

基于密度泛函理论方法的核酸碱基拉曼光谱研究*

吴雷^{1, 2)} 李菲²⁾ 金周雨¹⁾ 李雨婷¹⁾ 胡薇^{1)**}

(¹⁾ 吉林农业大学生命科学学院, 长春 130118; (²⁾ 吉林大学超分子结构与材料国家重点实验室, 长春 130012)

摘要 核酸碱基是核酸的重要组成部分, 而拉曼光谱是研究分子结构的一种重要技术, 利用拉曼光谱对核酸碱基分子进行研究对于研究核酸大分子的结构变化, 以及核酸分子与小分子之间的作用具有重要的意义. 本研究以表征核酸碱基的拉曼光谱为目的, 利用密度泛函理论(density functional theory, DFT)的方法优化腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶的分子结构, 对这 5 种核酸碱基的分子内化学键振动进行了量化计算并获得了理论拉曼光谱结果. 利用计算结果对实验获得的碱基的固体拉曼光谱进行了表征, 并且结合前人的研究结果对每种碱基的一些重要特征拉曼谱峰进行了细致的阐释, 为进一步利用拉曼光谱研究核酸分子的结构信息奠定了理论基础.

关键词 核酸碱基, 拉曼光谱, 密度泛函理论, 表征

学科分类号 Q52, Q63

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0341

核酸是重要的生物大分子之一, 在生命活动中起着至关重要的作用, 作为遗传信息的载体, 参与遗传信息在细胞内的传递和表达, 从而促进并控制代谢过程的进行. 核酸碱基是核酸分子的重要组成部分, 它的一些化学反应, 例如卤代、脱氮、氧加成、烷基化和氰基化等反应是核酸储存信息和传递信息的基础, 也是生物体遗传、进化和变异的根本原因, 所以研究核酸碱基分子的一些性质对于研究生物体的行为以及生物活性等具有重要的意义^[1-6].

拉曼光谱是一种指纹光谱, 一直是鉴别物质和分析物质结构的重要方法, 具有快速、无损伤的检测特点, 已应用于在线检测的研究中^[7-9]. 拉曼光谱技术的发展, 克服了红外光谱中水分子强吸收的干扰及空间分辨率低的问题, 成为生命科学及医学研究领域强有力的研究手段而被广泛使用^[9-10]. 目前很多科研人员选择拉曼光谱作为主要技术手段研究核酸碱基以及核酸碱基的同系物, 为进一步研究核酸分子的结构变化以及分析核酸分子在生物体行使活性行为过程中所起的作用提供了大量的实验数据和直接证据^[1-4, 7]. 密度泛函理论(density functional theory, DFT)是利用电子密度泛函取代波函数来研

究、描述化学体系的性质、结构以及能量等的一种计算化学方法, 由于密度泛函理论计算结果精确、计算方法简便, 常常被用来从理论上计算和预测已知构象的分子振动光谱, 能够获得分子的几何结构、化学键性质、振动能级等方面的信息.

在本研究中, 我们对腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶和尿嘧啶等(5 种核酸碱基的结构式如图 1)进行了拉曼光谱的研究, 并且利用密度泛函理论的方法优化腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶的分子结构, 然后对这 5 种核酸碱基的分子内化学键振动进行了量化计算, 利用获得的结果对 5 种碱基的拉曼谱峰进行了指征, 为以后进一步利用拉曼光谱研究核酸分子的结构信息奠定了理论基础.

* 吉林农业大学科研启动基金(201307)和国家自然科学基金(31572372)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 0431-84532886, E-mail: m18143099871@163.com

收稿日期: 2015-10-27, 接受日期: 2016-01-20

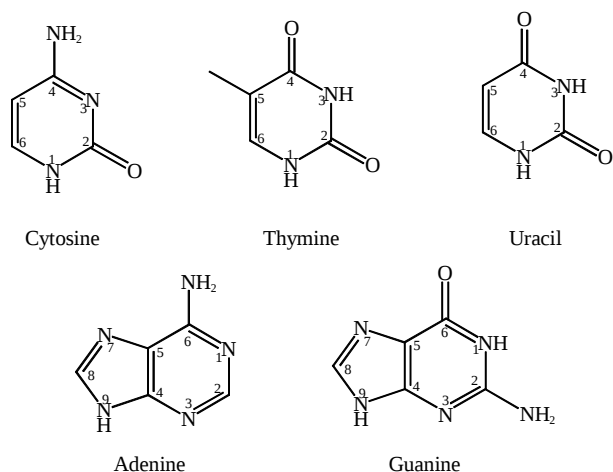


Fig. 1 Structure of nucleic acid bases
(adenine, guanine, cytosine, thymine, uracil)

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

1.1.1 材料

试验中使用的腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶均购于 Sigma 公司。

1.1.2 仪器

拉曼光谱仪为 RenishawinVia Raman microscope 型拉曼光谱仪，购于英国 Renishawin 公司。

1.2 拉曼光谱测量

将腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶和尿嘧啶的固体粉末置于载玻片上，然后盖上盖玻片将样品压平，并将其置于拉曼显微镜下，调整焦距将聚焦点调制样品处。使用 Renishaw 显微拉曼光谱仪对样品进行检测。激发光波长为 488nm，样品的照射功率为 3 mW。检测曝光时间为 10 s，累积次数为 100 次。

1.3 DFT 理论计算

利用 Gaussian 03 软件使用密度泛函的方法对 5 种核酸碱基进行了分子结构优化，然后对于分子内化学键振动频率进行量化计算，计算在 B3LYP 算法下展开以 6-311++(d, p) 为参数对 C, N, H 原子进行研究^[11-13]。

2 结果与讨论

2.1 腺嘌呤

利用 Gaussian 03 软件用 DFT 方法对腺嘌呤进行了分子结构优化，优化后结果如图 2 所示，利用量化计算模拟腺嘌呤的拉曼光谱结果，将模拟获得的理论拉曼光谱与固体腺嘌呤样品获得的实验拉曼

光谱进行比较，如图 3 所示，两者光谱能够很好地吻合，利用理论拉曼光谱中每一个拉曼信号对应的分子化学键振动情况对腺嘌呤分子拉曼信号进行归属，具体表征结果如表 1 所示。表征过程中，密度泛函 B3LYP/6—311++G 法优化后计算的腺嘌呤分子理论振动频率以校正因子 0.994 进行校正。为了验证使用密度泛函 B3LYP/6—311++G 法进行量化计算的准确性，将密度泛函 B3LYP/6—311++G 法获得的理论计算结果与以往其他研究时所使用的密度泛函 B3LYP/6-31G 法、密度泛函 B3LYP/6-311G 法和密度泛函 B3LYP/6-31++G 法获得的结果进行了比较^[11-13]，利用各种计算方法的偏差(=理论振动频率 / 实验振动频率 - 1)大小判断理论计算的准确性，这几种方法的偏差如图 4 所示，结果表明利用密度泛函 B3LYP/6—311++G 法计算获得的腺嘌呤的理论振动频率与实验结果最为吻合，偏差 < 2%，明显小于其他几种算法获得的结果，说明利用密度泛函 B3LYP/6—311++G 法可以准确地计算腺嘌呤的拉曼振动情况，这种方法的计算结果相对其他方法更为准确，因此在本研究中利用这种方法，我们对鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶的拉曼光谱也进行了理论计算，并且利用计算结果对其拉曼谱峰进行归属表征。

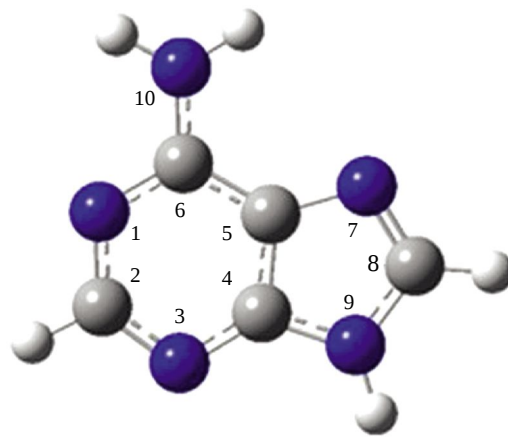


Fig. 2 The optimized molecular structure of adenine

在腺嘌呤的所有拉曼谱峰中，最重要的 2 个谱峰是在 723 cm^{-1} 和 1 333 cm^{-1} 两处。其中一个位于 723 cm^{-1} 的谱峰指征腺嘌呤分子整个分子的呼吸振动，这个峰随着腺嘌呤分子与其他分子或者离子发生作用都会发生相应改变，而且作用位点不同振动的频率发生的改变也不同，例如当腺嘌呤分子与银离子发生作用，作用位点在 N7 位点和 NH_2 位点

时, 分子呼吸振动峰在 718 cm^{-1} , 而当作用位点在 N3 和 N9 位点时, 分子呼吸振动峰在 739 cm^{-1} , 这个振动谱峰的变化可以为分析腺嘌呤与其他分子或者离子相互作用的位点提供很多有用的信息^[14-15]. 另外一个位于 $1\ 333\text{ cm}^{-1}$ 处的拉曼谱峰指征腺嘌呤分子内部大多数 C—N 键的平面内伸缩振动和

C—H 键及 N—H 键的平面内摆动振动, 它是腺嘌呤所有震动中强度最大的振动谱峰, 对于腺嘌呤的检测及对于腺嘌呤分子的定性分析都具有重要意义, 例如 Maurel 等^[16]就是利用这个拉曼谱峰来检测矿石中所含有的腺嘌呤.

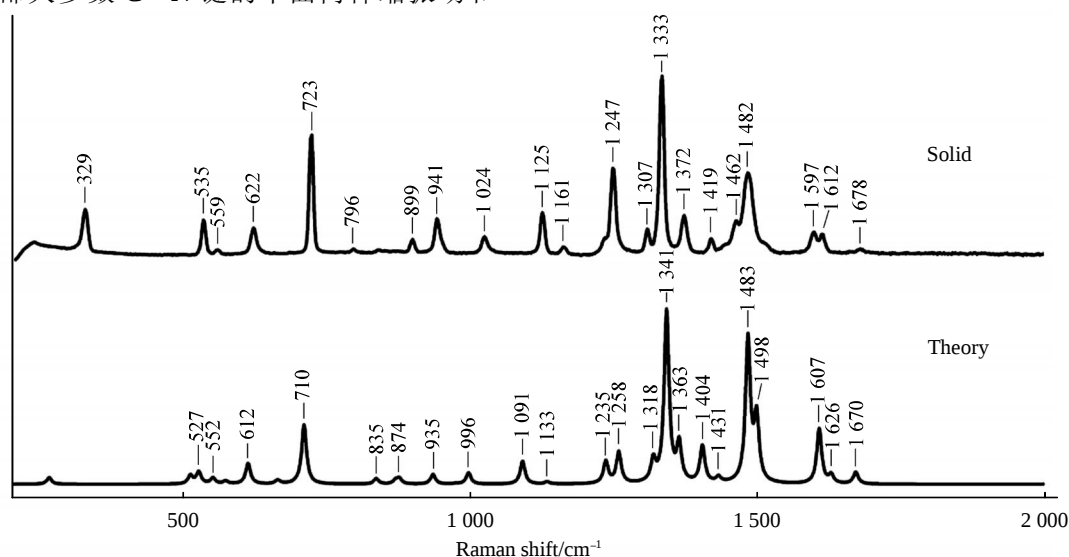


Fig. 3 Raman spectra of adenine

Table 1 Adenine Raman spectroscopy experimental results and theoretical calculations control and its Raman spectrum characterization(Atomic number as shown in Figure 1)^[11-13]

Wavenumber							
Mode	This study		Santamaria	Nowak	Giese	Plane	Assignment
	Experiment	B3LYP/	B3LYP/	B3LYP/	B3LYP/		
	(Solid)	6-311++G(d,p)	6-311G(d,p)	6-31G(d,p)	6-31++G(d,p)		
1	1 678	1 670	1 634	1 641	1 665	in	sciss NH ₂ str C6-N10 C5-C6
2	1 612	1 626	1 552	1 617	1 643	in	strN3-C4C4-C5 C5-C6 N1-C6 N7-C8 bend N9-H C8-H C2-H
3	1 597	1 607	1 583	1 584	1 613	in	sciss NH ₂
4	1 482	1 483	1 450	1 502	1 524	in	str N7-C8 N1-C6 bendC8-H C2-H
5	1 462	1 498	1 421	1 487	1 510	in	str C2-N3 N1-C6 C6-N10 N7-C8 bendC2-H
6	1 419	1 431	1 387	1 416	1 441	in	str N7-C8 C4-N9 C5-C6 C6-N10 bend C2-H C8-H sciss NH ₂
7	1 372	1 404	1 355	1 400	1 423	in	str C8-N9 C4-N9 N7-C8 C6-N1 bend C2-H N9-H
8	1 333	1 363	1 328	1 350	1 372	in	strC6-N1 C8-N9 N3-C4 bend C2-H C8-H N9-H
9	1 333	1 341	1 292	1 342	1 365	in	str C5-N7 N1-C2 C6-N10 bend C8-H
10	1 307	1 318	1 260	1 317	1 341	in	str C2-N3 N1-C2 C5-C6 C5-N7
11	1 247	1 258	1 213	1 250	1 272	in	str N7-C8 N1-C2 C2-N3 bend C8-H N9-H
12	1 235	1 235	1 202	1 228	1 246	in	str C5-N7 C6-N1 rock NH ₂ bend C8-H
13	1 161	1 133	1 103	1 129	1 148	in	str C4-N9 N3-C4 C6-N10 C2-N3 bend C8-H N10-H
14	1 125	1 091	1 053	1 065	1 085	in	str C8-N9 bend N9-H C8-H
15	1 024	996		1 000	1 012	in	str C6-N1 rock NH ₂
16	941	935	914	925	942	in	def R5(sqz group N7-C8-N9)
17	899	874	853	882	899	in	def R6(sqz group N1-C2-N3) str C5-N7 C6-N10 C4-N9
18	840	835	782	831	849	out	wag C8-H
19	796	808	807	797	805	out	def R5 R6 wag C8-H
20	723	710	693	713	726	in	ring breath whole molecular
21	622	612	600	607	618	in	def R6(sqz group C4-C5-C6)
22	559	552	640	568	576	out	def R6(sqz group C5-C6-N1-C2) bendC2-H C8-H N9-H
23	535	527	514	521	530	in	def R6(sqz group N1-C6-C5)

bend: bending; breath: breathing; def: deformation; rock: rocking; sciss: scissoring; str: stretching; wag: wagging; R5: five-membered ring; R6: six-membered ring.

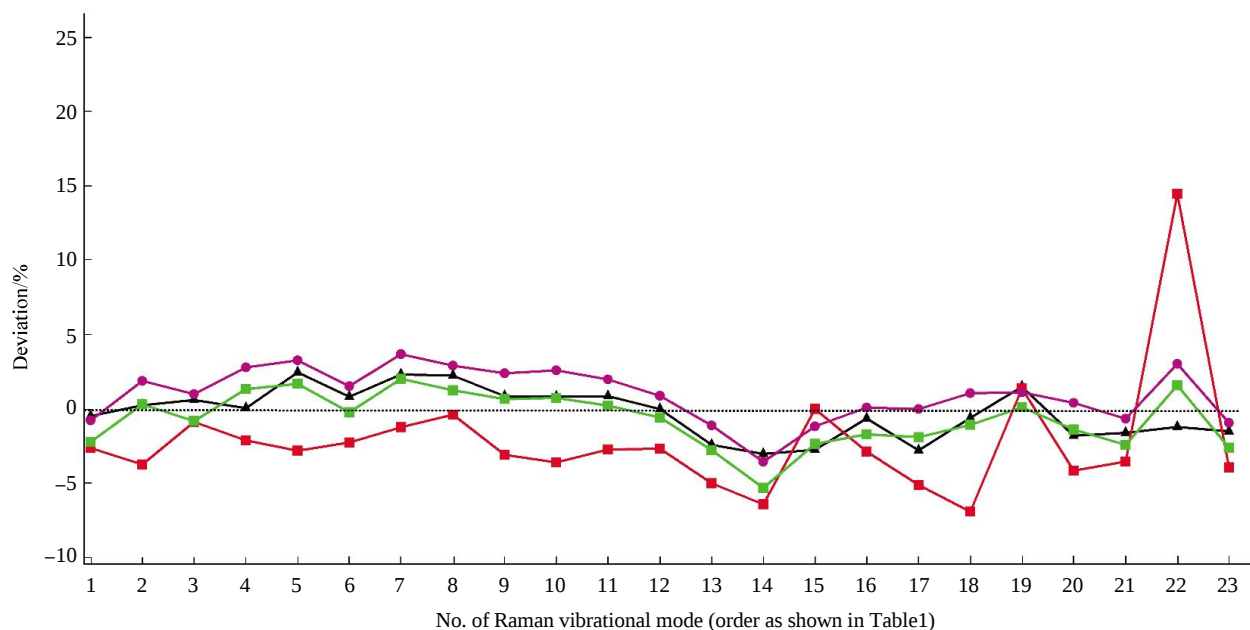


Fig. 4 The frequency deviation between the theory obtained by different calculation parameters and the actual of Adenine

▲—▲: B3LYP/6-311++G(d, p); ■—■: B3LYP/6-311 G(d, p); ■—■: B3LYP/6-31 G(d, p); ●—●: B3LYP/6-31++ G(d, p).

2.2 鸟嘌呤

根据鸟嘌呤拉曼实验结果和理论结果(图 5), 对胞嘧啶拉曼光谱表征如表 2 所示.

在 1971 年, 由于 G-C 配对对于核酸的稳定型具有重要的意义, Sebenne 等^[17]在对胞嘧啶的拉曼光谱研究的同时, 也已经展开了对鸟嘌呤的拉曼光谱的研究. Giese 等^[11, 18]在研究腺嘌呤的同时, 对于鸟嘌呤的拉曼光谱用 DFT 方法利用 B3LYP/6-31++G(d, p)的参数设置对于鸟嘌呤与金属 Pt 离

子之间的相互作用进行了研究, 结果发现 Pt 离子作用在鸟嘌呤的 N7 位点, 并且鸟嘌呤的 N9 位点发生了去质子化. 在鸟嘌呤的所有拉曼光谱信号中, 强度较大的拉曼光谱谱峰是在 648、1 232 和 1 551 cm^{-1} 等处的拉曼峰, 其中 648 cm^{-1} 处的拉曼谱峰指征鸟嘌呤分子的六元环呼吸振动; 1551 cm^{-1} 处的拉曼谱峰指征 C—C 键、C—N 键的平面内伸缩振动以及 N—H 键的平面内摇摆振动. 在研究鸟嘌呤的过程中, 这些谱峰可以作为特征峰来对鸟嘌呤

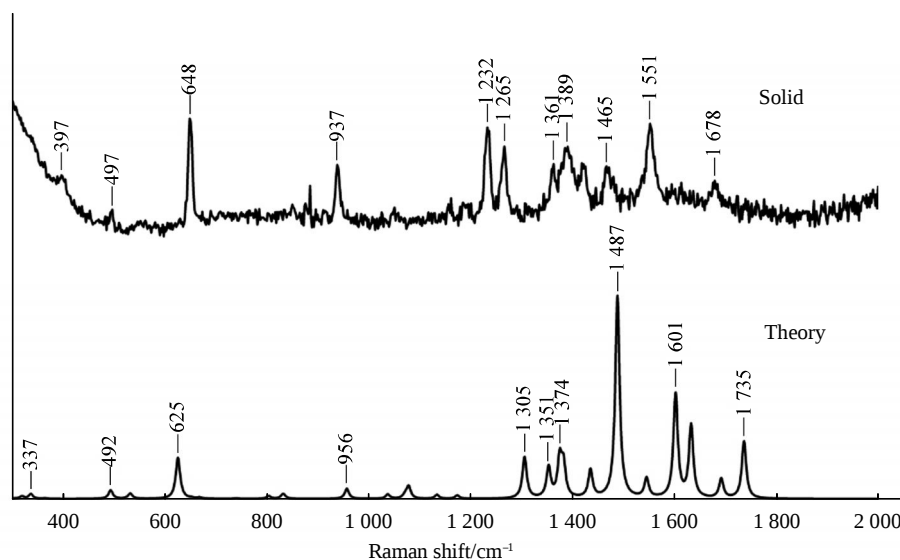


Fig. 5 Raman spectra of guanine

Table 2 Guanine Raman spectroscopy experimental results and theoretical calculations control and its Raman spectrum characterization (Atomic number as shown in Figure 1)

Mode	Wavenumber		Plane	Assignment
	Solid	Theory		
1	1 678	1 735	in	sciss NH ₂ strC5-C6 C6=O bendN1-H
2	1 551	1 601	in	str N3-C4 C4-N9 C4-C5 bendN9-H
3	1 465	1 487	in	strN7-C8 N1-C2 N3-C4 C2-N3 bendC8-H
4	1 389	1 374	in	strC2-NH ₂ C8-N9 bendN1-H N9-H
5	1 361	1 351	in	strC2-N3 C5-C6 C5-N7 bendN1-H
6	1 265	1 305	in	strN3-C4C5-N7 bendC8-H
7	937	956	in	def R5
8	648	625	in	R6 breathing
9	497	492	in	def R6

bend: bending; breath: breathing; def: deformation; rock: rocking; sciss: scissoring; str: stretching; wag: wagging; R5: five-membered ring; R6: six-membered ring.

呤碱基进行定性分析. 同时由于鸟嘌呤可以形成四联体结构, 4 个鸟嘌呤之间可以形成 Hoogsteen 氢键, 所以在 648、1 265 和 1 361 cm^{-1} 等处与 N1 和 N7 位点相关的拉曼谱峰也可以为研究 G-quadruplex 结构提供有用的信息.

2.3 胞嘧啶

根据胞嘧啶拉曼实验结果和理论结果(图 6), 胞嘧啶拉曼光谱表征如表 3 所示. 由于 G-C 配对对于核酸的稳定型具有重要的意义, 早在 1971 年, Sebenne 等^[17]对胞嘧啶的拉曼光谱就进行了研究, 所以胞嘧啶的拉曼光谱也越来越多地被研究人员使用. 在胞嘧啶的所有信号中比较强的拉曼谱峰位于 792 和 1 276 cm^{-1} 处, 其中 792 cm^{-1} 处的拉曼谱峰指征胞嘧啶分子的平面内分子呼吸振动, 而 1 276 cm^{-1} 处的拉曼谱峰则指征胞嘧啶分子内部的

C—N 键伸缩振动^[8]. 在关于胞嘧啶的拉曼光谱研究中, 这 2 个谱峰作为特征峰常常被人们讨论和研究, 例如 Billinghamurst 等^[19-20]在对胞嘧啶溶液 pH 依赖的拉曼光谱研究中, 发现这 2 个谱峰随着溶液 pH 值的改变其位置也发生改变, 而且这 2 个谱峰的强度很高, 所以人们可以在检测胞嘧啶是否存在的时候把它们作为胞嘧啶的特征谱峰进行使用, 已达到定性分析胞嘧啶的目的. 同时, 位于 1 532、1 654 和 1 693 cm^{-1} 处的 3 个拉曼谱峰均指征 C=O 键的伸缩振动, 而且 1 654 和 1 693 cm^{-1} 处的拉曼谱峰还指征 NH₂ 的摆动振动, 所以这几个谱峰对于研究碱基的 G-C 配对有着重要的意义, 而且最近人们发现胞嘧啶之间可以形成四联体结构, 这些谱峰对于研究胞嘧啶四联体结构同样具有重要的意义.

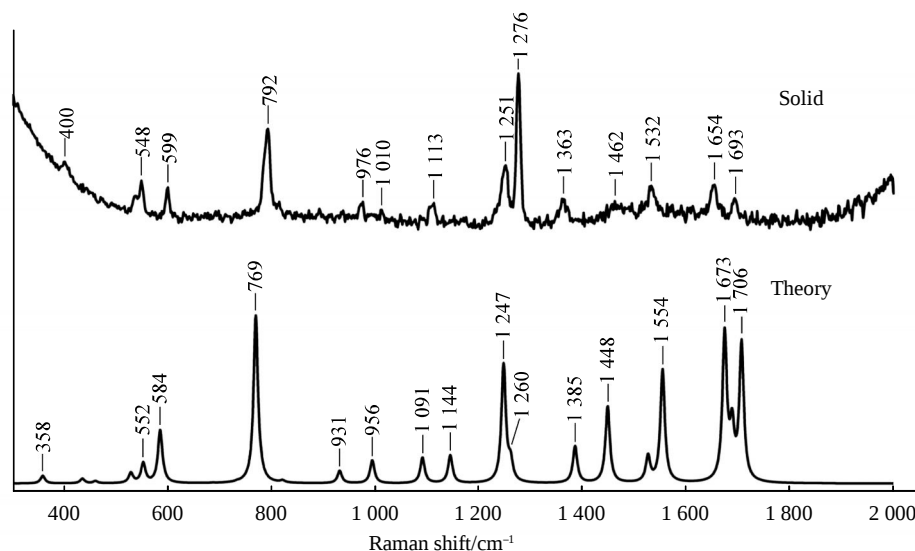


Fig. 6 Raman spectra of cytosine

Table 3 Cytosine Raman spectroscopy experimental results and theoretical calculations control and its Raman spectrum Characterization (Atomic number as shown in Figure 1)

Mode	Wavenumber		Plane	Assignment
	Solid	Theory		
1	1 693	1 706	in	sciss NH ₂ str C2=O bendN1-H
2	1 654	1 673	in	sciss NH ₂ str C4-C5 C2=O bendN1-H
3	1 532	1 554	in	strC4-N C4-C5 C6-N1 C2=O bendN1-H
4	1 462	1 448	in	strN3-C4 C6-N1 bendN1-H
5	1 363	1 385	in	strC4-N C2=O bendN1-H C5-H C6-H
6	1 276	1 247	in	strC2-N3 C6-N1 C4-N3
7	1 251	1 260	in	strC2-N3 bendN1-H C5-H C6-H
8	1 113	1 091	in	strC2-N3 sciss NH ₂
9	1 010	994	in	def ring
10	976	931	in	strN1-C2 C4-C5
11	792	769	in	ring breathing
12	599	584	in	def ring
13	548	552	in	def ring
14	400	358	in	sciss NH ₂

bend: bending; breath: brezhthing; def: deformation; rock: rocking; sciss: scissoring; str: stretching; wag: wagging.

2.4 胸腺嘧啶

根据胸腺嘧啶拉曼实验结果和理论结果(图 7), 对胸腺嘧啶拉曼光谱表征如表 4 所示. 胸腺嘧啶是 DNA 分子特有的碱基, 一直是研究人员的研究焦点, 当然胸腺嘧啶的拉曼光谱研究一直是研究的热点问题. 在胸腺嘧啶的所有拉曼光谱信号中, 强度较大的拉曼光谱谱峰是 740、1 368 和 1 672 cm⁻¹ 等处的拉曼光谱信号, 其中 740 cm⁻¹ 处的拉曼谱峰指征胸腺嘧啶分子的平面内分子呼吸振动; 1 368 cm⁻¹ 处的拉曼谱峰指征 C—C 键、C—N 键的平面内伸

缩振动以及 N—H 键和 C—H 键的平面内摇摆振动; 1 672 cm⁻¹ 处的拉曼谱峰则指征 C=O 键的伸缩振动, 这些谱峰可以作为特征峰对胸腺嘧啶进行定性分析. 另外, 在 805 cm⁻¹ 处的拉曼谱峰指征嘧啶环的变形振动, 张雷等^[21]就利用这个拉曼谱峰与内标的比值作为标准对胸腺嘧啶进行定量分析. 此外, 1 458 和 1 489 cm⁻¹ 两处的拉曼谱峰还指征 —CH₃ 基团的振动, 由于在 5 种碱基中只有胸腺嘧啶具有一CH₃ 基团, 所以它们也是胸腺嘧啶区别于其他 5 种碱基的特征峰.

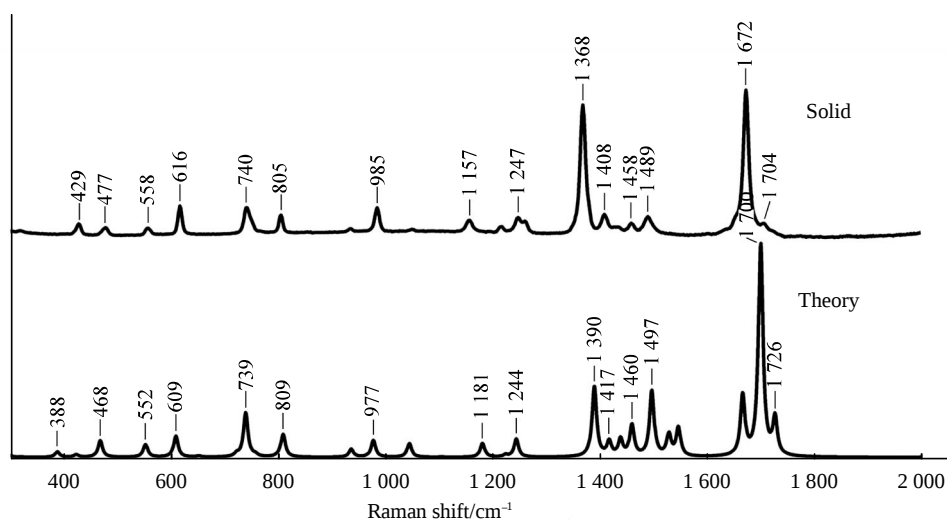


Fig. 7 Raman spectra of thymine

Table 4 Thymine Raman spectroscopy experimental results and theoretical calculations control and its Raman spectrum characterization (Atomic number as shown in Figure 1)

Mode	Wavenumber		Plane	Assignment
	Solid	Theory		
1	1 704	1 726	in	strC2=O
2	1 672	1 700	in	strC5-C6 C4=O
3	1 489	1 497	out	scissCH3 strC4-C5 C6-N1 bendN1-H
4	1 458	1 460	out	scissCH3
5	1 408	1 417	in	strC2=O C4=O bendN3-H C6-H
6	1 368	1 390	in	strN1-C2 C2-N3 C5-C6 bendN3-H C6-H
7	1 247	1 244	in	strC2-N3 C6-N1 C5-CH ₃ bendC6-H
8	1 157	1 181	in	strN3-C4 C6-N1
9	985	977	in	strN1-C2 C4-C5
10	805	809	in	ring breathing
11	740	739	in	ring breathing
12	616	609	in	def ring
13	558	552	in	def ring
14	477	468		def ring
15	429	388	in	bend C=O

Bend: bending; breath: breathing; def: deformation; rock: rocking; sciss: scissoring; str: stretching; wag: wagging.

2.5 尿嘧啶

根据尿嘧啶拉曼实验结果和理论结果(图 8), 对尿嘧啶拉曼光谱表征如表 5 所示. 尿嘧啶是 RNA 分子特有的碱基, 也是研究人员研究的焦点. 在尿嘧啶众多拉曼峰中, 790 和 1 235 cm^{-1} 处的拉曼光谱谱峰是尿嘧啶信号中最强的, 其中

790 cm^{-1} 处的拉曼光谱谱峰指征嘧啶环的平面内呼吸振动, 1235 cm^{-1} 处的拉曼光谱谱峰则是指征 N3—C4 键的平面内伸缩振动以及 C—H 键的平面内摇摆振动. 它们可以作为特征谱峰进行使用, 已达到定性分析尿嘧啶的目的.

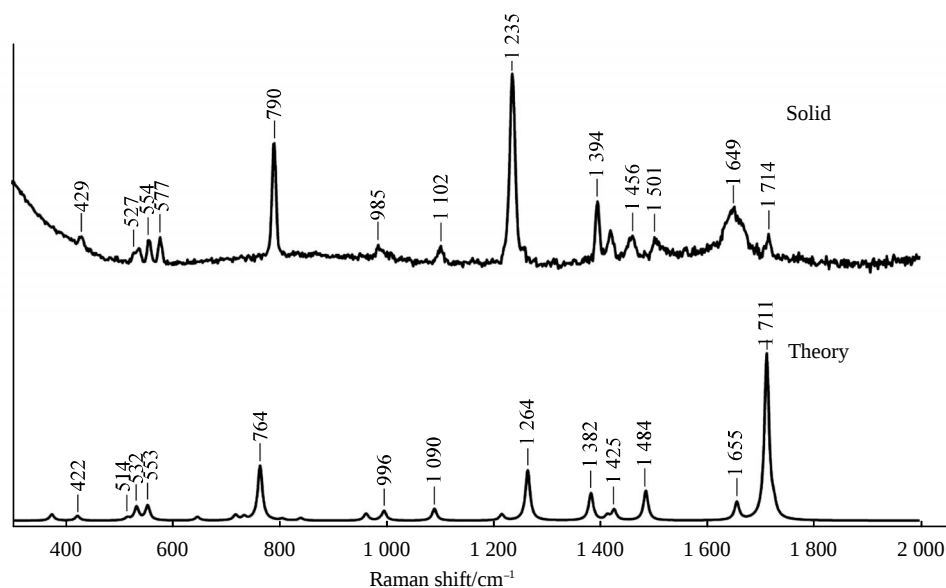


Fig. 8 Raman spectra of uracil

Table 5 Uracil Raman spectroscopy experimental results and theoretical calculations control and its Raman spectrum characterization (Atomic number as shown in Figure 1)

Mode	Wavenumber		Plane	Assignment
	Solid	Theory		
1	1 714	1 711	in	strC2=O
2	1 649	1 655	in	strC4=O
3	1 501	1 484	in	str N1-C2 N3-C4 C4-C5 bendN3-H
4	1 456	1 425	in	strN1-C2 C2-N3 bendN1-H N3-H C5-H C6-H
5	1 394	1 382	in	strN1-C2 C2-N3 bendN3-H C5-H C6-H
6	1 235	1 264	in	strN3-C4 bendC5-H C6-H
7	1 102	1 090	in	strN3-C4C5-C6 C6-N1 bend C5-H
8	985	996	in	ScissNH2
9	790	764	in	ring breathing
10	577	553	in	def ring
11	554	532	in	def ring
12	527	514	in	def ring
13	429	422	out	ring torsion

bend: bending; breath: breathing; def: deformation; rock: rocking; sciss: scissoring; str: stretching; wag: wagging.

根据对 5 种碱基的拉曼光谱研究, 我们不难发现在振动频率较低的低波数区 $300 \sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$, 碱基的振动谱峰一般指征碱基环的整体振动, 其中包括环的呼吸振动以及环的变形振动, 而在高波数区域 $1\,000 \sim 2\,000\text{ cm}^{-1}$ 区域则指征的大都是分子内 C—C 键、C—N 键以及 N—H、C—H 键的伸缩振动和摆动振动. 在 3 种嘧啶分子中, 在 800 cm^{-1} 左右均存在嘧啶环分子的呼吸振动峰, C=O 键的伸缩振动也一般出现在 $1\,650 \sim 1\,720\text{ cm}^{-1}$ 的区域内, 而腺嘌呤和鸟嘌呤分子则因为嘌呤环存在 2 个环状结构, 它们之间存在相互影响, 所以, 一些嘌呤环中化学键的振动情况在 2 种嘌呤分子中存在很大偏差, 例如, 在腺嘌呤拉曼光谱中指征嘌呤环中六圆环振动的拉曼谱峰位于 535 和 622 cm^{-1} , 而在鸟嘌呤的拉曼光谱中则位于 497 和 648 cm^{-1} .

3 结 论

在本研究中, 对腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶和尿嘧啶等核酸碱基进行了拉曼光谱的研究, 利用 DFT 方法优化腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶的分子结构, 对这 5 种核酸碱基的分子内化学键振动进行了量化计算, 利用计算结果对实验获得的碱基固体拉曼光谱进行了表征. 在研究中我们发现, 使用 B3LYP/6-311++G(d, p) 为参数对碱基的振动进行量化计算相对于以往研究人员

使用的 B3LYP/6-311G(d, p)、B3LYP/6-31++G(d, p) 等参数进行的计算更为准确, 获得的理论拉曼图谱与试验获得的实验图谱具有更高的一致性, 吻合程度要更好一些, 预测的拉曼谱峰的波数与实际波数的误差一般不超过 2%. 并且根据每个碱基拉曼光谱中的具有特征性的谱峰进行了研究, 实验结果显示, 在 3 种嘧啶分子中, 在 800 cm^{-1} 左右均存在嘧啶环这个共有结构的呼吸振动峰, 分子中 C=O 键的伸缩振动一般出现在 $1\,650 \sim 1\,720\text{ cm}^{-1}$ 的区域内, 而嘌呤分子则因为嘌呤环存在 2 个环状结构, 结构更为复杂, 分子中的化学基团对于化学键的振动情况影响相对于嘧啶分子中的化学基团要更大, 直接导致 2 种嘌呤分子中一些相同化学键振动的频率偏差较大. 以上结论为以后利用拉曼光谱技术进一步研究核酸分子的结构变化以及分析核酸分子在生物体中行使活性行为的过程奠定了理论基础.

参 考 文 献

- [1] Singh S, Srivastava S K, Donack P, *et al.* Molecular interactions of 2'-deoxyguanosine 5'-monophosphate with glycine in aqueous media probed via concentration and pH dependent Raman spectroscopic investigations and DFT study. *Phys Chem Chem Phys*, 2012, **14**(41):14315–14324
- [2] Singh J S. FT-IR and Raman spectra, ab initio and density functional computations of the vibrational spectra, molecular geometries and atomic charges of uracil and 5-methyluracil (thymine). *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2015,

- 137:625–640
- [3] Aydin L, Sahan E, Önal Z, *et al.* Synthesis, experimental spectra (IR & Raman and NMR), vibrational analysis and theoretical DFT investigations of N-(5-(4-methylbenzoyl)-2-oxo-4-(4-methylphenyl)pyrimidine-1 (2H)-yl)-4-methylbenzamide. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2014, **129**: 22–34
- [4] Prabavathi N, Nilufer A, Krishnakumar V, *et al.* Spectroscopic, electronic structure and natural bond analysis of 2-aminopyrimidine and 4-aminopyrazolo [3, 4-d]pyrimidine: a comparative study. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2012, **96**: 226–241
- [5] Arshynnikova L L, Arutiunova K S h, Antonenko L I. Adenine system in pathogenesis of different diseases. *Lik Sprava*, 2007, **7**: 3–9
- [6] Zhang M, Kimatu J N, Xu K, *et al.* DNA cytosine methylation in plant development. *J Genet Genomics*, 2010, **37**(1): 1–12
- [7] 吴雷, 李海超, 李正强, 等. 基于在位光还原银胶法的 SERS 技术检测核酸碱基. *分析化学*, 2011, **39**(8): 1159–1165
Wu L, Li H C, Li Z Q, *et al.* *Chin J Anal Chem*, 2011, **39**(8): 1159–1165
- [8] Hao J, Han M J, Wang Q K, *et al.* SERS detection of arsenic in water. *J Environ Sci (China)*, 2015, **36**: 152–162
- [9] Ji M, Lewis S, Camelo-Piragua S, *et al.* Detection of human brain tumor infiltration with quantitative stimulated Raman scattering microscopy. *Sci Transl Med*, 2015, **7**(309): 309
- [10] Feng S, Wang W, Zeng H, *et al.* Label-free surface-enhanced Raman spectroscopy for detection of colorectal cancer and precursor lesions using blood plasma. *Biomed Opt Express*, 2015, **6**(9): 3494–3502
- [11] Giese B, McNaughton D. Surface-enhanced raman spectroscopic and density functional theory study of adenine adsorption to silver surfaces. *J Phys Chem B*, 2001, **106**(1): 101–112
- [12] Nowak M J, Lapinski L, Leszczynski J, *et al.* Molecular structure and infrared spectra of adenine. experimental matrix isolation and density functional theory study of adenine 15N isotopomers. *J Phys Chem B*, 1996, **100**(9): 3527–3534
- [13] Santamaria E, Charro A, Zacarías M C. Vibrational spectra of nucleic acid bases and their Watson-Crick pair complexes. *J Comput Chem*, 1999, **20**(5): 511–530
- [14] Eichhorn G L, Butzow J J, Tarien E. Interaction of metal ions with polynucleotides and related compounds. X. Studies on the reaction of silver (I) with the nucleosides and polynucleotides, and the effect of silver(I) on the zinc(II) degradation of polynucleotides. *Biopolymers*, 1967, **5**(3): 283–296
- [15] Ronald H J, Norman D. Spectrophotometric, potentiometric, and density gradient ultracentrifugation studies of the binding of silver ion by DNA. *Biopolymers*, 1966, **4**(1): 17–32
- [16] El Amri C, Baron M H, Maurel M C. Adenine and RNA in mineral samples. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) for picomole detections. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2003, **59**(11): 2645–2654
- [17] Arie G, Da Silva E, Sebenne C, *et al.* Study of biological molecules by Raman spectrometry. Example of application: guanine, uracil and cytosine. *Biochimie*, 1971, **53**(9):1041–1043
- [18] Giese B, McNaughton D. Interaction of anticancer drug cisplatin with guanine: density functional theory and surface-enhanced Raman spectroscopy study. *Biopolymers*, 2003, **72**(6): 472–489
- [19] Billingham B E, Oladepo S A, Loppnow G R. pH-dependent UV resonance Raman spectra of cytosine and uracil. *J Phys Chem B*, 2009, **113**(20): 7392–7397
- [20] Billingham B E, Loppnow G R. Excited-state structural dynamics of cytosine from resonance Raman spectroscopy. *J Phys Chem A*, 2006, **110**(7): 2353–2539
- [21] Zhang L, Zhang Y L, Yukihiro, Ozaki, *et al.* The study on linear relationship between concentration and surface-enhanced raman spectroscopy (SERS) signal of thymine in improved Ag Sol. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2009, **29**(7): 1889–1891

The Research on Raman Spectroscopy of Nucleic Acid Bases Based on DFT Method*

WU Lei^{1,2)}, LI Fei²⁾, JIN Zhou-Yu¹⁾, LI Yu-Ting¹⁾, HU Wei^{1)**}

¹⁾ School of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

²⁾ State Key Laboratory of Supramolecular Structure and Materials, Jilin University, Changchun 130012, China)

Abstract Nucleic acid bases are an important part of nucleic acids, and Raman spectroscopy is an important technique in studying on molecular structure. Therefore, it has a great significance for the research on the structural changes of nucleic acid macro-molecules and the interactions between nucleic acid molecules and small molecule that the Raman spectroscopy of nucleic acid bases are characterized. In this study, the molecular structures of adenine, guanine, cytosine, thymine and uracil were optimized based on the density functional theory method (DFT). The intra-molecular bond vibration frequency of these five nucleic acid bases were predicted by quantitative calculation, and the Raman spectroscopy of nucleic acid bases was characterized by corresponding the relation between the results of nucleic acid bases Raman spectroscopy in experiment and in theory. Moreover, the characteristic Raman peaks in the Raman spectroscopy of each nucleic acid bases were explanation in detail. It laid the theoretical foundation for the further structural information of nucleic acid molecules by the means of Raman spectra.

Key words nucleic acid bases, the density functional theory (DFT), raman spectroscopy, characterization

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0341

*This work was supported by grants from Scientific Research Foundation Project of Jilin Agricultural University(201307) and The National Natural Science Foundation of China (31572372).

**Corresponding author.

Tel: 86-431-84532886, E-mail: m18143099871@163.com

Received: October 27, 2015 Accepted: January 20, 2016