

(豊橋技術科学大学)

○清水栄佑、奥津尚子、徳山雄生、栗田典之

DFT study on the reaction mechanism between DNA base-pair and radicals

(Toyohashi University of Technology)

○Eisuke Shimizu, Naoko Okutsu, Yuki Tokuyama, and Noriyuki Kurita

【はじめに】

DNAは、生物の遺伝情報を記憶する物質であり、細胞内の環境や紫外線などの様々な要因によって損傷する。DNA損傷の要因の一つに放射線がある。放射線はDNAに直接作用し、DNAを構成する分子を電離し、損傷する。さらに、DNAの周囲に存在する溶媒水に作用し、OHラジカルなどのラジカルを生成する。OHラジカルは反応性が強く、糖質や脂質、タンパク質など細胞中の多くの物質と反応する。このOHラジカルがDNAと反応すると、DNAから水素原子が引き抜かれ、DNAに損傷が生じ、細胞の老化や死、がん細胞の発生、遺伝性疾患などを引き起こす原因となること、これまでの実験により明らかになっている[1,2]。一方、OHラジカルとDNAの反応機構に関する理論的研究は広く行われている[3]が、その多くが古典分子力学法を用いた計算であり、この機構を電子レベルで明らかにした研究例は少ない。この反応が起る機構を明らかにできれば、OHラジカルによるDNA損傷を抑制する手段を提案できる可能性がある。

我々のこれまでの研究[4]では、密度汎関数法(DFT)に基づく高精度分子シミュレーション手法を用い、DNA 塩基対の様々な位置に OH ラジカルを配置した構造を最適化し、G-C 塩基対の G の NH₂ 基、及び A-T 塩基対の A の NH₂ 基の水素原子が引き抜かれ、OH ラジカルが H₂O になる構造が生成されることを明らかにした。そこで、本研究では、同様の分子シミュレーション手法を用い、DNA 塩基対と OH ラジカルの反応機構の遷移構造を、真空中、及び連続溶媒近似の水中で探索する。その結果を基に、この反応の反応障壁エネルギーを求め、DNA 塩基対に OH ラジカルが反応した時に、どのような反応が起り易いかを、電子レベルで解明する。この結果は、放射線の間接的効果により、DNA 塩基に損傷が起る現象の初期段階の解明に役立つと考える。

【計算手法】

まず、核酸構造作成プログラム NUCGEN を用い、G-C、あるいは A-T の 1 塩基対を含む二重鎖を作成した。その構造から、バックボーンを削除し、塩基対のみを切り出した。塩基対のバックボーンとの結合部位は、CH₃ 基でキャップした。この塩基対の構造を、第一原理分子軌道計算プログラム Gaussian09 の M06-2x/6-31G(d,p)法を用い、真空中で最適化した。次に、これらの構造の NH₂ 基の周辺に OH ラジカルを配置し、反応前、反応後、及び反応の中間状態に対する初期構造を作成した。その際、OH ラジカルの酸素原子と DNA 塩基の水素原子間、及び OH ラジカルの水素原子と DNA 塩基の窒素原子間の距離は、アデニン塩基と OH ラジカルの反応機構を計算した Cheng らの論文[5]を参考に設定した。作成した反応前及び反応後の構造を、真空中、及び連続溶媒近似の水中で最適化した。その際、Gaussian09 の UM06-2x/6-31++G(d,p)法を用い、全電荷を 0、スピンを Doublet に指定した。また、連続溶媒近似には、Gaussian09 の IEFPCM 法を用いた。

最後に、これらの構造を初期構造として、Gaussian09 の STQN 法を用い、反応の遷移状態を探索した。その際、DFT 計算の条件は最適化の場合と同じ条件を用いた。また、得られた構造が遷

移構造であることを確かめるため、振動解析を実行し、虚数振動数が1本のみ存在することを確認した。さらに、得られた遷移構造を初期構造にして、IRC 計算を実行し、その構造が反応前と反応後の構造を結ぶ構造であることを確認した。

【結果と考察】

Gaussian09 を使い、真空中、及び連続溶媒近似の水中で求めた G-C、A-T 塩基対と OH ラジカルの反応パスと自由エネルギーの変化を Figure 1 に示す。真空中と水中での結果を比較すると、G-C、A-T 塩基対の両者に対し、水中の方が反応後の安定化が大きくなり、反応後の構造の存在確率が水和の影響により大幅に上昇する。また、G-C と A-T 塩基対の反応障壁自由エネルギーを比較すると、A-T 塩基対の方が真空中では 0.3 kcal/mol、水中では 1.6 kcal/mol 小さくなり、OH ラジカルは A-T 塩基対とより反応し易いと予測できる。現在、他のラジカルと塩基対との反応機構を解析中であり、それらの結果は当日のポスターにて発表する。

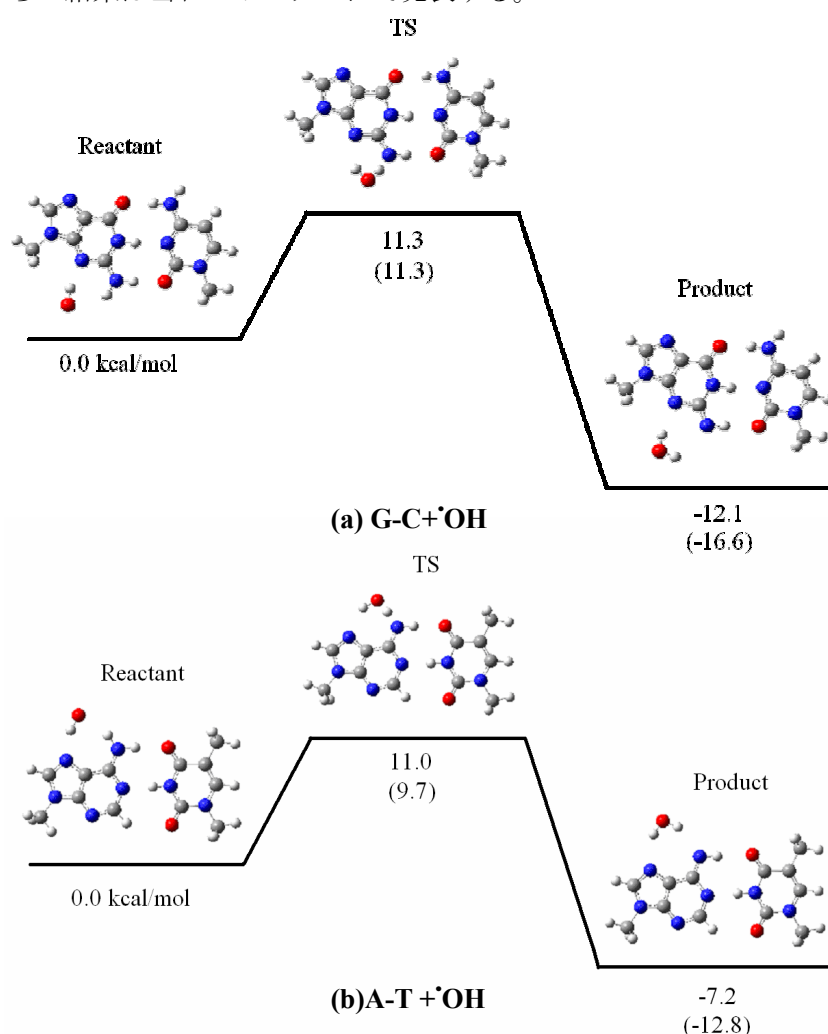


Figure 1 Schematic free energy diagram in vacuum for the reactions between (a) G-C and $\cdot\text{OH}$ and (b) A-T and $\cdot\text{OH}$. The results in water approximated by continuum solvation model are shown in parentheses. Free energies (kcal/mol) are evaluated by UM06-2x/6-31++G(d,p) at 298.15 K and 1 atmosphere of pressure.

- [1] J. Cadet, *et al.*, *Free Radical Bio- logical Medicine*, 2010, 49, 9.
- [2] J. R. Wagner, *et al.*, *Accounts of Chemical Research*, 2010, 43, 564.
- [3] H. Tomita, *et al.*, *Radiation and Environmental Biophysics*, 1998, 36, 235.
- [4] E. Shimizu, *et al.*, *Journal of Modern Physics*, 2013, 4, 442.
- [5] Q. Cheng, *et al.*, *Chemistry - A European Journal*, 2010, 39, 11848.