• 研究论文 •

核酸碱基的非谐性振动: III, DNA 叠加二聚体的一维和二维红外光谱

王桂秀 王建平*

(中国科学院化学研究所 分子反应动力学国家重点实验室 北京分子科学国家实验室 北京 100190)

摘要 用量子化学计算方法研究了 DNA 碱基单体及其 15 个 B 型和 2 个 G-四链体的叠加二聚体的非谐性振动光谱特征. 研究发现, 从碱基单体到二聚体, C=O 伸缩模式之间的相互作用很强, 表现在其非谐性振动频率和非谐性常数都发生了明显的改变, 特别是在含碱基 G 的叠加体中. 这些变化能在一维和二维红外光谱中很好地表现出来. 利用振动模式的势能分布和非谐性常数的组成分析, 讨论了叠加二聚体中 C=O 模式的离域化程度.

关键词 量子化学计算; B 型 DNA 叠加二聚体; G-四链体叠加二聚体; 非谐性频率; 非谐性常数

Anharmonic Vibrations of Nucleobases: III, Structural Basis of One- and Two-Dimensional Infrared Spectra for DNA Stacking Dimers

Wang, Guixiu Wang, Jianping*

(Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, State Key Laboratory of Molecular Reaction Dynamics,
Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190)

Abstract In this work, DNA base monomers, 15 B-form stacking dimers and two G-quadruplex stacking dimers were studied by quantum chemical computations. Detailed anharmonic vibrational analysis was carried out to reveal vibrational signatures for structural aspect of the base monomers and dimers. It was found that from isolated base monomers to stacking dimers, particularly those containing guanine, the interaction between the C=O stretching is very strong, as depicted by the significant changes of their vibrational frequencies and anharmonicities. Such changes can be manifested well in simulated 1D IR and 2D IR spectra. Delocalization degree of the C=O vibrational modes in stacking dimers, represented by the potential energy distribution and the contribution to the diagonal anharmonicity composition from the vibrators, was found to have significant variations in comparison with isolated bases, which resulted from the influences of the C=O stretching and the nearby vibrations of stacking bases.

Keywords quantum chemical computation; B-form DNA stacking dimers; G-quadruplex stacking dimers; anharmonic vibration; anharmonicity

传统的一维红外光谱(如 FTIR)具有广泛用途, 其中包括研究核酸碱基及核酸分子(DNA 和 RNA)的结构和动力学. 在基质隔离的条件下, FTIR 能识别碱基的振动光谱, 如碱基 A (adenine)^[1], T (thymine)^[2], C (cytosine)^[3] 和 U (uracil)^[4], 特别是对碱基 G (guanine)异构体的研究更多, 除了在基质隔离的条件下^[5~8], 还结合紫外光谱

研究气相中的异构体^[9~11]. FTIR 还可以测量各种形态的核酸碱基对, 如液相^[12]和晶体^[13]中的 A-U 碱基对, 薄膜中的 A, B, C, D 和 Z 型的双螺旋聚 A-T 分子^[14]. 与紫外光谱相结合还能高分辨地区分气相中不同的 A-T 配对异构体^[15]、G-C 配对异构体及其它碱基配对体^[16]. 此外, 红外光谱可以区分 A、B 型双螺旋 DNA^[17], 研究 $dA_n \cdot dT_n$

* E-mail: jwang@iccas.ac.cn

Received May 25, 2011; revised September 5, 2011; accepted October 25, 2011.

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 20727001, 30870591).

国家自然科学基金(Nos. 20727001, 30870591)资助项目.

$\times dT_n$ 三链螺旋^[18], 及其它各种各样的碱基配对结构^[19]和碱基的叠加结构^[20]. 红外光谱技术的这些应用, 是基于红外振动跃迁与核的运动相联系: 分子的振动频率在某种程度上反映了分子中包含着核势能的非谐性项, 而且振动跃迁偶极矩的取向与相关基团的化学键取向密切相关. 然而, 红外光谱技术所能提供的结构和动力学信息是有限的, 主要是因为振动吸收峰较宽, 而振动模的数量较多, 造成了光谱重叠; 而且, 一般较弱的倍频与和频峰被基频吸收带的谱线增宽效应掩盖了; 再者, 传统的红外光谱不能表征在分子结构变化时与不同位置的核坐标关联的分子间和分子内相互作用, 也就无法给出振动模式相互作用的动力学.

近十几年来建立在超快激光技术上发展起来的二维红外光谱(two-dimensional infrared spectroscopy, 2D IR)在以高时间分辨率获取分子的结构信息方面非常有前景^[21-24]. 它把三束(波矢为 k_1, k_2, k_3)飞秒激光脉冲聚焦在样品上, 并对这三束超快飞秒泵浦光的顺序和间隔时间进行操作. 第一束泵浦光激发后, 随后跟进第二束和第三束泵浦光, 得到一个在相位匹配($-k_1+k_2+k_3$)条件下自由衰减的发射信号 k_s . 固定 k_2 和 k_3 之间的延时 T (布居时间), 使用碲镉汞红外探测器扫描 k_1 和 k_2 之间的延时 τ (相干时间)和 k_3 的作用时间 t , 能得到一个沿 τ 和 t 的二维时域振荡信号. 进行二维傅立叶变换则得到二维频域光谱, 其二维光谱线形反映了样品中分子从 $v=0$ 到 $v=1$ 和从 $v=1$ 到 $v=2$ 等振动吸收带的增宽机制, 对角和非对角非谐性常数也自然展现在二维频率图中. 二维频域谱中的对角峰包含核位势沿着单个振动坐标支配的分子运动, 非对角线位置的耦合峰的频率和强度表征了空间位置不同的振子相互作用的信息, 这种耦合包含了振动动力学, 化学键的关联和模式间的势能函数^[25-28]. 由此看出二维红外光谱对分子的结构非常敏感, 它可以反映分子振动模式的非谐性特征和模式之间振动的关联. 人们应用二维红外光谱成功地研究了乙醇的氢键动力学^[29]、多肽模式间的耦合^[25,30-32]、有机阳离子模式间的能量转移^[33]和 DNA 低聚物分子的对角非谐性常数及相邻分子的耦合^[34,35]. 宽带二维红外光谱^[36]中包含了更多的振动模式, 能使人们更好地认识分子结构动力学.

通常分子振动的量化计算以谐振子为模型. 对于多原子分子, 由于没有考虑非谐性因素的影响, 所得结果与气相中的光谱实验值相差较大. 如在 HF/6-31G(d,p)水平上计算的 DNA 碱基 G 异构体中 NH 伸缩振动频率的校正系数为 0.893, 而 OH 伸缩振动的校正系数则为 0.867. 这反映了不同振子的非谐性强度不同. 在同等水平基组上即使应用精确度更高的二阶 Møller-Plesset 微

扰理论(MP2)方法计算也需要对频率进行校正, 碱基 G 异构体中 NH 伸缩振动频率的校正系数为 0.942, OH 伸缩频率的校正系数为 0.951^[16]. 振动二阶微扰理论^[37]可以对分子的全模式振动频率进行非谐性修正. 简单地说, 这一方法首先对全部振动能量分析二阶导数得出谐性频率后, 通过中心数字微分得出三阶力常数和半对角四阶力常数, 由此在谐性近似的基础上植入非谐性项, 得到非谐振子的振动能量, 如下式.

$$E(n_i, n_j) = E_0 + hc \sum_i^{3N-6} \omega_i (n_i + \frac{1}{2}) + hc \sum_{i \leq j}^{3N-6} x_{ij} (n_i + \frac{1}{2})(n_j + \frac{1}{2})$$

其中 ω_i 为谐性频率, n_i 为第 i 个模式的振动量子数, x_{ii} ($i=j$) 和 x_{ij} 是非谐性校正项, 是用上述三阶和四阶力常数表示的^[37]. 可由下列公式得到振子非谐性振动的基频、

$$\text{倍频与和频: } \nu_i = \omega_i + 2x_{ii} + \sum_{j \neq i} x_{ij}/2, \quad \nu_{2i} = 2\nu_i + 2x_{ii},$$

$\nu_{ij} = \nu_i + \nu_j + x_{ij}$, 因此应用振动二阶微扰理论可以计算振子从 $v=0$ 到 $v=1$ 和从 $v=0$ 到 $v=2$ 的非谐性能级跃迁, 在获得全模式的非谐性基频、倍频与和频后, 即可计算求得对角与非对角非谐性常数. 最近报导的利用振动二阶微扰理论计算的 DNA 碱基 A 和 RNA 碱基 U 的非谐性频率与实验值非常接近^[38,39]. 我们利用振动二阶微扰理论研究了 DNA 配对体^[40], DNA 错配体及 RNA 配对体的非谐性的振动特征^[41], 碱基单体和 Watson-Crick 配对^[40]中 NH 和 C=O 伸缩的频率和实验数据吻合, 碱基 G, C 中 C=O 伸缩的对角非谐性常数^[40,41]和仅有的 2D IR 实验值^[34]也符合得较好.

在核酸碱基分子间较弱的相互作用中, 除了由氢键连接的 Watson-Crick 配对^[42]之外, π - π 叠加在核酸的非键作用中也较为重要, 对其双螺旋的稳定性和构象的多样性起着关键作用^[43,44]. π - π 叠加对基因的调控也极为重要, 例如, 酶-核酸识别的调控基因多数由 π -叠加的芳香性氨基酸和核酸碱基的控制来表达^[45,46]. 由于碱基叠加的重要性, 人们对核酸碱基-核酸碱基二聚物的叠加展开了大量研究, 研究内容通常集中在 π - π 相互作用的强度上^[47-51]. 最近, 有关于 A 型和 B 型 DNA 低聚物中相邻叠加体中 C=O 的耦合及其在 2D IR 光谱中表现的报导^[35], 关于 DNA 双螺旋 dG_n:dC_n 和 dA_n:dT_n (n 从 1 到 10) 的 2D IR 光谱模拟也有报导, 其中模拟的 B 型 d(GC)₁₀ 的数据和 A 型 dG₅C₅ 双螺旋 2D IR 实验数据有基本相同的光谱指纹^[52]. 但迄今为止人们还没有在理论上系统地研究 DNA 碱基叠加体非谐性的振动特征.

理论模拟^[52-54]和实验^[20,34,35]都在 1400~1800 cm⁻¹ 的振动区间研究了 DNA 叠加体的振动光谱, 而其中有着强红外跃迁偶极的 C=O 伸缩振动对结构尤为敏感,

因此我们利用振动二阶微扰理论对常见的 B 型 DNA 和 DNA 染色体端粒的 G-四链体的叠加结构做非谐性的计算, 研究 C=O 伸缩模式的频率和非谐性常数对结构的敏感性. 以前的模型计算表明在 DNA 叠加体中第一层和第三层碱基之间的 C=O 伸缩振动耦合约为 $1\sim 2\text{ cm}^{-1}$, 两个相邻碱基的耦合约为 19 cm^{-1} [35]. 因而本文将研究相互作用较强的相邻碱基的系列叠加体的振动特征. MP2 方法预测酞-嘧啶形成了叠加二聚体, 而实验仅能观察到由氢键连接的平面二聚体结构的振动光谱[55]. 这或许由于叠加分子的作用能低, 形成的结构不稳定, 数量很少, 无法在光谱中分辨. 因此, 叠加二聚体结构和振动光谱的理论研究具有必要性. DNA 四个碱基叠加顺序不同会造成结构的多样性, 其中仅单链就含有 16 个不同的叠加二聚体结构. G-四链体中层与层之间的叠加结构也不同, 从中选出两个相邻的结构和 B 型 DNA 的叠加二聚体可以模拟 DNA 叠加分子的振动性质. 此外, 理想的计算应当考虑磷酸和脱氧戊糖基团的影响, 为了节省计算时间, 我们只计算碱基单体的叠加体系. 因此在本工作中我们对 15 个 B 型 DNA(除了没有 C=O 官能团的碱基 A 的叠加二聚体)和 G-四链体的第一个环部位 5'链的两个叠加碱基二聚体的非谐性振动进行了探索.

1 计算方法

研究表明叠加体系的作用由三部分组成: 短程交换排斥力, 色散吸引力和静电力[49,56]. 正确描述短程交换排斥力和色散作用的计算方法需要考虑电子相关, 已经有文献论述过 MP2 和 CCSD (coupled cluster method with single and double replacements)是计算叠加结构合适的方法[48,51]. CCSD 极为耗时, 所以合理协调了准确性和计算时间的 MP2 成为首选. 计算叠加结构的分子还需考虑基组方面对短程距离含有的电子相关效应的恰当描述, 6-31G*(0.25)应用广泛, 它以指数 0.25 代替了通常第二层原子 d-指数的 0.8[48,51], 以此突出色散吸引力所含的电子相关效应, 基组含有增大的极化函数和弥散函数也能描述电子相关[57]. 但用 MP2 方法结合上述基组计算 17 个包含 26~32 个原子的碱基叠加体系是一项颇具挑战性的工作. 这是由于振动二阶微扰理论对分子的非谐性计算包含 $3N-6$ 个模式的基频, 倍频及 $(3N-6)(3N-5)/2$ 个模式之间的和频, 尽管这类计算可在计算机簇系统内并行实现, 但仍然极为耗时, 在有限的时间内 MP2 方法无法完成这样的计算. 虽然密度泛函 DFT 方法没有考虑短程距离的电子相关, 但 DFT 方法可用

来进行 DNA 碱基对叠加四聚体结构的优化[35,53]. 而 HF 和 DFT 方法在氨基乙酸二肽分子频率的相关性、对角和非对角非谐性常数方面所得值的近似性已经专门论述过[58], 说明 HF 加上合适的基组可以近似地再现酰胺-I 带伸缩振动模式在 DFT 方法下得到的非谐性常数. 在最近的工作中, 我们首先考察了 HF 与 DFT 方法计算 DNA 碱基单体与 Watson-Crick 配对的非谐性振动性质, 发现两者的相关性较好, 在 DNA 的配对体计算方面 HF 方法可以合理地替代 DFT 方法, 因此对 DNA 正规配对、错配体以及 RNA 配对结构的非谐性计算采用了 HF 方法与 6-31+G*基组[41]. 在本文中我们采用相同的方法和基组处理 DNA 的碱基单体和叠加二聚体. 为了使叠加体的角度和平行距离保持不变, 优化过程中对内坐标的参数如原子间距, 角度和二面角进行了固定, 对其余的原子进行了自由优化. 本文的侧重点是碱基单体形成叠加二聚体之后所选模式的频率和对角非谐性常数值的变化以及模式间的非对角耦合, 而考察频率变化对计算方法的精确性要求可以不过分严格, 这是因为这些参数来自频率相减, 由计算方法引起的误差得以消除.

为进行非谐性频率的计算, 所有的碱基单体(结构和命名见图 1)和二聚体的结构在严格收敛的条件下优化. 稳定点由没有虚频的谐性频率识别, 碱基 C[40]和所有的二聚体有一个 $20\sim 30\text{ cm}^{-1}$ 的虚频, 二聚体的虚频对应着两个碱基彼此垂直的振动方式, 文献[59]报导了叠加二聚体的稳定能低于垂直二聚体的稳定能, 所以碱基叠加体的振动趋向于形成更稳定的结构. 由于虚频对应的振动方式与 C=O 伸缩振动无关, 碱基 C 及二聚体中 C=O 伸缩振动的频率和没有虚频的单体 G、T 情形相比在预测的 C=O 伸缩振动范围内. 碱基单体中 C=O 伸缩模式的对角非谐性常数值介于 $12.0\sim 18.0\text{ cm}^{-1}$, 与通常属于 C=O 伸缩模式的酰胺-I 带的对角非谐性常数值非常接近[31,60]; 二聚体中 C=O 伸缩模式的对角非谐性常数值波动范围在 $3.0\sim 26.0\text{ cm}^{-1}$ 之间, 在最近的工作中 DFT 方法计算的 T 中两个 C=O 模式由于耦合, 它们的对角非谐性常数分别为 23.7 与 2.7 cm^{-1} [40]. 叠加体中 C=O 伸缩的对角非谐性常数值能近似地再现 DFT 的结果, 所以对碱基 C 与二聚体中虚频的影响不予考虑. 为了解模式的振动组成对其进行了势能分布 (potential energy distribution, PED)分析. 主要计算利用 Gaussian 03[61]程序进行. 用 HF 方法计算得出的单体和二聚体中的非谐性频率没有进行频率因子的校正, 因为我们关注的是碱基形成叠加结构后其 C=O 伸缩模式的非谐性频率的变化情况.

图 1 带原子序号的 DNA 碱基 A (adenine), C (cytosine), G (guanine) 和 T (thymine) 的分子结构

Figure 1 Molecular structures of A (adenine), C (cytosine), G (guanine) and T (thymine) with atomic numbering

2 结果和讨论

2.1 叠加二聚体的结构

所选定的 DNA 叠加二聚体包括 A-C, A-G, A-T, C-A, C-C, C-G, C-T, G-A, G-C, G-G, G-T, T-A, T-C, T-G 和 T-T. G-四链体来自于由 DNA 寡核苷酸的两个链缔合形成的四螺旋的溶液结构^[62], 我们从 G-四链体第一个环部位的 5'链依次选取了两个相邻的二聚体: G-G1(第一层与第二层碱基 G 的叠加)和反平行叠加的 G-G2(第二层与第三层碱基 G 的叠加). 所有的叠加二聚体按核酸链通常用的 5'到 3'的顺序命名.

优化后的二聚体层面距离为 3.4 nm. DNA 二聚体中碱基中心轴的扭转角度大约是 36.0°, 对于 G-G1 和 G-G2, 则分别是 25.0°, 88.7°. 优化后两个叠加的碱基环平面的倾斜角度在 3°至 12°之间. 这是由于碱基环上的原子偏离了平面, 源于叠加体中色散能的排斥, 并伴有

很小的变形能^[51].

2.2 叠加二聚体的频率和 1D IR 光谱特征

我们选取了 6 个典型的叠加二聚体. 它们分别属于只有一个 C=O 基团的 A-G, 两个碱基各含有一个 C=O 基团的 G-G, G-G2, G-C 和含多个 C=O 基团的 C-T, T-C, 结构俯视图见图 2A. 表 1 和表 2 左半部分分别列出了单体和二聚体中 C=O 伸缩振动的非谐性频率、跃迁强度和模式指认. 经比较发现, 所有叠加体中 C=O 的非谐性频率与跃迁强度和单体相比都发生了不同程度的变化. 图 2B 是模拟的六个叠加二聚体 C=O 伸缩的 1D IR, 其(a)到(e)面板分别为 A-G, G-G, G-G2, C-T, T-C 和 G-C, 其谱峰进行了人为增宽, 所用高斯线型的半高宽为 10 cm⁻¹. 这些光谱各有特点: A-G 中孤立的 C=O 谱峰和单体的相比, 振动频率和跃迁强度的变化都较小. G-G 与 G-G2 叠加二聚体中 C=O 峰与 A-G 的明显不同, 和单体相比, 振动频率与跃迁强度都发生了较大变化, 尤其是它们的跃迁强度对比明显, 这表明分子间两个 C=O 相互作用强. 频率较高的为相互作用所产生的对称伸缩振动, 光谱强度高; 频率较低的峰为不对称伸缩振动, 光谱强度弱. 强相互作用导致 G-G 中较高频率的 C=O 伸缩发生了明显的兰移: 28.9 cm⁻¹, 它对应着 G-G 上方碱基中的 C=O; G-G2 中较低频率的 C=O 红移较大: 23.7 cm⁻¹, 它来自于 G-G2 中的下方碱基. G-G2 中两个 C=O 的谱峰距离较 G-G 中的更近, 显示它们的作用更强. 与此不同的是图 2B(f) 中的 G-C 叠加体, 两个 C=O 的频率差值大, 表明振动局域化程度高, 近似于单体内的模式.

在图 2B(d)和(e)中, 交错叠加体 C-T 和 T-C 的组成相同, 1D IR 谱峰却有明显不同: C-T 的红外谱峰分布较广且分离明显, 其中频率值最高的 C(2)O(T)伸缩频率兰移了 13.6 cm⁻¹, 频率值最低的 C(4)O(T)伸缩频率红移了 26.5 cm⁻¹, 并且 C(2)O(C)和 C(4)O(T)的强度反差大. 而 T-C 的 1D IR 光谱峰频率相近, 强度也相近. 其中位于中间的 C(4)O(T)的频率和单体的频率接近, 最高峰

表 1 计算获得的 DNA 碱基 C, G 和 T 的 C=O 伸缩振动的非谐性频率(ν_i , 单位 cm⁻¹), 红外强度(IR_{int}, 单位 km/mol)和 PED(%)
Table 1 The calculated anharmonic frequency (ν_i , in cm⁻¹), IR intensity (IR_{int}, in km/mol) and PED (%) of the C=O stretching vibration in DNA bases C, G and T

Species	Mode	ν_i	IR _{int}	PED ^a
C	ν C(2)O	1922.2	969.5	ν C(2)O(19.5), ϵ N(1)H(11.7), ϵ N(1)C(2)N(3)(8.9), ν N(1)C(2)(6.0), ν N(3)C(2)(9.2)
G	ν C(6)O	1933.9	1046.8	ν C(6)O(17.5), ν C(5)C(6)(11.4), ϵ C(5)C(6)N(1)(7.4), ϵ N(1)H(9.6), ν C(6)N(1)(4.1)
T	ν C(2)O	1941.6	751.6	ν C(2)O(15.2), ν C(4)O(6.6), ν N(3)C(2)(6.4), ν N(1)C(2)(6.9), ϵ N(1)H(9.3), ϵ N(3)H(6.9), ϵ N(1)C(2)N(3)(7.3)
	ν C(4)O	1922.9	1171.3	ν C(4)O(14.4), ν C(2)O(5.2), ν C(4)C(5)(6.9), ν N(3)C(4)(5.6), ϵ N(3)H(17.5), ϵ N(3)C(4)C(5)(6.6)

^a ν =伸缩振动, δ =面内弯曲振动, ϵ =角度变形.

表 2 6 个叠加二聚体 C=O 伸缩振动的非谐性频率(ν_i , 单位 cm^{-1}), 红外强度(IR_{int} , 单位 km/mol)和 PED 组成(%)Table 2 The calculated anharmonic frequency (ν_i , in cm^{-1}), IR intensity (IR_{int} , in km/mol), and PED composite (%) of C=O stretching vibration in 6 stacking dimers

Species ^a	Mode	ν_i	IR_{int}	PED ^b
G in A-G	$\nu\text{C}(6)\text{O}$	1921.4	953.1	$\nu\text{C}(6)\text{O}(9.4)$, $\delta\text{N}(1)\text{H}(13.3)$, $\varepsilon\text{C}(5)\text{C}(6)\text{N}(1)(4.0)$, $\nu\text{C}(5)\text{C}(6)(6.2)$, $\nu\text{C}(6)\text{N}(1)(2.3)$, $\rho\text{C}(6)\cdots\text{N}'(6)(3.0)$, $\rho\text{C}(6)\cdots\text{H}'(61)(4.3)$, $\rho\text{C}(6)\cdots\text{H}'(62)(3.4)$, $\rho\text{C}(6)\cdots\text{C}'(2)(2.7)$, $\rho\text{H}(1)\cdots\text{N}'(6)(2.5)$, $\delta\text{N}'\text{H}'(1.1)$
G in G-G	$\nu\text{C}(6)\text{O}$	1933.4	337.7	$\nu\text{C}(6)\text{O}(9.6)$, $\nu\text{C}(5)\text{C}(6)(6.3)$, $\nu\text{C}'(6)\text{O}'(5.0)$, $\varepsilon\text{C}(5)\text{C}(6)\text{N}(1)(4.0)$, $\delta\text{N}(1)\text{H}(7.1)$, $\delta\text{N}'(1)\text{H}'(3.6)$, $\rho\text{C}(6)\cdots\text{C}'(6)(2.2)$
G" in G-G	$\nu\text{C}(6)\text{O}$	1962.8	1330.7	$\nu\text{C}(6)\text{O}(9.8)$, $\nu\text{C}(5)\text{C}(6)(6.1)$, $\nu\text{C}'(6)\text{O}'(5.0)$, $\delta\text{N}(1)\text{H}(7.2)$, $\rho\text{C}'(6)\cdots\text{O}(6)(4.5)$, $\delta\text{N}'(1)\text{H}'(4.2)$, $\varepsilon\text{C}(5)\text{C}(6)\text{N}(1)(4.1)$
G in G-G2	$\nu\text{C}(6)\text{O}$	1920.4	1324.7	$\nu\text{C}(6)\text{O}(6.3)$, $\nu\text{C}'(6)\text{O}'(5.9)$, $\nu\text{C}(5)\text{C}(6)(4.0)$, $\nu\text{C}'(5)\text{C}'(6)(3.7)$, $\delta\text{N}(1)\text{H}(5.3)$, $\delta\text{N}'(1)\text{H}'(5.2)$, $\varepsilon\text{C}(5)\text{C}(6)\text{N}(1)(2.5)$, $\rho\text{N}'(7)\cdots\text{C}(6)(2.3)$, $\rho\text{C}'(5)\cdots\text{O}(6)(1.8)$, $\rho\text{C}'(4)\cdots\text{C}(6)(1.4)$
G" in G-G2	$\nu\text{C}(6)\text{O}$	1910.2	488.8	$\nu\text{C}(6)\text{O}(5.7)$, $\nu\text{C}'(6)\text{O}'(5.3)$, $\nu\text{C}(5)\text{C}(6)(3.9)$, $\nu\text{C}'(5)\text{C}'(6)(3.6)$, $\delta\text{N}(1)\text{H}(4.8)$, $\delta\text{N}'(1)\text{H}'(4.4)$, $\varepsilon\text{C}(5)\text{C}(6)\text{N}(1)(2.5)$, $\varepsilon\text{C}'(5)\text{C}'(6)\text{N}'(1)(2.3)$, $\rho\text{C}(6)\cdots\text{H}'(1)(3.5)$, $\rho\text{C}'(6)\cdots\text{O}(6)(1.6)$
C in C-T	$\nu\text{C}(2)\text{O}$	1918.8	1217.0	$\nu\text{C}(2)\text{O}(6.3)$, $\nu\text{C}(2)\text{N}(3)(3.1)$, $\nu\text{N}(1)\text{C}(2)(1.9)$, $\nu\text{C}'(4)\text{O}'(6.0)$, $\nu\text{C}'(2)\text{O}'(1.0)$, $\delta\text{N}(1)\text{H}(5.7)$, $\varepsilon\text{N}(1)\text{C}(2)\text{N}(3)(2.9)$, $\rho\text{C}(2)\cdots\text{H}'(3)(3.3)$, $\rho\text{C}(4)\cdots\text{C}'(4)(1.9)$, $\rho\text{C}(2)\cdots\text{O}'(4)(1.6)$
T in C-T	$\nu\text{C}(2)\text{O}$	1955.2	1253.3	$\nu\text{C}(2)\text{O}(10.5)$, $\nu\text{C}'(2)\text{O}'(2.5)$, $\nu\text{C}(4)\text{O}(1.5)$, $\nu\text{C}(2)\text{N}(3)(4.7)$, $\nu\text{N}(1)\text{C}(2)(4.6)$, $\delta\text{N}(1)\text{H}(9.8)$, $\delta\text{N}(3)\text{H}(8.2)$, $\varepsilon\text{N}(1)\text{C}(2)\text{N}(3)(5.0)$, $\rho\text{N}'(4)\cdots\text{H}(3)(3.2)$, $\rho\text{N}'(1)\cdots\text{C}(2)(3.0)$, $\rho\text{C}'(4)\cdots\text{H}(3)(2.7)$, $\rho\text{C}'(2)\cdots\text{O}(2)(2.4)$
	$\nu\text{C}(4)\text{O}$	1896.4	150.9	$\nu\text{C}(4)\text{O}(5.7)$, $\nu\text{C}'(2)\text{O}'(5.2)$, $\delta\text{N}(3)\text{H}(6.6)$, $\nu\text{C}(2)\text{O}(1.7)$, $\varepsilon\text{N}(3)\text{C}(4)\text{C}(5)(2.6)$, $\rho\text{N}'(4)\cdots\text{H}(3)(2.8)$, $\rho\text{C}'(5)\cdots\text{C}(4)(1.5)$
T in T-C	$\nu\text{C}2\text{O}$	1932.4	1085.2	$\nu\text{C}(2)\text{O}(11.8)$, $\nu\text{C}(2)\text{N}(3)(5.3)$, $\nu\text{C}(2)\text{N}(1)(5.1)$, $\nu\text{C}(4)\text{O}(3.0)$, $\nu'(2)\text{O}'(2.3)$, $\delta\text{N}(1)\text{H}(11.3)$, $\delta\text{N}(3)\text{H}(8.3)$, $\rho\text{C}'(4)\cdots\text{C}(2)(1.8)$, $\rho\text{N}'(4)\cdots\text{H}(3)(1.7)$, $\rho\text{C}'(5)\cdots\text{C}(2)(1.7)$
	$\nu\text{C}(4)\text{O}$	1922.9	998.7	$\nu\text{C}(4)\text{O}(10.7)$, $\nu\text{C}(4)\text{C}(5)(5.0)$, $\nu\text{C}(4)\text{N}(3)(4.0)$, $\nu\text{C}(2)\text{O}(1.9)$, $\nu\text{C}'(2)\text{O}'(0.3)$, $\delta\text{N}'\text{H}'_2(2.1)$, $\varepsilon\text{N}(3)\text{C}(4)\text{C}5(4.9)$, $\delta\text{N}(3)\text{H}(11.2)$, $\rho\text{H}'(41)\cdots\text{C}(4)(3.5)$, $\rho\text{N}'(4)\cdots\text{H}(3)(2.6)$
C in T-C	$\nu\text{C}(2)\text{O}$	1910.2	645.7	$\nu\text{C}(2)\text{O}(14.4)$, $\nu\text{C}(2)\text{N}(3)(6.6)$, $\nu\text{C}(2)\text{N}(1)(4.5)$, $\delta\text{N}(1)\text{H}(13.4)$, $\varepsilon\text{N}(1)\text{C}(2)\text{N}(3)(6.5)$, $\nu\text{C}'(2)\text{O}'(2.6)$, $\nu\text{C}'(4)\text{O}'(0.3)$
G in G-C	$\nu\text{C}(6)\text{O}$	1922.7	1006.8	$\nu\text{C}(6)\text{O}(11.7)$, $\nu\text{N}(1)\text{C}(6)(7.5)$, $\nu\text{C}(5)\text{C}(6)(3.0)$, $\nu\text{C}'(2)\text{O}'(0.4)$, $\varepsilon\text{C}(5)\text{C}(6)\text{N}(1)(5.0)$, $\varepsilon\text{N}(1)\text{H}(9.8)$, $\rho\text{N}'(3)\cdots\text{O}(6)(2.7)$
C in G-C	$\nu\text{C}(2)\text{O}$	1888.2	1058.3	$\nu\text{C}(2)\text{O}(9.2)$, $\delta\text{N}(1)\text{H}(9.6)$, $\delta\text{N}'\text{H}'_2(3.4)$, $\varepsilon\text{N}(1)\text{C}(2)\text{C}(3)(4.3)$, $\nu\text{C}'(6)\text{O}(0.6)$, $\nu\text{N}(1)\text{C}(2)(3.0)$, $\rho\text{C}(2)\cdots\text{H}'(2)(4.0)$

^a “”俯视图下方方的碱基, ^b ρ =叠加原子的振动相关, “”另一个碱基的原子, 环外的 H 和 O 的序号和连接在环上原子序号相同。

C(2)O(T)与最低峰 C(2)O(C)的频率红移也较小, 分别为 9.2 和 12.0 cm^{-1} 。

表 1 和表 2 的右半部分还分别列出了单体和二聚体中 C=O 伸缩振动的势能分布(PED)。PED 分析建立在内坐标的基础上, 表现为与模式振动相关的化学键的伸缩、弯曲等的振动及相关角度的改变, 二面角的变形等, 因此模式自身的 PED 组成 < 100%。表 1 中的 PED 分析表明, 位于这一频率范围内的所谓的 C=O 吸收峰实际上不仅仅包含 C=O 自身的伸缩振动, 还包括环上 C—N 键的伸缩, 相邻 N—H 的平面内弯曲振动以及 C=O 伸缩振动引起的角度变形, 具有较强的离域特性。对于碱基 T 来说, 还包含两个 C=O 之间耦合的贡献。形成叠加二聚体后(表 2), C=O 伸缩这种强振动模式不仅分布于自身的碱基, 还延伸到空间叠加的碱基, 造成 C=O 的离域化大大增加, 使得 C=O 自身及分子内相关振动模式的贡献减少, 叠加碱基中的 C=O 伸缩及附近各种各样的振动贡献相应地增加了, 另外还有叠加结构特色的振动模式, 暂时称之为叠加振动关联: 表示 C=O 伸缩振动引起 C、O 及附近原子与叠加碱基垂直区

域的原子的相对位移, 这是由 C=O 伸缩振动引起的空间碱基之间的关联。

根据以上分析可见, 二聚体中 C=O 伸缩的频率和跃迁强度的改变与叠加碱基的种类有关。碱基 A 极性最弱^[63], 且没有极性强的 C=O 伸缩振动, 它对叠加碱基中 C=O 伸缩的作用较小。如与表 1 中 G 的 C=O 伸缩的 PED 分析相比, 表 2 中 A-G 中 C=O 伸缩的频率及跃迁强度的变化较小。C=O 伸缩自身的贡献为 9.4%, 小于单体中的 17.5%。同时碱基自身的 C—N 伸缩、 $\angle\text{N}(1)\text{C}(2)\text{N}(3)$ 的角度变化的贡献减少, 叠加碱基空间的振动关联增加许多。此外碱基 A 中 C—N 伸缩等也有较小贡献(没有列出)。其它只有一个 C=O 伸缩的叠加体如 G-A、A-C、C-A 中 C=O 伸缩的势能分布也与之类似, 可以断定其 C=O 伸缩模式的频率及跃迁强度变化都不大。例外的是 C-A 中 C=O 模式的频率发生了显著的红移: 29.2 cm^{-1} , 其振动强度(861.8 km/mol)和单体相比变化不大。叠加体 A-T、T-A 的两个 C=O 伸缩模式以及它们分子内的耦合受 A 的影响都会发生改变, 反

图 2 (A)所选 6 个典型叠加碱基二聚体优化结构的俯视图, (a) A-G, (b) G-G, (c) G-G2, (d) C-T, (e) T-C, (f) G-C. (B)上述 6 个叠加碱基 C=O 伸缩振动的模拟一维红外光谱图. (C)上述 6 个叠加碱基 C=O 伸缩振动的模拟二维红外“点”光谱图

Figure 2 (A) Perspective view of the optimized structures of six typical stacking dimers. (a) A-G, (b) G-G, (c) G-G2, (d) C-T, (e) T-C, (f) G-C. (B) Simulated 1D IR spectra of the C=O stretching vibrations of the above stacking dimers. (C) Simulated 2D IR “dot” spectra in the same frequency region

之, 这种改变又影响了模式彼此的耦合和伸缩振动, 使得它们的频率及耦合都发生了明显的变化(见 2.3.2 节). 对于 G-G, G-G2, PED 分析表明分子间 C=O 的耦合较强, 特别是对于 G-G2, 叠加体上方的 C=O 伸缩自身占 6.3%, 来自下方碱基 C=O 伸缩的贡献达 5.9%; 反之亦然: 叠加体下方 C=O 自身伸缩为 5.7%, 上方碱基中 C=O 伸缩的贡献为 5.3%, 分子间 C=O 伸缩混合程度极大, 显示彼此的作用很强. 同为碱基 G 叠加体的 G-G1 中两个 C=O 伸缩振动的跃迁强度值分别为 1572.0 和 97.8 km/mol , 对比更强, 直观地表明 C=O 伸缩之间的耦合也很强. 这些都因为嘌呤 G 的叠加作用能最大^[64], 并且极性很强^[63], G 的叠加二聚中两个 C=O 伸缩产生的强耦合使 G-G 中一个 C=O 出现了较大的频率蓝移, G-G2 中一个 C=O 出现了较大的频率红移, G-G1 中属于叠加体上方的 C=O 频率红移更为显著, 为 36.6 cm^{-1} . 图 2B(f)显示 G-C 中 C=O 伸缩的强度近似, PED 显示 C=O(G)自身贡献为 11.7%, C=O(C)的贡献仅为 0.4%; 同样, C=O(C)自身贡献为 9.2%, C=O(G)贡献仅为 0.6%, 两个 C=O 模式的振动很大程度上局限在各自的碱基上. 在含有多个 C=O 的叠加体中, C=O 伸缩彼此关联, 导致所有 C=O 伸缩振动的频率与跃迁强度都发生了变化. C-T 叠加体中 C(2)O(C)与 C(4)O(T)伸缩振动的混合程度极高, 对 C(2)O(C)而言, 其自身占 6.3%, C(4)O(T)的贡献为 6.0%, 而 C2O(T)仅占 1.0%; 对

C(4)O(T)伸缩而言, 其自身为 5.7%, C(2)O(C)占 5.2%, C(2)O(T)只占 1.9%. C(2)O(C)与 C(4)O(T)两者强耦合使得 C(4)O(T)的频率红移很大. T-C 叠加体中任何两个 C=O 伸缩之间的相互作用都较小(表 2), 叠加体中 C=O 伸缩附近其它振动模式影响较小, 3 个 C=O 伸缩的频率及跃迁强度变化不显著.

表 3 给出了 B 型 DNA 和 G-四链体的叠加二聚体以及 DNA 碱基单体中 C=O 伸缩振动的非谐性频率. 由表 3 可见, 与单体相比, 这些二聚体中 C=O 伸缩的频率的改变都很明显. 其中, 导致碱基 C 中 C=O 伸缩频率改变最显著的叠加体是 C-G 与 G-C, 其振动频率都出现了很大的红移, 分别为 36.9 和 34.0 cm^{-1} , 特别是 G-C 中两个碱基的 C=O 伸缩的耦合极弱, 但 C 中 C=O 伸缩的频率红移仍很显著, 这与 G 的影响有关. 此外, 碱基 G 改变了与之叠加的碱基 T 中 C=O 的振动次序, 单体 T 中 C(2)O 的伸缩振动频率高于 C(4)O 的伸缩振动频率, 在 A-T, T-A, T-C 和 C-T 中属于碱基 T 的两个 C=O 伸缩振动的能量次序和单体中的相同. 而 T 和共轭 π 键最大的 G 形成 T-G 和 G-T 叠加体后, T 中 C(2)O 和 C(4)O 伸缩振动的能量次序发生了改变: C(2)O 伸缩振动的频率低于 C(4)O 伸缩振动的频率. 结合 G-G, G-G1, G-G2 中 C=O 伸缩巨大变化的情形, 得出结论: 碱基 G 能显著地影响与之叠加碱基的 C=O 伸缩振动.

对于 T-T 叠加体, 每个 C=O 伸缩振动的离域化延

表3 B型DNA, G-四链体的叠加二聚体和DNA碱基单体中C=O伸缩振动的非谐性频率(ν_i , 单位 cm^{-1}), 对角非谐性常数(Δ_i , 单位 cm^{-1}), 对角非谐性常数中模式自身的组成(Δ'_i , 单位 cm^{-1})及自身组成的贡献(Δ'_i/Δ_i , 单位%)

Table 3 Anharmonic frequency (ν_i in cm^{-1}), diagonal anharmonicity (Δ_i in cm^{-1}), composition of diagonal anharmonicity from normal mode (Δ'_i in cm^{-1}) and its contribution (Δ'_i/Δ_i , %) to the diagonal anharmonicity of the C=O stretching vibration in B form DNA, G-quadruplex stacking dimers and DNA base monomers

System	Mode	ν_i	Δ_i	Δ'_i	Δ'_i/Δ_i	System	Mode	ν_i	Δ_i	Δ'_i	Δ'_i/Δ_i
A-G	$\nu_{\text{G:C(6)O}}$	1921.4	14.6	4.0	0.27	C-T	$\nu_{\text{T:C(2)O}}$	1955.2	6.4	5.0	0.78
G-G	$\nu'_{\text{C(6)O}}$	1962.8	7.2	3.6	0.50		$\nu_{\text{C:C(2)O}}$	1918.8	13.8	-8.2	
	$\nu_{\text{C(6)O}}$	1933.4	11.5	-3.4			$\nu_{\text{T:C(4)O}}$	1896.4	7.1	2.6	0.37
G-G1	$\nu_{\text{C(6)O}}$	1970.5	21.2	3.1	0.15	T-C	$\nu_{\text{T:C(2)O}}$	1932.4	14.8	4.5	0.30
	$\nu'_{\text{C(6)O}}$	1931.6	3.3	-8.2			$\nu_{\text{C:C(2)O}}$	1910.2	10.9	5.7	0.52
G-G2	$\nu'_{\text{C(6)O}}$	1920.4	23.2	1.5	0.06		$\nu_{\text{T:C(4)O}}$	1922.9	23.6	6.7	0.28
	$\nu_{\text{C(6)O}}$	1910.2	12.8	-8.2		G-C	$\nu_{\text{G:C(6)O}}$	1922.7	17.2	4.7	0.27
A-C	$\nu_{\text{C:C(2)O}}$	1902.0	16.6	6.7	0.40		$\nu_{\text{C:C(2)O}}$	1888.2	15.3	3.7	0.24
A-T	$\nu_{\text{C(2)O}}$	1940.0	13.6	4.3	0.32	C-A	$\nu_{\text{C:C(2)O}}$	1893.0	18.3	6.1	0.33
	$\nu_{\text{C(4)O}}$	1927.1	23.7	4.7	0.20	T-A	$\nu_{\text{C(2)O}}$	1936.5	13.5	4.3	0.32
C-C	$\nu'_{\text{C(2)O}}$	1925.7	26.0	4.5	0.17		$\nu_{\text{C(4)O}}$	1916.4	26.0	4.1	0.16
	$\nu_{\text{C(2)O}}$	1911.2	12.7	1.3	0.10	C-G	$\nu_{\text{G:C(6)O}}$	1916.8	14.8	-2.4	
T-G	$\nu_{\text{G:C(6)O}}$	1941.4	6.5	1.5	0.23		$\nu_{\text{C:C(2)O}}$	1885.3	18.6	3.1	0.17
	$\nu_{\text{T:C(4)O}}$	1932.8	7.9	3.2	0.41	G-A	$\nu_{\text{G:C(6)O}}$	1920.8	16.7	3.9	0.23
	$\nu_{\text{T:C(2)O}}$	1890.5	3.0	-3.8		G-T	$\nu_{\text{G:C(6)O}}$	1941.6	11.9	3.4	0.29
T-T	$\nu_{\text{C(2)O}}$	1946.4	7.2	3.0	0.42		$\nu_{\text{T:C(4)O}}$	1935.0	7.6	-7.2	
	$\nu'_{\text{C(4)O}}$	1940.8	9.5	0.26	0.03		$\nu_{\text{T:C(2)O}}$	1925.2	25.0	-0.8	
	$\nu'_{\text{C(2)O}}$	1938.6	8.4	-5.4		C	$\nu_{\text{C(2)O}}$	1922.2	15.3	6.7	0.44
	$\nu_{\text{C(4)O}}$	1891.5	6.9	1.5	0.22	G	$\nu_{\text{C(6)O}}$	1933.9	18.0	5.0	0.28
						T	$\nu_{\text{C(2)O}}$	1941.6	12.2	4.2	0.34
							$\nu_{\text{C(4)O}}$	1922.9	12.0	2.6	0.22

伸到其它 3 个 C=O 的伸缩上, 兼之分子内与分子间 C=O 伸缩临近模式的贡献, C=O 伸缩振动的频率与跃迁强度都发生了明显改变, 其中叠加体下方 T 中两个 C=O 的振动能量次序发生了交错. 此外, 应当注意的是碱基叠加后引起 C=O 键的键长发生改变, 而这相应地引起 C=O 伸缩振动频率的变化. 在我们的计算中, 如 C-G 中 C=O(G) 双键键长增加了 0.006 Å, 相应的非谐性频率红移了 17.1 cm^{-1} . 类似地, 在有 Cu 离子螯合的叠加结构中, C=C 键长增加了很小的量(0.003 Å), 相应的波数红移了 9 cm^{-1} [65].

2.3 非谐性常数

图 3A 是两个耦合的非谐振子的跃迁示意图. 非谐振子(i 或 j)的 0-1 和 1-2 能级跃迁能量之差即非谐性常数, 分别表示为对角非谐性常数 Δ_i 和 Δ_j ; 如果这两个非谐振子有耦合, 则有表征两者耦合强度大小的非对角非谐性常数 Δ_{ij} . 图 3B 是模拟的耦合振子的二维红外“点”光谱图, 它反映的是所有振动能级和跃迁在二维谱中所能表现出的基本光谱骨架信息. ν_τ 轴和 ν_t 轴分别对应相干时间 τ 和检测时间 t . 在模拟的 2D IR 点光谱中, 一个

二维峰的坐标位置为(ν_i, ν_j). 对角线上的峰($\nu_i=\nu_j$)即核势能支配的分子运动沿单个振动坐标的信息, 代表振子从 $\nu=0$ 到 $\nu=1$ 的能级跃迁产生的振动频率. 对于振子 i 和 j , 相应的跃迁频率为 ν_i 和 ν_j , 其谱峰的坐标为(ν_i, ν_i)和(ν_j, ν_j), 以较大的红点表示. 沿 ν_i 平行的较大蓝点和对角线上红点之间的距离代表振子从 $\nu=1$ 到 $\nu=2$ 的能级跃迁产生的非谐性常数 Δ_i 或 Δ_j . 非对角线位置上较小的红点沿 ν_τ 轴与对角线上红点的中心平行, 也表示模式的基频, 当两个振动模式产生了耦合, 沿 ν_i 平行的小蓝点为模式耦合的非谐性峰, 其坐标为($\nu_j-\Delta_{ij}, \nu_i$)和($\nu_i-\Delta_{ij}, \nu_j$), 它和非对角线上的红点之间的差值即为非对角非谐性常数: $\Delta_{ij}=\nu_{i+j}-\nu_i-\nu_j$. 由此可见, 二维红外点光谱图中成对的谱峰简明地给出了相关的非谐性振动参数. 单个 2D IR 光谱图携带着单激发与双激发振动能级结构信息.

2.3.1 C=O 伸缩振动的对角非谐项及其在 2D IR 点光谱中的表现

在表 3 中我们列出了 B 型 DNA 和 G-四链体的叠加二聚体以及 DNA 碱基单体中 C=O 伸缩振动的对角非

图3 (A)两个耦合的振子跃迁. (B)模拟的两个耦合振子的2D IR“点”光谱图

Figure 3 (A) vibrational energies and transitions of two coupled anharmonic oscillators. (B) simulated 2D IR “dot” spectrum

谐性常数(Δ_i), 对角非谐性常数中模式自身的组成(Δ'_i)及自身组成对整体非谐性常数的贡献(Δ'_i/Δ_i)等.

单体 G, C 的 C=O 伸缩的对角非谐性常数分别为 18.0 和 15.3 cm^{-1} . T 中两个 C=O 的 Δ_i 值分别为 12.2 和 12.0 cm^{-1} , 而最近的计算^[52]中 1-mT (1-methylthymine) 的 C(2)O 和 C(4)O 的 Δ_i 值分别为 15.1 和 16.2 cm^{-1} , 与我们的结果很接近. 从表 3 可以看出从单体到叠加二聚体, C=O 伸缩模式的对角非谐性常数发生了变化. 这些变化, 能在 2D IR 点光谱中很好地表现出来.

图 2C 是所选六个叠加体的 C=O 伸缩的 2D IR 点光谱模拟图, 排列顺序与图 2B 的相同, 其中表示基频的峰与图 2B 的光谱峰对应. 在 2D IR 图中, 单个振子非谐性跃迁的对角特征包含在沿对角线分布的两个光谱峰中. 图(a)A-G 中 C=O 伸缩模式倍频跃迁的非谐性位移为中等大小, 其 Δ_i 值为 14.6 cm^{-1} , 和单体的值相似. 与图(a)相比, 图(b)G-G 中对角线上的两个红点与较大蓝点的距离明显偏小, 其表达的 Δ_i 值($7.2, 11.5 \text{ cm}^{-1}$)都低于单体的 18.0 cm^{-1} . 图(c)G-G2 中频率较高的峰沿 ν_i 轴延伸到较大蓝点的距离很大, 其 Δ_i 值(23.2 cm^{-1})明显高于单体的值. G-G2 中另一个 C=O 伸缩的 Δ_i 比单体的值低, 为 12.8 cm^{-1} . C-T 与 T-C 的 2D IR 光谱在 C=O 伸缩振动区域有极为不同的光谱特征. C-T 叠加体中频率最高峰与频率最低峰的 Δ_i 值明显很低, 分别为 6.4 和 7.1 cm^{-1} , 它们属于碱基 T 的 C(2)O 与 C(4)O, 低于单体内对应的值. 中间 C(2)O(C) 的 Δ_i 值为中等大小, 看起来和单体的值接近, 为 13.8 cm^{-1} . T-C 中介于中间的峰为碱基 T 的 C(4)O, 其 Δ_i 值极大: 23.6 cm^{-1} , 频率最大的峰(T 中 C(2)O 的伸缩振动)与频率最小的峰(C 中 C(2)O), 其倍频的非谐性位移为中等大小, Δ_i 值(14.8 与 10.9 cm^{-1})和单体的接近. 图(f) G-C 叠加体中频率较大的为 C(6)O(G), 其 Δ_i 值(17.2 cm^{-1})和单体的值极为接近, C(2)O(C) 的 Δ_i 值(15.3 cm^{-1})和单体的相同, 两个 C=O

伸缩的 Δ_i 值几乎不受结构的影响.

以上 6 个二聚体中 C=O 伸缩的 2D IR 点光谱图说明碱基单体形成叠加体后, C=O 伸缩模式的 Δ_i 值改变了. 可以看出 Δ_i 值改变的规律和非谐性频率变化的规律类似. 首先, 以 A-G 为例, 其 C=O 伸缩的 Δ_i 值和单体的 Δ_i 接近, C-N 伸缩、NH 面内弯曲振动对 C=O 的对角非谐性常数的改变影响较小. 可以预测只有一个 C=O 的其它叠加体如 G-A, A-C, C-A 中 C=O 的 Δ_i 值不会明显地偏离单体的值, 表 3 中这些二聚体中 C=O 伸缩的 Δ_i 值分别是 $16.7, 16.6, 18.3 \text{ cm}^{-1}$, 和单体的值极为接近. 其次, 比起 $1400 \sim 1800 \text{ cm}^{-1}$ 振动区间其它模式的影响, C=O 之间较强的耦合会对其对角非谐性常数产生较强的影响. 如果 C=O 之间的相互作用强, 会造成 C=O 伸缩的 Δ_i 值明显偏离单体的值, 如上面所论述的 G-G, G-G2. 而对于耦合极强烈的 G-G1(其跃迁强度对比较大), 其中一个 C=O(位于叠加体上方)的 Δ_i 值为 21.2 cm^{-1} , 显著高于单体的值, 另一个(3.3 cm^{-1})显著低于单体的值. C-C 中一个 C=O 的 Δ_i 值明显比单体的值高, C-G 中两个 C=O 的 Δ_i 值偏离单体值的程度不明显. 对于 A-T, T-A 叠加体, 受碱基 A 及两个 C=O 耦合的影响, C(4)O 的 Δ_i 值明显高于单体的值(表 3). 而对于 G-C 叠加体, 两个 C=O 伸缩之间的耦合极其微弱, 对彼此 C=O 伸缩的 Δ_i 值影响极其微小. 而对于含有多个 C=O 伸缩模式的叠加体, 离域的 C=O 伸缩两两作用, 其 Δ_i 值一般偏离单体的值, 多数明显低于单体的值. 如图 2B 中 C-T 中的 C(2)O(T)与 C(4)O(T), 以及表 3 中 T-G, T-T 叠加体中所有 C=O 伸缩的 Δ_i 值都较低, 只有 G-T, C-T 中个别 C=O 伸缩的 Δ_i 值较高.

上述分析显示 C=O 伸缩的振动方式, 尤其是 C=O 之间的耦合对其 Δ_i 值有着较为重要的影响. 受叠加体中 C=O 伸缩及附近振动模式的影响, C=O 伸缩的离域化程度多数明显增加, 影响着其 Δ_i 值. 非谐性模式的频

率计算考虑了三阶、四阶力常数的贡献, 其对角非谐性常数的组成中不仅含有自身模式(Δ'_i)、也含有与其它模式作用的三阶、四阶力常数的贡献^[37]. 表 3 显示 C=O 伸缩模式的局域化程度一般接近 50%, 其它接近 50% 的贡献如 PED 显示的多来自较低频率的 NH 弯曲振动, C—N, C=C 伸缩以及 C=O 伸缩引起环上其它原子的振动. 表 3 中有些模式自身组分的非谐性常数 Δ'_i 为负值, 如 G-G 中上方的 C=O 伸缩对自身的对角非谐性常数的贡献值为 -3.4 cm^{-1} , 说明模式的对角非谐性常数不仅考虑自身的贡献, 也考虑了 $3N-7$ 个其它模式的贡献^[37,66].

2.3.2 C=O 伸缩的非对角非谐性常数及其 2D IR 特征

表 4 给出了所考虑的碱基单体和二聚体中 C=O 伸缩振动非对角非谐性常数, C=O 键方向之间的夹角和中点距离等. 图 3 右边窗口中对角线上方与下方较小的红蓝点都表示和频的非谐性跃迁引起的位移, 它来源于振子之间的耦合(见左边窗口), 其间距(红点 v_i 坐标-蓝点 v_j 坐标)为模式耦合的非对角非谐性常数(Δ_{ij}), 对应着模式之间相互作用的强弱. 仅有的 2D IR 实验结果表明^[35], B 型 DNA 低聚物中相邻的叠加碱基 G 的 C=O 伸缩的耦合为 $(8.2 \pm 2) \text{ cm}^{-1}$, 这与本文预测的 G-G 叠加体中 C=O 之间的 $\Delta_{ij}=9.4 \text{ cm}^{-1}$ 较为接近(表 4).

图 2C 从(b)到(f)面板表明 5 个叠加体内 C=O 模式对的 Δ_{ij} 存在着差异. 在图(b) G-G 中 C=O 伸缩模式之间的 Δ_{ij} 值为 9.4 cm^{-1} . 图(c)显示 G-G2 中较小的红蓝点之间的距离极大, 其中属于较低频率的较大蓝点覆盖了表示耦合的小蓝点, 两个 C=O 伸缩耦合的 Δ_{ij} 值为 24.9 cm^{-1} , 是所有叠加体中最大的. C-T 与 T-C 叠加体各有 3 个 C=O 伸缩模式, 有三个模式对的耦合. C-T 中对应于耦合模式 1955.2 cm^{-1} 和 1896.4 cm^{-1} 的蓝点位于较小红点的右侧, 表示两个模式的 Δ_{ij} 值为负: -2.3 cm^{-1} . 而

频率最小的峰与中间峰的 Δ_{ij} 值很大: 18.0 cm^{-1} . 图(e)T-C 中 C=O 伸缩耦合值都较小. 图(f)G-C 叠加体中较小的蓝点几乎位于所对应红点的中间, 两个 C=O 之间的耦合极小, 其 Δ_{ij} 为 0.3 cm^{-1} . 对于 G-T, T-G 和 T-T 等叠加体, 在表 4 中列出了模式作用较为明显的 Δ_{ij} 值.

这些 C=O 伸缩振动耦合起源有二: 通过共价键作用, 如 A-T, T-A 中的两个 C=O 模式; 通过空间作用, 即发生偶极-偶极相互作用. 典型的例子是 G-G2 与 G-C 两种叠加体, 前者耦合作用强, 后者则弱, 分别对应着较大和较小的 Δ_{ij} 值. 因此, 如果含有多个 C=O 基团的叠加体中某 C=O 伸缩对的耦合强, 它们的 Δ_{ij} 值大, 反之, 则对应的 Δ_{ij} 值小. 例如 C-T 中存在着 C(4)O(T)和 C(2)O(C)的强耦合对, 其 Δ_{ij} 值为 18.0 cm^{-1} . 与 C-T 相比, T-C 中 3 个 C=O 伸缩模式的局域化相对较高, 彼此之间的耦合较弱, 对应着较小的 Δ_{ij} 值: 4.9 cm^{-1} (T 中的两个 C=O)和 2.0 cm^{-1} [C(4)O(T)和 C(2)O(C)]. T-G, G-T 与 T-T 中 C=O 伸缩之间的耦合与它们对应的 Δ_{ij} 值也是相同的情形. 在 C-T, T-C, T-G 和 T-T 中, 一些 C=O 模式对的 Δ_{ij} 值远远小于含有两个 C=O 伸缩的叠加体中的 Δ_{ij} 值(表 4, G-C 除外), 究其原因 C=O 伸缩的振动分散到多个 C=O 上, C=O 伸缩两两之间的耦合减弱, 所以其 Δ_{ij} 值通常小于含有两个 C=O 模式的叠加体中的值. 以 T-T 叠加体为例, C=O 伸缩之间的 Δ_{ij} 值最高为 10.1 cm^{-1} , 另外两个模式对的 Δ_{ij} 值略低, 说明 C=O 伸缩振动的耦合主要分散到这几个模式对中.

振动跃迁与核运动关联, 因此振动跃迁偶极距的取向和化学键的取向相关, 表 4 还列出了相关化学键的中点之间距离和角度, 与成对模式的 Δ_{ij} 值进行比较. 夹角接近平行或反平行时偶极距作用较强, 与较高的 Δ_{ij} 值相对应, 如 G-G1 中的两个 C=O, T-G 中的 C=O(G)与 C(2)O(T). 而 G-G2 中两个 C=O 的夹角接近垂直

表 4 B 型 DNA, G-四链体的叠加二聚体和碱基 T 中 C=O 伸缩振动之间的非对角非谐性常数(Δ_{ij} , 单位 cm^{-1}), 它们之间的夹角(θ_{ij} , 单位 $^\circ$)和距离(r_{ij} , 单位 $\text{\AA}$)

Table 4 Off-diagonal anharmonicity (Δ_{ij} , in cm^{-1}) between C=O stretching vibrations in B-form DNA, G-quadruplex stacking dimers and thymine, followed by their bond angle (θ_{ij} , in $^\circ$) and distance (r_{ij} , in $\text{\AA}$)

System	Mixed-mode	Δ_{ij}	θ_{ij}/r_{ij}	System	Mixed-mode	Δ_{ij}	θ_{ij}/r_{ij}
G-G	$\nu_{\text{C(6)O}}/\nu'_{\text{C(6)O}}$	9.4	35.2/3.3	C-T	$\nu_{\text{T:C(2)O}}/\nu_{\text{T:C(4)O}}$	-2.3	116.8/3.5
G-G1	$\nu_{\text{C(6)O}}/\nu'_{\text{C(6)O}}$	20.7	24.8/3.9		$\nu_{\text{T:C(4)O}}/\nu_{\text{C:C(2)O}}$	18.0	140.6/4.3
G-G2	$\nu_{\text{C(6)O}}/\nu'_{\text{C(6)O}}$	24.9	78.0/3.4	T-C	$\nu_{\text{T:C(2)O}}/\nu_{\text{T:C(4)O}}$	4.9	117.4/3.5
A-T	$\nu_{\text{T:C(2)O}}/\nu_{\text{T:C(4)O}}$	13.9	115.8/3.5		$\nu_{\text{T:C(4)O}}/\nu_{\text{C:C(2)O}}$	2.0	86.3/5.7
C-C	$\nu_{\text{C(2)O}}/\nu'_{\text{C(2)O}}$	14.2	37.3/4.2	G-C	$\nu_{\text{C:C(2)O}}/\nu_{\text{G:C(6)O}}$	0.3	100.2/5.3
C-G	$\nu_{\text{C:C(2)O}}/\nu_{\text{G:C(6)O}}$	13.5	166.9/4.3	T-A	$\nu_{\text{T:C(2)O}}/\nu_{\text{T:C(4)O}}$	11.2	116.6/3.5
T-G	$\nu_{\text{T:C(2)O}}/\nu_{\text{T:C(4)O}}$	9.8	116.5/3.5	T-T	$\nu'_{\text{C(2)O}}/\nu'_{\text{C(4)O}}$	6.3	119.3/3.5
	$\nu_{\text{G:C(6)O}}/\nu_{\text{T:C(2)O}}$	5.4	166.9/4.5		$\nu_{\text{C(2)O}}/\nu'_{\text{C(4)O}}$	5.0	79.2/5.7
G-T	$\nu_{\text{G:C(6)O}}/\nu_{\text{T:C(4)O}}$	16.2	23.0/4.2		$\nu'_{\text{C(2)O}}/\nu_{\text{C(4)O}}$	10.1	152.9/4.1
	$\nu_{\text{T:C(2)O}}/\nu_{\text{T:C(4)O}}$	13.4	115.9/3.5	T	$\nu_{\text{C(2)O}}/\nu_{\text{C(4)O}}$	7.1	116.1/3.5

(78.0°), 可能是两个碱基中 C=O 基团的空间垂直叠加 (见图 2A, 其距离与碱基层间距离相同) 导致它们之间的 Δ_{ij} 值极大. 因此, C=O 伸缩振动模式之间相互作用的强弱与结构密切相关.

此外, 由于叠加碱基之间的作用不属于静电作用力, C=O 伸缩之间的距离对彼此的耦合没有决定性的影响. 在含有两个 C=O 的叠加体中, Δ_{ij} 值从大到小的顺序为 G-G2>G-G1>C-C>A-T>C-G>T-A>G-G>G-C, A-T, T-A 中两个近距离的 C=O 的 Δ_{ij} 不是最大, 说明距离近不占优势. 在 C-T, T-C, G-T, T-G, T-T 等含多个 C=O 伸缩模式的叠加体中也是类似的情形. 只有 T-G, T-C 中 Δ_{ij} 最大的值出现在 T 中的两个 C=O 之间, 在 T-T 中所列的三个较大的 Δ_{ij} 值中只有一个属于碱基 T 分子内 C=O 耦合的值, 其余两个均为分子间 C=O 耦合的值, C-T 中两个 C=O(T) 之间的 Δ_{ij} 甚至很小. 一般来说振动频率接近的模式间作用强, Δ_{ij} 值高. 例如 C-T 叠加体三个 C=O 伸缩的能量次序为 C(2)O(T), C(2)O(C), C(4)O(T), 最大 Δ_{ij} 值出现在振动能量毗邻的 C(2)O(C) 与 C(4)O(T) 之间; T-C 中则是另一种情形, 三个 C=O 伸缩的顺序依次为 C(2)O(T), C(4)O(T), C(2)O(C), T-C 中较大的 Δ_{ij} 值出现在 T 中的两个 C=O 之间. T-G 叠加体中三个 C=O 的能量次序分别是 C(6)O(G), T 中的 C(4)O, C(2)O, 较大的 Δ_{ij} 出现在 T 中的两个 C=O 伸缩之间, 但较小的 Δ_{ij} 则是另一种情形, 出现在振动能量不毗邻的 C(6)O(G) 和 C(2)O(T) 之间, 或许是其它 3N-8 个三阶、四阶力常数对这两个混合模式的贡献很显著^[37,66].

综合上述, 振动二阶微扰理论提供了振子全模式的非谐性跃迁, 并从中得出振子的非谐性位移, 振子之间跃迁的耦合, 得到的分子结构动力学的信息比传统的红外光谱更为详细. 并且不同结构的叠加体中 C=O 伸缩模式的非谐性频率、非谐性常数值均不同, 显示了对结构的敏感性, 因此形成了二维红外光谱的分子结构基础.

3 结论

在 HF/6-31+G* 水平上用严格收敛条件优化了 4 个 DNA 碱基, 15 个典型的 B 型 DNA 的叠加体和 G-四链体中 5'链上两个相邻的二聚体. 利用振动二阶微扰理论对上述体系进行了非谐性计算, 得到每一体系的 3N-6 个振动模式的非谐性基频、倍频及模式之间的和频频率, 并以 C=O 伸缩振动为重点, 研究了其振动频率、对角和非对角非谐性常数与二聚体构象的关系.

研究表明, 碱基 A 没有对红外光谱极为敏感的 C=

O 伸缩模式, 1400~1800 cm^{-1} 区间其它振动模式对 C=O 的频率、跃迁强度和对角非谐性常数的影响都较小, 因此 A-C, A-G, C-A 和 G-A 中 C=O 伸缩的这些值与单体的值接近. 含有两个及多个 C=O 伸缩模式的叠加体中, 分子间与分子内 C=O 的耦合对 C=O 伸缩的频率、跃迁强度和对角非谐性常数的改变起了主要作用. 其中碱基 G 由于极性大、叠加作用强, 对与之叠加的 C, G 中 C=O 伸缩的频率、振动强度甚至碱基 T 中两个 C=O 伸缩振动的能量次序都产生了显著影响. 叠加体中 C=O 伸缩之间的非对角非谐性常数与它们的耦合密切相关. G-G2 中两个 C=O 伸缩及 C-T 中 C(2)O(C) 与 C(4)O(T) 的耦合极强, 它们之间的非对角非谐性常数极大, G-C 叠加体中 C=O 伸缩耦合极弱, 它们之间的非对角非谐性常数非常小. 含有多个羰基的二聚体, C=O 伸缩之间彼此作用, 导致两两之间的耦合相对较小, 其非对角非谐性常数多数小于含有两个 C=O 的叠加二聚体中的值. 此外, 我们还讨论了 C=O 化学键的夹角与距离对非对角非谐性常数的影响, 模式夹角接近平行或反平行有利于叠加体中 C=O 伸缩的耦合. 由于叠加作用与静电作用不同, 距离对模式耦合的强弱不起主要作用.

叠加体中 C=O 伸缩振动的非谐性频率、跃迁强度和对角及非对角非谐项所发生的改变, 反映了结构对振动参数的影响. 与形成多个氢键的碱基对二聚体不同, 在碱基叠加二聚体中没有直接的氢键或化学键的影响, 所发生的变化可以归结为色散力的作用, 和振动偶极矩相互作用. 在这些作用下, 所观测到的 C=O 伸缩模式已经不再是纯粹的 C=O 的振动, 这从模式的 PED 组成能够清楚地看出来.

所选叠加体中 C=O 伸缩的非谐性频率、对角非谐性常数及非对角非谐性常数值在一维和二维红外光谱中能够被表现出来. 不同的叠加体中 C=O 伸缩振动具有不同的一维和二维红外光谱特征, 显示了振动光谱与结构的相关性. 这项研究能为以后 DNA 叠加体结构的 2D IR 实验解释和光谱模拟提供参考.

References

- 1 Nowak, M. J.; Lapinski, L.; Kwiatkowski, J. S.; Leszczynski, J. *J. Phys. Chem.* **1996**, *10*, 3527.
- 2 Szczepaniak, K.; Szczesniak, M. M.; Person, W. B. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 3852.
- 3 Szczesniak, M.; Szczepaniak, K.; Kwiatkowski, J. S.; KuBulat, K.; Person, W. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 8319.
- 4 Szczesniak, M.; Nowak, M. J.; Rostkowska, H.; Szczepaniak, K.; Person, W. B.; Shugar, D. *J. Am. Chem.*

- Soc.* **1983**, 105, 5969.
- 5 Szczepaniak, K.; Szczesniak, M.; Person, W. B. *Chem. Phys. Lett.* **1988**, 153, 39.
  - 6 Sheina, G. G.; Stepanian, S. G.; Radchenko, E. D.; Blagoi, Y. P. *J. Mol. Struct.* **1987**, 158, 275.
  - 7 Szczepaniak, K.; Szczesniak, M. *J. Mol. Struct.* **1987**, 156, 29.
  - 8 Schoone, K.; Maes, G.; Adamowicz, L. *J. Mol. Struct.* **1999**, 480-481, 505.
  - 9 Nir, E.; Janzen, C.; Imhof, P.; Kleinermanns, K.; de Vries, M. S. *J. Chem. Phys.* **2001**, 115, 4604.
  - 10 Mons, M.; Dimicoli, I.; Piuze, F.; Tardivel, B.; Elhanine, M. *J. Phys. Chem. A* **2002**, 106, 5088.
  - 11 Seefeld, K.; Brause, R.; Häber, T.; Kleinermanns, K. *J. Phys. Chem. A* **2007**, 111, 6217.
  - 12 Kyogoku, Y.; Lord, R. C.; Rich, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 496.
  - 13 Rozenberg, M.; Jung, C.; Shoham, G. *Spectrochim. Acta A* **2005**, 61, 733.
  - 14 Adam, S.; Liquier, J.; Taboury, J. A.; Taillandier, E. *Biochemistry* **1986**, 25, 3220.
  - 15 Plützer, C.; Hünig, I.; Kleinermanns, K.; Nir, E.; de Vries, M. S. *ChemPhysChem* **2003**, 4, 838.
  - 16 Nir, E.; Plützer, C.; Kleinermanns, K.; de Vries, M. S. *Eur. Phys. J.* **2002**, 20, 317.
  - 17 Fritzsche, H. *J. Mol. Struct.* **1991**, 242, 245.
  - 18 Ouali, M.; Gousset, H.; Geinguenaud, F.; Liquier, J.; Gabarro-Arpa, J.; Bret, M. L.; Taillandier, E. *Nucleic Acids Res.* **1997**, 25, 4816.
  - 19 Liquier, J.; Taillandier, E. *Infrared Spectroscopy of Biomolecules*, Eds.; Mantsch, H. H.; Chapman, D., John Wiley & Sons Inc., New York, **1996**, pp. 131~158.
  - 20 Maevsky, A. A.; Sukhorukov, B. I. *Nucleic Acids Res.* **1980**, 8, 3029.
  - 21 Zanni, M. T.; Asplund, M. C.; Hochstrasser, R. M. *J. Chem. Phys.* **2001**, 114, 4579.
  - 22 Hamm, P.; Lim, M.; Hochstrasser, R. M. *J. Phys. Chem. B* **1998**, 102, 6123.
  - 23 Asplund, M. C.; Zanni, M. T.; Hochstrasser, R. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2000**, 97, 8219.
  - 24 Wang, J. *Chin. Sci. Bull.* **2006**, 52, 1221.
  - 25 Scheurer, C.; Piryatinski, A.; Mukamel, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 3114.
  - 26 Golonzka, O.; Khalil, M.; Demirdöven, N.; Tokmakoff, A. *Phys. Rev. Lett.* **2001**, 86, 2154.
  - 27 Zanni, M. T.; Gnanakaran, S.; Stenger, J.; Hochstrasser, R. M. *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105, 6520.
  - 28 Massari, A. M.; Finkelstein, I. J.; McClain, B. L.; Goj, A.; Wen, X.; Bren, K. L.; Loring, R. F.; Fayer, M. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 14279.
  - 29 Asbury, J. B.; Steinell, T.; Stromberg, C.; Gaffney, K. J.; Piletic, I. R.; Fayer, M. D. *J. Chem. Phys.* **2003**, 119, 12981.
  - 30 Gnanakaran, S.; Hochstrasser, R. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 12886.
  - 31 Kim, Y. S.; Wang, J.; Hochstrasser, R. M. *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 7511.
  - 32 Moran, A.; Mukamel, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, 101, 506.
  - 33 Vorobyev, D. Y.; Kuo, C.-H.; Kuroda, D. G.; Scott, J. N.; Vanderkooi, J. M.; Hochstrasser, R. M. *J. Phys. Chem. B* **2010**, 114, 2944.
  - 34 Krummel, A. T.; Mukherjee, P.; Zanni, M. T. *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 9165.
  - 35 Krummel, A. T.; Zanni, M. T. *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 13991.
  - 36 Wang, J.; Cai, K.; Ma, X. *ChemPhysChem* **2009**, 10, 2242.
  - 37 Barone, V. *J. Chem. Phys.* **2005**, 122, 014108.
  - 38 Barone, V.; Festa, G.; Grandi, A.; Rega, N.; Sanna, N. *Chem. Phys. Lett.* **2004**, 388, 279.
  - 39 Biczysko, M.; Panek, P.; Barone, V. *Chem. Phys. Lett.* **2009**, 475, 105.
  - 40 Wang, G.; Ma, X.; Wang, J. *Chin. J. Chem. Phys.* **2009**, 22, 563.
  - 41 Wang, G.; Zhao, J.; Wang, J. *Sci. Chin. Ser. B* **2011**, 54, 1590.
  - 42 Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, 171, 737.
  - 43 Suzuki, M.; Amano, N.; Kakinuma, J.; Tateno, M. *J. Mol. Biol.* **1997**, 274, 421.
  - 44 Bommarito, S.; Peyret, N.; Jr, J. S. *Nucleic Acids Res.* **2000**, 28, 1929.
  - 45 Desfrancois, C.; Carles, S.; Schermann, J. P. *Chem. Rev.* **2000**, 100, 3943.
  - 46 Mao, L.; Wang, Y.; Liu, Y.; Hu, X. *J. Mol. Biol.* **2004**, 336, 787.
  - 47 Matta, C. F.; Castillo, N.; Boyd, R. J. *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 563.
  - 48 Hobza, J.; Sponer, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 11802.
  - 49 Šponer, J.; Leszczyński, J.; Hobza, P. *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 5590.
  - 50 Šponer, J.; Leszczynski, J.; Hobza, P. *Biopolymers* **2002**, 61, 3.
  - 51 Hobza, J.; Sponer, J. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 3247.
  - 52 Lee, C.; Park, K.-H.; Kim, J.-A.; Hahn, S.; Cho, M. *J. Chem. Phys.* **2006**, 125, 114510.
  - 53 Lee, C.; Park, K.-H.; Cho, M. *J. Chem. Phys.* **2006**, 125, 114508.
  - 54 Lee, C.; Cho, M. *J. Chem. Phys.* **2006**, 125, 114509.
  - 55 McCarthy, W.; Plokhotnichenko, A. M.; Radchenko, E. D.; Smets, J.; Smith, D. M. A.; Stepanian, S. G.; Adamowicz, L. *J. Phys. Chem. A* **1997**, 101, 7208.
  - 56 Reha, D.; Kabeláč, M.; Ryjáček, F.; Sponer, J.; Sponer, J. E.; Elstner, M.; Suhai, S.; Hobza, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 3366.
  - 57 Czyżnikowska, Z.; Zalesny, R.; Ziolkowski, M.; Gora, R. W.; Cysewski, P. *Chem. Phys. Lett.* **2007**, 450, 132.
  - 58 Wang, J. *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112, 4790.
  - 59 Tsuzuki, S.; Honda, K.; Azumi, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1220.

- 60 Fang, C.; Wang, J.; Kim, Y. S.; Charnley, A. K.; Barber-Armstrong, W.; Smith, A. B.; Decatur, S. M.; Hochstrasser, R. M. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 10415.
- 61 Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, J. A., Jr.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A., D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A., G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian 03*, revision B. 05, Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, **2003**.
- 62 Keniry, M. A.; Strahan, G. D.; Owen, E. A.; Shafer, R. *Eur. J. Biochem.* **1995**, *233*, 631.
- 63 Rutledge, L. R.; Durst, H. F.; Wetmore, S. D. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 2801.
- 64 Rutledge, L. R.; Campbell-Verduyn, L. S.; Wetmore, S. D. *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *444*, 167.
- 65 Helios, K.; Wysokiński, R.; Zierkiewicz, W.; Proniewicz, L. M.; Michalska, D. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 8158.
- 66 Wang, J.; Hochstrasser, R. M. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 3798.

(A1105251 Lu, Y.)