计算两种构型中一个原胞内的原子位移而构造的, 并经过了适当的归一化. 序参数同这个振动模式本征矢的点乘的平方为 0.84, 如果为 1, 则完全一致. 这一模式的振动同构型变化中原子位置变化的高度一致性表明, DNA 分子的构型变化主要是最低光学振动模式的软化造成的. 计算表明这一模式在相因子 $\theta=\psi$ 时, 分裂成几个模式, 其中主要集中在 20.3 、 25 和 27 cm^{-1} 三个光学模式中. 这三个模式对应组成 DNA 分子双螺旋链的两条单链沿着链轴的上、下相对运动, 它们之间的差别基本上只是由运动的细节造成, 特别是碱基对. 对于天然的 DNA 分子, 其碱基各种兼有, 因而这三个光学模式完全可能由于非均匀加宽而成为中心大约在 22 cm^{-1} 的平滑带. Urabe 等人^[11] 的实验发现, 对于 A 型 DNA 分子, 随着相对湿度的增高, 22 cm^{-1} 声子模式出现软化(见图 2). 在 A 型向 B 型的转化湿度条件下, 这一模式下移到 16 cm^{-1} .

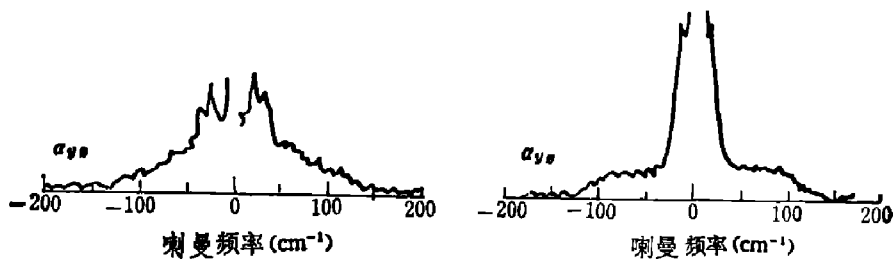


图 2 A-DNA(左)和 B-DNA(右) y, s 偏振的喇曼光谱(s 沿纤维轴方向)
Fig. 2 Raman spectra of y, s polarizations of the A-DNA(left) and the B-DNA(right). Z is taken along the fiber axis

最低光学模式软化^[11], 主要是由于结合水存在与否改变了原子间的有效介电常数, 从而影响了原子间的 Van der Waals 力和静电力, 导致了振动模式的软化.

4 DNA 分子的解链过程

DNA 分子, 无论是进行自我复制还是把遗传信息转录给 RNA 分子, 其双螺旋链都必须解开. 体外实验表明^[12], DNA 分子在室温以上 50 K 也会解开, 这就是所谓热融化. 实际上解链是由于过度的氢键伸展造成有效氢键力常数的减小^[13], 进而使氢键断裂. 过度的氢键伸展, 在活体中, 可以由 DNA 分子吸收水解三磷酸腺苷(ATP)产生的声子造成; 在热融中, 随着温度的升高, 热起伏也可以造成氢键的过度伸展. 有效氢键力常数的减少, 直接表现在 DNA 分子氢键伸展振动模式的频率下移. 氢键伸展模式是指那些其运动大部分表现在两条单链在某个螺旋区域相互移近或移远的运动. Prohofsky 等人^[14] 计算了 B 型的 $\text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$ 和 $\text{poly}(\text{dG}) \cdot \text{poly}(\text{dC})$ 单个声子造成氢键长度 R 的位移, 发现, 在布里渊区的中心, 对于 $\text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$, 66 cm^{-1} 模式, 具有最大的位移, 而 $\text{poly}(\text{dG}) \cdot \text{poly}(\text{dC})$ 则为 82 cm^{-1} . 可见, 66 cm^{-1} 和 82 cm^{-1} 模式分别为 $\text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$ 和 $\text{poly}(\text{dG}) \cdot \text{poly}(\text{dC})$ 的主要氢键伸展模式. 对于不同混合的 DNA 分子, 其氢键伸展模式应该在 $66 \sim 82 \text{ cm}^{-1}$ 之间. 这一点在 Urabe^[15] 的低频喇曼光谱中得到了证实(见图 3). 当

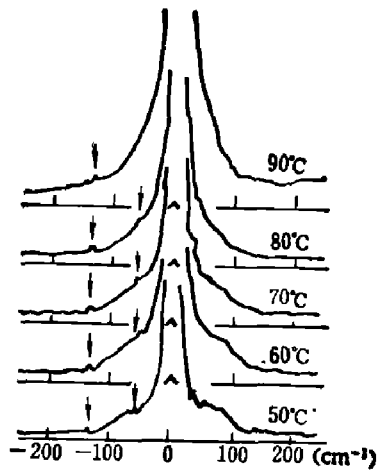


图3 DNA分子的喇曼光谱
与温度的关系

浓度: 6%;磷酸缓冲液: 0.01 M, PH=7.0;
激光: 488 nm 氩离子激光,
功率: 300 mW; ↓: Ar⁺ 激光本身的发射线

Fig3 Temperature dependence
of the Raman spectra of
DNA 6% in phosphate buffer
(0.01M, PH=7.0)

Excitation: 488nm Ar⁺ laser, power:
300mW at cavity. ↓: natural emission
lines of Ar⁺ laser

DNA 分子被逐渐加热时, $\sim 85 \text{ cm}^{-1}$ 谱线峰值不断变小, 当温度升高到热融温度(80°C)时, DNA 的双链解开, $\sim 85 \text{ cm}^{-1}$ 便消失了. Y. Kim^[19] 利用声子自治理论, 对 poly(dG)·poly(dC) 本征频率随温度变化的情况进行了研究, 发现温度由室温降到 77 K 时, 其它模式都没有漂移, 而 85 cm^{-1} 、 124 cm^{-1} 模式在 77 K 时分别漂移到 91.77 cm^{-1} 和 133.21 cm^{-1} , 这一结果已被 Poly(dA)·Poly(dT) 的远红外光谱间接证明, Edwards 和 Powell 发现与 Poly(dG)·Poly(dC) 85 cm^{-1} 模相对应的室温下为 79.5 cm^{-1} 的模式, 在 77 K 时漂移到 85 cm^{-1} , 而且这一模式在 300~380 K 的温度范围内还起着最主要的作用.

进一步研究表明, DNA 的解链过程并非是由平均场导致的氢键同时分离, 而应该是具有一个成核的位置. DNA 分子的缺陷就能充当这样的角色. 因此双链的融化取决于缺陷的生成, 而不取决于一个平均场的产生. 缺陷可以是 DNA 分子端点^[27], 也可以是由于酶的存在而引入的局部缺陷^[18]. Y. Kim^[19] 对具有缺陷的 Poly(dG)·Poly(dC) 双链进行了研究, 利用其室温下测得的振动模式成功地预言了热融温度, 并发现:

60 cm^{-1} 到 120 cm^{-1} 的声子对氢键的伸展有着最大贡献, 因而通过这些频率的外部泵浦就可能提高 DNA 分子的热融, 为此, 远红外和低频喇曼光谱可能成为一个有力的工具.

5 DNA 分子中的孤子

孤子是由于非线性色散巧妙配合而产生的一种不散开的局部波动, 它具有粒子特性, 非常稳定. 正是因为孤子明显不同于通常的声子, 所以在 DNA 分子中是否有孤子存在, 一直是科学家们感兴趣的问题. 虽然在这方面已有不少理论^[10] 和实验^[11] 工作, 但到目前为止, 还没有定论. 关键在于 DNA 分子是否有足够的非线性. 实验测试和理论分析均表明, 由于 DNA 分子螺旋链的声学模式在色散和幅度依赖性上都表现出明显的线性. 所以声学模式不可能形成孤子. E. W. Prohofsky^[12] 注意到 DNA 分子的氢键伸展模式随着温度的升高而软化、表现出强烈的非线性, 完全可以支持孤子的形成. L. L. Van Zandt^[13] 把氢键伸展模式同横向声学波相耦合, 利用实验得到的参数, 成功地模拟了孤子的产生, 并发现形成孤子最低的激发能量大约为 0.1 eV . 生物系统能量的主要来源是水解 ATP, 而每一个 ATP 分子产生 0.54 eV 的能量, 这一能量足以激发 DNA 分子中的孤子. 但至今还没有直接证明 DNA 分子中孤子的存在. 由于 DNA 分子中的孤子很大可能涉及到氢键的伸展模式, 而这些模式的频率分布在 $10 \sim 120 \text{ cm}^{-1}$ 之间, 因而远红外和低频喇曼光谱可能成为打开 DNA 分子中孤子奥秘的钥匙.

6 结 语

DNA 分子的低频振动模式不仅反映了分子的结构和性质,而且还同 DNA 分子的许多生物学功能有着密切关系。理论上,晶格动力学方法在处理这方面问题上取得了巨大成功,特别是软模引入到聚合物大分子中,为分析 DNA 分子构型变化、解链过程以及可能存在的孤子现象都提供了切实可行的方法。在实验上,远红外和低频喇曼光谱是研究分子低频振动的最有效手段,故成为研究 DNA 分子的最主要的实验方法之一。一方面,远红外和喇曼光谱不断地验证晶格动力学计算和预测的结果,也不断地为晶格动力学提供新的实验数据,为进一步修正理论模型奠定了基础;另一方面,晶格动力学可对远红外和低频喇曼光谱出现的谱线进行解释。正是这两者的相互推动,加深了人们对 DNA 分子结构、性质和生物学功能的理解。我们相信远红外和低频喇曼光谱在 DNA 分子的研究中将起重要作用。

参 考 文 献

- 1 Eyster J M, Prohofsky E W. *Phys. Rev. Lett.* 1977; **38**:371
- 2 Young L, Prabhu V V, Prohofsky E W. *Phys. Rev.* 1989; **29A**:3173
- 3 Levitt M. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1982; **46A**:251
- 4 Tidor B et al. *Biomol. J. Struct. Dym.* 1983; **1**:231
- 5 Krumhansl J A et al. in *Structure and Motion: Membranes, Nucleic Acides and Proteins*, Ed by Clementi E, Corongiu G, Sarma M H, and Sarma R H, New York: Adenine, 1985; 407
- 6 Scott A O. *Phys. Rev.*, 1985; **31A**: 3518
- 7 Powell J W et al. *Phys. Rev.*, 1987; **35A**:3929
- 8 Awati K M, Prohofsky E W. *Phys. Rev.*, 1989; **40A**: 6521
- 9 Saenger W. *Principles of Nucleic Acid Structure*, Berlin: Springer-verlag, 1984; chap. 11
- 10 Deviprasad K V, Prohofsky E W. *Biopolymers*, 1984; **23**: 1795-1798
- 11 Urabe H, Tominaga Y, Kubata K. *J. chem. phys.*, 1983; **78**:5937
- 12 Waba A, Yabuki S, Husimi. *Critical Reviews in Biochemistry.*, 1980; **9**:87
- 13 Kim Y, Deviprasad K V, Prohofsky E N. *Phys. Rev.*, 1985; **B32**:5185
- 14 Prohofsky E W et al. *Phys. Lett.*, 1979; **70A**: 492
- 15 Urabe H, Tominaga Y. *J. Phys. Soc. Japn.*, 1981; **50**:3543
- 16 Kim Y, Prohofsky E W. *Phys. Rev.*, 1987; **36B**: 3449
- 17 Putnum B F et al. *Biophys. J.*, 1981; **35**:271
- 18 Prohofsky E W. *Comments Mol. Cell. Biophys.*, 1983;**2**: 65
- 19 Kim Y, Prohofsky E W. *Phys. Rev.*, 1986; **33B**: 5676
- 20 Yomosa S et al. *Phys. Rev.*, 1984; **30A**:473
- 21 Edwards G S et al. *Phys. Rev. Lett.*, 1984; **53**: 1284
- 22 Prohofsky E W. *Phys. Rev.*, 1988; **38A**:1538
- 23 Van Zandt L L. *Phys. Rev.*, 1985; **40A**:6134

STUDY ON FAR-INFRARED AND LOW FREQUENCY RAMAN SPECTROSCOPIES OF DNA

LIU SONGHAO MENG YAoyong

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

The conformation change, the strand-separation of the helix and the soliton phenomenon of DNA, in which the low vibrational modes are involved, have been reviewed. It is pointed out that far-infrared and low frequency Raman spectroscopies would be a very useful tool in the study of the structure and biological function of DNA.

Key words: DNA, far-infrared spectroscopy, Raman spectroscopy.