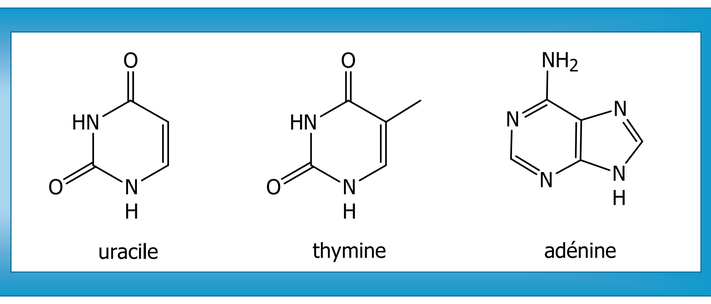
Réactivité en phase gazeuse des ions Pb^{2+} envers l'adénine, la thymine et l'uracile

Jean-Yves Salpin, Sébastien Guillaumont, Jeanine Tortajada

⌘Introduction

- De nombreux travaux ont montré qu'en milieu physiologique, les ions Pb^{2+} jouent un rôle déterminant dans l'activité de certains ribozymes clivant des ARN. De plus, il est récemment apparu que certains ribozymes requièrent la présence de deux cations métalliques.[1,2] Il a ainsi été observé qu'en solution, les cations Pb^{2+} ne présentent pas de réactivité particulière avec l'ADN, alors que ces mêmes cations en présence de cations Mg^{2+}, provoquent le clivage de l'ARN. Par contre, il y a peu d'informations quant aux mécanismes intimes associés à ces interactions. Dans ce but, nous avons entrepris une étude en vue de mieux de comprendre ces mécanismes, en nous intéressant dans un premier temps à la réactivité en phase gazeuse des ions Pb^{2+} envers trois bases nucléiques : la thymine (T), l'uracile (U) , et l'adénine (A).



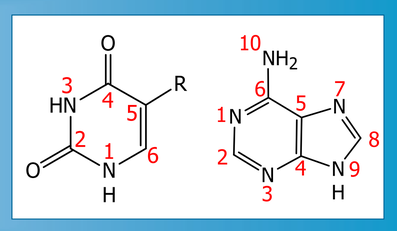
⌘ Méthodologie

Spectrométrie de masse

- Spectromètre de masse triple-quadripôles couplé à une source d'ionisation «TurboIonspray» (Applied Biosystems MDS/SCIEX API2000).
- Etude de solutions $Pb(NO_3)_2$/base nucléique (5.10^{-5} mol.L^{-1}/10^{-4} mol.L^{-1}) dans l'eau ou en mélange eau/méthanol (50/50).
- Débit : 5µl/min
- Température : 373 K
- Expériences MS/MS : gaz de collision N_2 ($P \approx 2\ 10^{-5}$ Torr)

Calculs DFT

- Optimisation des géométries et fréquences vibrationnelles aux niveaux 6-31G(d,p).
- Utilisation du pseudo-potentiel de Stuttgart pour décrire l'atome de plomb.
- Energies relatives affinées au niveau B3LYP/6-311+G(3df,2p), et données en kJ.mol^{-1}.

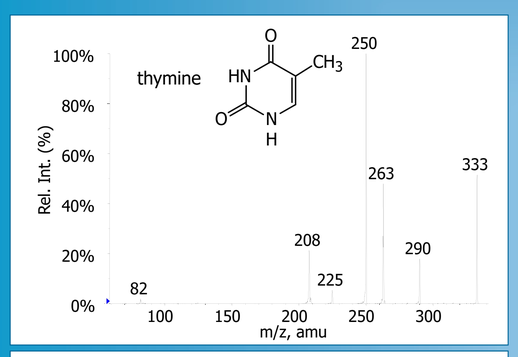


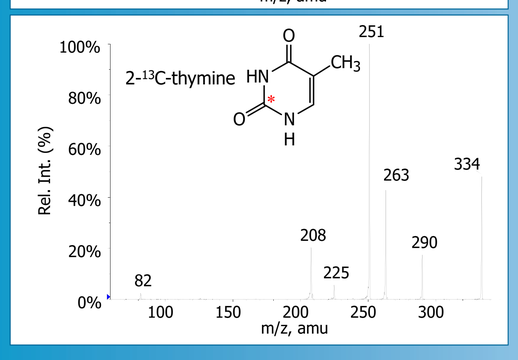
⌘Résultats

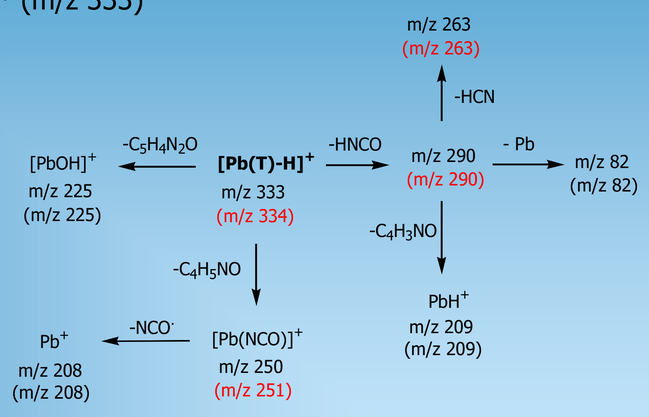
- Formation d'ions de formule générale $[Pb(B)_n - H]^+$ (n=1-3), l'ion le plus intense présentant une seule molécule de base (n=1).
- Caractérisation des ions $[Pb(B) - H]^+$: expériences MS/MS et calculs quantiques.
- Les résultats obtenus pour la thymine et l'uracile sont en tout point comparables.

Bases pyrimidiques : thymine et uracile

- Spectres MS/MS de l'ion $[Pb(T)-H]^+$ (m/z 333)

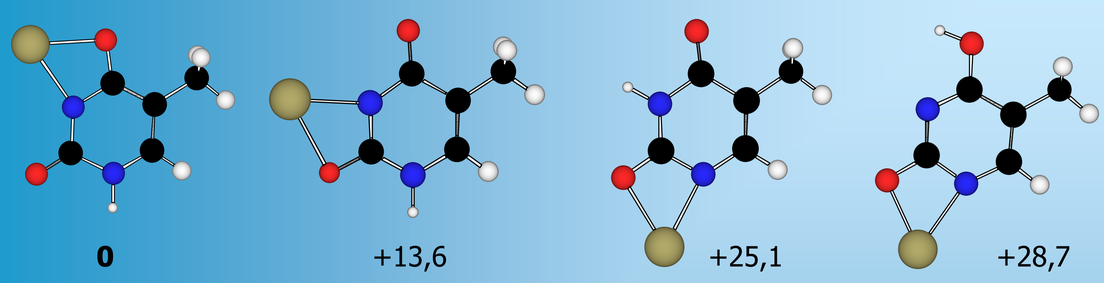




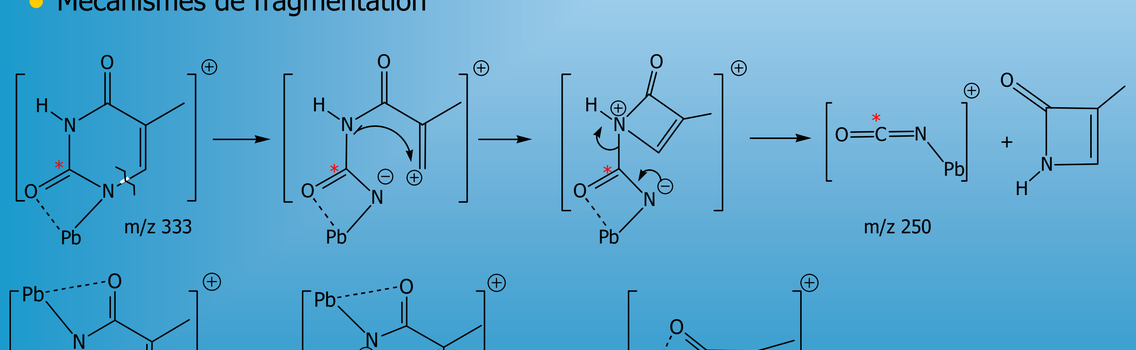


- Les ions $[Pb(T)-H]^+$ correspondent à un mélange de plusieurs structure.
- L'élimination de HNCO implique spécifiquement le centre C(2).
- L'ion $[PbNCO]^+$ implique spécifiquement le carbone N°2.

- Calculs quantiques : déprotonation préférentielle du site le moins acide (N3)

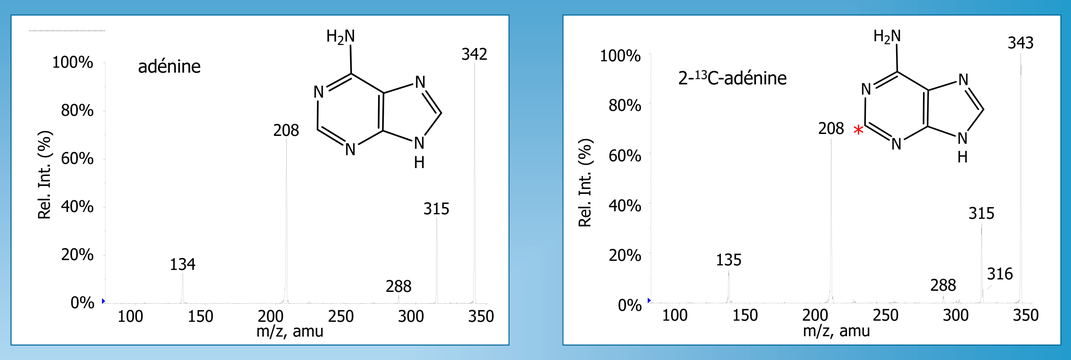


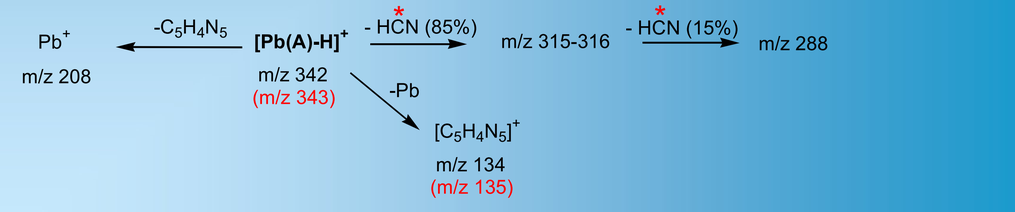
- Mécanismes de fragmentation



Base purique : adénine

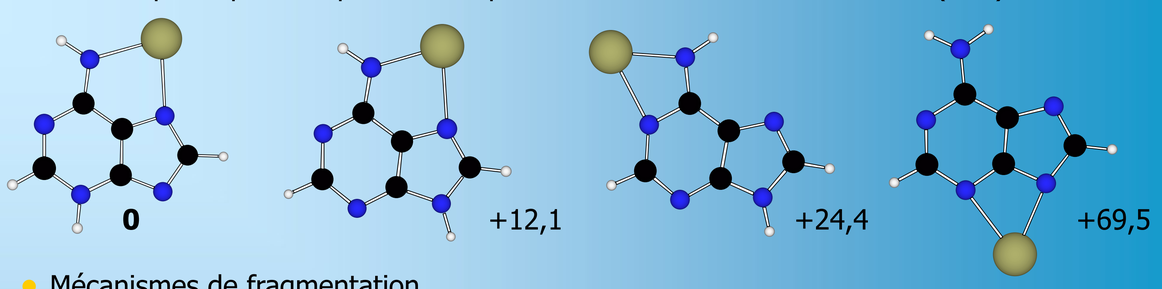
- Spectres MS/MS de l'ion $[Pb(A)-H]^+$ (m/z 342)



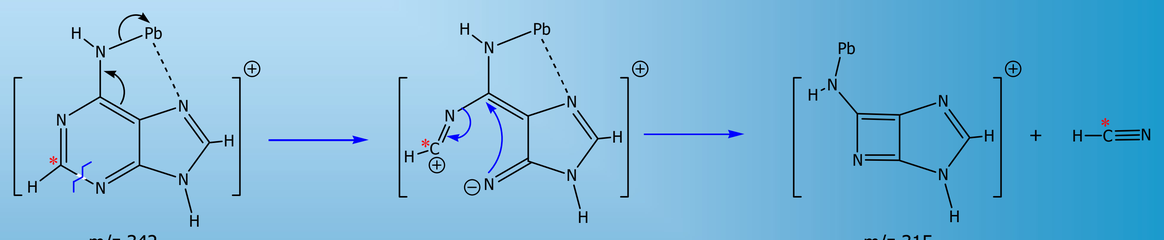


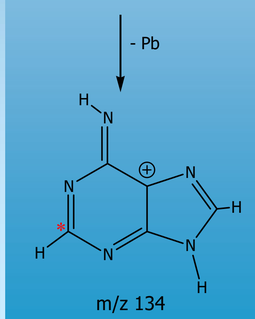
- Les voies de dissociation conduisant à la réduction du plomb sont particulièrement favorables (m/z 134 et 208).

- Calculs quantiques : déprotonation préférentielle du site le moins acide (N10)



- Mécanismes de fragmentation





⌘Références

(1) T. Pan, O. C. Uhlenbeck, *Nature* **358**, 560 (1992).

(2) M. H. Kim, M. Katahira, T. Sugiyama, S. Uesugi *J. Biochem.* **122**, 1062 (1997).

Laboratoire Analyse et Environnement

Bâtiment des Sciences - Université d'Evry Val d'Essonne - Boulevard François Mitterrrand - 91025 Evry Cedex