

简 报

DNA 及鸟嘌呤衍生物在碱性溶液中 被 248 nm 激光单光子电离

宋钦华 姚思德 林念芸

(中国科学院 辐射化学开放研究实验室, 上海原子核研究所, 上海 201800)

摘要 利用纳秒级激光光解动态吸收光谱装置, 研究鸟嘌呤衍生物及 DNA 在碱性溶液中的光电离。首次发现鸟嘌呤衍生物及 DNA 在碱性溶液中能被 248 nm 激光单光子电离, 确证了光电离发生在 N1 位脱质子的鸟嘌呤部分, 测定了水合电子的量子产额(ϕ_{e^-})。

关键词 鸟嘌呤, DNA, 光电离, 单光子过程, 量子产额

紫外光对 DNA 的辐射损伤, 尤以单链和双链断裂最为有害, 它将导致细胞的变异和死亡, 光诱导 DNA 化学变性过程之一是光电离, 光电离产生的碱基阳离子自由基能引起 DNA 的单链断裂^[1], 一个 193 nm 光子的能量足以电离 DNA 的四种碱基, 而一个约 250 nm 的光子不足以使 DNA 碱基电离; 若在约 250 nm 激光辐照下, 一个 DNA 碱基发生了光电离, 那么它至少需要两个光子(双光子过程)^[1,2]。本工作研究了在碱性溶液中, 鸟嘌呤衍生物及 DNA 被 248 nm 激光单光子电离(单光子过程)。

1 材料与 方法

1.1 材料

鸟嘌呤(Gua)、鸟苷(Guo)、脱氧鸟苷酸(dGMP)、高聚鸟嘌呤核苷酸(poly[G])、脱氧核糖核酸(DNA)、胸腺嘧啶(Thy)、胸苷(Thd)和胸苷酸(TMP)均为 Sigma 公司产品, 未经进一步纯化直接使用。氢氧化钠和磷酸及其钠盐, 均为分析纯。磷酸钠盐经一次重结晶后使用。

1.2 仪器与方法

激光光解实验装置采用国产 KrF 准分子激光器作为激励光源, 波长为 248 nm, 脉冲宽度 20 ns, 每脉冲最高能量 < 100 mJ, 实验装置及实验方法详见文献[3]。水合电子量子产额(ϕ_{e^-})的测定以 KI 为参比($\phi_{e^-} = 0.23$)^[4], 通过改变激光强度测定 650 nm 的瞬态吸收值来计算。实验均在温度 15 ± 2 °C 下进行, 紫外稳态吸收测定在 Shimadzu 210 A 型分光光度计上进行。

2 结果与 讨论

2.1 单光子电离的确证及量子产额的测定

从鸟嘌呤衍生物及 DNA 碱性水溶液的激光光解瞬态吸收光谱(图 1), 可以观察到激光脉冲

后很短时间(约100 ns)即出现一个由波段很宽的强吸收(λ_{max} 约700 nm)、300~400 nm 弱吸收,并在 330~360 nm 光漂白波段组成的特征瞬态吸收谱。约700 nm 衰变速率在水合电子(e_{aq}^-)清除剂 N_2O 或 O_2 存在时急剧增大,吸收在 300~400 nm 的瞬态产物不受 N_2O 或 O_2 的影响。

吸收峰在约700 nm 的吸收光谱是 e_{aq}^- 的特征吸收, e_{aq}^- 的产生是光电离的直接证据。吸收在 300~400 nm 的瞬态产物应是由光电离产生的中性自由基脱质子生成的阴离子自由基,在 330~360 nm 观察到的光漂白是由于基质在光解中被消耗,生成的中性自由基在这一波段吸收弱,因而瞬态吸收谱上出现倒峰(负吸收值)。在 N_2 饱和水溶液中,光电离产生的 e_{aq}^- 以一级动力学规律衰变,主要是 e_{aq}^- 与未光电离的基质反应,生成电子加合物,其速率常数见表 1。

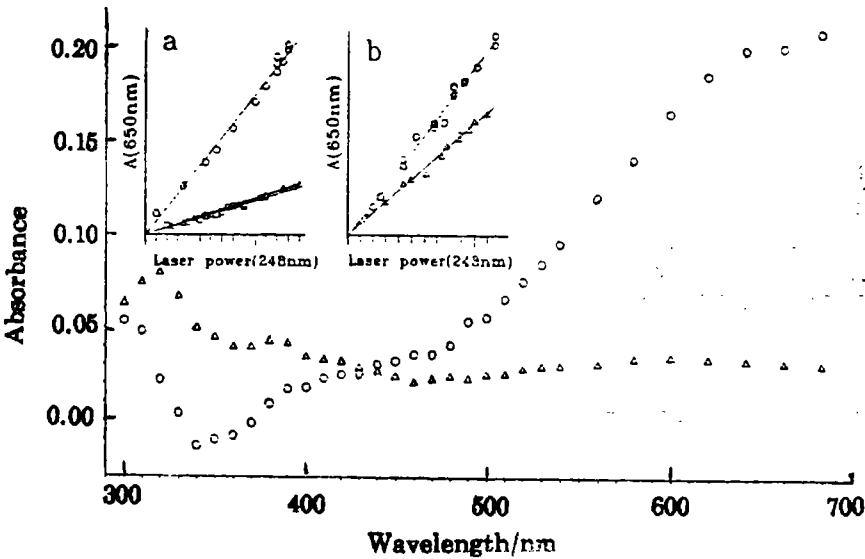


Fig 1. Transient absorption spectra from photolysis of 0.3 mmol/L dGMP deaerated aqueous solutions at pH 11; 70 ns($\circ$); 20 μ s($\bullet$) after the pulse Inset,(a) Dependence on laser power of the absorbance at 650 nm, Gua (circles, 0.1 mmol/L), Guo (triangles, 0.1 mmol/L) and dGMP (squares, 0.1 mmol/L). (b) Dependence on laser power of the absorbance at 650 nm; poly[G] (circles, 0.5 mmol/L) and ssDNA (triangles, 0.5 mmol/L)

Tab 1. Quantum yield of e_{aq}^- and rate constants for reaction of e_{aq}^- with substrate

Compound	pK _a ⁽¹⁾	$\phi_e^-/\times 10^{-4}$ ⁽²⁾	$k(e_{aq}^-)/10^8\text{mol}^{-1}\text{L s}^{-1}$ ⁽³⁾
Gua	9.6	610	14
Guo	9.2	160	6.3
dGMP	9.4	150	5.5
poly[G]		88	0.98 ⁽⁴⁾
ssDNA		36	5.0 ⁽⁴⁾

(1)pKa values of deprotonation from N1 of Gua moiety, from ref. 5
(2)Obtain from ΔA_{650} values 0.1 μ s after the pulse in deaerated aqueous solution at pH11.0~11.5, KI was used as reference
(3)Rate constants for decay e_{aq}^- , monitored by its absorption at 650nm
(4)Rate constant per nucleotide unit

为了确定鸟嘌呤衍生物及 DNA 的光电离过程, 将光电离产生 e_{aq}^- 的量表示为激光脉冲后 0.1 μ s 测定 650 nm 处的吸收值。结果发现, 吸收值随激光强度升高而线性增大(图 1 a,b), 即鸟

嘌呤衍生物及 DNA 的光电离是单光子过程。测定的 ϵ_{aq}^- 的 ϕ_{aq}^- 列于表 1。

2.2 光电离溶液 pH 值的测定

为了确定鸟嘌呤衍生物及 DNA 溶液开始光电离的 pH 值, 改变 dGMP 溶液的 pH 值, 测定 650 nm 瞬态吸收值。结果发现, 随着 pH 升高吸收值在 pH 9.5 处突然增大, 这与 dGMP 的 N1 位脱质子的 pK_a 9.4 基本一致, 说明是 N1 位脱质子的 dGMP 发生了光电离。值得注意的是, 在 pH 约 9 时光电离就开始了, 这意味着鸟嘌呤衍生物及 DNA 在微碱性环境中即可被 248 nm 激光单光子电离。

在 DNA 核苷酸组分中, 只有 dGMP 和 dTMP 在微碱性溶液中分别从 N1 和 N3 上脱质子。实验发现, Thy、Thd、TMP 及 dAMP 都不能被 248 nm 激光单光子电离, 这与 Gua 是 DNA 中最易氧化的碱基相一致。可以得出结论, DNA 在碱性溶液中可被 248 nm 激光单光子电离, 并且光电离发生在脱质子的 Gua 部分上。

参 考 文 献

- 1 Görner H. J. Photochem. Photobiol., B: 1994, 26: 117
- 2 Nikogosyan D N. Int. J. Radiat. Biol., 1990, 57: 223
- 3 Zuo Z H, Yao S D, Luo J et al. J. Photochem. Photobiol., B: 1992, 15: 215
- 4 Jortner J, Ottolenghi M, Stein G. J. Phys. Chem., 1964, 68: 247
- 5 Jordan D O. The Chemistry of Nucleic Acids, Butterworths, London: 1960, 134

MONOPHOTONIC IONIZATION OF GUANINE AND ITS DERIVATIVES AND DNA IN ALKALINE AQUEOUS SOLUTION BY 248 nm PULSED LASER LIGHT

Song Qinhua Yao Side Lin Nianyun

(Laboratory of Radiation Chemistry, Shanghai Institute of Nuclear Research, Academia Sinica, Shanghai 201800)

ABSTRACT The effects of 248 nm laser light on alkaline solutions of guanine (Gua), guanosine(Guo), 2'-deoxyguanosine-5'-monophosphoric acid (dGMP), polyguanylic acid(5') (poly[G]) and single-stranded DNA (ssDNA) were investigated, and monophotonic ionization was demonstrated. Based on pH titration, it was confirmed that the photoionization occurs on a deprotonated Gua moiety of DNA. The quantum yield of photoelectron (ϕ_{aq}^-) was measured.

KEYWORDS Guanine derivative, DNA, Photoionization, Monophotonic process, Quantum yield