

DNA鎖切断の分子論：動力的解析によるアプローチ

東北大院理

○及川 啓太, 岡田 朝彦, 菱沼 直樹, 花崎 浩太, 菅野 学, 河野 裕彦

DNA strand break at a molecular level: Approach by dynamical analysis

○Keita Oikawa, Tomohiko Okada, Naoki Hishinuma,

Kota Hanasaki, Manabu Kanno, Hirohiko Kono

Department of Chemistry, Graduate School of Science, Tohoku University, Japan

【Abstract】 When exposed to strong lasers or radiation, DNAs suffer serious damages such as base release and strand breaks. Strand breaks are categorized into single strand break (SSB) and double strand break (DSB). The experiment of intense near-infrared femtosecond pulse irradiation to DNAs [1] suggested that SSB is induced by heat and OH radicals, while DSB is induced by only OH radicals. Despite a large number of studies on DNA strand break, it remains unclear at a molecular level as to how heat and OH radicals cause the strand break. In this study, we aim to clarify the mechanism of DNA strand break by chemical reaction dynamics simulations. We used the density-functional tight-binding (DFTB)/MD method and revealed the detailed mechanism of SSB by energy and electron transfer analyses. DSB was induced by OH radicals but not by thermal effects. Our results are consistent with the experiment [1].

【序】 DNA は生体内で遺伝情報を担う重要な物質であるが、光や放射線によって損傷を受けることが知られている。損傷の一例である鎖切断に着目すると、二本鎖 DNA のうち一本だけ切断するものを一本鎖切断 (Single strand break; SSB)、近い範囲で二本とも切断するものを二本鎖切断 (Double strand break; DSB) という。鎖切断を引き起こす主要な因子として、活性酸素種 (OH ラジカルなど)、電子、熱の3つが挙げられる。近年、プラスミド DNA へ高強度近赤外フェムト秒パルス照射する実験[1]が行われ、SSBはOHラジカルと熱の影響で起こる一方、DSBはほぼOHラジカルの影響のみで起こることが示唆された。これまで鎖切断に関する多くの研究が報告されてきたが、詳細な反応機構やDNAの周りに存在する分子やイオンが切断に与える影響については明らかでない。そこで本研究では、熱またはOHラジカルが引き起こすDNA鎖切断の反応機構の解明を目指す。我々は化学反応動力学シミュレーションを用いて、エネルギー・電子移動やポテンシャルエネルギー変化の観点から解析を行い、詳細な鎖切断の機構を見出した。

【理論】 電子状態計算には密度汎関数強束縛 (DFTB) 法を用いた。DFTB法は、DFTに比べやや精度は劣るが、高速で計算が可能な半経験的手法である。その中でも、DFTのエネルギー汎関数を電荷揺らぎの3次で評価するDFTB3[2]を採用し、水素結合や分散力をより正しく計算した。DFTB3のポテンシャルから得られる力を使い、分子動力学 (MD) 計算を行った。エネルギー解析には、分子の全エネルギーを各原子の成分和として表す原子分割エネルギー法を適用した。電子移動は Mulliken charge の変化を基に判断した。

【結果と考察】 モデルと条件を変えながら、以下に示す①～③の計算を行った。

① 熱による鎖切断<真空条件下>

まず、鎖切断の素過程を調べるためにチミン4塩基の一本鎖DNA (Fig. 1) をモデ

ルとして用いた。このモデル DNA に 1 原子あたり 0.25-0.40 eV の初期運動エネルギーを与え MD 計算を行った。平衡化後の温度は 1000-1500 K となった。多数のトラジェクトリを解析した結果、主に(i) 塩基脱離、(ii) 糖にある水素がリン酸基へ移動、(iii) 糖 - リン酸基間で C-O 切断、という過程で鎖切断が進行することが分かった。切断が起こるまでに平均数十ピコ秒を要した。塩基脱離と水素移動に伴うエネルギー・電荷変化を詳しく解析した代表的なトラジェクトリの例を Fig. 2 に示す。糖 - 塩基間の C-N 結合が伸び始める時に糖から塩基へ電子移動が起こっており、その際に糖全体のエネルギーが約 3.0 eV 上昇していた。また、Fig. 3 に示したように、塩基脱離と水素移動が起こることで C-O 切断のポテンシャル障壁が大幅に下がるということが分かった。この結果を踏まえ、モデルを二本鎖の $[d(TTTT)]_2$ に拡張して計算を行ったところ、同様の機構で SSB が起こったが、DSB は起こらなかった。この結果は[1]の実験結果と合致している。

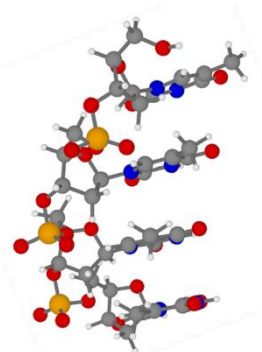


Fig. 1. A model DNA d(TTTT).

② 熱による鎖切断<水やカウンターカチオン存在下>

次に、水やカウンターカチオンに囲まれた $[d(CGCGAATTCGCG)]_2$ [3]を対象にして、①と同様の条件で計算した。その結果、①とは異なり P-O 切断が優先的に起こる過程を見出した。十分に水和されていない Na^+ がリン酸基と中間体を形成することによって、リン酸基の P-O 結合の解離エネルギーが下がることに起因する、と分かった。

③ OH ラジカルによる鎖切断

Fig.1 の d(TTTT) に、少し離れたところから OH ラジカルを衝突させる MD 計算を行った。最も多く見られた反応は、OH ラジカルが糖の 5'位の水素を引き抜き、直後にリン酸基の P-O が切断するものであった。二本鎖の $[d(TTTT)]_2$ では、複数の OH ラジカルの衝突で DSB が起こり、その確率は DNA 周りの OH ラジカルの濃度に大きく依存することが分かった。詳細はポスター発表 4P109[4]も参照されたい。

【参考文献】 [1] A. K. Dharmadhikari et al., *Phys. Rev. Lett.* **112**, 138105 (2014).

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

[3] X. Shui et al., *Biochemistry* **37**, 8341 (1998). [4] 岡田ら、第11回分子科学討論会、4P109 (2017).

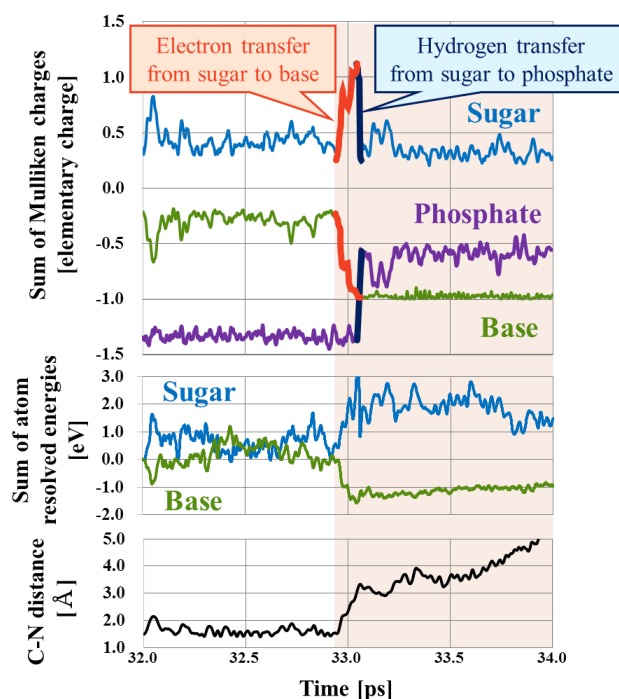


Fig. 2. Energy and electron transfer during a base release process.

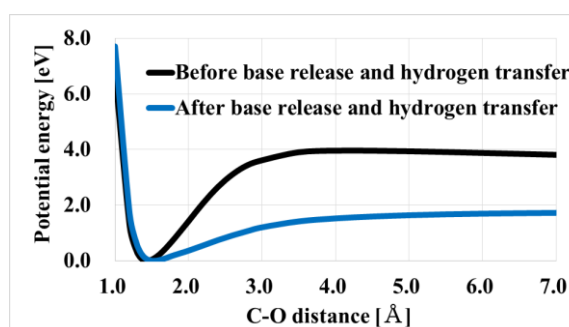


Fig. 3. The C-O potential barrier decreases after base release and hydrogen transfer.