

# 三链 DNA 分子 $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$ 的低频振动模式

孟耀勇 刘颂豪

(华南师范大学量子电子学研究所, 广州 510631)

**摘 要** 利用晶格动力学方法, 首次计算了具有三螺旋结构的  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  的低频振动模式. 结果表明, Watson-Crick 氢键的呼吸模式位于  $90 \text{ cm}^{-1}$  附近, 而 Hoogensteen 氢键除了在  $90 \text{ cm}^{-1}$  附近存在呼吸模式外, 还在更低频率上存在着几个更为强烈的呼吸模式. 这一结果定性地解释了低盐度下  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  的两步热融化.

**关键词** 晶格模式, 三链螺旋, 脱氧核糖核酸.

## 1 引 言

无论是三链结构的核酸分子在生物学中的重大意义, 还是其潜在的应用前景, 都使它值得成为人们深入研究的对象. 正如作者在文献[1]中所述, DNA 分子的生物学功能和物理、化学性质都与其低频振动密切相关. 本文利用晶格动力学方法首次计算了具有三链结构的  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  的低频振动谱.

## 2 计算方法

### 2.1 久期方程

$\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  表示一条只具有腺嘌呤碱基的嘌呤链  $\text{poly}(\text{dA})$  以传统的 Watson-Crick 氢键同第一条只具有胸腺嘧啶的  $\text{poly}(\text{dT})$  反平行相联形成双螺旋链, 而第二条  $\text{poly}(\text{dT})$  外绕在双螺旋链的大沟内, 并以 Hoogensteen 氢键同  $\text{poly}(\text{dA})$  碱基相联形成三螺旋结构. 由于  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  保留了螺旋对称性, 如果把  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  看成无限长的一维晶格, 那么在质权笛卡儿坐标下的久期方程象双螺旋结构一样推导为<sup>[2]</sup>:

$$|D^+(\theta) F D(\theta) + D_{\text{nb}}^+(\theta) F_{\text{nb}} D_{\text{nb}}(\theta) - \lambda(\theta) I| = 0 \quad (1)$$

$$D(\theta) = \sum_{\mathbf{r}} B^{\mathbf{r}} R^{\mathbf{r}} \exp(-i\mathbf{n}\theta), \quad D_{\text{nb}}(\theta) = \sum_{\mathbf{r}} B_{\text{nb}}^{\mathbf{r}} R^{\mathbf{r}} \exp(-i\mathbf{n}\theta) \quad (2)$$

(1)式中第一项为共价力场项, 第二项为非键力场项. (2)式中  $B$ 、 $B_{\text{nb}}$  分别是共价内坐标和非

键内坐标向质权笛卡儿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,  $F_{nb}$  为非键对角力常数矩阵,  $\theta$  为相位角. 本征值  $\lambda(\theta)$  等于振动频率  $\omega$  的平方,  $I$  为单位矩阵.

在 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 中, 所能选取的最小原胞包括各链上的一个碱基和它们相连的糖磷酸骨架. 由于氢原子很轻, 又同它所依附的原子有很强相互作用, 为了减少系统的自由度, 可以假定氢原子是固定在它所依附的原子上的. 即使作了这样的近似, 选取的一个原胞所包含的原子数仍高达 61 个. 为了全面地描述原胞内原子力场, 除了考虑研究分子振动通常所选用的全部四种共价内坐标外, 还考虑共价非键伸缩内坐标, 这样一个原胞中的共价内坐标为 293 个. 考虑到原子非平衡电荷引起的库仑力和范德瓦尔斯力的影响建立了非键内坐标. 从后面讨论结果可看出, 影响 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 低频振动模式的非键范围非常大. 当考虑相距 25 个原胞间的非键作用时, 非键内坐标数目就为 94855, 也就是说(2)式中  $B_{nb}$  为 (94855 × 183) 的矩阵, 如此大的矩阵在计算机上是难以运行的. 本文采用矩阵分块和以一维矩阵表示二维矩阵的方法, 使得其程序能在 VAX8530 小型机运行<sup>[3]</sup>.

poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的坐标取自 Arnott 在 1976 年利用 X-衍射数据, 经原子间非键接触精炼得到的结果<sup>[4]</sup>.

## 2.2 力 场

与文献[5]那样采用了修正的共价力场, 考虑了键伸缩力常数随结构变化的二阶差异, 利用 Ladd 和 Decius<sup>[5]</sup> 给出的计算公式, 计算了碱基上所有键伸缩力常数以及糖环与碱基的联接伸缩力常数. 尽管在模型中包含的是胸腺嘧啶, 由于其与尿嘧啶非常相似, 胸腺嘧啶只是在 C<sub>5</sub> 上用甲基取代了尿嘧啶的氢, 所以还是借用尿嘧啶的非对角力常数, 仅对个别非对角力常数进行适当的调整, 从而得到了与高频喇曼光谱实验符合得很好的结果.

糖环与磷酸酯的键伸缩力常数和变角力常数以及共价非键力常数全部取自于文献[6]. 利用 Green 函数方法精炼 A-DNA、B-DNA 和 A-RNA 糖环和脊骨这两部分的力常数, 在 800 cm<sup>-1</sup> 以上同实验符合得很好.

碱基的变角力常数、poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的所有扭转力常数和面外弯曲力常数都取自文献[5]. Watson-Crick 氢键和 Hoogensteen 氢键的力常数由 Lippincott-Schroeder 模型<sup>[7]</sup> 计算得到.

非键相互作用包括非平衡电荷引起的库仑力和范德瓦尔斯力. 由库仑定律得到的力常数为:

$$F_{ij} = \frac{2 |e_i e_j|}{\epsilon_i \epsilon_j \cdot r_{ij}^3} \quad (3)$$

式中  $e_i$  为原子  $i$  的非平衡电荷值,  $r_{ij}$  为相互作用原子间的距离. 考虑到水对分子的影响, 碱基和脊骨上的原子具有不同的介电常数, 为了明显表示这种差异, 用  $\epsilon_i$ 、 $\epsilon_j$  两个介电常数来分别表示相互作用的两个原子, 具体介电常数取值方法采用了 Young<sup>[2]</sup> 的公式. DNA 分子中原子的非平衡电荷的理论值很多, 不同的方法计算结果差异很大. Pearlman<sup>[8]</sup> 利用 X-衍射研究脱氧胞嘧啶呤酸单体 (2'-Deoxycytidine-5'-Monophosphate), 第一个给出了糖环和磷酸脂的非平衡电荷的实验值, 但未能给出胸腺嘧啶和腺嘌呤的非平衡电荷值, Young<sup>[2]</sup> 通过比较 Miller<sup>[9]</sup> 计算的非平衡电荷值和用 X-衍射结果获得的原子的非平衡电荷值, 认为 Miller 的电荷除

2.31后值接近真实的非平衡电荷. 利用这样取得的电荷值, 计算得到的双链 DNA 分子的低频振动模式与实验符合得很好. 无论理论还是实验的非平衡电荷值都是基于单体的核苷酸, 这些电荷值在双链 DNA 分子中的运用成功, 说明非平衡电荷与核酸的具体构型无关, 故作者认为这些非平衡电荷值也反映了三链构型的 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 的真实情况. 在(3)式中将电荷乘积取绝对值, 是为了防止得到一个负的力常数. 因为负的力常数意味着一个不稳定的分子结构. Young<sup>[2]</sup> 采用这种取绝对值的方法, 计算了双螺旋 DNA 分子的低频振动光谱, 结果很理想. 这使作者相信这样的处理是可行的.

通常的范德瓦尔斯力包括 6 次方和 12 次方项, 6 次方项为原子间相互吸引, 而 12 次方项为相互排斥. 本文的模型中只考虑相互吸引项, 因而范德瓦尔斯力常数为<sup>[10]</sup>:

$$F_2 = 42 \cdot \frac{2 V_m^0 R_{ij}^6 \gamma}{r_{ij}^8} \quad (4)$$

所以这样处理是基于如下考虑: 首先, 范德瓦尔斯力中的排斥项主要是体现在过于靠近的原子间, 实际上原子之间过于靠近是立体化学不可能接受的; 另外, Young<sup>[2]</sup> 在只考虑 6 次方项情况下, 通过调节现象参数, 得到了与实验低频振动谱相符的理论结果. 这说明范氏力 12 次方项对大分子的低频振动影响较小. (4)式中  $r_{ij}$  为相互作用的两个原子  $i$  和  $j$  的距离,  $V_m^0$ 、 $R_{ij}$  分别为极小能量值和原子  $i$ 、 $j$  的平均范德瓦尔斯半径, 其值来源于参考文献[10],  $\gamma$  是 Kcal/mole 与 m dyn nm 的转化因子, 其值为  $0.695 \times 10^{-3}$ .

氢原子对非键相互作用的影响是不可忽略的. 氢原子的电荷量与它附着的原子所带电荷量具有相同的量级. 所以将氢原子的电荷量简单地加在它所附着的原子上, 而对于范德瓦尔斯力, 因其与范德瓦尔斯参数的非线性, 不能简单将参数相加. 由于 X-衍射<sup>[4]</sup> 没有给出氢原子的坐标, 可以假定氢原子与它所依附的原子具有相同的位置, 分别计算两群原子之间范德瓦尔斯力. 在本文的模型中, 具有共价键相联原子对间的非键相互作用被排除.

### 3 结果与讨论

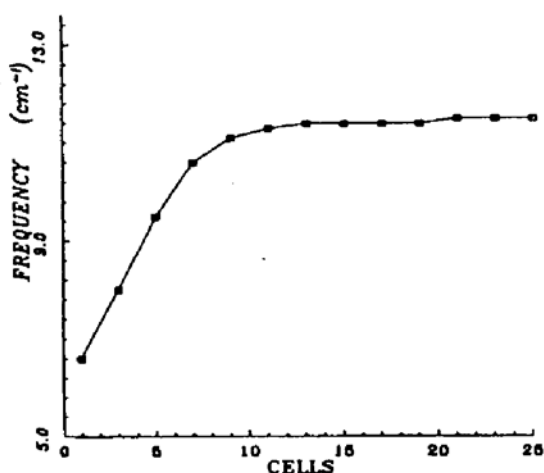


Fig. 1 The frequency of the lowest optical mode as a function of the number of the neighbor cells

为了确定长距离相互作用对 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 低频振动模式的影响, 我们计算了包括不同数目的相邻原胞相互作用时 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 低频振动模式, 发现在布里渊中心最受影响的是最低的光学模式. 图 1 画出了这一模式的频率随模型所包含的原胞数目变化曲线. 可见长距离的非键相互作用明显地影响分子的低频振动. 为了使计算的频率精确到  $0.1 \text{ cm}^{-1}$ , 模型所包含的原胞数必须大于 20. 表 1 给出了在布里渊中心  $100 \text{ cm}^{-1}$  以下的振动频率, 比较只考虑共价力场(VFF)和还包括 25 个原胞的非键相互作用(VFF+NB)的计算结果. 可以看出, 非键相互作用对小于  $100 \text{ cm}^{-1}$  的模式有着巨大影响; 对小于  $10 \text{ cm}^{-1}$  的模式, 非键力起着

决定性作用; 对于频率大于  $100 \text{ cm}^{-1}$ 、小于  $300 \text{ cm}^{-1}$  的模式, 非键力的影响也不可忽略. 以下结果基于一个包括了 25 个相邻原胞的模型.

Table 1. List of the vibrational modes below  $100 \text{ cm}^{-1}$  (Frequency in  $\text{cm}^{-1}$ )

VFF	VFF+NB	VFF	VFF+NB	VFF	VFF+NB	VFF	VFF+NB
87.0	99.7	48.1	78.5	25.9	50.8	7.8	26.9
80.8	98.7	39.2	68.0	24.8	44.8	6.0	23.1
78.2	93.2	33.4	70.3	14.7	43.8	3.2	18.4
71.8	89.7	32.7	58.3	12.8	36.4	2.0	11.5
67.6	83.0	30.4	57.1	11.8	37.0	0.2	0.2
65.4	79.5	29.7	55.2	10.3	30.9	0.1	0.1

具有三螺旋结构的 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) 必然存在着沿螺旋轴压缩声学模和绕螺旋轴的扭转声学模, 在无限长的波长极限下, 它们分别对应着分子质心沿螺旋轴平移和分子绕螺旋轴的旋转, 因此在布里渊中心, 即相位角  $\theta = 0$  时, 应该存在两个零频率. 作者认为本文结果中  $0.1 \text{ cm}^{-1}$  和  $0.2 \text{ cm}^{-1}$  对应着这两个零频率, 它们对零偏离是由计算误差造成的, 因为当模型包含相互作用的原胞数足够多时, 其它模式的本征矢都趋于收敛, 只有  $0.1 \text{ cm}^{-1}$  和  $0.2 \text{ cm}^{-1}$  的本征矢呈不规则的变化.

在双链 DNA 的所有低频模式中, 让人最感兴趣的是呼吸模式. 所谓呼吸模式就是指在这个模式中, 原子的大部分运动构成了双螺旋 DNA 分子在部分区域中两链相对移近移远. 这一模式强烈振动将导致氢键的过度伸展, 从而引起双链的离解. 现在在三螺旋的 DNA 分子中也引入这样的概念. 对于 poly(dT) · poly(dA) · poly(dT), 腺嘌呤链同第一条胸腺嘧啶链沿 Watson-Crick 氢键相对运动的模式为 Watson-Crick 呼吸模式, 这一模式的过度振动将导致腺嘌呤和反平行胸腺嘧啶的离解; 腺嘌呤链同第二条胸腺嘧啶链沿 Hoogensteen 氢键相对运动的模式为 Hoogensteen 呼吸模式, 它的过度振动将导致腺嘌呤链和第二条外绕的胸腺嘧啶链的离解. 图 2 给出了在布里渊中心 Watson-Crick 氢键的平均伸展幅度和 Hoogensteen 氢键的平均伸展幅度, 它们的值都对应着一个原胞一个声子的情形. 从图上可以看出, Watson-Crick 氢键的呼吸模式的中心位置约为  $90 \text{ cm}^{-1}$ , 这和双螺旋 DNA 分子的呼吸模式很接近<sup>[11]</sup>, 其中心频率约为  $85 \text{ cm}^{-1}$ ; 而 Hoogensteen 氢键除了和 Watson-Crick 氢键一样, 在中心频率约为  $90 \text{ cm}^{-1}$  存在呼吸模式外, 在较低的频率存在几个非常强烈的呼吸模式. 对这些呼吸模式, 相对少量的能量引入都能引起大幅度氢键伸缩. 氢键在平衡位置的长度一般为  $0.28 \text{ nm}$  到  $0.30 \text{ nm}$ , 伸展幅度超过  $0.05$

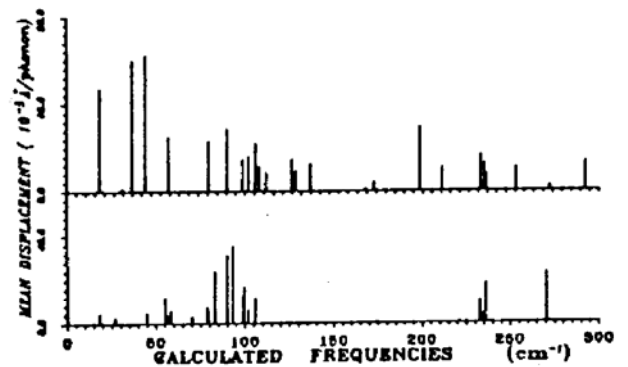


Fig. 2 The mean breathing amplitude for low frequency normal modes of poly(dT) · poly(dA) · poly(dT). The upper graph is for Hoogensteen hydrogen-bond, the lower is for Watson-Crick hydrogen-bond. The frequencies are for zone center of optical mode band of extended infinite helix with amplitude normalized to one unit cell

nm 就明显地增加了链与链离解的可能性<sup>[12]</sup>.

由于 Watson-Crick 氢键和 Hoogensteen 氢键在  $90\text{ cm}^{-1}$  附近都聚集着多个呼吸模式, 对这个区域的选择激发, 就可能使三螺旋的  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  三条链同时分离. 如果选择激发较低频率的 Hoogensteen 氢键的呼吸模式, 就可能使三螺旋的  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  的 Hoogensteen 氢键断裂, 导致外绕在以 Watson-Crick 结合的双螺旋链大沟中的第二条胸腺嘧啶链脱落.

从图 2 中还可以估计一下  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  因受热而链间分离, 即所谓热融化. 在  $20^\circ\text{C}$  的温度下, 对于  $18.4\text{ cm}^{-1}$  模式最可几的声子数为 10.84, Hoogensteen 氢键的平均伸展幅度就达到  $0.0511\text{ nm}$ , 超过了  $0.05\text{ nm}$ , 第二条  $\text{poly}(\text{dT})$  将离解. 而 Watson-Crick 氢键最大的平均伸展幅度为  $0.0063\text{ nm}$ , 这对应着  $93.2\text{ cm}^{-1}$  的模式, 显然这不可能使 Watson-Crick 氢键断裂. 所以本文理论模型给出的物理图象是  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  在加热过程中, 外绕在双螺旋大沟中的第二条胸腺嘧啶链首先脱落, 这一结果与  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  的热融实验一致. 实验证明<sup>[13]</sup>  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  的热解过程和热融温度与盐度有关. 在高于  $1\text{ M}$  的高盐度下,  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  中 Watson-Crick 和 Hoogensteen 氢键同时断裂, 分子由三螺旋结构直接变成任意卷曲结构; 相反, 在低盐度下,  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  的热融呈两步进行: 在加热过程中, 外绕在大沟中的第二条  $\text{poly}(\text{dT})$  链首先脱落, 三螺旋结构的  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  变成由 Watson-Crick 相联的双螺旋  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA})$  和任意卷曲的单链  $\text{poly}(\text{dT})$ , 当温度进一步升高时, 遗留的  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA})$  双螺旋中的 Watson-Crick 氢键断裂, 双螺旋结构解体, 形成任意卷曲的结构.

由于本文没有考虑金属离子对三螺旋链的影响, 所以作者认为本文的理论模型更接近低盐度情况. 这样就较好地解释了实验结果.

## 4 结束语

生物巨分子振动模式的计算是一个极为复杂的工作, 尽管采用晶格动力学方法将无限长的三链 DNA 分子简化为对一个原胞的处理, 然而一个原胞内原子数目也十分多, 需要用几百个数据来描述它们的位置和力场. 虽然作者在选择这几百个数据时经过了细致的考虑, 但由于目前三链 DNA 分子的实验数据缺乏, 本文的模型还难于给出精确的定量结果, 这有待于三链 DNA 分子的激光喇曼和红外光谱以及中子衍射等实验结果的出现, 以便进一步完善本文的理论模型.

## 参 考 文 献

- [1] 刘颂豪, 孟耀勇, DNA 分子的远红外和低频喇曼光谱的研究. 红外与毫米波学报, 1991, 10(6): 487~492
- [2] L. Young, V. V. Prabhu, E. W. Prohofsky, Calculation of far-infrared absorption in polymer DNA. *Phys. Rev(A)*, 1989, 39A: 3173~3180
- [3] 孟耀勇, 刘颂豪, 三链 DNA 分子  $\text{poly}(\text{dT}) \cdot \text{poly}(\text{dA}) \cdot \text{poly}(\text{dT})$  久期方程的约化. 华南师范大学学报(自然版), 1993; 2: 5~11

- [4] Struther Arnott, P. J. Bond, Erik Selsing *et al.*, Models of triple-stranded polynucleotides with optimised stereochemistry. *Nucleic Acids Research*, 1976, 3 : 2459~2470
- [5] J. M. Eyster, E. W. Prohofsky, Lattice vibrational modes of Poly(rU) and Poly(rA). *Biopolymers*, 1974, 13 : 2505~2526
- [6] K. C. Lu, E. W. Prohofsky, L. L. Van Zandt, Vibrational modes of A-DNA, B-DNA and A-RNA backbones; An application of a Green-Function refinement procedure. *Biopolymers*, 1977, 18 : 2491~2506
- [7] R. Schroeder, E. R. Lippincott, Potential function model of hydrogen bonds. I. *J. Phys. Chem.*, 1957, 61 : 921~928
- [8] D. A. Pearlman, S. Kim, Determinations of atomic partial charges for nucleic acid constituents from X-ray diffraction data. I. 2'-deoxycytidine-5'-monophosphate. *Biopolymers*, 1985, 24 : 327~357
- [9] K. J. Miller, Interactions of molecules with nucleic acids. I. An algorithm to generate nucleic acid structures with an application to the B-DNA structure and a counterclockwise helix. *Biopolymers*, 1979, 18 : 959~979
- [10] A. V. Lakshminarayanan, V. Sasisekharan, Stereochemistry of nucleic acids and polynucleotides. V. conformational energy of base-sugar units. *Biopolymers*, 1969, 8 : 475~488
- [11] Y. Gao, K. V. Devi-Prasad, E. W. Prohofsky, A self-consistent microscopic theory of hydrogen bond melting with application to poly(dG) · poly(dC). *J. Chem. Phys.*, 1984, 80 : 6291~6298
- [12] E. W. Prohofsky, K. C. Lu, L. L. Van Zandt *et al.*, Breathing modes and induced resonant melting of the double helix. *Phys. Lett. (A)*, 1979, 70A : 492~494
- [13] M. Riley, B. Maling, M. J. Chamb, Physical and chemical characterization of two-and-three-stranded adenine-thymine and adenine-uracil homopolymer complexes. *J. Mol. Biol.*, 1966, 20 : 359~389

## Low-Frequency Vibrational Mode of Poly(dT) · Poly(dA) · Poly(dT) Triple Helix

Meng Yaoyong     Liu Songhao

(*Institute of Quantum Electronics, South China Normal University, Guangzhou 510631*)

(Received 24 May 1993; revised 24 August 1993)

**Abstract** Low-frequency vibrational modes are calculated for poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) triple helix by the lattice dynamical theory. Long-range interaction is found to be important for low-frequency vibrational mode. Both Watson-Crick hydrogen-bond and Hoogensteen hydrogen-bond have a cluster of breathing modes centered about  $90\text{ cm}^{-1}$ , but Hoogensteen hydrogen-bond has another several very strong breathing modes in lower frequency. This result explains qualitatively the melting of poly(dT) · poly(dA) · poly(dT) in low salt solution.

**Key words** lattice mode, triple helix, deoxyribonucleic acid.