

グアニンにおける水和と塩基対生成との関連:メチル置換による検証

(横浜市大・国際総合科学) ○宮崎 謙二、片山 匠、三枝 洋之

【序論】

DNA内の塩基対と水分子との相互関係を明らかにしていくことは、生体内でのシステムを理解するための重要なポイントとなる。しかし、DNA塩基対の水和構造は分子レベルでは、あまり明らかになっていない。我々はこれまでに新規に開発したレーザー脱離装置と超音速分子線法を組み合わせることにより、水和クラスターをより効率的に生成することを可能にした[1]。その結果、DNA塩基のひとつであるグアニン(G)について、その1水和物 G_1W_m ($W=H_2O$, $m \geq 1$)が殆ど観測されないことを見出した。本研究では種々のメチル置換体を用いることで、グアニンの水和の異常性を検討した。グアニンには図1に示す4つの異性体が確認されており、これらの特定の水素原子をメチル置換することで、互変異性化(keto-enol, 7H-9H)を阻害することが可能となる。また、メチル置換によって水和サイトや塩基対の生成が大きく影響を受けると予想される。

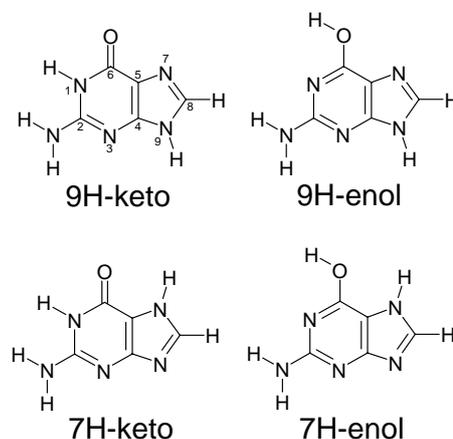


図1. グアニンの4つの異性体

【実験】

グアニンの粉末試料を加圧してペレット状に成形した。これを自作のレーザー脱離装置にセットし、この装置を市販ノズル(General Valve 9)の先端に装着した。YAG レーザーの倍波(532nm)を用いてサンプルを脱離後、蒸留水を混入したキャリアガス(Ar)を導入し、超音速分子線として噴出した。生成したクラスターに紫外レーザー光を照射して多光子共鳴イオン化(MPI)させ、飛行時間型質量スペクトルを測定した。さらに、紫外レーザー光の波長を掃引してMPIスペクトルを測定した。

【結果と考察】

グアニンメチル置換体への水和

図2にグアニンGおよび4種のメチル化グアニン nMG (n はメチル置換部位、 $n=1,6,7,9$, 図2参照)の水和クラスターの質量スペクトルを示す。グアニンGの場合には、多量体の水和クラスター G_lW_m ($l \geq 2$, $m \geq 1$)が強く観測されるが、単量体の水和クラスターは1水和物 G_1W_1 が僅かに観測されただけである。その理由として、アデニンの場合と同様に1水和物の励起状態の寿命が短いためイオン化されにくいことが考えられる[2]。この可能性を検討するために、メチル置換体を用いて、その水和クラスターの生成を試みた。メチル置換体を用いることにより、互変異性化の阻害や励起状態の性質の変化が期待される。

図2に示すように、1MGと6MGでは単量体の1水和物は強く観測されるのに対し、7MGと9MGではGと同様に単量体の1水和物は殆ど観測されない。しかし、これとは対照的に2量体の水和物は1MGと6MGでは弱く、7MGと9MGでは強く観測された。このことから、2量体以上のクラスターの生成が単量体への水和に影響していることが示唆される。

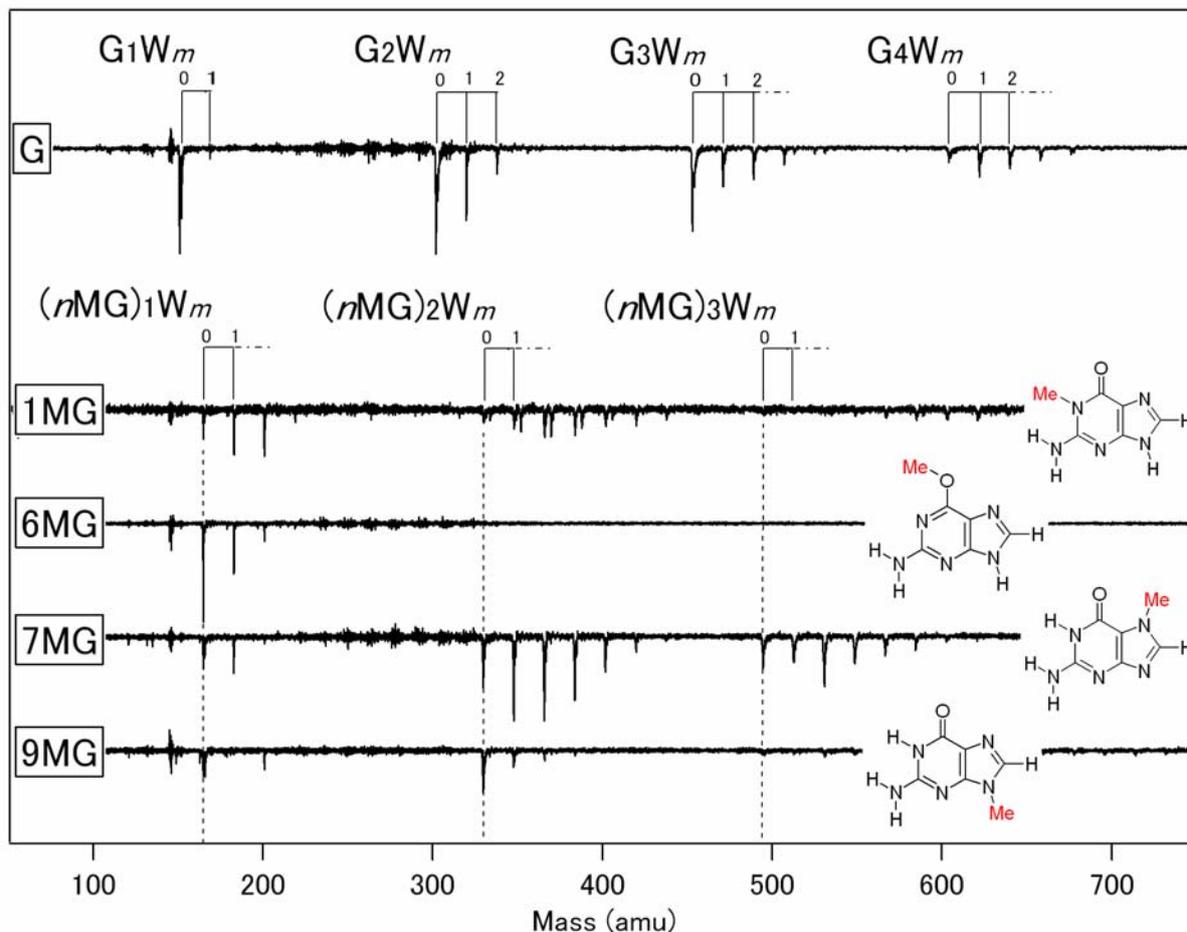


図2.水和クラスターの質量スペクトル

グアニンの2量体 G_2 には2種類の構造異性体が観測されており、これらはいずれも図3に示すようなketo同士が強く水素結合した塩基対と帰属されている[3]。1MGと6MGでは、これらいずれの2量体構造もとることができないため、単量体の存在比が増加し、その結果水和クラスターが生成され易いと考えられる。これに対して、7MGと9MGではGと同様に図3のようなketo同士の水素結合型の2量体をとることが可能になる。多量体がより高効率で生成することにより、単量体の存在比が減少し、単量体の1水和物が生成されにくくなると考えられる。

以上のことから、グアニンにおける単量体の水和の異常性は、励起状態の寿命が短いだけでなく、多量体の生成による単量体の濃度減少が原因であると結論した。

メチル置換体の1水和物のMPIスペクトル

各メチル化グアニンの1水和物のMPIスペクトルを測定した。この結果、すべてのメチル置換体でレッドシフトし、特に、1MGと6MGでは約10nmの著しいレッドシフトを示した。これら1水和物の構造については、現在計算と並行して解析を進めている。

[文献][1] Saigusa, H.; Tomioka, A.; Katayama, T.; Iwase, E. *Chem. Phys. Lett.* **2006**, 119, 418

[2] Kim, N. J.; Kang, H.; Joeng, G.; Kim, Y. S.; Lee, K. T.; Kim, S. K. *J. Phys. Chem. A.* **2000**, 104, 6552

[3] Nir, E.; Janzen, C.; Imhof, P.; Kleinermanns, K.; de Vries, M. S. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, 4, 740

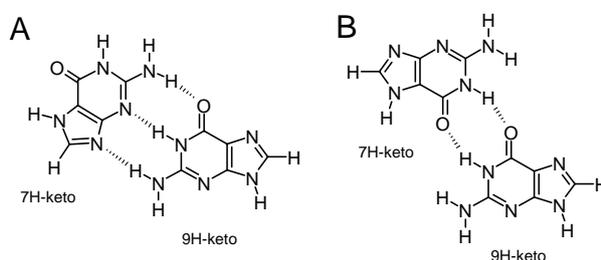


図3.グアニン2量体の構造