

12 塩基対二本鎖 DNA の鎖切断過程：溶媒中のカウンターカチオンの効果

○及川 啓太¹, 菱沼 直樹¹, 菅野 学¹, 木野 康志¹, 秋山 公男², 河野 裕彦¹¹東北大院理, ²東北大多元研

keita.oikawa.q2@dc.tohoku.ac.jp

【序】DNA が放射線に曝されると鎖が切断され、塩基配列が正しく転写されず、生体に発ガンなどの悪影響を与えることが知られている。近紫外線の照射による短い一本鎖 DNA の鎖切断^[1] など多くの研究が進められてきた。しかしながら、生体内に存在する二本鎖 DNA の鎖切断の機構に関しては解明すべき点も多い。例えば、溶媒や塩基配列の違いがどのような影響を及ぼすのか分子論的な理解が求められている。本研究では、溶媒を含む二本鎖 DNA を対象にして鎖切断の化学反応動力学シミュレーションを行い、その機構解明を目指す。また、我々が行った真空中における二本鎖 DNA のシミュレーション結果^[2] と比較し、溶媒中のカウンターカチオンが鎖切断に及ぼす効果について考察する。

【対象と手法】X 線結晶構造データが公開されている溶媒を含む B 型の 12 塩基対二本鎖 DNA [d(CGCGAATTCGCG)]₂^[3] を対象とした。溶媒は Na⁺ 18 個、Mg²⁺ 1 個、H₂O 148 分子、スペルミン 1 分子で構成されている。電子状態計算には、密度汎関数法 (DFT) より高速計算が可能な密度汎関数強束縛 (DFTB) 法^[4] の一つである DFTB3^[5] を用いた。電荷揺らぎを適切に考慮している DFTB3 は、DFT と精度が近く、生体分子に適している。構造最適化して得られたこの系の平衡構造を図 1 に示した。放射線によって二本鎖 DNA が高い熱エネルギーを得たと仮定し、DNA 鎖 (溶媒を除く) に 1150 K 程度の熱エネルギーを与えて、系全体の反応動力学シミュレーションを行った。鎖切断過程における分子内エネルギー移動を調べるために、分子の全エネルギーを各原子の成分和として表す原子分割エネルギー法を適用した。電荷・エネルギー移動の解析から鎖切断過程を分子レベルで考察した。

【結果と考察】シミュレーションで見出された鎖切断は全てリン酸基の P-O 切断であった。真空中の二本鎖 DNA の場合には糖 - リン酸基間の C-O 結合が切断しており^[2]、溶媒の存在により切断部位が異なっている。切断過程におけるリン酸基および隣接するヌクレオチドの Mulliken 電荷を解析したところ、電荷の変化はほとんど見られなかった。これは、溶媒中のカウンターカチオンの存在により分子内の電荷移動が抑制されたためと考えられる。リン酸基の P-O 切断が起こった要因として、溶媒中の Na⁺ によるリン酸基の中間体形成が考えられる。中間体により P-O 切断の活性化エネルギーが下がり、ポテンシャル障壁を乗り越え易くなったと推測する。また、エネルギー変化を解析すると、リン酸基とそれに隣接するヌクレオチドとの間でエネルギーの授受を何度も繰り返していることが分かった。鎖切断の直前に、隣接するヌクレオチドからリン酸基に対して約 2.0 eV のエネルギーが流入しており (図 2)、このエネルギーが鎖切断に使われたと考えられる。Na⁺ をリン酸基から離れた場合との比較、他のカチオンとの比較についても議論する。

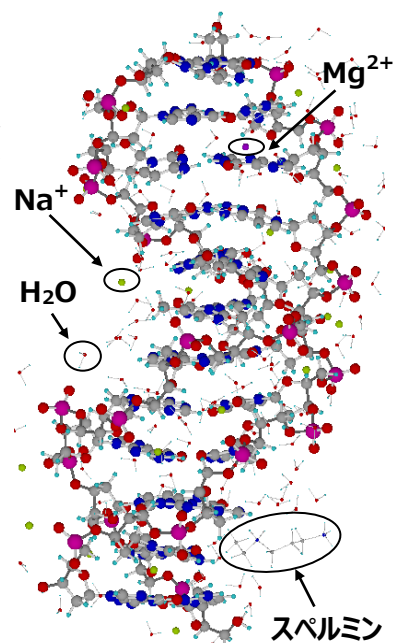


図 1
溶媒を含む 12 塩基対二本鎖 DNA

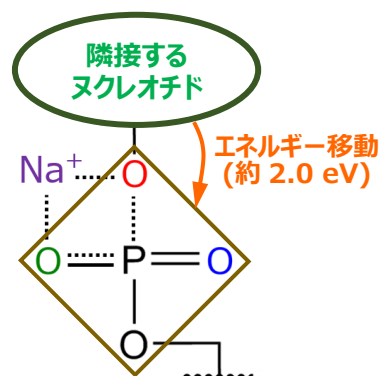


図 2
中間体となったリン酸基へのエネルギー移動 (約 2.0 eV)

[1] L. Zhu, G. R. Parr, M. C. Fitzgerald, C. M. Nelson, and L. M. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 6048 (1995).

[2] 菅野 学ら, 第 19 回理論化学討論会, 口頭発表

[3] PDB ID: 355D, X. Shui, L. McFail-Isom, G. G. Hu, and L. D. Williams, *Biochemistry* **37**, 8341 (1998).

[4] M. Elstner et al., *Phys. Rev. B* **58**, 7260 (1998). [5] M. Gaus et al., *J. Chem. Theory Comput.* **7**, 931 (2011).