

グアニン塩基対の微細水和構造の理論的解析

(横浜市大院生命ナノ) 浅見裕也 ○三枝洋之

【序】 DNA の高次構造は、相補的に対合する鎖上の塩基間のワトソン-クリック型水素結合と、同じ鎖上の隣り合った塩基間のスタッキング相互作用のバランスで決定される。一方、DNA の構造は湿度により変化することから、水和が重要な役割を果たしていることがわかる。しかし、DNA を取り囲む水分子が高次構造形成にどのように影響を及ぼすのかは明らかではない。我々はこのような核酸塩基の微細水和構造を分子レベルで検討するため、塩基対とその水和クラスターを気相孤立化し、その構造決定を行ってきた。本研究では、グアニン-グアニン、グアニン-シトシン塩基対とその一水和物について、平面型水素結合構造(pl)とスタッキング構造(st)のいずれが安定であるかを *ab-initio* MO 法を用いて検討した。

【計算手法】 実際の計算では、DNA 中の糖-リン酸基バックボーンをメチル基で置換した 9-methylguanine(9MG) と 1-methylcytosine(1MC) (図 1) を用いた。これらの塩基対 9MG-9MG(GG) と 9MG-1MC(GC)、及びそれぞれの一水和物について構造解析を行った。特に、pl 構造と st 構造とその一水和物の安定性を高精度に評価することにより、水和による微細構造の変化と最適な電子状態計算のレベルを探った。

GG と GC 塩基対、及びその一水和物について、MP2/6-31++G** で構造最適化を行なった後、

- (a) B3LYP/6-31++G(d,p)、
- (b) MP4(SDQ)/6-31++G(d,p)、
- (c) CCSD/6-31++G(d,p)

の 3 レベルで一点計算を行った。また計算レベルの比較のため、GG においては CCSD(T)/6-31++G(d,p) のレベルで一点計算を行い、結合エネルギー (BE) を評価した。

【結果】 ① GG 塩基対の BE の評価 :

B3LYP 法では pl 構造は構造最適化が可能であったが、st 構造は収束しなかった。そのため、図 2 に示すように st 構造の BE は非常に小さい。また MP2、MP3、MP4(DQ)、MP4(SDQ) と摂動計算のレベルを上げると、st 構造の BE が大きく変動する。

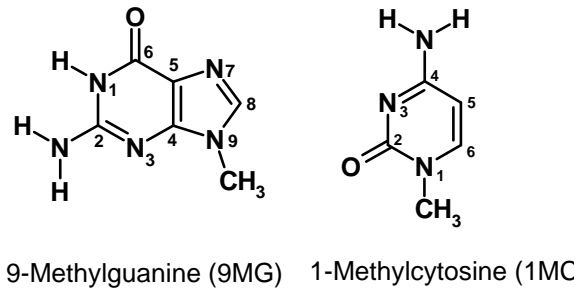


図 1. 9MG と 1MC の構造

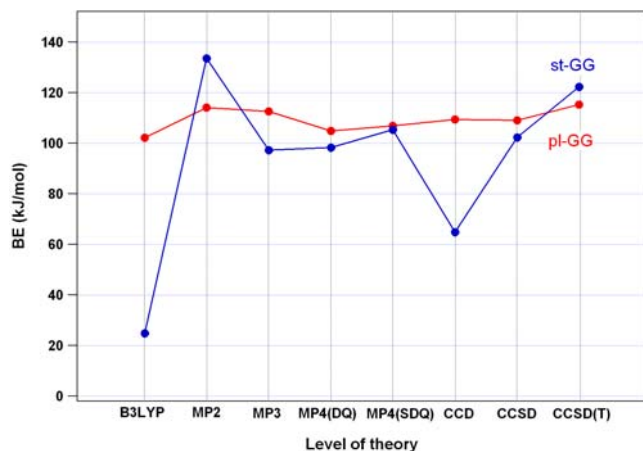


図 2. GG 塩基対構造の BE の計算レベル依存性. 8 種の計算レベルで BE を比較した。構造は全て MP2/6-31++G(d,p) レベルで最適化した後、各種計算レベルで一点計算を行った。

これは MP2 レベルではスタッキングによる π 電子の非局在化エネルギーを大きく評価し過ぎているためと考えられる。さらに CCD、CCSD、CCSD-T とカップルドクラスター計算のレベルを上げると、摂動計算のレベルを上げた場合と逆の傾向がみられた。このことから st 構造に存在する π 電子の相互作用を正しく見積るためには、より高次の摂動計算を用いるか、高次のカップルドクラスター計算を行う必要があることが明らかとなった。しかしながら計算コストの増大がボトルネックとなるため、少なくとも MP4(SDQ)、または CCSD のレベルで評価するのが、現状では望ましいと考える。

②GG 塩基対と GC 塩基対の一水和物の安定構造：

図 3 に GG と GC の一水和物の最安定構造を示す。GG の場合、pl-GG 構造の塩基 2 位のアミノ基と O6 との間に水和した pl-Wg2g6 [図 3(a)] と、st-GG 構造の一つの塩基の N1H、N2H と他方の O6 との間に水が架橋した st-Wg12g6 [図 3(b)] の構造が、CCSD/6-31++G(d,p) レベルでほぼ等エネルギーとなった。図 2 に示した GG 単体の場合と比較すると、st 構造が水和によってかなり安定化していることが分かる。これは、塩基間に存在する弱い水素結合が水和によって強化されるためと考えられる。

一方、GC においては、ワトソン-クリック型構造 pl-GC に由来する 2 つの水和構造が最安定となった。そのうち 1 つは、シトシン 4 位のアミノ基とグアニン O6 位の間に水和した pl-Wg6c4 構造[図 3(c)]、もう 1 つはグアニンの O6 と N7 位の間に水和した pl-Wg67 構造[図 3(d)]である。特に wc-Wg6c4 の構造では水分子の影響を強く受け、GC 塩基対ではほぼ平面的であった構造が水和により面外に変形した。このことは、生体中に存在する DNA においても周囲に存在する水分子の影響により、柔軟に構造変化を起こす可能性を示唆している。

発表では、赤外振動スペクトル測定により決定した水和構造[1,2]との比較、MP4(SDTQ)レベルでの BE と、水和物 BE の計算レベル依存性についても紹介する予定である。

【文献】

[1] 浦島 浅見 大場 三枝 本討論会口頭発表 3A02.

[2] S. Urashima, H. Asami, M. Ohba, H. Saigusa, *J. Phys. Chem. A* 2010 DOI:10.1021/jp102918.

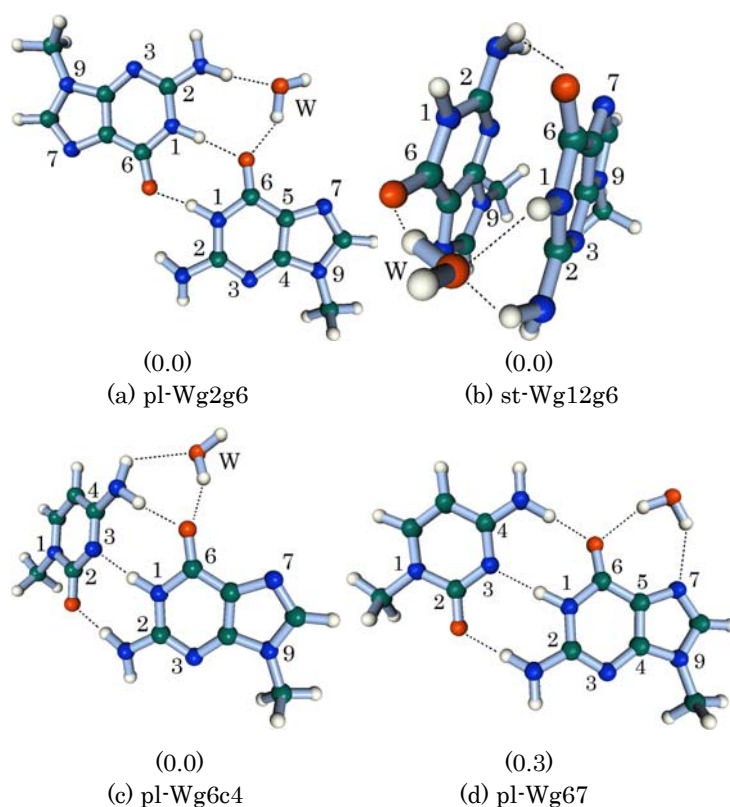


図 3. GG 及び GC 一水和物の安定構造. 図中の値は CCSD/6-31++G(d,p) レベルで見積もった相対エネルギー(kJ/mol).