

赤外吸収による DNA 薄膜の構造と水和性評価

久保翔志, 宮崎大輝, 山口桂司, 横井裕之, 渡邊純二, 黒田規敬 (熊本大学大学院自然科学研究科)
谷口正輝, 川合知二 (大阪大学産業科学研究所)

1. 緒言

DNAの二重螺旋を形成してスタックしている核酸塩基対が電子を多く含むため電気特性が期待されている。しかし, アデニン(A), チミン(T), グアニン(G), シトシン(C)という4種の塩基の配列や温度・湿度等の環境などにより構造や結合する水分子の数が異なるため, 電気伝導機構についての正確な知見がまだ得られていない。そのため, DNAの構造と水和性との関係を解明することは重要な研究課題である。

本研究では, 塩基配列の一般的な人工合成鎖DNAにおける水分子密度や二重螺旋構造の形態などの温度・湿度依存性を赤外分光法により調査し, DNAの構造と水和性の関係についての知見を得ることを目的とする。

2. 実験方法

試料は Si 単結晶基板上にスピコートした poly(dG)-poly(dC)DNA 薄膜と, 電気伝導の向上を目的とし同じく Si 単結晶基板上にスピコートしたヨウ素をドーブした poly(dG)-poly(dC)DNA I₂ 薄膜を使用する。測定温度範囲を 223 K から 423 K とし, フーリエ変換赤外分光装置を用いて赤外吸収スペクトルの測定を行う。また, 273 K から 423 K の温度域で, 温度を一定に保ち, 純水のバブリングにより湿度を変化させ赤外吸収スペクトルの測定を行う。

3. 実験結果および考察

Fig. 1 に poly(dG)-poly(dC)DNA 薄膜の赤外吸収スペクトルの温度依存性を示す。測定セル内を密封して温度を変化させているため, 湿度の値は一定ではない。3400 cm⁻¹ 付近に温度に強く依存する吸収構造が観測される。これは DNA に結合している水分子の OH の伸縮振動によるものであるが, 423 K 近くの高温でこれらの水分子はほとんど脱離する。そこで, 1240 cm⁻¹ 付近に観測される PO₂⁻ の非対称伸縮振動

による吸収構造の強度^[1]を用いて各温度での水分子の吸収構造の強度を規格化し, ヌクレオチド一個あたりの水分子の数(water molecules per nucleotide : wpn)をそれぞれの温度で算出した。Fig.1の挿入図はその結果を示している。

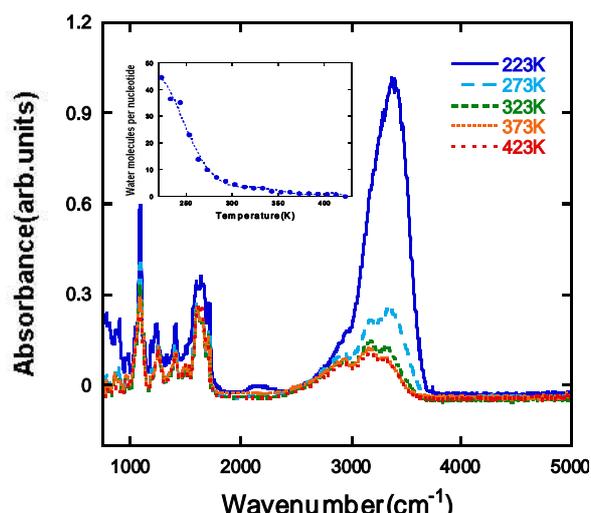


Fig.1 poly(dG)-poly(dC)DNA 薄膜の赤外吸収スペクトルの温度依存性。

このサンプルを 223 K 近くの低温にすると A 型構造特有の吸収バンド^[2]が観測される。Fig.2はその1つである 1184 cm⁻¹の吸収構造の強度を, 前述した PO₂⁻ の非対称伸縮振動による吸収の強度で規格化した, 相対強度の温度依存性を示したものである。温度が上昇するにつれ A 型から不規則構造へ変化することが示唆される。また, この吸収と wpn との相関性を Fig.3 に示す。DNA の構造変化には結合している水分子が強く影響していることがこれより分かり, wpn の値が約 10 個以下になると不規則構造になると示唆される。

上に述べた実験では湿度が制御されていないので, 温度を 273 K, 303 K, 323 K, 373 K および 423 K で一定に保ち, 純水のバブリングを行うことにより湿度を変化させて wpn の温度-湿度依存性を調査した。その結果を Fig.4 に示す。これまでの報告から poly(dG)-poly(dC)DNA は, 室温において相対湿度 92% 付近で B 型の構造を

とることが知られている^[3]。そこで、温度依存性と同様に分子振動吸収の積分強度の変化から構造を調べ、A型、B型、A-B共存、不規則構造をプロット別に Fig.4 に示している。ここで湿度軸は、バブリングしたガスがセルに入る直前の相対湿度の値を示している。303 K 以下の温度では、湿度の上昇に伴い wpn の値も上昇するが、323 K 以上の温度では湿度を上昇させても wpn の値はほとんど変化しないことが分かる。また、wpn の値が数個以下の時、不規則な構造を示しており、wpn の値が上昇すると安定な構造をしていることが分かる。

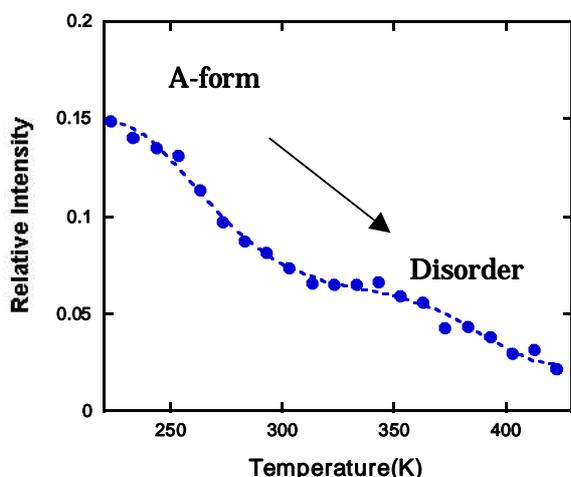


Fig.2 poly(dG)-poly(dC)DNA 薄膜の 1184cm⁻¹での相対積分強度の温度依存性.

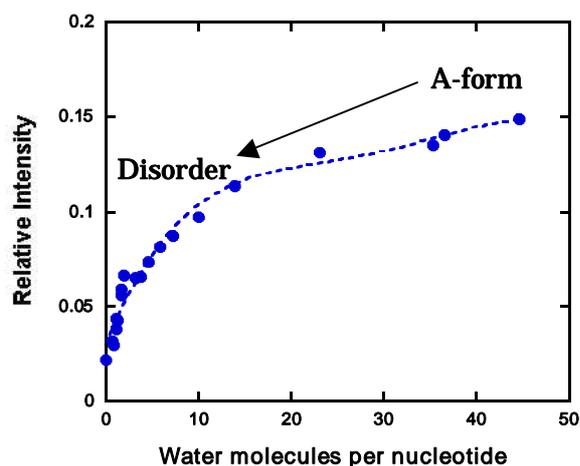


Fig.3 poly(dG)-poly(dC)DNA 薄膜の 1184cm⁻¹での相対積分強度と wpn との相関性.

ドライ窒素ガスをフローしながら 423K まで温度を上昇させ、結合している水分子をほぼ除去したときの poly(dG)-poly(dC)DNA 薄膜と poly(dG)-poly(dC) DNA I₂ 薄膜の赤外吸収ス

ペクトルを比較すると低波数側で違いが見られる。そこで、poly(dG)-poly(dC)DNA I₂ 薄膜の赤外吸収スペクトルから poly(dG)-poly(dC) DNA 薄膜の赤外吸収スペクトルを差し引いた結果を Fig.5 に示す。この差は電子励起に対応した吸収構造かもしれないが、詳しいことはまだ分かっていない。

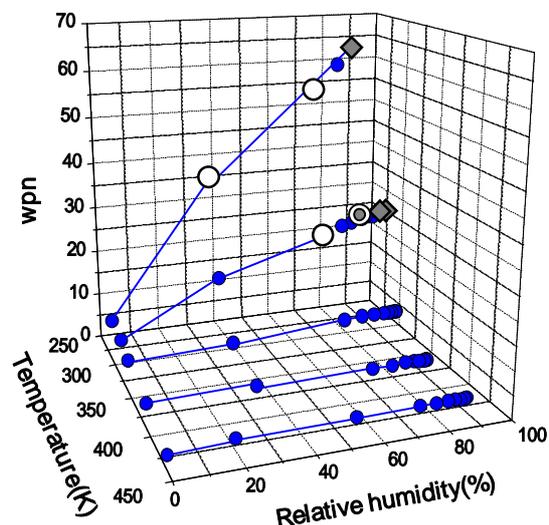


Fig.4 wpn の温度-湿度依存性.
(○:A型, ◆:B型, ⊙:A-B共存, ●:不規則構造)

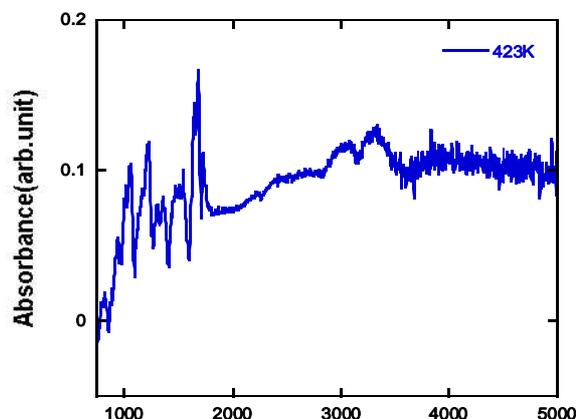


Fig.5 poly(dG)-poly(dC) DNA I₂ 薄膜と poly(dG)-poly(dC)DNA 薄膜と差スペクトル

参考文献

- [1] S.V.Kornilova et al., Biophys. 39 (1994) 404.
- [2] M.Banyay et al., Biophys.Chem. 104 (2003) 477.
- [3] W.ゼンガー 著, 西村善文 訳:「核酸構造下」, シュプリンガー・フェアラーク東京(株) (1987).

問い合わせ先

熊本大学大学院 自然科学研究科
 極限物性学研究室 黒田規敬
 Tel : 096-342-3726
 E-mail : kuroda@msre.kumamoto-u.ac.jp