

## 核酸塩基対生成に特徴的な赤外マーカースペクトルの探索

横浜市立大院生命ナノ

○三枝 洋之, 小山 歩美

### Search for IR Marker Bands Characteristic of the Formation of Nucleic Acid Base Pair

Hiroyuki Saigusa, Ayumi Oyama

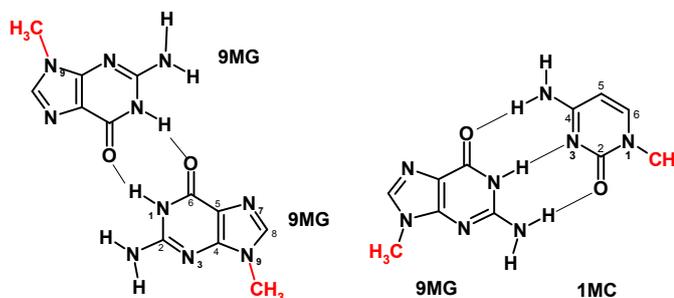
Graduate School for Bio- and Nanosystem Sciences, Yokohama City University, Japan

**【Abstract】** Mid-IR spectroscopic method is employed to investigate the base-pair structures of nucleic acids formed in the gas phase. The result obtained for 9-methylguanine dimer, in which the methylation mimics the presence of sugar-phosphate backbone, shows that the so-called C=O stretching normal mode is not really localized on the C6O internal coordinate. Vibrational energy distribution analysis (VEDA) indicates that the relative contribution of the internal coordinate associated with the C6O stretching in the C=O normal mode decreases from 58% in the monomer to ca.10% in the base pair. This normal mode is characterized by substantial contributions of N1H bending coordinates, and thus can be used to IR “marker bands” which are sensitive to base pair formation. A preliminary result for 9-methylguanine/1-methylcytosine base pair of the Watson-Crick (WC) structure will also be discussed in this presentation.

**【序】** ラマン散乱法は、タンパク質やアミノ酸側鎖などの高次構造を知る有力な方法として広く用いられている。特に紫外共鳴効果を利用すると、高次構造を敏感に反映するようなラマンバンドが指紋領域に観測され、これをマーカースペクトルとして用いることができる[1]。一方、赤外分光法も DNA の高次構造(A, B, Z)などを決定するために用いられてきたが、共鳴効果による選択性が無いため“赤外”マーカースペクトルは多くは報告されていない[2]。

我々はこれまで気相クラスターを用いて、核酸塩基対（水素結合型、スタッキング型）、水和構造（塩基、糖への水和）、糖やリン酸基の立体構造（syn、anti 構造）などを赤外分光法により検討してきた。しかし、近赤外領域に現れる振動は NH や OH 伸縮振動のような局在化したモードであるため、高次構造に関する直接的な情報を得ることが困難である。そこで本研究では、中赤外領域での振動スペクトルを測定することで、核酸塩基対の立体構造をより顕著に反映するようなマーカースペクトルを見出すことを目的とした。対象はグアニンを含む塩基対、9-メチルグアニン 2 量体[(9MG)<sub>2</sub>]と 9-メチルグアニン-1-メチルシトシン WC 型塩基対[(9MG)(1MC)](Structure I 参照)である。

Structure I



(a) (9MG)<sub>2</sub>

(b) (9MG)(1MC) WC base pair.

**【方法】** 中赤外スペクトルの測定は、赤外-紫外二重共鳴法により行った。この手法は、紫外の波長を選択することで、構造異性体がある程度分離することが可能である。調和振動計算(B3LYP/cc-pVTZ)により基準振動解析を行い、VEDA プログラム[3]により PED (内部座標の変化の寄与の%割合) を計算した。試料はレーザー脱離-超音速分子線法を用いて気化及び塩基対を行った。

### 【結果】

**(9MG)<sub>2</sub>:** 図 1(a) に (9MG)<sub>2</sub> の中赤外スペクトルを示す。UV 励起に用いた波長 (302.5nm) では、Structure I(a)の対称的な塩基対構造が主に観測される[4]。3つのピークのうち 1721cm<sup>-1</sup>のピークは計算スペクトル[Fig. 1(b)]との比較から、2つの C6O 伸縮振動が反対称的 (out-of-phase) に結合したバンドと帰属できる。しかしこの基準振動における C6O 伸縮内部座標(internal coordinate)の

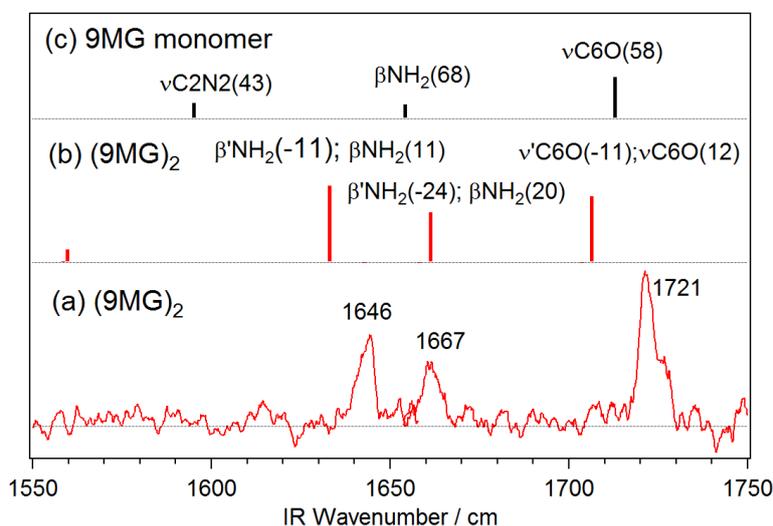
PED は、それぞれ-11%と 12%であり、9MG 単量体の場合[Fig. 1(c)]の 58%に比べかなり低下している。この場合、最も大きな PED は N1H を含む面内変角(β'C6N1H)で、22%と見積もられた。一方対称的結合 (in-phase) の強度は殆どゼロである。1667 と 1646cm<sup>-1</sup>のピークは、2つのアミノ基変角βNH<sub>2</sub>が反対称結合した PED の寄与が大きく、またこの 2つの違いは面内変角(βC2N1H)の位相が異なる点である。以上から、塩基対を生成すると内部座標の寄与の割合が大きく変化するため詳細な PED 解析が必要であることがわかる。

### **(9MG)(1MC):**

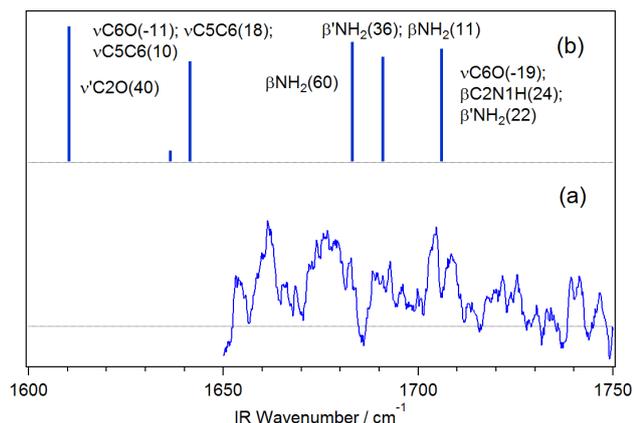
Fig. 2 に(9MG)(1MC)の WC 型塩基対の赤外スペクトルを示す。(9MG)<sub>2</sub> の場合と同様、1700 cm<sup>-1</sup> 付近のピークにおける 9MG の C6O 伸縮モードの寄与は 19%に低下している

### 【参考文献】

- [1] A. Asher et. al., *Chem. Rev.*, 2012, 112, 2604.
- [2] E. Taillandier, J. Liquier, in *Method in Enzymology*, Vol. 211, p307. Academic Press.
- [3] M. H. Jamróz, *Vibrational Energy Distribution Analysis: VEDA 4 program*, Warsaw (2004).
- [4] Urashima et. al., *J. Phys. Chem. A*, 2010, 114, 11231.



**Fig. 1.** (a) Mid-IR spectrum of (9MG)<sub>2</sub>, Calculated spectra of (b) (9MG)<sub>2</sub> and (c) 9MG. The sign (') in internal coordinates description is used to distinguish the two 9MG moieties.



**Fig. 2.** (a) Experimental and (b) calculated IR spectra of (9MG)(1MC) WC base pair. The sign (') denotes internal coordinates associated with the 1MC moiety.