

(広島大院・理、広島大 QuLiS) ○吉田 智喜、相田 美砂子

【序】 8-Oxoguanine (8OG)は、Guanine (G)の酸化によって生成する、酸化的 DNA 損傷による生成物の一つである。8OG の生成により、主に G:C→T:A への変異が起こることが知られているが、他の種類の変異も多く観測されており、8OG による変異のメカニズムの詳細はよくわかっていない。

【方法】 (A)核酸塩基の互変異性は突然変異の原因の一つである。互変異性体間の安定性の順序を明らかにすることを目的として、G および 8OG の互変異性体の相対エネルギーを MP4(SDTQ)、CCSD(T) までを含む様々な手法、基底関数の組合せにより計算した。

(B)核酸塩基の *syn* 型と *anti* 型の間の変換は、突然変異を引き起こす原因の一つである。正常な Watson-Crick 型の塩基対は *anti* 型においてのみ形成されるものである。*syn* 型と *anti* 型の変換は、核酸塩基と糖をつないでいる N-グリコシド結合の回転によって引き起こされる。しかし、8OG における N-グリコシド結合の回転についての理論計算はこれまで行われていない。そこで、3',5'-OMe-8-oxodG および、3',5'-OMe-dN(N=A, T, G, C)に対し、N-グリコシド結合 χ の回転に対するポテンシャルエネルギーの変化を *ab initio* MO 法によって計算した。糖のコンフォメーションについては、North 型あるいは South 型、主鎖の二面角 γ について+*sc* あるいは *ap* の組み合わせにより、それぞれのモデル分子に対して 4 通りのポテンシャルエネルギー曲線を得た(Fig. 1, Fig. 2)。

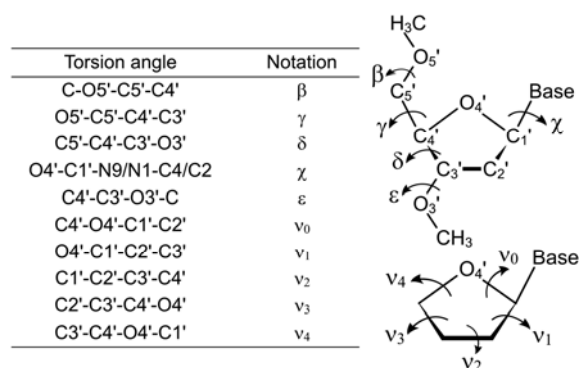


Fig. 1 Atom numbering and the notation of torsion angle

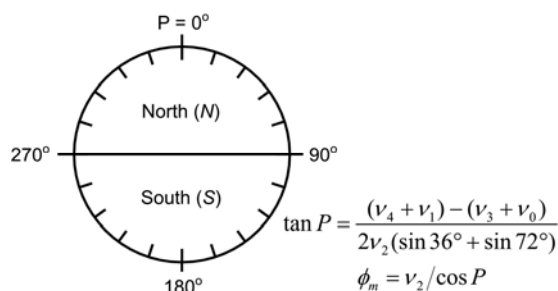


Fig. 2. Pseudorotation cycle and the definition of the phase angle of pseudorotation P and the degree of pucker ϕ_m .

【結果】 (A)8OGには 96 通り、Gには 36 通りの互変異性体が考えられる。そのすべてについて MP2/6-31G(d)で構造最適化を行い、相対エネルギーを比較することで、8OGについて2通り、Gに対して4通りの主要な互変異性体を得た(Fig. 3)。これについてさらに詳細な計算を行った¹⁾。Table 1にその一部を示す。Gにおいては、MP4(SDTQ)/aug-cc-pVDZおよびCCSD(T)/aug-cc-pVDZのどちらでも、相対エネルギーは 6-keto-H7 < 6-keto < 6-enol-cis < 6-enol-transの順であることがわかる。しかし、8OGにおいては、CCSD(T)/aug-cc-pVDZでは、6-enol-8-keto型のほうが 6,8-diketo型よりも安定となるが、MP4(SDTQ)/aug-cc-pVDZでは 6,8-diketo型のほうが安定となった(Table 1)。8OGの互変異性体間の安定性の順序については、この計算レベルをもってしても明らかにすることはできないようだが、keto型に対するenol型の存在比は、どのような手法、基底関数の組合せを用いても、8OGの方がGよりも大きいことがわかった(Table 2)。6-enol型の 8OGは、Thymine (T)と塩基対を形成することが可能であり、G:C→A:Tへの変位を起こしうる。enol型の存在比が大きいことが、8OGが様々な変異を起こしうる原因の一つであると考えられる。

level	8OG		G			
	6,8-diketo	6-enol-8-keto	6-keto-H7	6-keto	6-enol-cis	6-enol-trans
MP2/cc-pVDZ	0.00 (0.00)	-0.49 (-0.61)	0.22 (0.32)	0.00 (0.00)	0.88 (0.91)	1.39 (1.46)
MP2/cc-pVTZ	0.00	-0.97	-0.53	0.00	-0.07	0.16
MP2/aug-cc-pVDZ	0.00 (0.00)	-0.40 (-0.62)	-0.73 (-0.54)	0.00 (0.00)	0.35 (0.29)	0.60 (0.56)
MP2/aug-cc-pVTZ	0.00	-0.45	-0.78	0.00	0.19	0.36
MP4(SDTQ)/cc-pVDZ ^a	0.00	0.51	0.17	0.00	1.72	2.27
MP4(SDTQ)/aug-cc-pVDZ ^b	0.00	0.52	-0.80	0.00	1.14	1.47
CCSD(T)/cc-pVDZ ^c	0.00	-0.49	0.16	0.00	0.61	1.21
CCSD(T)/aug-cc-pVDZ ^c	0.00	-0.46	-0.70	0.00	0.15	0.52
CCSD(T)/aug-cc-pVDZ ^b	0.00	-0.41	-0.75	0.00	0.17	0.54

Table 1. Relative energies of 8OG and G tautomers in kcal/mol. The zero-point energy corrected values are in parentheses. ^ageometry at MP4(SDQ)/cc-pVDZ. ^bgeometry at MP4(SDQ)/aug-cc-pVDZ. ^cgeometry at CCSD/cc-pVDZ

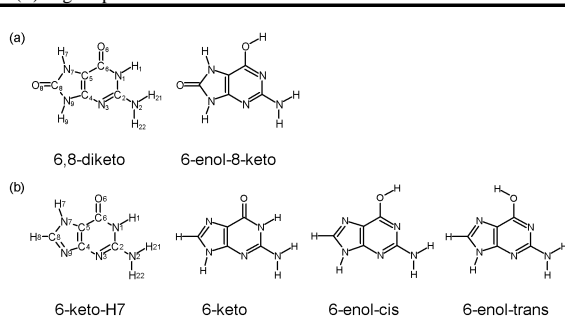


Fig. 3. Schematic representation and atom numbering of major tautomers of (a) 8-oxoguanine and (b) guanine.

level	8OG	G	
	K ^a	K ^b	K ^c
MP2/cc-pVDZ	2.30 (2.83)	0.23 (0.21)	0.10 (0.08)
MP2/cc-pVTZ	5.21	1.13	0.77
MP2/aug-cc-pVDZ	1.97 (2.87)	0.55 (0.61)	0.36 (0.39)
MP2/aug-cc-pVTZ	2.14	0.72	0.55
MP4(SDTQ)/cc-pVDZ ^a	0.42	0.05	0.02
MP4(SDTQ)/aug-cc-pVDZ ^b	0.41	0.14	0.08
CCSD(T)/cc-pVDZ ^c	2.29	0.36	0.13
CCSD(T)/aug-cc-pVDZ ^c	2.18	0.77	0.41
CCSD(T)/aug-cc-pVDZ ^b	1.99	0.75	0.40

Table 2 Relative population of 6-enol form to 6-keto form.

^a[6-enol-8-keto]/[6,8-diketo]. ^b[6-enol-cis]/[6-keto].

^c[6-enol-trans]/[6-keto]. The values in parentheses correspond to those using the zero-point energy corrected energies.

(B) 通常の核酸塩基に対する4種のモデル分子(3',5'-OMe-dN, N=A, T, G, C)では、 $\gamma = +sc$ である場合、 $\chi = 120^\circ$ 付近を越える *syn* 型から *anti* 型への変換の障壁が極めて低いことがわかった (Fig 4 (b))。さらに、*anti* 型が *syn* 型より大きく安定(約 4kcal/mol)であった。これらのことは通常の B 型 DNA 中でこれらの核酸塩基の多くが *anti* 型をとっていることと対応する。これに対し 3',5'-OMe-8-oxodG では、*anti* 型と *syn* 型のエネルギーに大きな差が存在しないことがわかった。さらに、 $\chi = 120^\circ$ 付近を越える *syn* 型から *anti* 型への変換には大きな障壁が存在していた (Fig. 4(a))。以上のことより、8-oxodG は dG や他の核酸塩基に比べ、*syn* 型をとる確率が高くなっていることがわかった。MP2/6-31G*レベルでも、定性的には HF/6-31G*レベルでの結果と変わらなかった。*syn* 型の 8OG は Adenine(A)と塩基対を形成することが可能であるため、修復がされなければ G:C→T:A への突然変異を引き起こしうる。8OG が G に比べ、*syn* 型で存在する確率が高いこともまた、8OG が様々な変異を起こしうる原因の一つであると考えられる。【まとめ】 8OG による G:C→A:T, G:C→T:A への突然変異は、異なるメカニズムによって引き起こされていることが明らかとなった。

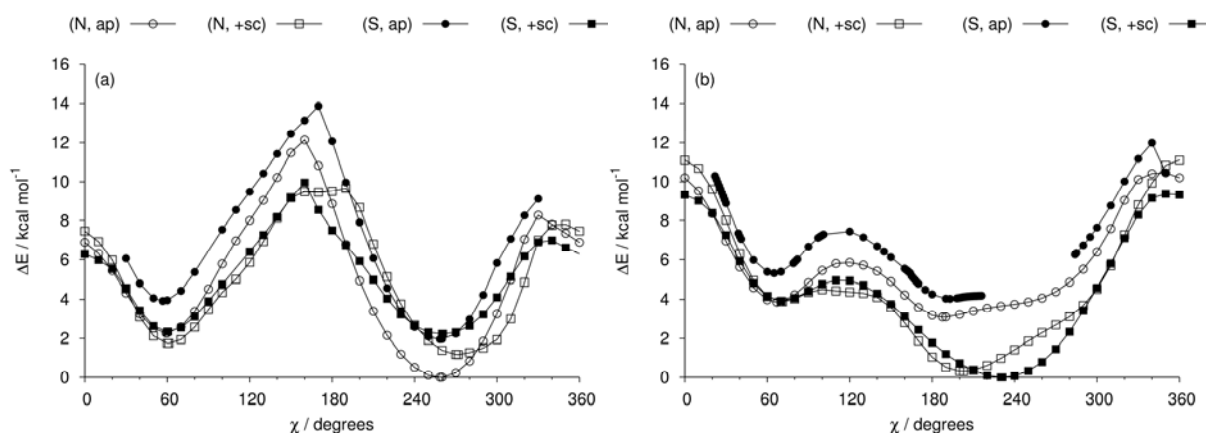


Fig. 4 Potential energy curves around N-glycosidic bond at the level of HF/6-31G* (a) 3',5'-OMe-8-oxodG, (b) 3',5'-OMe-dG.

【Reference】 1) T. Yoshida, M. Aida, *Chem. Lett.* **2006**, 35, 924.