

7,8-二氢-8-氧鸟嘌呤碱基对的量子化学研究

张千慧 王阳 刘翠* 杨忠志*

(辽宁师范大学化学化工学院 大连 116029)

摘要 遗传信息的完整性不断受氧化基因的威胁, 7,8-二氢-8-氧鸟嘌呤(8-oxo-G)是氧化 DNA 损伤最常见的产物. 氧化碱基会引起基因突变、癌变及衰老等. 应用量子化学方法分析得出: 鸟嘌呤(G)被氧化为 8-oxo-G 后, 其电荷分布、氢键的供体和受体位点的数目和位置随之改变, N7 和 O6 原子所带的电荷变得更负, 使得它们作为氢键供体的能力增强. 从而 G 被误认为其他碱基, 与正常碱基形成多种氢键复合物. 可将 8-oxo-G 划分为 3 个作用位点与正常碱基相互作用. 与正常的单体相比, 碱基对中形成氢键的受体原子上所带电荷平均变负 0.05e, 占原电荷的 8%; 供体 H 原子所带电荷平均变正 0.02e, 占原电荷的 4%. 1 位点与正常碱基作用形成的氢键复合物更稳定, 2 位点和 3 位点性质相似, 水溶剂使碱基对的结合能力减弱, 其中与 C 作用形成氢键复合物的结合能减弱程度最大, 且使碱基对结合能力的次序改变. 在 8-oxo-G 导致的 GC→TA 突变中, 亲核反应位点从 G 所在链转到 A(C)所在链, 影响酶对碱基的识别, 从而产生基因突变.

关键词 从头算方法; 氧化碱基对; 氢键; 电荷分布; 能量

Investigation of Base Pairs Containing 7,8-Dihydro-8-oxoguanine by Quantum Chemistry

Zhang, Qianhui Wang, Yang Liu, Cui* Yang, Zhongzhi*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Liaoning Normal University, Dalian 116029)

Abstract The integrity of the genetic information is constantly threatened by oxidized agents. 7,8-Dihydro-8-oxoguanine (8-oxo-G) is the most common form of oxidative DNA damage. The accumulation of oxidized bases has associated with numerous diseases and cancers. The properties of oxidized base pairs containing 8-oxo-G were investigated by quantum mechanics methods. In this paper all model molecular structures were optimized by B3LYP/6-31+G* method, the frequency calculations are carried out to confirm that all the structures obtained are geometrically stable. The energies were determined at the MP2/aug-cc-pVDZ level with basis set superposition error corrections and the molecular orbital diagrams were obtained at HF/STO-3G level. The calculation results show that when guanine (G) is oxidized to 8-oxo-G, the charge distribution, site number and location of H-bond donor and acceptor have been changed. Oxidation on C8 of G has the most influence on the partial charge of N7 and O6, which enhances their ability as H-bond donor. Then, G is misread as other bases to form varied H-bonding compounds with canonical bases. 8-oxo-G has three sites to pair with other bases. Compared with canonical bases, the partial charge of proton acceptors in H-bond complexes increased by 0.05e averagely, which is 8% of the original charge; the partial charges for proton donors have a decrease of 0.02e, which is 4% of the original charge. The calculation results of binding energy and second-order stabilization energy show that the hydrogen-bonded complexes formed at site 1 are more stable. The sites 2 and 3 have similar properties. Only 8-oxo-G1:C (WC) has three hydrogen bonds and its binding energy is the closest to that of G:C in all the oxidized base pairs. The binding energies of base pairs have been weakened by solution, where the complexes pairs with C have been significantly reduced. And the order of the binding energy has been changed. From the HOMO and LUMO, we can come out that the HOMOs of all the oxidized base pairs are on 8-oxo-G, which is the same as G:C, and LUMOs have no good rules. In the GC→TA transition induced by 8-oxo-G, the nucleophilic reaction site will transfer from the strand containing G to the other strand containing A(C). This will affect the recognition by the enzyme, and lead to genetic mutations.

Keywords *ab initio*; oxidized base pairs; hydrogen bond; charge population; energy

1 引言

脱氧核糖核酸(DNA)是生物体遗传信息的载体, 具有两条聚核苷酸链相互缠绕在一起而形成的双螺旋结

构. DNA 体系中有 4 种不同的碱基, A (Adenine 腺嘌呤)、T (Thymine 胸腺嘧啶)、G (Guanine 鸟嘌呤)和 C (Cytosine 胞嘧啶), 遵循 A 与 T 配对, G 与 C 配对^[1]的原则. 遗传

* E-mail: liuc@lnnu.edu.cn; zzyang@lnnu.edu.cn

Received April 1, 2014; published May 29, 2014.

Supporting information for this article is available free of charge via the Internet at <http://sioc-journal.cn>.

Project supported by the National Basic Research Program of China (No. 21133005).

项目受国家自然科学基金重点(No. 21133005)资助.

信息的完整性不断地受氧化基因的威胁^[2-6]. DNA 的损伤导致了细胞的衰老、疾病恶化及癌症的发生^[2,3]. 在 DNA 的四种核酸碱基中鸟嘌呤(G)具有最小的电离势^[7], C8 位最容易被氧化, 生成 7,8-二氢-8-氧-鸟嘌呤(8-oxo-G)^[8,9], 它可以导致 G→T 的转换^[2-6]. 在 DNA 复制过程中, 8-oxo-G 会被聚合酶误识别为其他的碱基与正常碱基发生错配, 这些都将导致一个错误基因编码的信息^[10]. 最常见的 GC→TA 的突变就是由 8-oxo-G 导致的^[11,12], 在这个突变过程中如果 8-oxo-G 不被移除, 那么 DNA 聚合酶就会不断的把 8-oxo-G 识别为 T 与腺嘌呤 A 配对, 8-oxo-G 就相当于诱导突变的物质, 从而导致 GC→TA 的突变发生. 为了维持基因的完整性, 多种修饰酶已经参与了将错配碱基对从 DNA 中移除的工作, 这些酶包括细菌中的 MutM (Fpg)和哺乳动物中的 OGG^[13]. 核酸内的大量碱基均为含有氮原子共轭体系的杂环化合物, 它们在核酸所处的环境中弱相互作用广泛存在, 其中包括碱基对间的氢键作用, 由于氢键对核酸构象的稳定性起着重要的作用, 所以在氧化碱基对中得到了广泛的关注. 实验上, 很多人对核酸碱基对进行了研究^[14-17]. 虽然有大量的实验对氢键的结构性质进行了研究^[16,17], 但是在一个复杂的体系蛋白质或 DNA 中测量氢键是很困难的. 利用量子化学从头算的方法模拟鸟嘌呤的氧化碱基对, 能够较为精确的获得各种所需数据及结论.

Hobza 等^[18]应用自洽场方法研究了碱基对之间的能量; Fan 等^[19]的研究显示密度泛函理论对于碱基对中氢键的研究是一种很好的方法. Kino 等^[20]研究了 GC→CG 突变的原因, 得出了特殊的氧化产物可能是导致突变的原因; 和等^[21]对铂配合物与 DNA 碱基对间相互作用进行了理论研究, 得到 NBO 中二阶稳定化能的分析可以很好的预测碱基对中氢键的强度. Qiu 等^[22]用从头算的方法对 G:C 的氧化产物的稳定性进行了研究, 得到了 8-oxo-G:C 碱基对最稳定; 林等^[23]对 6-烷基鸟嘌呤与 DNA 碱基间氢键作用进行了理论研究, 得出鸟嘌呤 6-O 烷基化明显改变了 DNA 碱基间的氢键作用模式和位点. Suzuki 等^[24]用从头算的方法得出不同氧化鸟嘌呤与 G 配对时能量的大小与氢键的数目有关; 刘等^[25]对碱基腺嘌呤与多肽酰胺间氢键作用的最佳位点进行了研究. 郑等^[26]报道了木犀草素与腺嘌呤的相互作用, 研究发现木犀草素与胸腺嘧啶的相互作用最强, 木犀草素-腺嘌呤相互作用最弱. 霍等^[27]进行了碱基与氮甲基乙酰胺相互作用的从头算和 ABEEM $\sigma\pi$ 研究, 得出 NMA 与 DNA 碱基相互作用的强度大小依次为: 鸟嘌呤>胸腺嘧啶>胞嘧啶>腺嘌呤. Liu 等^[28]用从头算和 ABEEM $\sigma\pi$ 力场方法对含有四种氧化鸟嘌呤的碱基对进行了研究, 得到了与正常碱基对相比, 氧化碱基对间的氢键能、键长和键角发生了不同程度的变化, 同时有些碱基对的平面结构也被破坏, 从而影响了碱基对的堆叠作用. Villani^[29]研究了 A-T 中氢原子的转移和堆叠作用. Chen

等^[30]对含 8-oxo-G 鸟嘌呤的碱基对进行了动力学模拟; Mark 等^[31]对氧化 DNA 的修复和影响进行了研究; Hu 等^[32]用从头算的方法研究了由 5-溴尿嘧啶引起的 AT→GC 的突变. 但是很少有人对含 8-oxo-G 氧化鸟嘌呤碱基对的结构、化学性质及反应的活性位点等进行系统的研究. 本文应用从头计算方法, 系统研究 8-oxo-G 分别与 A, T, G, C 的作用方式, 并对其几何结构进行优化, 讨论氢键类型的变化, 计算出体系的电荷转移数、二阶稳定化能、前线分子轨道的能级差、结合能等, 为酶识别体内氧化碱基或去除氧化碱基的进一步研究提供参考.

2 研究方法

本文采用 B3LYP/6-31+G*方法对所有模型分子进行几何结构的优化并进行频率计算, 确保每个结构都是稳定构型. 通过对稳定构型进行分析, 总结 7,8-二氢-8-氧鸟嘌呤不同位点与各种正常碱基形成复合物的氢键性质, 在 B3LYP/6-31+G*水平下进行 NBO 分析, 获得体系中各原子所带的电荷及二阶稳定化能, 计算各碱基对的分子间电荷转移数目. 应用 HF/STO-3G 方法查看前线分子轨道图. 应用 MP2/aug-cc-pVDZ 方法得到体系的能量, 并用 CP (Counterpoise)方法进行 BSSE (Basis Set Superposition Error)校正, 计算出体系的结合能, 比较不同构型的相对稳定性, 并计算最高占据轨道 HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital)和最低空轨道 LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)的能量及它们之间的能级差. 结构的优化、频率的计算、单点能计算均采用 Gaussian09 程序包^[33]完成, NBO 分析采用 Gaussian09 程序包中的 NBO3.1^[34]进行.

电荷转移数采用以下方式进行计算. 两个碱基单体 A 和 B 配对形成氢键复合物 AB, 把复合物 AB 中所有原子所带的部分电荷相加, 正值代表 A 和 B 形成复合物后单体 A 上的电子向单体 B 转移, 负值代表 A 和 B 形成复合物后单体 B 上电子向单体 A 转移. 文中用 ΔE 表示 HOMO 和 LUMO 之间的能级差.

二阶稳定化能公式如下:

$$-\Delta E^{(2)} = q_i \frac{F_{ij}^2}{E_j - E_i} = E^{(2)} \quad (1)$$

式中, q_i 为电子供体轨道上的电子占据数, F_{ij} 为 Fock 矩阵的矩阵元, $E_j - E_i$ 则是电子供体轨道(i)与电子受体轨道(j)之间的能量差.

结合能可以用下式表示为:

$$\Delta E_b = (E_A + E_B) - E_{AB} \quad (2)$$

式中, ΔE_b 表示 BSSE 校正后的相互作用能(即结合能), E_{AB} 为碱基对的总能量, E_A 和 E_B 是 A 和 B 单体的能量. A 和 B 分别代表 8-oxo-G 或 A, T, G, C 四种正常碱基, AB 代表碱基对.

3 结果与讨论

根据 8-oxo-G 中氢键供体和受体的分布位置, 本文将其与其他正常碱基作用位点划分为 3 种, 在图 1 中用黑色数字 1, 2, 3 表示. 正常的碱基对包括 G:C (Watson-Crick), G:C (Hoogsteen), A:T (Watson-Crick), A:T (Hoogsteen), A:T (R Hoogsteen), 如图 1 所示, Watson-Crick, Hoogsteen, R Hoogsteen 是碱基对间形成的氢键类型, 其中 G:C (Hoogsteen) 构型中 C 是质子化的, 所以本文对其不进行讨论. 当鸟嘌呤被氧化成 8-oxo-G 后, 就会与其他正常碱基产生错配, 根据以上碱基对间氢键类型进行排列组合, 得到 18 对含 8-oxo-G 不同作用位点的氧化碱基对, 如图 2 所示. 当 8-oxo-G 的 1 位点和正常碱基 A 作用形成 Hoogsteen 构型时, 命名为 8-oxo-G1:A(H), 其他碱基对均按照此方法命名.

3.1 碱基对中电子结构的分析

本文在 B3LYP/6-31+G* 方法下进行了 NBO 分析, 获得了体系中各原子所带的电荷及二阶稳定化能, 并计算各碱基对的分子间电荷转移数目. 图 3 给出了 G:C 和 8-oxo-G1:C (WC) 碱基对上部分原子所带的电荷, 括号里数值代表单体 G、单体 8-oxo-G 或单体 C 中相应原子所带的电荷, 不带括号数值代表碱基对中 G、8-oxo-G 或 C 中原子所带的电荷. 碱基单体 G 被氧化为 8-oxo-G 后, 其电荷分布将怎样变化呢? 结合图 1, 8-oxo-G 可以看作是 G 的 C8 位置被氧化后的产物, 同时 N7 位置比 G 多了一个 H 原子. 也就是说, G 和 8-oxo-G 都有三个氢

键的受体位点; 不同的是 G 的三个受体位点分别是 N3, O6, N7, 8-oxo-G 的三个受体位点分别是 N3, O6, O8. G 有三个氢键的供体位点, 分别是 H1, H2, H2', 而 8-oxo-G 比 G 多了一个氢键的供体位点, 分别是 H1, H2, H2', H7. 比较图 3 中括号内单体 G 和单体 8-oxo-G 各原子所带的电荷可以发现: G 中 O6 原子所带的电荷为 $-0.6035e$, 而 8-oxo-G 中 O6 原子所带的电荷为 $-0.6388e$, 说明 G 的 O6 原子作为氢键受体的能力被提高了; G 中 N7 原子所带的电荷为 $-0.4434e$, G 被氧化成 8-oxo-G 后, G 中作为氢键受体位点的 N7 原子变成了 8-oxo-G 中 O8 原子, 其电荷为 $-0.6191e$, 说明 G 中 N7 作为氢键受体的能力也被提高了; 其他原子所带的电荷变化较小, 即 G 被氧化成 8-oxo-G 后对其他位置影响较小.

碱基单体形成氢键复合物后, 其电荷分布将会发生怎样的变化? 对比 G:C 和 8-oxo-G1:C(WC) 碱基对形成氢键的各原子所带的电荷可以得出: 只有 O6 原子形成氢键后所带的电荷变化较大, 从 $-0.6795e$ 变为 $-0.7155e$, 其他原子所带的电荷变化较小, 再次说明了 C8 位置被氧化后对 O6 原子所带的电荷影响较大. 我们还可以看出, 复合物中参与形成氢键原子所带的电荷变化较大, 而未参与形成氢键原子所带的电荷变化不大. 例如: 形成 $NH\cdots N$ 型氢键的 H 原子所带的电荷从 $0.4645e$ 变为 $0.4891e$, N 原子所带电荷由 $-0.5939e$ 变为 $-0.6404e$; $O\cdots HN$ 型氢键的 H 原子上的电荷从 $0.4387e$ 变为 $0.4609e$, O 原子所带电荷由 $-0.6483e$ 变为

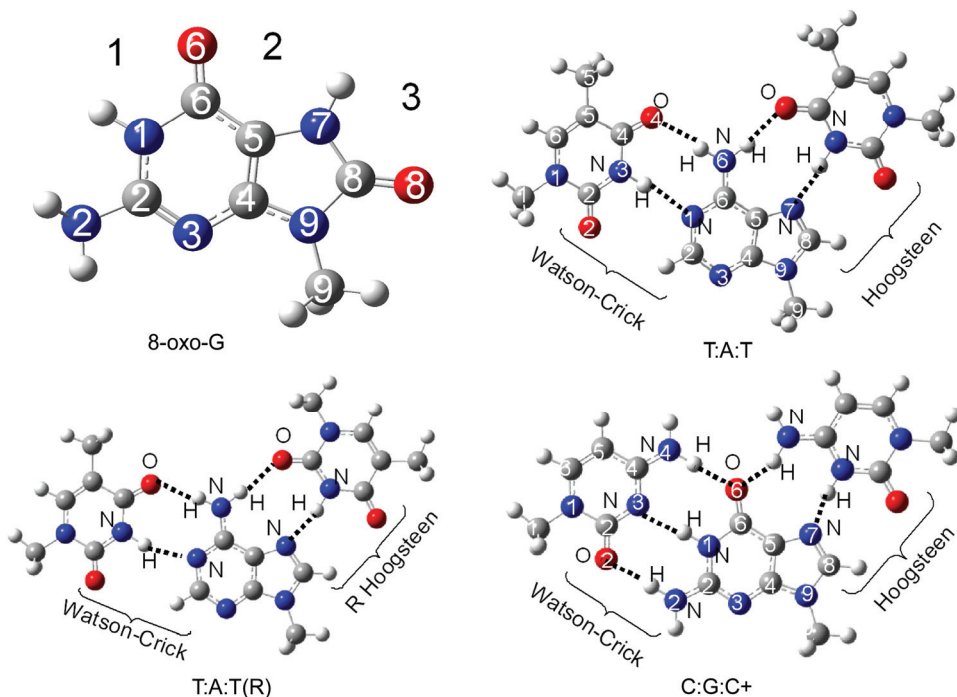


图 1 8-oxo-G 单体和三碱基体的结构和标号, 其中黑色数字 1, 2, 3 代表 8-oxo-G 与 A、T、G、C 配对的作用位点, 白色数字代表原子标号
Figure 1 The geometries and labels of 8-oxo-G and triplet bases, where black numbers 1, 2, 3 in 8-oxo-G denote these sites, at where 8-oxo-G pairs with A, T, G, or C and white numbers denote the atomic labels

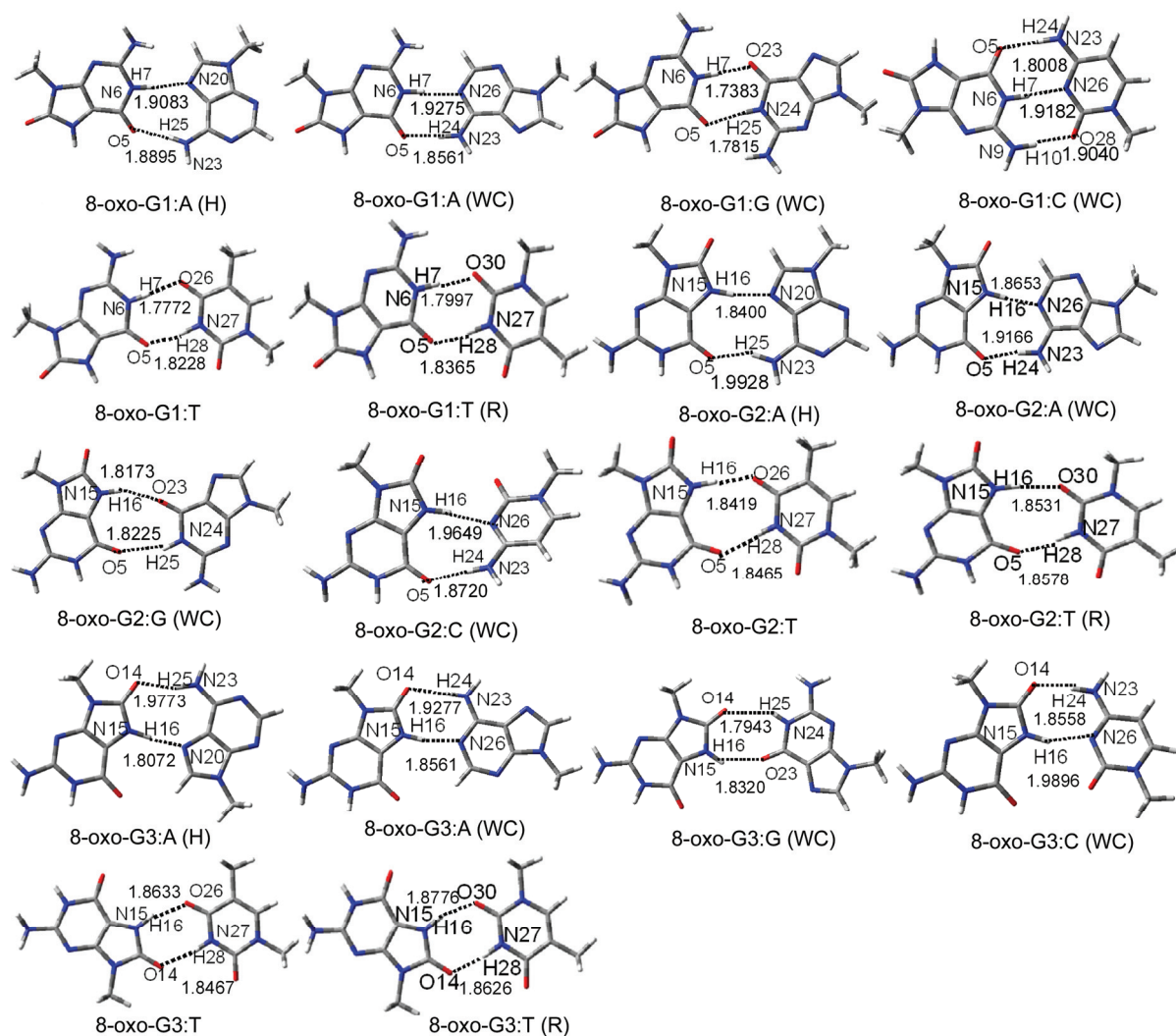


图2 含 8-oxo-G 的氧化碱基对; WC 代表 Watson-Crick 氢键类型, H 代表 Hoogsteen 氢键类型, R 代表反 Hoogsteen 氢键类型
Figure 2 Oxidized base pairs containing 8-oxo-G. WC represents Watson-Crick hydrogen bonding pattern. H represents Hoogsteen hydrogen bonding pattern. R represents reverse Hoogsteen hydrogen bonding pattern

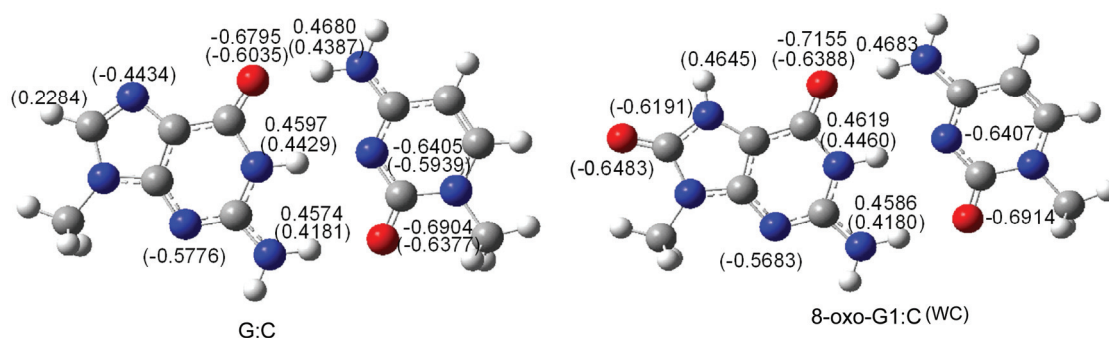


图3 G:C 和 8-oxo-G1:C (WC) 碱基对上部分原子所带的电荷. 括号里数值代表单体 G, 单体 8-oxo-G 或单体 C 中相应原子所带的电荷. 不带括号数值代表碱基对中 G, 8-oxo-G 或 C 所带的电荷
Figure 3 Partial charges of part atoms in G:C and 8-oxo-G1:C(WC) base pairs. The numbers in parentheses mean partial charges of part atoms in isomer G, 8-oxo-G or C. The numbers without parentheses mean partial charges of part atoms in G, 8-oxo-G or C of base pairs

−0.6868e. 统计所有碱基对中形成氢键原子上所带的电荷(如表 S1 和表 S2)也可以得到同样的规律: 与正常单体相比, 碱基对中形成氢键的受体原子上所带电荷变

的更负, 平均变化了 0.05e, 占原电荷的 8%; 供体 H 原子所带的电荷变的更正, 平均变化了 0.02e, 占原电荷的 4%.

接下来我们来看看分子间电荷转移情况, 表 S1 列出了各氧化碱基对分子间电荷转移数目, 表中数值代表各复合物中 8-oxo-G 中所有原子所带的电荷数, 其中正值代表 8-oxo-G 与碱基单体形成复合物后, 8-oxo-G 上的电荷转移到与之配对的碱基上; 负值代表 8-oxo-G 与碱基单体形成复合物后, 与 8-oxo-G 配对的碱基上原子所带的电荷转移到 8-oxo-G 上. 从表 S1 可以看出, 只有 1 位点和 3 位点与 T 形成碱基对的电荷转移数为正值, 说明电荷是从 8-oxo-G 转移到 T 上, 其他的都是负值, 即电荷从与 8-oxo-G 配对的碱基转移到了 8-oxo-G 上.

3.2 含 8-oxo-G 碱基对中的氢键及能量分析

结合能反应了碱基对中两个碱基的结合能力; 二阶稳定化能可以定性地给出多氢键体系中单根氢键的强弱; 能级差反映了碱基对与外界其他分子反应活性的大小. 结构的改变可能导致能量的变化. 碱基对中每根氢键的长度在图 2 中给出. 表 S3 列出了正常碱基对 G:C 和氧化碱基对在气相和水相下的结合能、HOMO 及 LUMO 轨道能量及能级差, 二阶稳定化能的值统计在表 S4~S6 中, 表中 $E^{(2)}$ 代表受体原子的孤对电子和供体及 H 原子的反键轨道形成氢键的二阶稳定化能的值, E_s 代表碱基对中单个氢键的二阶稳定化能的值, E_{sum} 代表整个碱基对的二阶稳定化能的值. 由图 2 可知, 氧化碱基对中只有 8-oxo-G1:C (WC) 的氢键数目和氢键类型与正常碱基对 G:C 一致, 均含有 3 根氢键, 分别为 $\text{O}\cdots\text{HN}$, $\text{NH}\cdots\text{N}$, $\text{NH}\cdots\text{O}$ 型. 在 G:C 中 $\text{O}\cdots\text{HN}$ 氢键长为 1.7916 Å, $\text{NH}\cdots\text{N}$ 氢键长为 1.9436 Å, $\text{NH}\cdots\text{O}$ 氢键长为 1.9065 Å. 在 8-oxo-G1:C (WC) 中, 由于 C8 位被氧化, $\text{O}\cdots\text{HN}$ 氢键长增加了 0.0092 Å, 变成 1.8008 Å, $\text{NH}\cdots\text{N}$ 和 $\text{NH}\cdots\text{O}$ 氢键长都变短了, 分别减小 0.0254 和 0.0025 Å, 变成 1.9182 和 1.9040 Å. 从二阶稳定化能也可以看出, G 被氧化为 8-oxo-G 后, $\text{O}\cdots\text{HN}$ 氢键的二阶稳定化能减少, $\text{NH}\cdots\text{N}$ 和 $\text{NH}\cdots\text{O}$ 氢键的二阶稳定化能增加, 即 $\text{O}\cdots\text{HN}$ 氢键强度减弱, $\text{NH}\cdots\text{N}$ 和 $\text{NH}\cdots\text{O}$ 氢键强度增强. 其余碱基对都形成 2 根氢键, 8-oxo-G 与 A、C 配对时形成 $\text{NH}\cdots\text{N}$, $\text{O}\cdots\text{HN}$ 型氢键, 与 G、T 配对时形成 2 根 $\text{NH}\cdots\text{O}$ 型氢键.

8-oxo-G 也促使 G 与 C 的结合能发生了变化, 正是因为 8-oxo-G1:C (WC) 形成 3 根氢键, 所以所有氧化碱基对中 8-oxo-G1:C (WC) 的结合能力也是最强的, 结合能为 26.82 kcal/mol, 与 G:C 的结合能 26.02 kcal/mol 接近, 其二阶稳定化能 64.37 kcal/mol 也是所有碱基对中最大的, 与 G:C 的二阶稳定化能 63.10 kcal/mol 接近. 虽然 8-oxo-G 的 1 位点与 C 结合没有降低 G 与 C 的配对能力, 但 G 被氧化为 8-oxo-G 后增加了氢键的供体和受体位点, 在 DNA 复制过程中很容易被误认为其他碱基, 例如图 2 中的 8-oxo-G3:A (WC) 碱基对, 8-oxo-G 被误认为 T 与 A 配对, 8-oxo-G3:G (WC) 碱基对中, 8-oxo-G 被误认为 C 与 G 配对, 这样就形成了图 2 中的所有碱基对.

图 4 给出了各位点形成的碱基对的结合能、二阶稳定化能和轨道能级差的关系图. 从图中看出 8-oxo-G 的 1, 2, 3 位点分别与 A, T, G, C 配对时, 均是 1 位点的结合能最大(除 8-oxo-G3:A (H) 比 8-oxo-G1:A (H) 大 0.23 kcal/mol, 可认为相等), 可以得出 1 位点与其他正常碱基作用结合能力最强. 通过二阶稳定化能的大小也可以得到 3 个位点中 1 位点与其他正常碱基作用的二阶稳定化能最大, 进一步证明了 1 位点的结合能力最强.

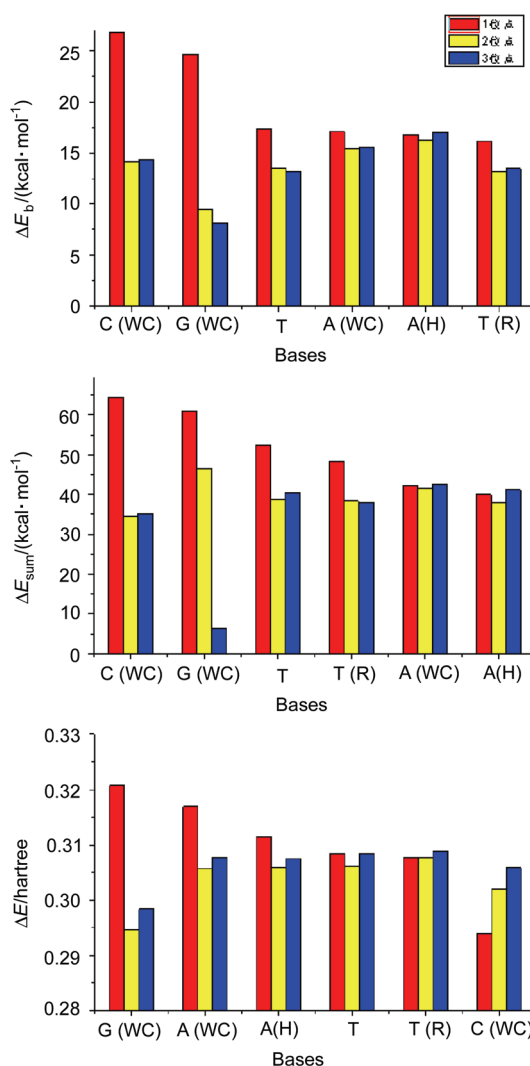


图 4 各碱基对的结合能、二阶稳定化能和轨道能级差的关系图

Figure 4 The relationship of binding energy (kcal/mol), second-order stabilization energy (kcal/mol) and orbitals energy difference (Hartree) of base pairs

本文进一步采用 MP2/aug-cc-pVDZ 方法计算了碱基对在水溶剂环境下的结合能, 统计的数据列在表 S3 中. 相对于气相结合能, 水溶剂使碱基对的结合能变弱, 其中正常碱基对 G:C 的结合能减少的最多, 减少了 14.19 kcal/mol; 水溶剂使氧化碱基对的结合能减少的程度不同, OG 与 C 形成的氢键复合物的结合能减弱程度较大, 达到 9~15 kcal/mol; OG 与 A 和 T 形成的氢键复

合物的结合能减弱的程度较小, 在 1~3 kcal/mol 范围内. 水溶剂使碱基对结合能力次序发生改变. 例如: 在本文研究的复合物中, 8-oxo-G1:G (WC)的气相结合能第二大, 为 24.70 kcal/mol, 而水相结合能被大大减小, 为 12.38 kcal/mol, 变为结合能力较差的复合物.

从图中还可以看出 8-oxo-G 的 1 位点与正常碱基配对所形成碱基对轨道能级差的大小顺序为 8-oxo-G:G > 8-oxo-G:A > 8-oxo-G:T > 8-oxo-G:C; 2 位点和 3 位点形成碱基对的轨道能级差顺序相同, 均是 8-oxo-G:T > 8-oxo-G:A > 8-oxo-G:C > 8-oxo-G:G, 都是与 T 结合形成反 Hoogsteen 构型碱基对的能级差最大, 即与外界反应的活性最小, 与 G 结合形成 Watson-Crick 构型碱基对的能级差最小, 即与外界反应的活性最大, 由此我们可以得到 2 位点和 3 位点具有相似的性质.

3.3 碱基对及 GC→TA 突变过程前线分子轨道的分析

通过计算前线分子轨道可以得出氧化碱基与正常碱基比对, 发生反应的位点有怎样的变化. 图 S1 给出了鸟嘌呤 G、氧化鸟嘌呤 8-oxo-G 和 G:C 碱基对的 HOMO 和 LUMO. 正常碱基 G:C 配对时 HOMO 分布在鸟嘌呤 G 上, 说明亲核反应的位点在 G 上; LUMO 分布在胞嘧啶 C 上, 说明亲电反应的位点在 C 上. 从图中可以看出, 鸟嘌呤 G 和氧化鸟嘌呤 8-oxo-G 的 HOMO 和 LUMO 图没有太大的区别, 但 8-oxo-G 与其他正常碱基形成碱基对时, 与 G:C 相比发生亲核反应和亲电反应的活性位点发生较大改变. 图 S2~S4 所示的分别是 8-oxo-G 的 1, 2, 3 位点与正常碱基形成碱基对的 HOMO 和 LUMO, 可以看出所有碱基对的 HOMO 都分布在 8-oxo-G 上, 与正常 G:C 一致, 也就是所有碱基对发生亲核反应的位点都在 8-oxo-G 上. 而各碱基对 LUMO 的分布却各有不同, 对于 1 位点: 8-oxo-G1:T (R)的 LUMO 分布在整個碱基对上; 8-oxo-G1:G (WC)的 LUMO 分布在 8-oxo-G 上, 即发生亲电反应的位点也在 8-oxo-G 上; 其他碱基对的 LUMO 分布在与 8-oxo-G 配对的碱基上, 即发生亲电反应的位点在与 8-oxo-G 配对的碱基上, 与正常 G:C 一致. 对于 2 位点: 只有 8-oxo-G2:G (WC)的 LUMO 分布在整

个碱基对上, 其他所有碱基对的 LUMO 都分布在 8-oxo-G 上, 与正常 G:C 不同. 对于 3 位点: 8-oxo-G3:A (H)的 LUMO 分布在整個碱基对上; 8-oxo-G3:G (WC), 8-oxo-G3:T, 8-oxo-G3:T (R)的 LUMO 分布在 8-oxo-G 上, 与正常 G:C 不同; 8-oxo-G3:A (WC)和 8-oxo-G3:C (WC)的 LUMO 分布在与 8-oxo-G 配对的碱基上, 与正常 G:C 一致.

在 GC→TA 的突变过程中, 发生亲核反应和亲电反应的活性位点也发生了变化. 图 5 给出了 GC→TA 的突变过程中各碱基对的 HOMO 和 LUMO 及轨道能级的大小. 正常的 G:C 碱基对是由反式(*anti*)G 与反式 C 结合, 此时发生亲核反应的位点在 G 所在链上, 亲电反应的位点在 C 所在链上. 当 G 被氧化成 8-oxo-G 后, 依旧保持着反式结构, 亲核反应和亲电反应的位点没有改变. 8-oxo-G:C 经过解离复制, 8-oxo-G 自发的变成了顺式(*syn*)结构, 被误认为 T 与反式的 A 结合, 此时亲核反应的位点在 8-oxo-G 所在链上, 亲电反应的位点在 A 所在链上. 8-oxo-G:A 经过解离复制为 T:A, 此时发生亲核反应与亲电反应的位点都变到了 A 所在链上, 也就是 GC→TA 突变伴随着亲核反应位点由一条链转移到另一条链, 那么体内的酶在识别时就会发生错误. 在整个突变过程中, HOMO 的能级变的更低, LUMO 的能级则变的更高, 即轨道能级差越来越大, 说明 T:A 碱基对不容易与外界发生反应.

4 结论

本文采用量子化学方法, 在 B3LYP/6-31+G*水平下, 分析了鸟嘌呤 G 被氧化为 8-oxo-G 后, 单体及它们分别与正常碱基形成的碱基对的电荷分布、电荷转移数值、几何构型; 应用 MP2/aug-cc-pVDZ 方法获得体系能量、前线分子轨道能量, 并用 HF/STO-3G 的方法查看了前线分子轨道图. 当氧化鸟嘌呤和正常碱基配对时, 与正常碱基对相比复合物中氢键的数目和氢键的类型都发生变化. 鸟嘌呤 G 被氧化为 8-oxo-G 后, C8 位置使 N7 和 O6 原子所带的电荷变得更负, 对其他供体和受体原

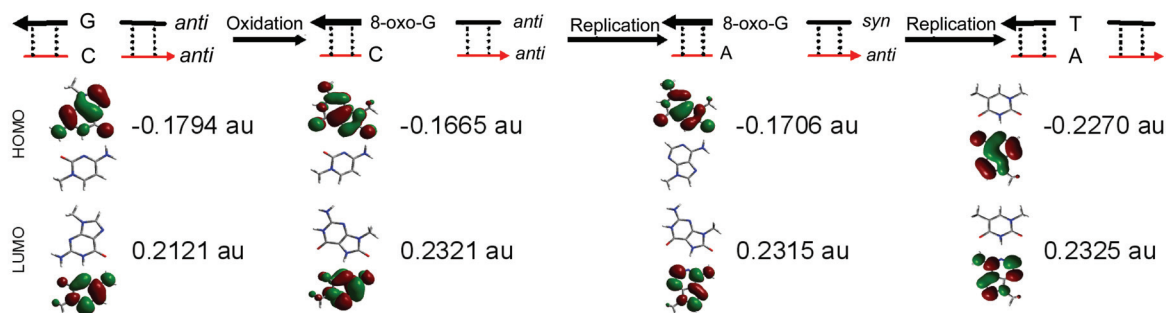


图 5 8-oxo-G 引发的 GC→TA 突变及碱基对相应的 HOMO 和 LUMO 图及轨道能量; 其中黑色和红色的线代表碱基序列, 虚线代表氢键; *syn* 和 *anti* 分别代表碱基的顺式结构和反式结构; 数字代表轨道能级(au)

Figure 5 GC→TA mutation induced by 8-oxo-G, including HOMOs and LUMOs of corresponding base pairs and orbital energy. Black and red lines represent sequences of bases. Dotted lines denote Hydrogen bonds. *syn* and *anti* represent *syn*-type and *anti*-type structure, respectively. The numbers represent orbital energies (au)

子所带的电荷影响较小; 对于形成氢键受体的原子, 其所带的电荷变负了 0.05e, 占原电荷的 8%, 供体上 H 原子所带的电荷变正了 0.02e, 占原电荷的 4%, 而未参与形成氢键的原子所带的电荷则没有明显的变化。所有氧化碱基对中, 只有 8-oxo-G1:C (WC) 形成三根氢键, 且结合能与 G:C 相差不大。在形成两根氢键的碱基对中, 1 位点与正常碱基作用的结合能力最强, 2、3 位点具有相同的性质; 与气相结合能相比, 水溶剂使氧化碱基对的结合能力减弱, 其中正常碱基对 G:C 减少的最多, 减少了 14.19 kcal/mol, 与 C 作用形成氢键复合物的结合能减弱的程度较大, 达到 9~15 kcal/mol, 且水溶剂使碱基对结合能力次序发生改变。从 HOMO 和 LUMO 可以得出: 所有氧化碱基对的 HOMO 都分布在 8-oxo-G 上, 与正常的 G:C 碱基对一致, 而 LUMO 的分布没有很好的规律。正常的碱基对 G:C 经过一系列的复制解离最终可以导致 GC→TA 的突变。G:C 碱基对中发生亲核反应的位点在 G 所在链上, 亲电反应的位点在 C 所在链上。当发生 GC→TA 突变后, 亲核反应和亲电反应的位点均变到了 A 所在链上。以上研究为酶识别氧化碱基或去除体内氧化碱基的进一步研究提供参考。

References

- [1] Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 737.
- [2] Greenberg, M. M. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 588.
- [3] Lord, C. J.; Ashworth, A. *Nature* **2012**, *481*, 287.
- [4] Crenshaw, C. M.; Wade, J. E. *Biochemistry* **2011**, *50*, 8463.
- [5] Naöme, A.; Schyman, P.; Laaksonen, A.; Vercauteren, D. P. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 4789.
- [6] Hamm, M. L.; Crowley, K. A.; Ghio, M.; Lindell, M. A. M.; McFadden, E. J.; Silberg, J. S. L.; Weaver, A. M. *Chem. Res. Toxicol.* **2012**, *25*, 2577.
- [7] Volle, C. B.; Jarem, D. A.; Delaney, S. *Biochemistry* **2012**, *51*, 52.
- [8] Mazurek, A.; Berardini, M.; Fishel, R. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 8260.
- [9] Shukla, L. I.; Adhikary, A.; Pazdro, R.; Becker, D.; Sevilla, M. D. *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, 6565.
- [10] Hu, X. B.; Li, H.; Ding, J. Y.; Han, S. J. *Biochemistry* **2004**, *43*, 6361.
- [11] Shibutani, S.; Takeshita, M.; Grollman, A. P. *Nature* **1991**, *349*, 431.
- [12] Hsu, G. W.; Ober, M.; Carell, T.; Beese, L. S. *Nature* **2004**, *431*, 217.
- [13] David, S. S. O.; Shea, V. L.; Kundu, S. *Nature* **2007**, *447*, 941.
- [14] Thivianathan, V.; Somasunderam, A.; Volk, D. E.; Hazra, T. K.; Mitra, S.; Gorenstein, D. G. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, *366*, 752.
- [15] Dey, M.; Moritz, F.; Grotemeyer, J.; Schlag, E. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9211.
- [16] Manas, E. S.; Getahun, Z.; Wright, W. W.; DeGrado, W. F.; Vanderkooi, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9883.
- [17] Shukla, A.; Barbiellini, B.; Buslaps, T.; Suortti, P. *Phys. Chem. (Munich)* **2001**, *215*, 1315.
- [18] Hobza, P.; Sandorfy, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 1302.
- [19] Fan, W. J.; Zhang, R. Q.; Liu, S. *J. Comput. Chem.* **2007**, *28*, 967.
- [20] Kino, K.; Sugiyama, H. *Chemistry & Biology* **2001**, *8*, 369.
- [21] He, Q.; Zhou, L. X. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2005**, *21*, 846. (和芹, 周立新, 物理化学学报, **2005**, *21*, 846.)
- [22] Qiu, Z. M.; Wang, H. J.; Xia, Y. M. *Struct. Chem.* **2010**, *21*, 931.
- [23] Lin, X. F.; Sun, C. K.; Yao, L. F.; Chen, Y. S.; Yang, S. Y. *Acta Chim. Sinica* **2010**, *68*, 1553. (林雪飞, 孙成科, 姚立峰, 陈益山, 杨思姬, 化学学报, **2010**, *68*, 1553.)
- [24] Suzuki, M.; Kino, K.; Morikawa, M.; Kobayashi, T.; Komori, R.; Miyazawa, H. *Molecules* **2012**, *17*, 6705.
- [25] Liu, S.; Li, S. S.; Liu, D. J.; Wang, C. S. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2013**, *29*, 2551. (刘帅, 李书实, 刘冬佳, 王长生, 物理化学学报, **2013**, *29*, 2551.)
- [26] Zheng, Y.; Cai, W. F.; Li, L. C. *J. At. Mol. Phys.* **2013**, *30*, 66. (郑妍, 蔡皖飞, 李来才, 原子与分子物理学报, **2013**, *30*, 66.)
- [27] Huo, H. J.; Zhao, D. X.; Yang, Z. Z. *Chem. J. Chin. Univ.* **2011**, *32*, 2877. (霍红洁, 赵东霞, 杨忠志, 高等学校化学学报, **2011**, *32*, 2877.)
- [28] Liu, C.; Wang, Y.; Zhao, D. X.; Gong, L. D.; Yang, Z. Z. *J. Mol. Graphics Modell.* **2014**, *47*, 62.
- [29] Villani, G. *ChemPhysChem* **2013**, *14*, 1256.
- [30] Chen, X. L.; Kelso, C.; Hornak, V.; Santos, C. D. L.; Grollman, A. P.; Simmerling, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13906.
- [31] Mark, D. E.; Miral, D.; Marcus, S. C. *Mutat. Res.* **2004**, *567*, 1.
- [32] Hu, X. B.; Li, H. R.; Ding, J. Y.; Han, S. J. *Biochemistry* **2004**, *43*, 6361.
- [33] Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Balkken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ø; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J., *Gaussian 09*, Revision A.02, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, **2009**.
- [34] NBO, Version 3.1, Glendening, E. D.; Reed, A. E.; Carpenter, J. E.; Weinhold, F.

(Zhao, X.)