

第一原理分子軌道計算による

DNA 塩基対の異性化反応の遷移状態の探索

(豊橋技術科学大学大学院¹、ウクライナ科学アカデミー²)野村和哉¹、干場靖浩¹、Victor I. Danilov²、栗田典之¹

Ab initio MO study on transition states

between wobble and tautomeric DNA base pairs

(Toyohashi University of Technology¹, National Academy of Sciences of Ukraine²)Kazuya Nomura¹, Yasuhiro Hoshiba¹, Victor I. Danilov² and Noriyuki Kurita¹

【はじめに】

生命の遺伝情報を担う DNA 二重鎖の形成において、Watson と Crick が提案した標準的な塩基対 (G-C, A-T) が、相補的な水素結合相互作用により正確に形成されることが重要である[1]。DNA の複製過程において、新しい DNA 鎖が正しく合成されるためには、この塩基の相補性が必須である。しかし、DNA ポリメラーゼが、間違っただヌクレオチドを挿入することで、突然変異を引き起こすことがある。この原因の一つとして塩基対の互変異性による影響が考えられる。実際、DNA 複製の際に、互変異性によって引き起こされるエラーの頻度は $10^{-4} \sim 10^{-5}$ であり、互変異性を引き起こす機構を解明することは非常に重要である。また、特定の塩基対がゆらぎ位置で出現する原因を理解するため、様々なコドン・アンチコドン相互作用の組み合わせが調査され[2]、12 量体の $d(\text{CGCGAATTTGCG})_2$ 二重鎖において、ゆらぎ塩基対(wG-T)が2つ存在することが実証された[3]。wG-T 塩基対は2つのプロトン移動により、enol 型 G (G*) あるいは enol 型 T (T*) を含む G-T 塩基対へ互変異性化することができる。

本研究では、wG-T 塩基対の互変異性の可能性を解明するため、第一原理分子軌道計算を用い、wG-T から G*-T あるいは G-T* の塩基対に互変異性化する反応機構を解析した。

また、変異原性の強い塩基類似体の一つである Bromouracil (BrU) は、enol 型の互変異性体となり、A ではなく G と誤った塩基対を形成することが知られている。そこで、BrU の影響を明らかにするため、wG-BrU 塩基対に対し同様の解析を行い、BrU の異性化反応への影響を調べた。

【計算手法】

本研究では、まず、wG-T、wG-BrU とそれらの互変異性化構造 G-T*、G*-T、G-BrU* 及び G*-BrU の構造を第一原理分子軌道計算プログラム Gaussian09(G09)の M06/6-311++G(d,p)法、及び MP2/6-31G(d,p)法を用い、真空中で最適化した。次に、G09 の QST2、QST3 法を用い、これらの塩基対構造間の遷移状態(TS)を探索した。QST3 計算では、反応前後の構造に TS の候補構造を付け加えた3つの構造を基に、TS 構造を探索した。その後、得られた TS 構造が遷移状態であることを確かめるため、振動解析を行い、虚数振動数が1つのみであることを確認した。最後に、TS 構造を初期構造として、G09 の IRC 計算 (ステップ数 30) を行い、TS 構造から反応前後の構造への構造変化を解析し、得られた TS 構造が2つの構造を結ぶ遷移状態であることを確認した。

【計算結果と考察】

G09 の MP2/6-31G(d,p)法と QST 法により求めた3種類の G-T 塩基対間の遷移状態を Figure 1 に示す。求めた構造は、1つの虚数振動数を持ち遷移構造である。M06/6-311++G(d,p)法を用いた場

合も、ほぼ同じ結果が得られている。TS(wG-T→G*-T)及び、TS(wG-T→G-T*)については、TのプロトンがGに転移し、Tの構造が変化した後、Gからのプロトン転移によってG*-T、G-T*の構造へと遷移するため、Gにプロトンが3つ存在する構造が遷移状態となる。また、TS(G-T*→G*-T)については、プロトンの移動によってG-T*からG*-Tの構造に変化するため、2つの構造間のほぼ等距離にプロトンが存在している構造が遷移状態となる。

各構造の相対的なエネルギーを、Figure 2 に示す。黒字の値はMP2/6-31G(d,p)法で求めた結果、青字の値はM06/6-311++G(d,P)法で求めた結果である。MP2/6-31G(d,p)法による結果では、3つの塩基対の中で、G*-Tが最安定であり、wG-T、G-T*はそれぞれ、1.0, 2.3 kcal/mol 不安定である。wG-TからG*-T及びG-T*に変化する反応障壁が等しく19.4 kcal/molであり、G-T*とG*-T間の反応障壁は4.8 kcal/molである。この結果から、wG-TからG*-T及びG-T*への反応は同じ遷移構造を通して起こり、反応確率も等しくなるが、最終的には、G*-Tの構造がより安定であるため、G-T*からG*-Tへの互変異性化が起り、G*-Tの構造の割合が多くなる。M06/6-311++G(d,P)法で求めた結果も、同様の傾向にある。

また、wG-BrU、G-BrU*、G*-BrUの塩基対に関しては、wG-BrUからG-BrU*及びG*-BrUへの反応障壁は17.0 kcal/molとなり、wG-T塩基対の場合と比べ2.4 kcal/mol低くなる。従って、Brの影響により反応障壁が下がり、wG-Tよりも異性化し易くし、enol型塩基を生成し易くすることが明らかになった。その結果、BrUの影響で突然変異が起こり易くなると考えられる。計算結果の詳細は、当日のポスターにて発表する。

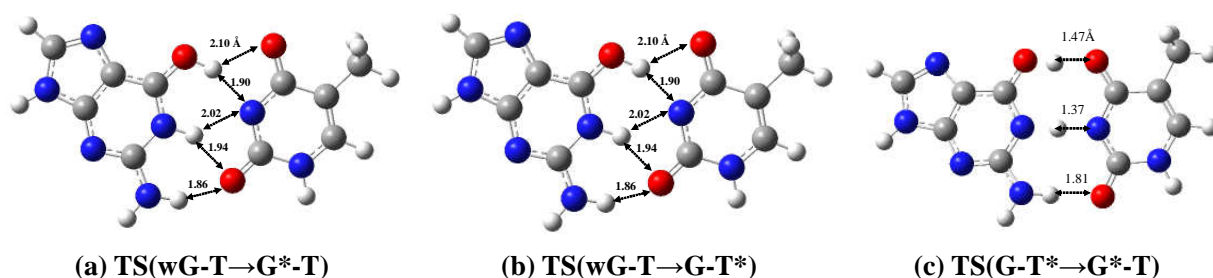


Figure 1 Structures of transition states obtained by QST and MP2/6-31G(d,p) methods in G09

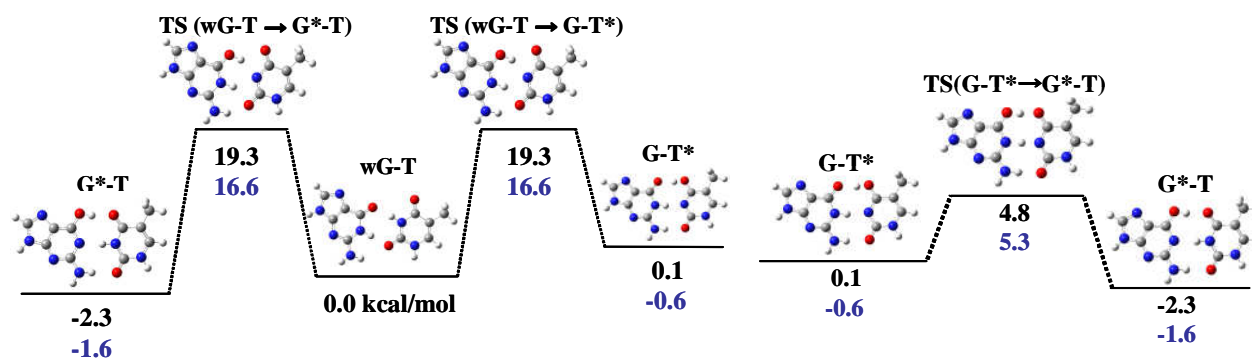


Figure 2 Schematic energy diagrams for the transitions between wG-T, G-T* and G*-T: relative energies obtained by MP2/6-31G(d,p) and M06/6-311++G(d,P) are shown in black and blue, respectively.

【参考文献】

- [1] F. H. C. Crick, Proc. R. Soc. B167 (1969) 331-347.
- [2] M. D. Topal, J. R. Fresco, Nature 263 (1976) 289-293.
- [3] T. A. Early, J. Olmsted III, D. R. Keams, A. G. Lezius, Nucleic Acids Research 5 (1978) 1955-1970.