

赤外-紫外二重共鳴分光法による 5-ブロモウラシル-グアニン誤塩基対の気相立体構造解析

横浜市立大院・生命ナノ

○小山歩美, 三枝洋之

Gas-phase structural determination of 5-Bromouracil-Guanine mispair by IR-UV double resonance spectroscopy

○ Ayumi Oyama, Hiroyuki Saigusa

Department of Materials System Science, Yokohama City University, Japan

【Abstract】 The natural base pair of guanine(G)-cytosine(C) is essential for maintaining the genetic information, and 5-bromouracil (5BrU) has been known as mutagenesis to form a mismatch pair with G during DNA replication. It was suggested that the G-5BrU pair involved in the mutation is either of the Watson-Crick (WC) type or of the wobble (WB) type. [1] In this work, we employ laser-desorption and supersonic-jet cooling for producing G-5BrU base pairs in the gas phase, and its structural analysis is performed by IR-UV double resonance spectroscopy and ab initio calculations. The observed IR spectrum reveals that the structure of G-5BrU mispair is that with the G moiety in the enol form. Theoretical results show that this structure [G(enol)-5BrU(keto)] is more stable than those of the WC and WB type. The present results are expected to provide new information on the structure of the G-5BrU mispair involved in the mutation.

【序】 DNA の複製において、核酸塩基と構造が似た分子(塩基類似体)が取り込まれることで変異が生じる。変異原性の強い塩基類似体の一つとして5-ブロモウラシル

(5BrU)が知られている。通常グアニン(G)はシトシン(C)と塩基対(G-C)を生成するが[Fig.1(1)], 5BrUがDNAに入るとG-5BrU間で誤塩基対を生成してしまう。これまで、水溶液中ではG-5BrUの構造として、G(keto)-5BrU(enol)のWatson-Crick(WC)構造、G(keto)-5BrU(keto)のwobble(WB)構造が考えられてきた[Fig.1(2)(3)]. [1] しかし、気相でのG-5BrUの構造を解析した研究は行われていなかった。そこで我々は、G-5BrUをレーザー脱離-超音速分子線法により生成することを試みた。その結果、WC構造やWB構造とは異なる誤塩基類構造が存在することを、赤外-紫外二重共鳴分光法によって見出した。

【方法 (実験・理論)】 糖の代わりに9位をメチル基で置換した9-メチルグアニン(9MG)を用いた。9MG-5BrUクラスターの生成には、レーザー脱離-超音速分子線法を用いた。生成したクラスターを二光子共鳴イオン化(R2PI)し、赤外-紫外二重共鳴分光法によって振動スペクトルを測定した。さらに、量子化学計算を用いて最安定構造を探索し、得られた構造に対して安定化エネルギー、振動スペクトルを計算した。また、自然結合軌道(NBO)解析によって水素結合の強度を計算した。

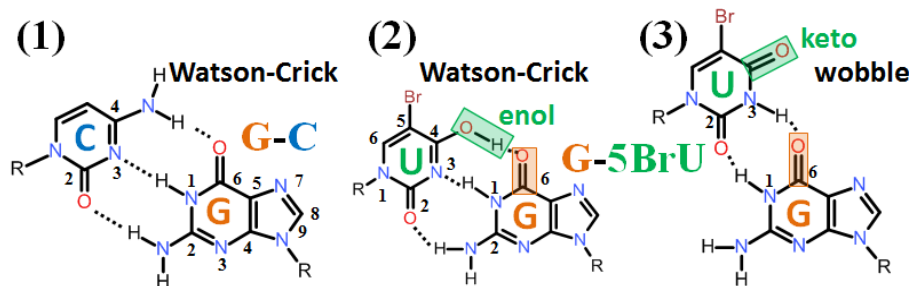


Fig. 1. (1)WC G-C structure. (2)(3)G-5BrU structures proposed to be involved in the mutation. [1] R indicates the sugar-phosphate backbone.

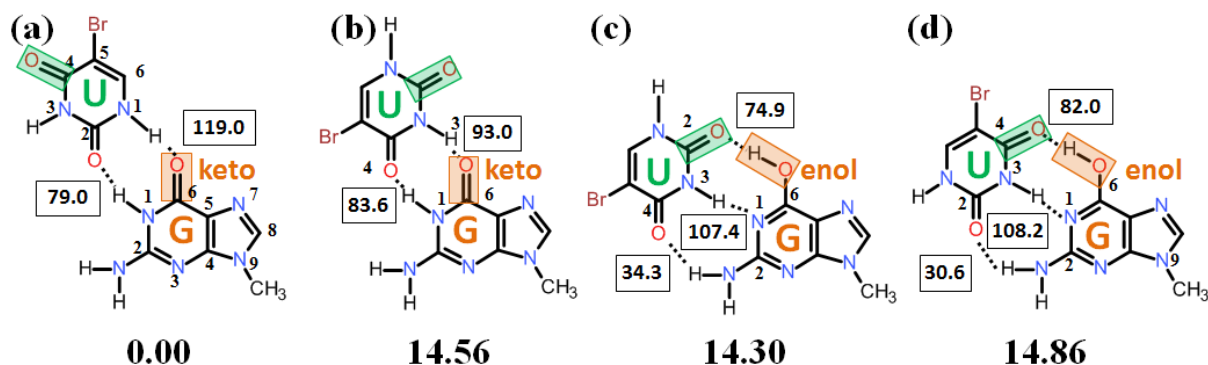


Fig. 2. Low-energy structures of 9MG-5BrU calculated at the MP2/6-31++G(d,p) level. The relative energies are indicated in kJ/mol. The delocalization energies calculated at the B3LYP/6-311G(d,p) level for hydrogen-bonding interactions are shown in boxes in kJ/mol.

【結果・考察】9MG-5BrUの振動スペクトル：
 Fig.3に測定されたスペクトルと、計算によって得られた振動数を比較した。3226と3335 cm^{-1} のピークは、9MGのenol-OHとsNH₂伸縮振動とよく対応することから、観測された塩基対は(c)か(d)(または両方)と推測した。現在、(c)と(d)を区別するために、1550から1800 cm^{-1} の赤外スペクトルを測定している。

9MG-5BrUの最安定構造の探索：構造探索を行なった結果、Fig.2の4つの構造が最安定であった。このことは、Fig.1(2)(3)に示したWC構造やWB構造が不安定であることを示唆している。また、Fig.1のRは糖が付く部分を示しており、DNAではFig.1(1)にあるGとCのように糖が塩基に対して同じ側に付いていないと存在できないため、Fig.2の(a)(b)(c)は存在しない。

したがって、DNAにおいて(d)が存在する可能性が示唆される。観測された構造が(d)であれば、DNA中に存在できる構造を解析することができる。

(a)が観測されない理由：(a)は最安定であるにもかかわらず、(c)(d)が観測された。これはG単量体のketo-enol間にみられる励起寿命の違いが大きく影響していると考えられる。従来、G(keto)ではその励起状態においてN1HやNH₂が大きくプリン塩基面外に変角するため、励起状態の寿命が短くナノ秒レーザーで観測されるのはenolのみであることが報告されている。[2] そのため、(a)(b)よりも(c)(d)はナノ秒レーザーにより観測されやすい構造と言える。Fig.2の枠内に水素結合の強度を示した。(a)(b)は(c)(d)に比べN1HやNH₂が形成する水素結合の強度が弱く、面外変角の動きが抑制されにくいことも主な原因と考えられる。この点で9MG-5BrUのketoの励起寿命はG単量体に近いものになっていると推測される。このことは実験結果と定性的に良く一致している。

【参考文献】

- [1] L. C. Sowers, M. F. Goodman, R. Eritja, B. Kaplan and G. V. Fazakerley, *J. Mol. Biol.* **205**, 437 (1989).
 [2] S. Yamazaki, W. Domcke, A. L. Sobolewski, *J. Phys. Chem. A*, **112**, 11965 (2008).

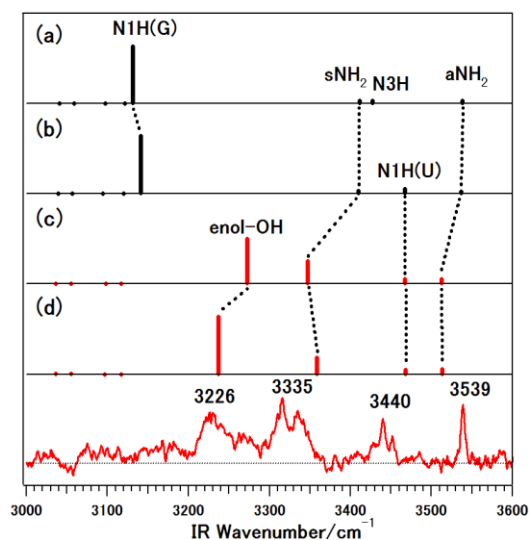


Fig. 3. IR-UV double resonance spectrum of 9MG-5BrU. IR spectra calculated at the MP2/6-31++G(d,p) level (scaled by a factor of 0.94) are also shown in (a)-(d).