

2F11

テトラエチレングリコール修飾による DNA 四重鎖の安定化機構の解明

(甲南大 FIBER¹, 神戸大院システム情報学², 東工大生命理工³, 甲南大 FIRST⁴) ○大山達也¹, 建石寿枝¹, 田中成典², 村岡貴博³, 金原数³, 杉本直己^{1,4}

Investigation of stabilizing mechanism for G-quadruplexes by tetraethylene glycol modification

(FIBER, Konan Univ.¹, Grad. Sch. Sys. Inform., Kobe Univ.², Sch. Life Sci. Tech., Tokyo Tech.³, FIRST, Konan Univ.⁴) ○Tatsuya Ohyama¹, Hisae Tateishi-Karimata¹, Shigenori Tanaka², Takahiro Muraoka³, Kazushi Kinbara³, and Naoki Sugimoto^{1,4}

【序】

DNA は溶媒環境や配列により二重らせん構造以外にも、i-motif やヘアピン、四重鎖などの非標準構造を形成することが近年報告されている。なかでも、DNA 四重鎖はテロメアやがん遺伝子のプロモータ領域などのグアニンに富んだ配列において形成されやすく、四重鎖形成が転写や逆転写、翻訳反応、テロメア一ゼ伸長反応を阻害する。そのため、四重鎖の形成を制御する技術を開発し、がんなどの治療薬の開発への応用が期待されている[1-4]。

我々はグアニン四重鎖の構造を安定化させるため、アンチパラレル型の DNA 四重鎖のループ領域のチミン塩基にテトラエチレングリコール (TEG) を付加した DNA 四重鎖を設計した (Figures 1a and 1b)[5]。この DNA 四重鎖の熱力学的安定性を測定した結果、側面にあるループ領域のチミン塩基 (Figure 1a の T₄) に TEG を導入した DNA 四重鎖は安定性が大幅に向上した。一方、中央のループ領域 (Figure 1a の T₇) に TEG を導入した DNA 四重鎖は、通常の DNA 四重鎖と変わらない結果が得られた。本研究では、TEG が DNA 四重鎖の熱力学的安定性に与える影響や TEG の位置による安定化の違いを解明するため、分子動力学 (MD) 計算とフラグメント分子軌道 (FMO) 法を用いて研究を行った。

【方法】

実験で用いたアンチパラレル型の DNA 四重鎖は Protein Data Bank から入手し、これを TEG がいない状態の DNA 四重鎖構造 (Q1) の初期構造とした。また、Q1 の 4 番目および 7 番目のチミンのメチル基を TEG で修飾し、Q1-X₄、Q1-X₇ の構造を作製した。これらの構造の周囲に水分子とカウンターイオンを付加し、298 K で 35 ns の MD 計

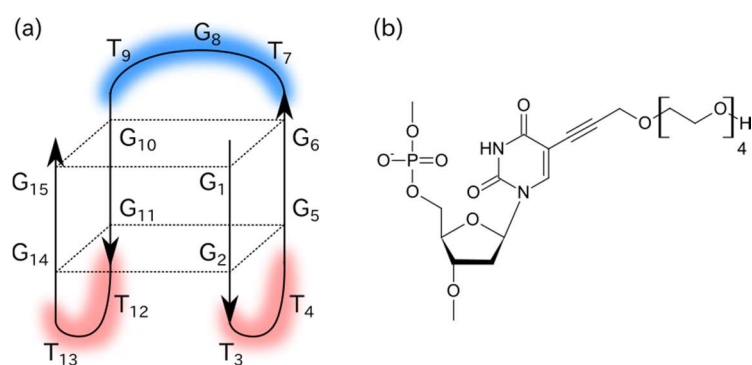


Figure 1. (a) Schematic representation of the unmodified G-quadruplex (Q1) and (b) Chemical structure of TEG-modified deoxythymine (X). T₃ and T₄, and T₁₂ and T₁₃ are in lateral loop regions (red), respectively. The sequence from T₇ to T₉ is a central loop region (blue). In Q1-X₄ and Q1-X₇, T₄ and T₇ were replaced with X, respectively.

算を行った。力場は DNA には AMBER99bsc0、X₄ および X₇ については GAFF 力場を用いた。また、階層クラスタリングにより、TEG の構造を 10 クラスタに分類した。クラスタの中でスナップショット数が多いクラスタの代表構造を Fragment molecular orbital (FMO) 法を用い、電子状態を MP2/6-31G(d) で計算した。フラグメントはヌクレオチドを塩基と骨格に、TEG についてはさらに、2 ないし 4 フラグメントに分割して、DNA 四重鎖と TEG 間の相互作用を解析した。

【結果】

Q1-X₄ と Q1-X₇ の平衡状態にあるスナップショットの TEG の構造についてクラスタリングをした結果、Q1-X₄ では約 59.1% のスナップショットが反対側のループ領域に向かって伸び、相互作用している構造が得られた。これら構造の相互作用を詳しく解析するため、代表構造の FMO 計算をしたところ、TEG のヒドロキシル基が反対側の側面ループ領域の骨格と 2 本の水素結合を形成していることが明らかになった (Figures 2c and 2d)。さらに、TEG の炭化水素が周囲の塩基と CH- π 相互作用や、双極子-誘起双極子相互作用、CH-HC 相互作用で相互作用していることがわかった (Figures 2b, 2c, 2d, and 2e)。これらの弱い相互作用が側面のループ

領域間をつなぐことにより、DNA 四重鎖の構造が安定化していると考えられる。また、DNA 四重鎖内の G-カルテット間の相互作用を、Q1 と Q1-X₄ で比較したところ、Q1-X₄ の π - π 相互作用による相互作用が強くなっている結果が得られた。これらの構造を比較で、Q1-X₄ の G-カルテットが歪み、TEG と反対側の G-カルテットとの距離が縮まっていることから、TEG が G-カルテットを押し上げることにより、G-カルテット間の距離を狭め、 π - π 相互作用を強めていると考えられる。本講演ではこれらの結果のほか、Q1-X₇ との違いについても詳しく説明する。

【参考文献】

- [1] S. Nakano, D. Miyoshi, and N. Sugimoto, *Chem. Rev.*, **114**, (2014) 2733–2758.
- [2] M. Hagihara, L. Yamauchi, A. Seo, K. Yoneda, M. Senda, and K. Nakatani, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, (2010) 11171–11178.
- [3] H. Tateishi-Karimata, N. Isono, and N. Sugimoto, *PLoS One*, **9**, (2014) e90580.
- [4] T. Endoh, Y. Kawasaki, and N. Sugimoto, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**, (2013) 5522–5526.
- [5] H. Tateishi-Karimata, T. Muraoka, K. Kinbara, and N. Sugimoto, *ChemBioChem*, (2016) in press.

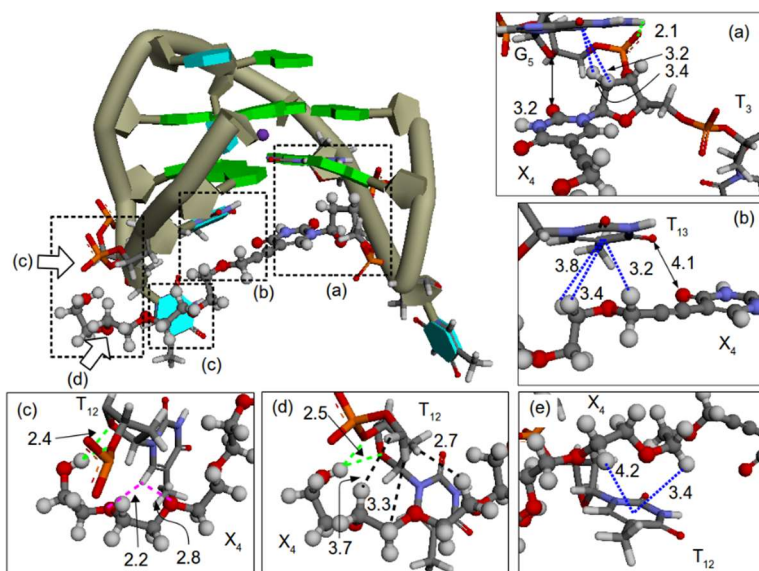


Figure 2. The structure of Q1-X₄ and enlarged views for details of interactions between TEG and nucleotides. (a) T₃ and G₅, (b–d) T₁₂, and (e) T₁₃. Green and cyan blocks indicate guanine and thymine, respectively. Representations of orange, red, blue, gray, and white balls illustrate phosphorus, oxygen, nitrogen, carbon, and hydrogen atoms, respectively. Green, pink, black, and blue dashed lines show hydrogen bonds, dipole-induced dipole, CH-HC, and CH- π interactions, respectively.