

短鎖 DNA の鎖切断機構：ポテンシャルエネルギー評価と動力学シミュレーション

(東北大院理¹、東北大多元研²)

○菱沼直樹¹、及川啓太¹、菅野学¹、木野康志¹、秋山公男²、河野裕彦¹

Strand break mechanism of small DNAs: Potential energy calculation and reaction dynamics simulation

(Dept. Chem., Grad. Sch. Sci., Tohoku Univ.¹; IMRAM, Tohoku Univ.²)

○Naoki Hishinuma¹, Keita Oikawa¹, Manabu Kanno¹,
Yasushi Kino¹, Kimio Akiyama², Hirohiko Kono¹

【序】DNA は細胞分裂時の正しい複製によって細胞間の遺伝情報を共有する重要な物質である。DNA に放射線が照射されると鎖が切断され、塩基配列が正しく転写されず、人体へ発ガンなどの悪影響を与えることが知られている。近年、様々なアプローチにより DNA 鎖切断機構の解明が試みられている。近紫外線をマトリックス (プロトン供与体) に照射して、オリゴデオキシヌクレオチド (短い DNA 一本鎖) の塩基にプロトンを付加させた場合、図 1 に示した①と②が切断されるという実験結果が報告されている^[1]。また、数 eV 程度の低エネルギー電子付加で鎖切断が誘起されるという機構が提案された^[2]。その後の様々な研究から、図 1 に示した①~③の 3 箇所での切断が示唆されている^[3]。鎖切断に関与する結合切断を探索し、その機構を明らかにするために、本研究では放射線照射によって励起した電子が緩和した後の高振動励起状態を仮定し、DNA に高い熱を与えた化学反応動力学 (MD) シミュレーションを行った。その結果を電子移動と振動エネルギー移動の観点から解析し、DNA 鎖切断の機構を分子論的に考察した。

【モデル・手法】 4~12 の塩基対からなるモデル DNA を用いて、真空条件下および溶媒存在下でシミュレーションを行い、それぞれの条件における鎖切断機構を検証した。電子状態計算には、密度汎関数法に近い精度で高速計算が可能な密度汎関数強束縛(DFTB)法を用いた。真空条件下では、Kohn-Sham エネルギーを電荷揺らぎの 2 次まで展開した DFTB2 (Self-consistent charge DFTB)^[4] を、溶媒存在下では 3 次まで展開した DFTB3^[5]を用いた。得られた鎖切断の素過程を Mulliken 電荷とエネルギー移動の観点から解析した。なお、エネルギー移動の解析には、分子の全ポテンシャルエネルギーと運動エネルギーを各構成原子に分配する手法 (原子分割エネルギー法) を用いた。これによって、各原子が持つエネルギーを定量化し、反応素過程に関わる原子や原子団のエネルギー変化を追跡することが可能となる。

【真空中の鎖切断】 まず、4 つのアデニン-チミン塩基対と、それらを架橋するリンカーからなる小規模で扱いやすいモデル DNA^[6] (図 2) を用いた。構造最適化した系に対し、リンカー以外の鎖部分へ 1 原子当たり 0.3~0.4 eV の高い熱エネルギーが与えられたとして、MD 計算を行った。そ

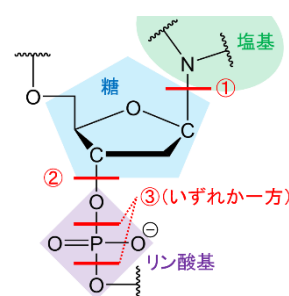


図 1 先行研究から示唆されている DNA の結合切断部位。②と③は鎖切断に相当する。

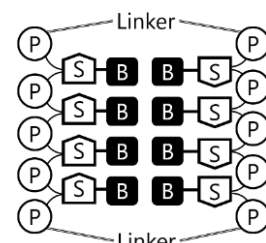


図 2 4 塩基対で構成されるモデル DNA の構造。B = 核酸塩基、S = 糖、P = リン酸基、Linker = hexaethylene glycol

の結果から、アデニン側の鎖はほとんど切れず、鎖切断はチミン側で起こりやすいことが判明した。主な鎖切断過程は、糖からリン酸基への水素移動を引き金として①C-Nの切断が起きて塩基が脱離し、その後②C-Oの鎖切断が生じる(図3)であった。この一連の過程は初期時刻から10ピコ秒程度で進行した。また、他のヌクレオチドを巻き込んだ広域の電子・エネルギー移動が鎖切断を誘発していることが明らかになった^[7]。

【溶媒中の鎖切断】 X線結晶構造が既知である12塩基対からなるDNA(蛋白質データバンクPDB ID: 355D^[8])を対象として、溶媒や金属イオン以外の部分に真空中と同様の熱エネルギーを与えて計算を行った。結果として、溶媒中のNa⁺がリン酸基と中間体(Na⁺-O-P-Oの四角形構造)を形成し、③P-Oの切断が誘発されることがわかった(図4; 詳細は口頭発表^[9])。

【②C-Oと③P-Oの解離エネルギー評価】 チミン塩基をもつチミジン2つをリン酸基で結んだ構造(TpT)をモデルとして用いた。水素移動・塩基脱離が起こった後の構造であるTpT'(図5左)と、Na⁺を配位させた構造であるTpT-Na(図5右)も対象とした。C-OやP-Oの結合長をパラメーターとして、周囲の原子を再度構造最適化して各結合の解離エネルギー曲線を評価した(図6)。TpTとTpT'を比較するとTpT'は、②の解離に必要なエネルギーが大きく下がっているが、逆に③の解離に関しては大きく上がっている。このため、水素移動と塩基脱離を前過程としても真空条件下での鎖切断は、②の切断が多くみられたと推察される。次に、TpTとTpT-Naを比較すると、②の切断はNa⁺の寄与が小さいのに対し、③の切断は溶媒中のNa⁺によって1 eV以上のポテンシャルエネルギーの低下が見られる。このことから、Na⁺が③P-O切断の触媒のような働きをしていることが判明した。

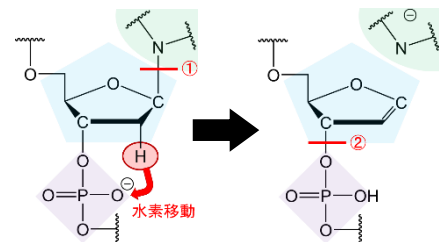


図3 真空条件下でのモデルDNAの主な鎖切断過程。

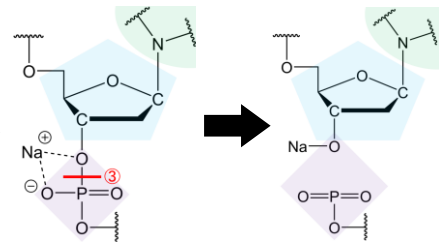


図4 Na⁺が関与する溶媒存在下DNAの主な鎖切断過程。

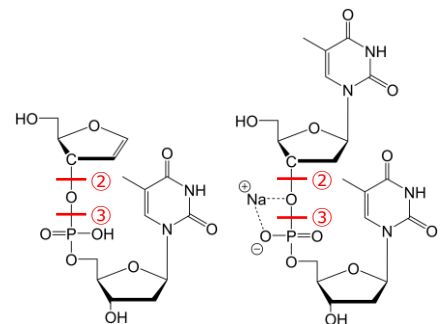


図5 TpT(左)とTpT-Na(右)の構造。

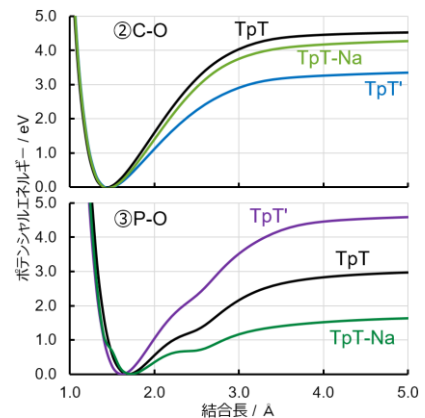


図6 最安定構造での値を0としたTpT、TpT'とTpT-Naの解離エネルギー曲線。

[1] L. Zhu, G. R. Parr, M. C. Fitzgerald, C. M. Nelson and L. M. Smith, J. Am. Chem. Soc. **117**, 6048 (1995).

[2] B. Boudaiffa, P. Cloutier, D. Hunting, M. A. Huels, L. Sanche, Science. **287**, 1658 (2000).

[3] J. Rak, M. Kobylecka and P. Storonik, J. Phys. Chem. B **115**, 1911 (2011).

[4] M. Elstner, D. Porezag, G. Jungnickel, J. Elsner, M. Haugk, T. Frauenheim, S. Suhai and G. Seifert, Phys. Rev. B **58**, 7260 (1998).

[5] M. Gaus, Q. Cui, and M. Elstner, J. Chem. Theory Comput. **7**, 931 (2011).

[6] M. McCullagh, L. Zhang, A. H. Karaba, H. Zhu, G. C. Schatz and F. D. Lewis, J. Phys. Chem. B **112**, 11415 (2008).

[7] ○菱沼直樹, 菅野学, 木野康志, 秋山公男, 河野裕彦, 第9回分子科学討論会, 口頭発表 2E10.

[8] X. Shui, L. McFail-Isom, G. G. Hu, and L. D. Williams, Biochemistry **37**, 8341 (1998).

[9] ○及川啓太, 菱沼直樹, 菅野学, 木野康志, 秋山公男, 河野裕彦, 第10回分子科学討論会, 口頭発表 3G09.