

丝氨酸组酰胺对 5'-pTpTpCp-3' 片段切割作用的量子化学计算

刘华鼎¹, 王炳峰², 孙命³, 张雷¹

(1. 华南理工大学化工与能源学院, 广州 510640; 2. 华南农业大学理学院, 广州 510642;

3. 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 采用量子化学方法对丝氨酸组酰胺切割 5'-pTpTpCp-3' 的作用机理进行了研究. 通过计算得到了两者之间形成多氢键作用的有效分子识别模型以及相关分子结构参数. 从理论上解释了丝氨酸组酰胺对 5'-pTpTpCp-3' 切割的水解机理.

关键词 丝氨酸组酰胺; 5'-pTpTpCp-3' 片段; 切割作用机理

中图分类号 O641

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2007)08-1566-04

近 20 年来, 对核酸、蛋白质等生物大分子切割试剂, 特别是定点切割试剂的研究一直是生物化学、分子生物学以及化学生物学中最活跃的领域之一^[1-5]. 核酸切割试剂在肿瘤基因治疗^[6-7]和基因工程技术的发展中具有重要应用价值. 文献[8~14]对 *N*-磷酸化氨基酸化学性质研究发现, 丝组二肽 (SerHis) 作为最小的酶模型对蛋白质、DNA 和酯等生物大分子有切割活性. 这是迄今首例不含金属离子的人工核酸切割试剂. 通过各种实验及计算机模拟和计算等方法对丝组二肽切割机理进行研究^[15-16], 推测出其可能的反应机理. 朱长进等^[17]在保证丝组二肽基本结构特征的基础上, 合成了一对新型的丝氨酸-组酰胺对映体化合物 *L*-SerHis 和 *D*-SerHis, 并发现它们具有明显的 DNA 切割活性, 切割反应的最佳 pH 值范围为 6.0~6.5 且 *L*-SerHis 的切割活性比 *D*-SerHis 的强. 与丝组二肽相比, 这对酰胺对映体未显示出明显的切割蛋白活性, 表明其对 DNA 具有优先切割的功能^[17], 但是目前尚无法用仪器进行测试. 因此, 利用计算机模拟技术研究其切割机理具有重要意义. 本文采用量子化学方法研究了丝氨酸组酰胺切割 5'-pTpTpCp-3' 的作用机理.

1 模型及计算

文献[18]认为丝组二肽切割 DNA 可能的机理如图 1 所示. 据此, 我们假设丝氨酸组酰胺切割

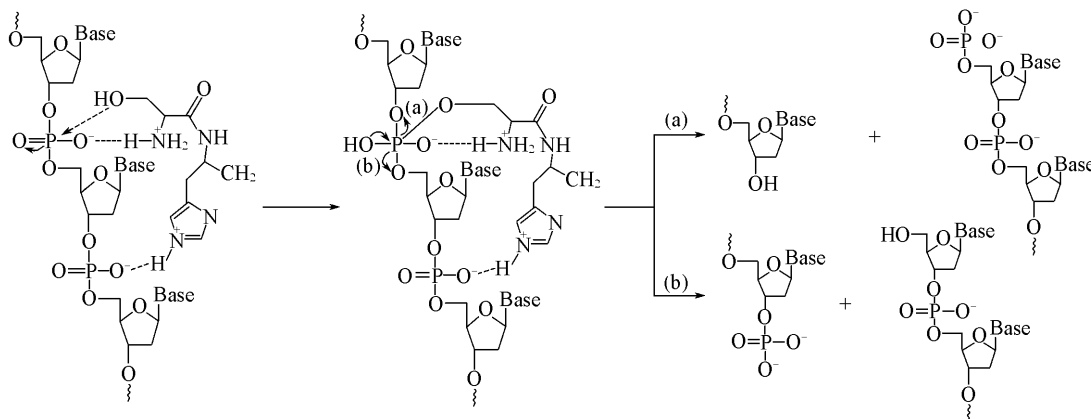


Fig 1 Supposed mechanism of 5'-pTpTpCp-3' cleavage by Ser-His

收稿日期: 2006-06-07

联系人简介: 刘华鼎(1974年出生), 女, 硕士, 助教, 主要从事药物分子设计研究. E-mail: liuhd@scut.edu.cn

5'-pTpTpCp-3'的作用机理如下: 丝氨酸组酰胺中羟基、质子化的氨基、咪唑基和酰胺键可通过氢键和 5'-pTpTpCp-3'的磷酸二酯键结合, 使得丝氨酸组酰胺结合到该片段上. 然后, 丝氨酸组酰胺的羟基进攻磷原子, 通过形成五配位磷中间体而使磷酸二酯键发生水解, 从而使得 5'-pTpTpCp-3'片段被切断.

进行分子模拟时设计的超分子体系很大, 为了减少量化计算的工作量, 我们先使用 GaussView 分子模拟软件把分子对接后得到的超分子结构(图 2)进行精简, 仅留一条含有 3 个碱基的 5'-pTpTpCp-3'片段与 *L/D* 型丝氨酸组酰胺形成的超分子体系. 因为丝氨酸组酰胺必须同时与 DNA 上的两个磷酸基团相互作用才有切割活性, 所以剪切片段至少要包含三个脱氧核苷酸片段(图 3).

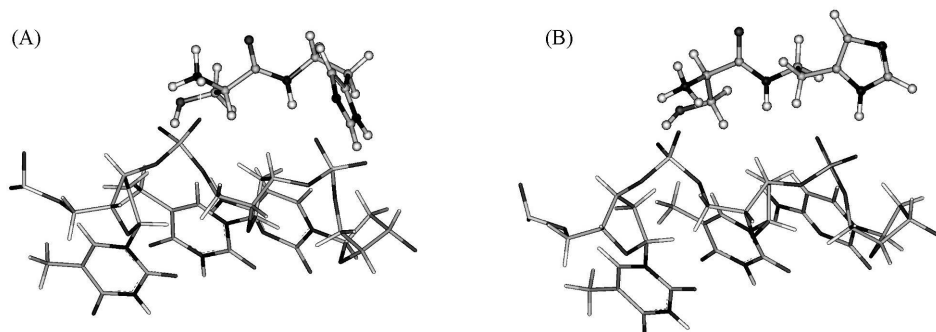


Fig 2 Docking structures of *L*-Ser-H ism-5'-pTpTpCp-3' (A) and *D*-Ser-H ism-5'-pTpTpCp-3' (B)

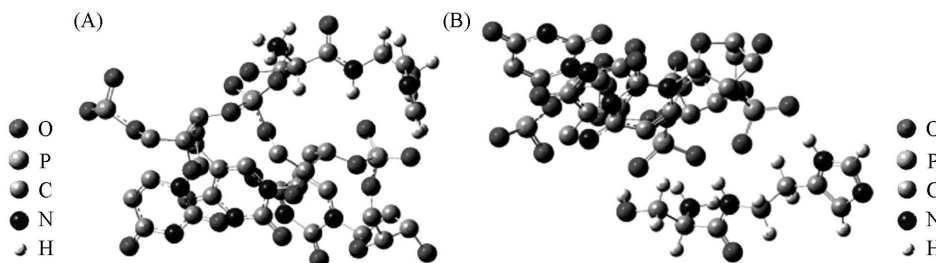


Fig 3 Formed supermolecular system of *L*-Ser-H ism-5'-pTpTpCp-3' (A) and *D*-Ser-H ism-5'-pTpTpCp-3' (B)

先用 Gaussian 03程序分别对 *L*-SerH ism 和 *D*-SerH ism 的结构进行分子力学优化, 得到最低能量构象. *L*-SerH ism 和 *D*-SerH ism 的总能量分别为 -680.565 和 -676.8955 a.u. 因此, *L*-SerH ism 型比 *D*-SerH ism 型稳定. 再在 MOPAC 软件中用 MNDO 方法对此超分子进行半经验算法优化, 最后, 在 RHF/6-31G 水平上进行了单点计算. 得到 *L/D* 型丝氨酸组酰胺与 DNA 分子间的相互作用.

2 结果与讨论

通过 *L*-SerH ism 和 *D*-SerH ism 与 5'-pTpTpCp-3' 超分子体系的模拟计算得到相互作用图(图 4).

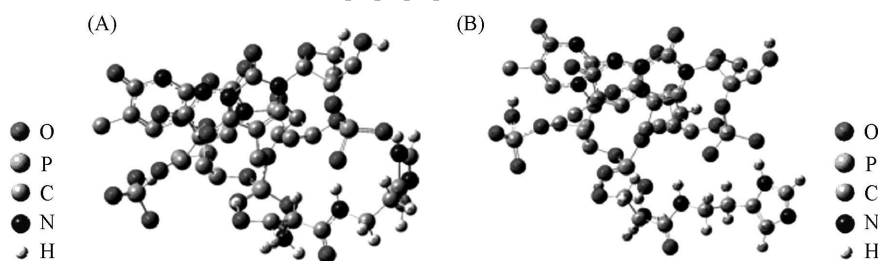


Fig 4 Structures of molecular interaction between *L*-Ser-H ism-5'-pTpTpCp-3' (A) and *D*-Ser-H ism-5'-pTpTpCp-3' (B)

2.1 超分子体系的稳定性

计算结果表明, *L/D*-SerH ism 与 5'-pTpTpCp-3' 反应的生成热分别是 4097.08 和 5058.70 kJ, 说明该反应是吸热反应, 生成热的值越大该体系越不稳定. 因此 *D* 型超分子不稳定, 不易生成. 而 *L*-Ser-

H_{ism} 比 *D*-SerH_{ism} 型更易与 5'-pTpTpCp-3' 进行反应.

2.2 超分子体系的电荷比较

L/*D*-SerH_{ism} 与 5'-pTpTpCp-3' 之间的相互作用不仅是简单的小分子在生物大分子上的定位, 而且对磷原子具有明显的活化作用. 由表 1 电荷布居情况可见, 当 *D*-SerH_{ism} 和磷酸基上的氧形成氢键后, 由于氧原子的电负性, 磷酸各原子的静电荷重新分布, P66、P81 的正电荷比没有形成氢键的磷酸相应位置上的原子 P47 正电荷分别增多了 20.4% 和 14.6%; 而 *L*-SerH_{ism} 形成氢键后, P 原子上的正电荷比相应位置上的原子 P47 分别增多了 30.8% 和 23.1%, 说明磷原子被明显活化, 极易受到亲核基团 (-HO:) 的进攻而断裂. 从电荷增多的程度可看出, *L*-SerH_{ism} 比 *D*-SerH_{ism} 对 5'-pTpTpCp-3' 具有更强的切割活性.

Table 1 Charge population of P atom

Atom	<i>L</i> -type Mulliken	<i>D</i> -type Mulliken
P47	1.603	1.807
P66	2.098	2.186
P81	1.974	2.070

2.3 超分子的键长比较

计算结果表明, *L*/*D*-SerH_{ism} 的氢键作用对磷酸基上的 P-O 键影响不同, 没有受到氢键作用的 P47-O46 的键长为 0.159331 nm, 而其它的 P-O 键的键长为 0.144~0.148 nm. 但是 P66-O6 键长为 0.178236 nm, 在 P66 上连接的另一个 O67 却与丝氨酸组酰胺上的 H21 相连, 键长为 0.083496 nm. 原本与该氢相连的 O6 与 O67 的距离为 0.136 nm, 比原来的键长明显增加. 有人通过分子对接得到的相应距离分别是 0.096172 nm (O6-H21), 0.167313 nm (O67-H21)^[7]. 可见原本在羟基上的氢原子在氢键的帮助下转移到 O67 上, 使 O6 带更多的负电荷, 有利于亲核进攻磷形成五配位结构.

2.4 分子间的有效识别

图 5 分别标出了 *L*(*D*)-SerH_{ism} 与 5'-pTpTpCp-3' 分子识别中有关的氧原子、氮原子以及形成氢键的非氢原子之间的距离. *L*-SerH_{ism} 亲核基团 (-HO:) 与 5'-pTpTpCp-3' 磷酸基磷原子之间的距离是 0.30 nm, *D*-SerH_{ism} 亲核基团 (-HO:) 与 5'-pTpTpCp-3' 磷酸基磷原子之间的距离是 0.32 nm, 有利于亲核进攻, 而且此酰胺同时与 5'-pTpTpCp-3' 中的两个相邻磷酸基团相互作用, 充分证实了实验结果.

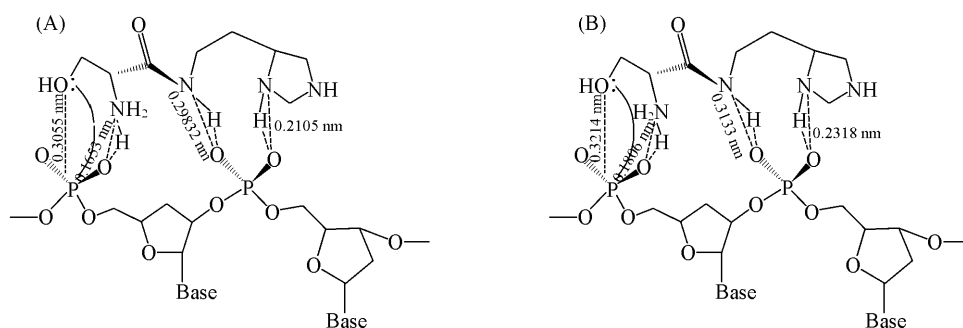


Fig 5 Effective molecular recognition between *L*-SerH_{ism}-5'-pTpTpCp-3' (A) and *D*-SerH_{ism}-5'-pTpTpCp-3' (B)

2.5 氢键网络

通过半经验算法优化和 HF 从头算优化后, *L*/*D*-SerH_{ism} 与 5'-pTpTpCp-3' 的超分子体系形成了较强的氢键网络, 分别见图 6 及表 2. 可见 *L*/*D*-SerH_{ism} 中丝氨酸上亲核进攻的羟基 (-OH) 与 5'-pTpTpCp-3' 磷酸基上的氧形成的氢键、侧链氨基 (-NH₂) 与磷酸基上另一个氧原子形成的氢键在切割机制中起关键性作用.

Table 2 H-bond networks of *L*(*D*)-SerH_{ism} and 5'-pTpTpCp-3'

H-bond network	Position	H...O/nm	∠N(O)-H...O/(°)	H-bond network	Position	H...O/nm	∠N(O)-H...O/(°)
		<i>L</i> -type/ <i>D</i> -type	<i>L</i> -type/ <i>D</i> -type			<i>L</i> -type/ <i>D</i> -type	<i>L</i> -type/ <i>D</i> -type
	O6-H21...O67	0.082/0.084	142.63/135.68		N7-H12...O82	0.214/0.252	139.12/118.56
	N1-H16...O68	0.094/0.097	113.72/132.62		N11-H27...O83	0.121/0.131	138.15/159.27

* , , and are H-bonds formed by -OH, -NH₂, -CONH₂ and interact with 5'-pTpTpCp-3' segment respectively.

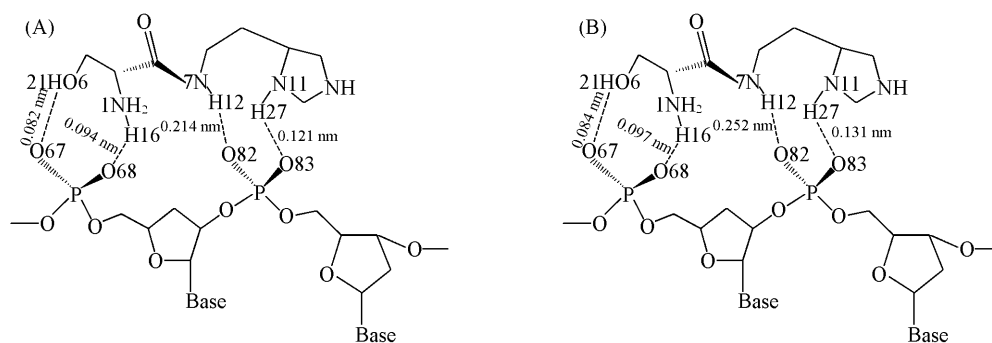


Fig 6 H-bond networks of *L*-Ser-His-5'-pTpTpCp-3' (A) and *D*-Ser-His-5'-pTpTpCp-3' (B)

参 考 文 献

- [1] Sigman D. S., Mazumder A., Perrin D. M. . ChemicalNucleases Chem. Rev [J], 1993, **93**(6): 2295—2316
- [2] Dervan P. B. . Science[J], 1986 **232**(4749): 464—471
- [3] Barton J K. . Science[J], 1986, **233**(4765): 727—734
- [4] Sigman D. S. . Acc Chem. Res [J], 1986, **19**(6): 180—186
- [5] Chu B. C F., Orgel L. E. . Proc Natl Acad Sci USA[J], 1985 **82**(4): 963—967
- [6] Pessina A., Rainondi A., Croera C., et al. . Anti-Cancer Drug[J], 2001, **12**(4): 441—451
- [7] Zou Y., Fahmi N. E., Violas C., et al. . J Am. Chem. Soc [J], 2002, **124**(32): 9476—9488
- [8] Li Y., Sha Y., Ma Y., et al. . Biochem. Biophys Res Commun [J], 1995 **213**(1): 7—14
- [9] Li Y., Zhao Y. F., Hatfield S., et al. . Biorg Med Chem. [J], 2000 **8** 2675—2679
- [10] WAN Rong(万荣), WANG Ning(王宁), ZHAO Gang(赵刚), et al. . Chem. J Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2000 **21**(12): 1864—1866
- [11] CHEN Jing(陈晶), WAN Rong(万荣), LU Hai(刘海), et al. . Chem. J Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2001 **22**(8): 1349—1351
- [12] Li Y., Hatfield S., Li J., et al. . Biorg Med Chem. [J], 2002 **10**(3): 667—673
- [13] Protozanova E., Demidov V. V., Soldatenkov V., et al. . EMBO Reports[J], 2002 **3** 956—961
- [14] Sun M., Chen J, Liu X. H., et al. . Journal of Molecular Structure(Theochem.) [J], 2004 **668**(1): 47—49
- [15] WAN Rong(万荣), WANG Ning(王宁), ZHAO Yu-Fen(赵玉芬). Chem. J Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2001 **22**(4): 598—600
- [16] SUN Ming(孙命). Application of Molecular Modeling to Bioorganic Phosphorus Chemistry [D], Tsinghua University 2004: 26—51
- [17] ZHU Chang-Jin(朱长进), LU Yang(路杨), DU Hai-Lian(杜海莲), et al. . Chem. J Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 2004 **25**(6): 1065—1068
- [18] ZHONG Ru-Gang(钟儒刚), ZHAO Li-Jiao(赵丽娇), ZHAO Yu-Fen(赵玉芬). Acta Chimica Sinica(化学学报) [J], 2004 **62**(24): 2444—2446

Quantum Chemistry Calculation on 5'-pTpTpCp-3' Cleavage by Serine/Histamine Amide

LU Hua-Nai¹, WANG Bing-Feng², SUN Ming³, ZHANG Lei¹

(1 School of Chemical Engineering and Energy Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640 China;

2 College of Science South China Agriculture University, Guangzhou 510642 China;

3 Institute of Biophysics Chinese Academy of Sciences Beijing 100101 China)

Abstract A quantum chemistry calculation was carried out to study the mechanism of 5'-pTpTpCp-3' cleavage by the *L/D*-Ser-His. The effective molecular recognition between *L/D*-Ser-His and DNA through multi-hydrogen-bonds and the corresponding structural parameters were obtained. The results could be used to explain the mechanism of DNA cleavage by *L/D*-Ser-His.

Keywords *L/D*-Ser-His; 5'-pTpTpCp-3' segment; Cleavage mechanism

(Ed: Y, D)