

# 羟基自由基与 DNA 中腺嘌呤碱基间反应的 AM1 研究<sup>1)</sup>

居学海 逯萍

(北京大学环境科学中心, 北京, 100871)

戴乾圜<sup>2)</sup>

(北京工业大学癌化学与生物工程中心, 北京, 100022)

## 摘 要

UV 诱发的羟基自由基, 引起了 DNA 互补碱对间的交联. 本文论证了 UV 引起的互补碱对交联是 UV 诱发基因突变的主要根源. UV 与化学致癌剂不同, 可以引起双氢键 AT 对转化成叁氢键 GC 或 CG 对的点突变, 这与腺嘌呤 A 在 UV 作用下转化成 2-羟基腺嘌呤有关. 本文采用高级半经验 AM1 方法, 对 UV 诱发产生的羟基自由基在腺嘌呤 8-位及 2-位的羟基化反应, 进行了计算探讨. 证明在两个位置上的反应均经两步完成, 反应的活化能较小并且焓变为负值. 反应无论在动力学或热力学上均有利于发生. 8-羟基腺嘌呤或 8-羟基鸟嘌呤的存在, 虽然是羟基自由作用于 DNA 的标志性产物, 但因其不影响小沟槽的氢键键合, 很易被修复而不影响基因变异. 但 DNA 双股中的 2-羟基腺嘌呤碱或其互变异构体, 则引起 AT→GC 或 AT→CG 的双氢键键合向叁氢键键合的突变.

关键词: AM1, 羟基自由基, 腺嘌呤, DNA 修饰, 过渡态, 致突变.

在正常的生化代谢中, 常有 1% 左右的氧误入歧途, 变成化学性质极强烈的活性氧, 即人体内生化反应产生的内源性氧自由基及随后产生的羟基自由基 (图 1 所示).

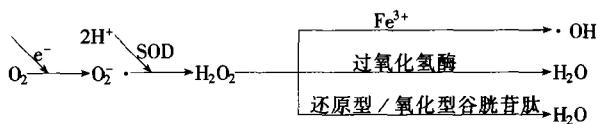


图 1 内源性氧自由基及羟基自由基的形成过程

Fig. 1 Endogenous formation of oxygen free radical

DNA 受内源性氧自由基攻击后的产物至少有 30 多种, 例如: 8-羟基鸟嘌呤、2-羟基和 8-羟基腺嘌呤、胸腺嘧啶乙二醇 (Tg)、胸苷乙二醇 (dTg) 和 5-羟甲基化尿嘧啶等<sup>[1-8]</sup>, 其中受到高度注意的是鸟嘌呤型的损伤, 并被认为是引起 DNA 变异的主要损伤, 并将 8-羟基鸟嘌呤作为 DNA 受到氧化伤害的标志<sup>[9]</sup>. 然而, 对 DNA 小沟槽的 2-羟基腺嘌呤型的损伤却未引起足够的注意. 戴乾圜指出, 在 BaP 代谢产物、甲磺酸酯、2-

1) 国家自然科学基金资助项目 (批准号: 20042001). 2) 通讯联系人, Email: qhdai@bjpu.edu.cn.

乙酰氨基苄及 2-氨基苄的突变谱中<sup>[10]</sup>, 很少看见 AT→GC 或 AT→CG 型的突变, 即很少发生双氢键键合生成叁氢键键合的突变<sup>[11]</sup>. 相反, UV 诱发的大肠杆菌 *lac I* 基因的突变谱则有 9.7% 的 AT→CG 和 1.4% 的 AT→CG 型突变; 由低剂量辐射长期作用结果的所谓自发突变谱则有 9.2% 的 AT→GC 和 11.7% 的 AT→CG 型突变.

紫外线所引起的大肠杆菌 *lac I* 基因突变中的另一个特征是涉及股间 GC 对的突变占 72.1%, 而涉及股间 AT 对的仅占 18%, 而紫外线引起嘧啶二聚体形成时的次序为: TT > TC ≅ CT > CC, 这意味着紫外线除引起嘧啶二聚体的形成外, 还同时引发若干目前尚属未知的化学变化. 因此, 羟基腺嘌呤的生成对于 DNA 的辐射损伤具有重要的作用.

为了从理论上阐明氧自由基的致癌机理, 作者对腺嘌呤与羟基自由基与在 8 位 (图 2) 及 2 位上 (2 位反应模式与图 2 类似, 其中 1—10 原子及羟基编号相同, 所不同的是 11 号氢与 C<sub>2</sub> 相连, 而羟基自由基在两步反应中分别进攻 C<sub>2</sub> 和 H<sub>11</sub>) 的反应机制作了计算, 分析了其反应特征, 并对 DNA 被羟基自由基损伤后的突变过程提出了合理的解释.

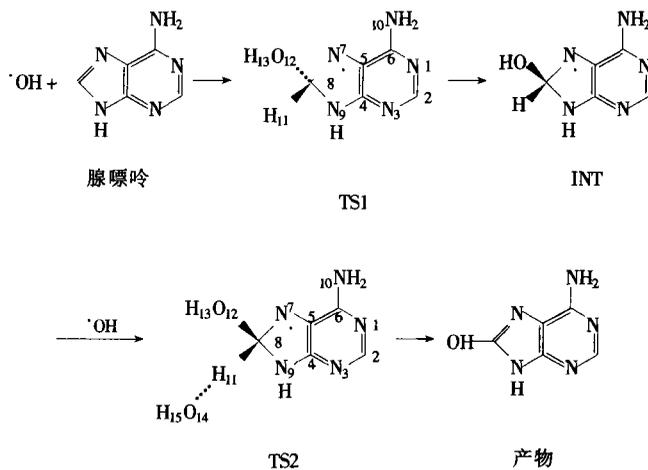


图 2 羟基自由基在腺嘌呤 8 位上的反应模式

Fig. 2 Reaction model of hydroxyl radical with adenine at 8-position

## 1 计算方法

计算采用 MOPAC6.3 程序包中的 AM1 方法, 初始几何构型由 Alchemy 力学优化生成, 反应物、过渡态、中间体和产物的最终几何构型均进行了全优化. 过渡态由力常数矩阵有唯一的负本征值及内禀反应坐标 (IRC) 得到验证.

## 2 计算结果

反应活性原子 C<sub>2</sub> 所在的咪唑环、C<sub>8</sub> 所在的嘧啶环及羟基原子在反应过程中的优化几何构型参数如表 1 所示; 反应物、过渡态 (TS)、中间体和终产物的生成能及前线轨道能量见表 2; 反应过程各驻点的电荷分布见表 3; TS 及 INT 的电子布居数列表 4.

表 1 反应中心邻近原子的优化几何构型  
Table 1 Optimized geometry at the reaction center

参数*	反应物	C <sub>8</sub> 位反应				C <sub>2</sub> 位反应			
		TS1	INT	TS2	产物	TS1	INT	TS2	产物
H <sub>13</sub> —O <sub>12</sub>	0.0949	0.0949	0.0966	0.0968	0.0972	0.0951	0.0966	0.0967	0.0976
O <sub>12</sub> —C <sub>8</sub> **	—	0.2059	0.1416	0.1403	0.1377	0.1944	0.1440	0.1420	0.1377
H <sub>11</sub> —C <sub>8</sub>	0.1096	0.1102	0.1134	0.1231	0.3650	0.1117	0.1140	0.1230	0.3193
H <sub>11</sub> —O <sub>14</sub>	—	—	—	0.1456	0.0962	—	—	0.1501	0.0964
∠H <sub>13</sub> —O <sub>12</sub> —C <sub>8</sub>	—	116.80	110.04	109.66	107.21	117.57	109.99	109.17	108.33
∠H <sub>15</sub> —O <sub>14</sub> —H <sub>11</sub> *	—	—	—	103.91	103.46	—	—	104.05	102.58
∠C <sub>8</sub> —N <sub>7</sub> —C <sub>5</sub> —C <sub>4</sub> ***	0.00	1.09	-0.70	-3.15	-0.01	3.45	4.05	6.53	-0.38

\* 键长单位: nm, 键角及二面角单位: 度; \*\* C<sub>2</sub> 位反应中所有 C<sub>8</sub> 为 C<sub>2</sub>, H<sub>11</sub> 与 C<sub>2</sub> 相连; \*\*\* C<sub>2</sub> 位反应为 ∠C<sub>2</sub>—N<sub>3</sub>—C<sub>4</sub>—C<sub>5</sub>.

表 2 反应物、过渡态、产物的生成能及前线轨道能量  
Table 2 Heats of formation and energies of FMO of the reactants, TS and products

化合物	C <sub>8</sub> 位反应			C <sub>2</sub> 位反应		
	ΔH <sub>f</sub> /kJ·mol <sup>-1</sup>	LUMO/eV	HOMO/eV	ΔH <sub>f</sub> /kJ·mol <sup>-1</sup>	LUMO/eV	HOMO/eV
·OH	2.6681	-0.3558	-12.5658	2.6681	-0.3558	-12.5658
腺嘌呤	363.1615	-0.1118	-8.7688	363.1615	-0.1118	-8.7688
TS1	369.8377	-1.2011	-8.8324	400.4211	-1.3096	-9.0792
INT	198.7906	-1.0318	-8.5773	285.6179	-1.2245	-9.0368
TS2	229.5391	-1.1270	-8.6313	293.7846	-1.2621	-9.1941
产物	-70.6023	-0.1489	-8.6730	-62.9192	-0.1743	-8.8021

表 3 各主要原子的电荷分布  
Table 3 Atomic charges at reaction center

原子编号	反应物	C <sub>8</sub> 位反应				C <sub>2</sub> 位反应			
		TS1	INT	TS2	产物	TS1	INT	TS2	产物
O <sub>12</sub>	-0.187	-0.307	-0.311	-0.292	-0.254	-0.304	-0.313	-0.287	-0.239
H <sub>13</sub>	0.187	0.187	0.214	0.229	0.261	0.182	0.222	0.216	0.263
C <sub>8</sub> or C <sub>2</sub> *	-0.057	-0.025	0.129	-0.003	0.120	0.029	0.141	0.130	0.209
N <sub>7</sub> or N <sub>1</sub> *	-0.115	-0.101	-0.149	-0.216	-0.171	-0.238	-0.312	-0.260	-0.332
N <sub>9</sub> or N <sub>3</sub> *	-0.227	-0.218	-0.287	-0.177	-0.213	-0.118	-0.141	-0.165	-0.218
H <sub>11</sub>	0.202	0.222	0.214	0.196	0.204	0.205	0.131	0.198	0.203
H <sub>15</sub>	—	—	—	0.198	0.203	—	—	0.200	0.200
O <sub>14</sub>	—	—	—	-0.321	-0.402	—	—	-0.292	-0.400

\* C<sub>2</sub> 位反应.

表 4 TS, INT 中各主要原子的电子自旋布居数\*

Table 4 Electronic spin populations at TS and INT

原子编号	反应物	C <sub>8</sub> 位反应			C <sub>2</sub> 位反应		
		TS1	INT	TS2	TS1	INT	TS2
O <sub>12</sub>	1.00	0.842	0.031	-0.024	0.755	0.051	0.031
C <sub>8</sub> or C <sub>2</sub> * *	0.00	-0.403	-0.046	0.300	-0.431	-0.068	-0.295
N <sub>7</sub> or N <sub>1</sub> * *	0.00	0.317	0.655	-0.626	0.366	0.328	0.404
N <sub>9</sub> or N <sub>3</sub> * *	0.00	0.012	0.061	-0.049	0.489	0.571	0.565
O <sub>14</sub>	—	—	—	0.794	—	—	-0.832

\* 仅列出贡献较大的原子; \* \* C<sub>2</sub> 位反应.

### 3 几何构型

在羟基自由基与腺嘌呤的第一步反应中, 当羟基氧原子与 C<sub>8</sub> 或 C<sub>2</sub> 的距离达 0.2059nm 或 0.1944nm 时, 分别生成相应的 TS1, 此时化学键只是部分形成, 对应的键级分别为 0.208 和 0.326, C<sub>2</sub> 位过渡态成键程度比 C<sub>8</sub> 位过渡态的成键程度大, ∠H<sub>13</sub>—O<sub>12</sub>—C<sub>8</sub> 或 ∠H<sub>13</sub>—O<sub>12</sub>—C<sub>2</sub> 均与氧原子形成两个 σ 键时的标准键角 104.5° 有较大的差距, 这也是上述键级小的原因之一. 随着氧原子进一步靠近碳原子形成 INT, O<sub>12</sub> 与 C<sub>8</sub> (C<sub>2</sub>) 结合形成稳定的化学键, 键级为 1.00 (0.97).

第二步反应脱去氢原子, 当羟基自由基与氢接近至 0.1456 和 0.1501nm 时, 分别生成 C<sub>8</sub> 位反应和 C<sub>2</sub> 位反应的 TS2, 化学键只是部分形成, 相应键级分别为 0.224 和 0.197, 与 TS1 相反, 此时 C<sub>8</sub> 位反应过渡态成键程度较大. 当 O<sub>14</sub> 与 H<sub>11</sub> 的距离达 0.096nm 时, H<sub>11</sub> 与嘌呤环已完全无键合作用. 从二面角数据可知, 由于氧原子与嘌呤的部分成键作用, C<sub>8</sub> 或 C<sub>2</sub> 已稍微离开原有的共轭平面, C<sub>2</sub>—O<sub>12</sub> 键级较大, 导致 C<sub>2</sub> 与嘌呤环的距离大于 C<sub>8</sub> 与嘌呤环的距离; 在第二步反应中二面角重现此规律, 至形成产物时, 二面角减小到最小, 恢复平面共轭构型.

### 4 能量变化

由表 2 可知, C<sub>8</sub> 位反应的活化能为  $\Delta E_{TS1} = 4.008 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $\Delta E_{TS2} = 28.0804 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ; C<sub>2</sub> 位反应的活化能为  $\Delta E_{TS1} = 34.5915 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $\Delta E_{TS2} = 5.4986 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ . C<sub>8</sub> 位反应的动力学控制步骤为 TS2 的生成, 而 C<sub>2</sub> 位反应的动力学控制步骤为 TS1 的形成. 相对而言, C<sub>8</sub> 位反应更易进行. 即使是 C<sub>2</sub> 位反应其活化能值也小于  $40 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 在常温下亦易进行. 从热力学特征看 C<sub>8</sub> 位反应比 C<sub>2</sub> 位更为有利, 其产物的生成热比 C<sub>2</sub> 位产物小  $7.6831 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ . 从前线轨道能量可知, C<sub>8</sub> 位或 C<sub>2</sub> 位反应均以  $E_{LUMO, OH} - E_{HOMO, Adenine}$  相关能较小, 即反应过程中氧原子的 LUMO 接受腺嘌呤提供的电子, 与氧原子的电负性大于氮或碳原子这一特性相符合.

### 5 自由基电子转移及电荷转移过程

由表 4 可知, 在由反应物到 INT 的进程中, 由于氧原子的得电子倾向及其与碳原子

之间成键程度的加大,  $O_{12}$  上的负电荷不断增大; 但由 INT 至产物的过程中,  $O_{12}$  的负电荷反而随键级的继续增加而减少, 这是由于形成共轭  $\pi$  键后负电荷被分散. 与此相反, TS2 到产物的过程中,  $O_{14}$  与 H 形成  $\sigma$  键, 其负电荷不断增加. 从表 4 还可以看出, 由于氧原子从碳原子中得到电子, 氧所在自由基电子部分成键, 自旋度下降. 在  $C_8$  位反应中, 自由基电子由羟基自由基向  $N_7$  部分转移, 至形成 INT 时大部分自由基电子驻留在  $N_7$ , 然后在形成 TS2 时第二个羟基提供的自由基电子部分向  $C_8$  转移, 最后  $N_7$  与  $C_8$  位自由基电子重新形成  $\pi$  键, 恢复嘌呤环的共轭结构. 在  $C_2$  位反应的 TS1, INT 及 TS2 三种分子形态中, 自由基电子主要在  $N_1$  和  $N_3$  原子上, 当  $H_{11}$  离开  $C_2$  时, 这些自由基电子恢复嘌呤环共轭  $\pi$  键.

## 6 讨论

UV 照射引起 DNA 股内嘧啶二聚体的广泛生成, 其中以 TT 环丁烷型二聚体为主, 而  $TT \gg TC \cong CT > CC$ . 已知二聚体易于解聚或依靠互补股的模板修复. 从 UV 辐射在大肠杆菌 *lac I* 基因中诱发的突变谱<sup>[12]</sup>:

类 型	GC→AT	AT→GC	GC→TA	GC→CG	AT→TA	AT→CG	+1 移码*	-1 移码*	缺失
%	56.9	9.7	8.3	6.9	6.9	1.4	0	4.2	5.6

\* 移码 = 移码变异.

可以看出, 大肠杆菌 *lac I* 基因中的突变约 72% 以上只与 GC 对的变异有关, 因此, 一般认为易于迅速修复的 TT 二聚体与 UV 诱发的基因变异关系不大. UV 照射还引起 DNA 股间交联<sup>[13]</sup>, 这种交联的修复远较二聚体的修复为慢, 可能是一种互补碱对之间的交联. 戴乾圜根据 AM1 计算假定: UV 激发产生的羟基自由基, 可以引起氢键键合的

$$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \cdots \text{H}-\text{N} \\ \diagdown \end{array}$$

经自由基反应而共价键合, 产生  $-\text{O}-\text{N}-$  键而发生互补碱对的交联<sup>[11]</sup>. 是否的确存在这种交联, 我们正在用 HPLC/APCI-MS 或 ESI-MS (岛津 QP 800) 鉴定之中.

双区理论应用于致突变谱阐释的一个结果是: 互补碱对交联与单股变异不同, 可以稳定地引起基因变异, 并且合理地解释各种致癌剂引起的突变谱<sup>[11]</sup>. 同样, 上述假定的  $\text{O}-\text{N}$  或  $\text{N}-\text{O}$  型交联, 也可以合理地阐释涉及 GC 对的点突变和 -1 移码变异. 若从 G 的一方观察, 则可能产生如图 3 的  $\text{O}-\text{N}$  型或  $\text{N}-\text{O}$  型两种交联.  $\text{O}-\text{N}$  型交联引起的 GC 生成  $G^*C^*$  的交联中,  $G^*$  中 1 位  $\text{N}-\text{H}$  的酸性氢和 2 位  $=\text{HN}^2:$  上的孤对电子, 是腺嘌呤 A 的等氢键匹配体系, 当变异的  $C^*$  被从互补股上切除 (仍然交联的  $\text{O}-\text{N}$  型残基, 不会影响进一步的氢键匹配), 将以胸腺嘧啶 T 匹配而使互补股的碱基修复, 然后切除  $G^*$  并以腺嘌呤 A 修复, 于是实现  $\text{GC} \rightarrow \text{AT}$  的突变.

另一方面, 在  $C^*$  中的  $\text{N}^4\text{H}$  上的氢原子经互变异构而转移到  $\text{O}^2$  之上, 并形成 2-位的

OH, 于是 3N 上的孤对电子与 2-OH 上的酸性氢, 是 T 的等氢键匹配体系, 经如上的类似过程, 在互补股上以腺嘌呤 A 修复. 上述两种过程完成高达 56.9% 的 GC→AT 的突变. 图 3 中 GC 对的 N—O 型交联使 GC 生成 G\* C\* 的交联, 分别出现相当于 T 和 A 的等氢键匹配体系, 实现相当于 8.3% 的 GC→TA 的转变. 而在图 3GC 对的 N—O 交联模型中, 若嘧啶碱被首先切除, 1 位 N 上的氢原子转移到 O<sup>6</sup> 上, 则 6 位 OH 的酸性氢与 1 位 N 上的孤对电子和 N<sup>2</sup> 上的孤对电子是胞嘧啶 C 的等氢键匹配体系, 将指导互补股中鸟嘌呤 G 的修复, 于是实现相当于 6.9% 的 GC→CG 的转变. 此外, AT 碱对也可实现 N—O 型交联而生成 A\* T\* 对, 不过这时股间的氢键匹配系均同时丧失, 于是将被同时切除并同时依靠连接酶修复连接, 从而发生相当于 4.2% 的 -1 移码变异. 关于 UV 交联模型的 AM1 计算, 将与实验一起另文讨论.

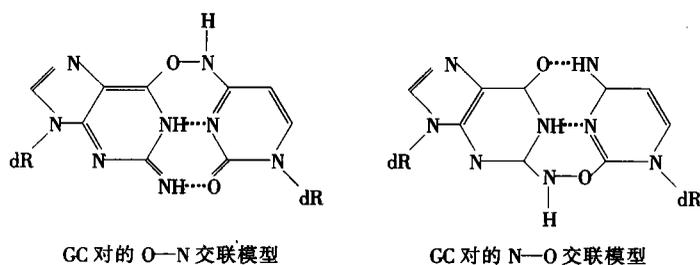


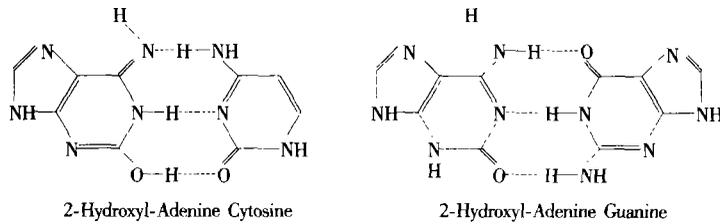
图 3 UV 羟基自由基引起 GC 对间的两种可能交联模型<sup>[11]</sup>

Fig. 3 Possible cross-linked models between GC pair bases induced by UV or hydroxyl radical

本文的计算结果表明, 羟基自由基与腺嘌呤经两步反应生成 8-羟基或 2-羟基腺嘌呤, 虽然相对而言生成 8-羟基腺嘌呤更加有利, 但两种反应无论在热力学还是在动力学上均易在常温下进行. 因此, 可以推测, 羟基自由基一旦透过细胞膜、线粒体及与 DNA 结合的组蛋白等生物屏障, 极易与 DNA 反应, 这与 8-羟基腺嘌呤形成的实验事实相符合<sup>[3,12]</sup>.

AM1 的计算结果表明, 腺嘌呤 2 位羟基化也是易于实现的<sup>[11]</sup>, 因此, 在紫外线的作下将产生 2-羟基腺嘌呤. 如图 4 所示, 其能量动力学上较为有利的互变异构体中, 亚胺基氮 N<sup>6</sup> 的孤电子对、1 位 N 的酸性氢和 2 位羟基的酸性氢将构成 G 的等氢键匹配体系, 在 DNA 的复制过程中腺嘌呤可与胞嘧啶配对, 造成 DNA 编码错误, 使 A—T 配对变为 A\*≡C 配对, 从而实现 AT→GC 的相当于 9.7% 的突变.

2-羟基腺嘌呤的另一种互变异构体将具有的酸性氢、N<sub>1</sub> 孤电子对和 2-羟基的氢转移到 N<sub>3</sub> 上生成羰基中的 O<sup>2</sup> 孤电子对, 将构成 C 的等氢键匹配体系, 使 A—T 配对变为 A\*≡G 配对, 于是实现相当于只有 1.4% 的 AT→CG 突变. 此外, 若 A 的 2 位羟基化以后, 其 A 中的 N<sup>6</sup> 与 T 中的 O<sup>4</sup> 发生 N—O 型交联, 于是 A\* 将成为 T 的等氢键匹配系, 从而发生相当于 6.9% 的 AT→TA 的突变. 如上, 羟基自由基互补碱对间交联以及腺嘌呤的 2 位羟基化.

图 4  $A^* \equiv C$  及  $A^* \equiv G$  错误编码示意图Fig. 4  $A^* \equiv C$  and  $A^* \equiv G$  coding errors

## 参 考 文 献

- [1] Ames B N, Shigenaga M K, DNA Damage by Endogenous Oxidants and Mitogenesis as Causes of Aging and Cancer. *Curr. Commun Cell Mol. Biol.*, 1992, 5:1—22
- [2] Wang Y J, Ho Y S, Lo M J et al., Oxidative Modification of DNA Bases in Rat Liver and Lung during Chemical Carcinogenesis and Aging. *Chemico-Biological Interact.*, 1995, 94 (2) :135—145
- [3] Vieira A J S C, Candeias L P, Steenken S J, Hydroxyl Radical Induced Damage to the Purine Bases of DNA: *in vitro* Studies. *Chim. Phys. Phys-Chim. Biol.*, 1993, 90 (4) :881—897
- [4] Milligan J R, Aguilera J A, Wu C C et al., Effect of Hydroxyl Radical Scavenging Capacity on Clustering of DNA Damage. *Radiat Res.*, 1997, 148 (4) :325—329
- [5] Barciszewski J, Siboska G E, Pederson B O, Furfural, a Precursor of the Cytokinin Hormone Kinetin, and Base Propenals are Formed by Hydroxyl Radical Damage of DNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1997, 238 (2) :317—319
- [6] Ohshima H, Lida Y, Matsuda A, Damage Induced by Hydroxyl Radicals Generated in the Hydration Layer of  $\gamma$ -Irradiated Frozen Aqueous Solution of DNA. *J. Radiat Res.*, 1996, 37 (3) :199—207
- [7] Balasubramanian B, Pogozelski W K, Tullius T D, DNA Strand Breaking by the Hydroxyl Radical is Generated by the Accessible Surface Areas of the Hydrogen atoms of the DNA Backbone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95 (17) :9738—9743
- [8] Cadet J, Delatour T, Douki T, Hydroxyl Radicals and DNA Base Damage. *Mutat. Res.*, 1999, 424 (1, 2) :9—21
- [9] Kasai H, Analysis of a Form of Oxidative DNA Damage, 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a Marker of Cellular Oxidative Stress during Carcinogenesis. *Mutat. Res.*, 1998, 387 (3) :147—163
- [10] Gilckman B W, Kotturi G, de Boer J et al., Molecular Mechanisms of Mutagenesis and Mutational Spectra, in *Environmental Mutagenes*. Bios. Scientific Pub., Oxford, 1995, pp33—59
- [11] 戴乾圆, 双区理论, 致癌机理和致癌剂的非经验定量结构生理效应关系. 北京: 科学出版社, 2000, 第一版, pp225—226, pp304—305 和 § 6.5.2
- [12] Hankiewicz E, Hydroxyl Radical-Induced Reactions in Polyadenylic Acid as Studied by Pulse Radiolysis. *Bull. Pol. Acad. Sci.*, 1998, 46 (4) :441—450
- [13] Kovanda J, Keznovsky E, Arnold L et al., UV Light-Induced Crosslinking of Short DNA Duplex Strands. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 1996, 14 (1) :57—65

2001年3月12日收到.

## AM1 STUDIES ON REACTION BETWEEN HYDROXYL RADICAL AND ADENINE IN DNA

*Ju Xuehai*<sup>1)</sup>    *Lu Ping*<sup>1)</sup>    *Dai Qianhuan*<sup>1,2)</sup>

( 1 ) Center of Environmental Sciences, Peking University, Beijing, 100871)

( 2 ) Center for Chemistry and Bioengineering of Cancer, Beijing Polytechnic University, Beijing, 100022)

### ABSTRACT

The cross-linking between DNA complementary pair bases is induced by hydroxyl radical produced through the excitation of UV radiation. It is demonstrated in this paper that the essential cause of the gene mutation, is induced by the cross-linking between DNA complementary pair bases. It is different from the mutation induced by carcinogens that the UV radiation can initiate the point mutation of a double hydrogen-bond bonded AT pair to a triple hydrogen-bond bonded GC or CG pair. Which would be closely related to the formation of 2-hydroxyl adenine from adenine under the irradiation with UV rays. A calculation with an advanced semi-empirical molecular orbital theory, AM1, has been undertaken for the free radical hydroxylation on 2- and 8-positions of adenine. It was concluded through this AM1 calculation that both the hydroxylation reactions would proceed through two steps, both reactions with negative enthalpies need only to leap over the small activation energy obstacles. Therefore, both hydroxylation reactions can realize smoothly regardless the consideration from thermodynamic or kinetic aspect. Although the existence of 8-hydroxyl-adenine or 8-hydroxylguanine is a mark of the free radical hydroxylation damage, both hydroxylated bases don't induce the genetic mutation in DNA because of the easily repairing for their injuries not on the hydrogen-bonded small groove. However, the 2-hydroxyl-adenine and its tautomerized isomer in DNA double helix, induce the point mutations of a double hydrogen-bond bonded pair to a triple hydrogen-bond bonded pair, i.e. the transformation of AT $\rightarrow$ GC or AT $\rightarrow$ CG.

**Keywords:** AM1, hydroxyl radical, adenine, transition state, DNA modification, mutation.