

新しい蛍光性人工塩基の開発

東京工業大学大学院生命理工学研究科 関根光雄

遺伝子検出・診断には検出プローブとなる機能性官能基が必要になる。とくに、蛍光性官能基はその検出システムの簡便性から、汎用されてきた。しかし、今日、多くの研究者が活用している蛍光性官能基は Cy3 や Cy5 で代表されるような米国で開発されたものが多い。また、蛍光発光の機構も複雑で、望ましい蛍光性化合物を理論的アプローチにより分子設計するのは、困難であることが多い。一方、核酸塩基には、エテノアデニンや7-メチルグアニンなどのように比較的単純な修飾反応で、蛍光性塩基になるものも数多く報告されている。

我々は、N-カルバモイルシトシン塩基を導入した一連の人工核酸の合成研究の過程で、二環性の蛍光性人工塩基を偶然見いだした。本研究では、この蛍光性塩基をもつデオキシヌクレオシドの合成とさらに蛍光特性に優れた新規修飾塩基の開発について報告する。

N-カルバモイルシトシン塩基は通常、環内3位の窒素と分子内水素結合し、ワトソン-クリック塩基形成部位がブロックされた構造をもつ。しかし、この修飾塩基は相補塩基にグアニン塩基がくると、この分子内水素結合がほどかれ、カルバモイル基のカルボニル酸素が5位のビニル水素と分子内水素結合をとることがわかった。しかし、このコンホメーション変化によるエンネルギーロスのため、全体の塩基対形成エネルギーはあまり大きくない。そこで、我々は、カルボニル酸素が5位のビニル水素と分子内水素結合した構造を固定した誘導体 (dC^{hpp}) を合成した。その結果、この新規化合物が強い蛍光を放つことがわかった。

また、この修飾塩基を DNA に組み込み相補鎖とハイブリダイゼーション能を調べたところ、相補塩基がグアニン塩基の場合蛍光が消光することがわかった。300 nm で励起すると、360 nm に λ_{\max} をもつ発光スペクトルが得られた。しかし、実際に蛍光を観察するためには、蛍光の発光領域ができるだけ、超波長になるのが望ましい。また、励起と発光の領域幅が広ければ広いほど好ましい。このいわゆる Stokes シフトの改善を目的に、さらに種々の二環性 N-カルバモイルシトシン塩基を合成し検討した結果、ピロール基を導入した誘導体 (C^{ppp}) が極めて優れた蛍光特性をもつことを見いだした。すなわち、励起波長 369 nm で発光波長 490 nm で、Stokes シフトが 121 nm というこれまでに類例がない蛍光特性をもっていた。