

DNA 伸長反応についての ONIOM 計算

(筑波大院・化) 廣田 恵以、守橋 健二

ONIOM calculation on DNA elongation processes

(University of Tsukuba) Kei HIROTA, Kenji MORIHASHI

【序論】

DNA ポリメラーゼによる一本鎖 DNA 鎖の伸長過程で重要となる核酸塩基対の相互作用は興味深い計算対象である。核酸塩基対による $\pi-\pi$ スタッキングの存在は、伸長反応を行う上で大きく貢献すると考えた。そこで本発表では、ONIOM 法を用いた DFT 計算を行い、塩基間相互作用が大規模系での伸長反応にどのように寄与するかを明らかにした。DNA 鎖伸長反応については、ポリメラーゼの二つの Mg イオンの関与によるリンの五配位中間体を介した反応経路を採用した。核酸塩基対は cytosine-cytosine 対を計算し、この核酸塩基対を QM 部位に含むか否かで結果がどのように変化するかを比較、検討した。

【計算対象】

DNA 鎖伸長反応には Polymerase β (Pol β) が関与する。そこで、X 線結晶構造[1](PDB file: 2fmp)を基にして活性部位をモデル化したもの (図 1) を考え、これらを計算対象とした。

R_1 は本来 DNA が結合しており、今回のモデル化では糖五員環と核酸塩基対を 1 つだけ付加させ、残りは省略したものとなる。 R_2 も同様に糖五員環と核酸塩基対を付加して計算をしており、この R_1 と R_2 の核酸塩基対間で $\pi-\pi$ スタッキングが生じている。

本反応の酵素となる Pol β は 2 つの Mg^{2+} イオンを含んでおり、これが六配位構造を取ることによって求核攻撃をより起こりやすくしている。

【計算方法】

本反応における反応経路を DFT 計算により求め、本研究では汎関数系として $\pi-\pi$ スタッキングを評価できる M06-2X[2]を用いた。作成したモデルの総電荷は -3 として計算し、計算手法は M06-2X/6-31++G(d,p)//M06-2X/6-31G(d,p)で行った。また、比較対象として核酸塩基対を MM 部位とした計算も行い、計算手法は M06-2X/6-31++G(d,p)//ONIOM (B3LYP/6-31G(d):UFF)で行った。

本反応は primer の H が P_α の O に移り、 P_γ の O へと移動していく。中間体では P_α

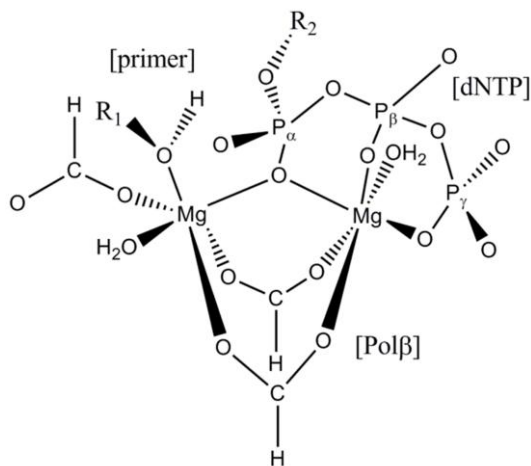


図 1. Pol β 複合体モデルの構造。 R_1 、 R_2 には核酸塩基が結合している。ここから、primer の酸素原子が P_α へと求核攻撃を行い、反応が進行して

を中心とした五配位中間体となっている。また遷移状態を経由して、終状態では primer からピロリン酸が解離する。各計算手法において得られた相対エネルギーを図 2 に示した。

【結果・考察】

始状態を基準とした計算の結果、中間体の構造が変化した。それに伴い、相対エネルギーの値も大きく変化をした。構造の変化は図 2 に示す通りである。

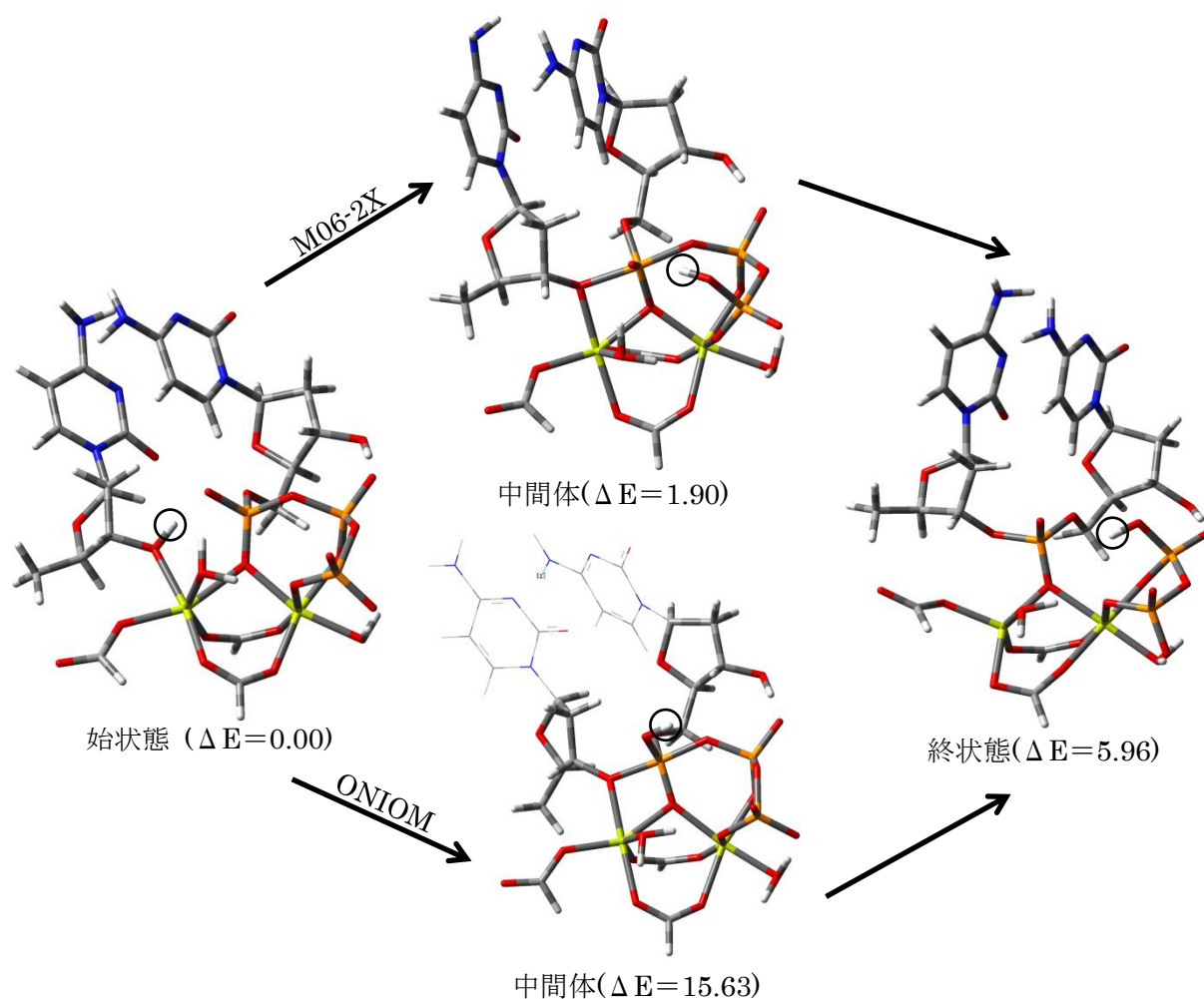


図 2. 計算手法による反応経路の比較 (kcal/mol)
黒丸で囲んだプロトンが転移することで反応が進行する。

このように中間体の構造が大きく異なり、活性化エネルギーについても変化が見られた。このことから、 π - π スタッキングの存在は計算手法によって大きく左右することが確かめられた。また大規模系に着手する際についても、 π - π スタッキングによる活性障壁の減少が無視できないものであるため、QM 部位の計算範囲についても大きく変化させる必要が出てくるのではないかと考えられる。

[1] V. K. Batra et al., *Structure*, **14**, 757 (2006).

[2] Y. Zhao and D. G. Truhlar, *Theor. Chem. Acc*, **120**, 215 (2008).