

## 2A20

アデニンヌクレオシド二量体にみられる糖の水素結合が関与した特異的スタッキング構造  
(横浜市大院・生命ナノ<sup>1</sup>, イリノイ大化学<sup>2</sup>, 横浜薬科大・薬<sup>3</sup>)

○浅見祐也<sup>1</sup> 八木清<sup>2</sup> 大場正志<sup>3</sup> 三枝洋之<sup>1</sup>

**[序]** アデニンヌクレオシドは核酸塩基と糖から成る化合物であり、DNA を構成する要素の一部となる。また代謝反応に関わるメッセンジャーや、生命維持のエネルギー源として生体中で幅広く利用される構造であり、その分子本来の構造や機能について興味を持たれている。

従来、このヌクレオシドの一種であるアデノシン [Ado, 図 1(a)] をレーザー脱離法により孤立気化し、その構造と機能の関連性を調べる試みがなされたが、分解反応が起こるため親イオンは観測されなかった。[1]

これまで我々は、独自のレーザー脱離法と化学修飾法を用いて、グアニンヌクレオチドを非破壊的気化し、安定した信号を得ることに成功した。[2] そこで、この手法をアデニンヌクレオシドに応用し、非破壊的気化および中性分子高次クラスターの安定生成を試みた。また、赤外-紫外二重共鳴分光法(IR-UV)と *ab initio* 非調和振動計算を駆使し、この二量体にみられる安定構造の決定を行った。

**[手法]** 市販の Ado と化学合成した N6,N6-ジメチルアデノシン [DMAdo, 図 1(b)] を対象に、レーザー脱離-超音速ジェット冷却法を用い、分子を孤立気相化させた。冷えた試料気体に対して、二光子共鳴イオン化法(R2PI)により電子スペクトルを測定し、更に IR-UV により赤外振動スペクトルの測定を行った。また Gaussian09 を用いた理論計算により、様々なコンフォマーの安定構造と振動数を計算した。M06-2X/6-31G(d,p)レベルで構造最適化を行い、相対エネルギー5kcal/mol 以内の安定構造を選別した。これらの構造については、M06-2X/6-311++G(d,p)レベルで構造最適化および調和振動計算を行った。更に最安定のコンフォマーについては、Yagi らの開発した SINDO を用い、擬縮退摂動論による非調和振動計算を行った。[3]

**[結果]** アデニンヌクレオシドの非破壊的気化とジメチルアミノ化による二量体の安定生成：独自のレーザー脱離法を用いた結果、図 2(a)に示すように、これまで観測されなかった Ado 二量体、三量体、更にその水和物も観測された。また脱離法の改良により脱離レーザーのパワーを大幅に下げることができたため、単量体のプロトン付加体イオン[Ado+H]<sup>+</sup>以外のフラグメントはほとんどみられなかった。しかしながら、この手法を用いても、単量体のイオン信号を観測することはできなかった。この主な原因として励起状態の寿命が短く、ナノ秒レーザーの R2PI では観測できない可能性が示唆される。

一方水溶液中の場合、アデニン塩基をジメチルアミノ化した N6,N6-ジメチルアデニンでは、分子内 CT 生成により励起寿命が長くなることが知られている。[4] そこで、この化学修飾法を用いて DMAdo 単量体イオンの観測を試みた。その結果、図 2(b)に示すように、微弱ながら単量体イオンの信号を観測した。また三量体以上の高次クラスターの生成が抑制され、二量体が最も安定に生成した。しかしながら、この単量体および二量体の電子スペクトルと赤外振動スペクトルを

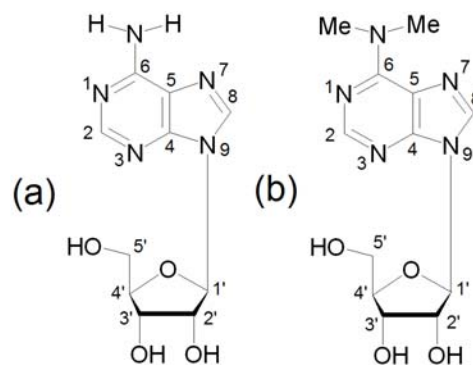


図 1. (a)Ado と(b)DMAdo の構造。

比較したところ、両者のスペクトルは一致することから、この単量体イオンの信号は二量体由来であることが明らかとなった。このことは DMAdo 二量体が特異的に安定であり、単量体生成を抑制している可能性を強く示唆している。

**赤外振動スペクトルと非調和振動計算：**図 3(a)に DMAdo 二量体の赤外振動スペクトルを示す。理論計算の結果、図 3 中に示した塩基間のスタッキング相互作用と糖間の水素結合を持つ構造が特異的に安定であり、他の構造は 2kcal/mol 以上不安定となった。しかし、実験的に得られたスペクトルはブロードであるため、従来の調和振動計算によるこのような高次塩基対構造のより詳細な議論は困難である。

そこで、この特異的な安定構造について非調和振動計算を行った。ただし計算負荷を軽減するためジメチル基のない Ado 二量体について計算し、その結果を図 3(b)に示した。計算された振動スペクトルは、実験で観測された 3 つのピーク ( $3554\text{cm}^{-1}$ 、 $3309\text{cm}^{-1}$ 、 $3063\text{cm}^{-1}$ ) に比べやや高波数にシフトしているものの、強度分布を非常に良く再現している。この構造は、分子間水素結合に対し垂直方向に C2 対称軸を持つため、観測されたこれらのピークは、糖 OH 伸縮振動の対称あるいは反対称的結合の一方に帰属される。このように非調和振動計算を用いることで、高次水素結合ネットワーク構造を定量的に評価することが可能となった。

更にこの計算結果は、 $3400\text{cm}^{-1}$  以下にみられるブロードな構造も良く再現した。従って、このブロードニングには、糖 2'-OH の変角振動の倍音とその水素伸縮振動の基音との 2:1 共鳴(フェルミ共鳴)が大きく寄与することが分かる。また糖を含む Ado 二量体の場合、糖の低振動モードと塩基の変角振動の結合音が 2'-OH 伸縮振動の基音と共鳴するという 3:1 共鳴も重要であることが明らかとなった。このことは、糖の構造が柔軟であるため、低振動モードとの結合音が生じやすいことを意味している。

以上本研究により、アデニンヌクレオシド二量体のような糖の水素結合が関与した高次スタッキング構造を、非調和振動計算で詳細に議論できることが明らかとなった。

[文献] [1] E. Nir, M.S. de Vries, *J. Mass Spectrometry*, 2002, **219**, 133. [2] H. Asami, M. Tsukamoto, Y. Hayakawa, H. Saigusa, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010, **12**, 13918. [3] K. Yagi, S. Hirata, K. Hirao, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2008, **10**, 1781. [4] N. K. Schwab, F. Temps, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2006, **8**, 5229.

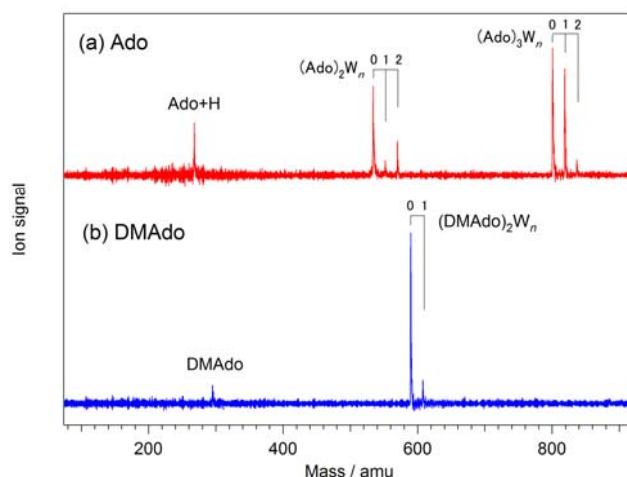


図 2. R2PI による TOF-mass スペクトル. (a)Ado. (b)DMAdo.

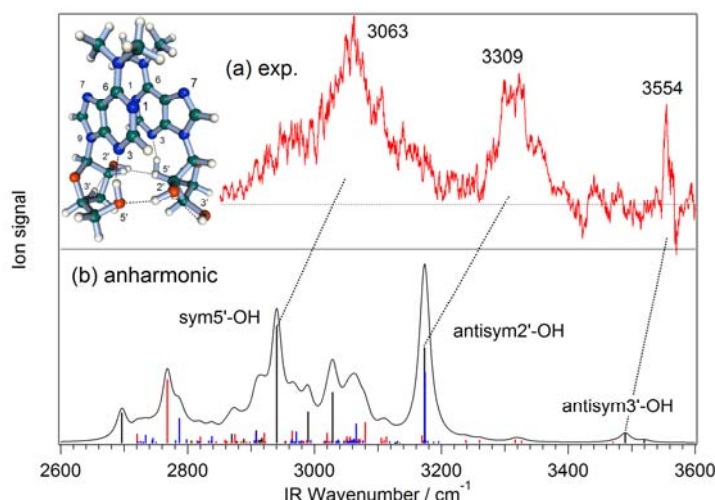


図 3. DMAdo 二量体の赤外振動スペクトルと非調和計算. DMAdo の(a) 実験値と、(b) 非調和計算の振動数を基音は黒、2:1 共鳴は赤、3:1 共鳴は青で示し、図中には帰属された構造図を示した。また糖 OH の対称、反対称 (sym、antisym)伸縮振動の基音に相当するピークを破線で帰属した。