

分子動力学シミュレーションによる核酸のミスマッチ部位に結合する小分子に関する研究

¹大阪大院・理, ²大阪大・産研, ³筑波大・計算科学セ, ⁴大阪大・ナノデザインセ
○宮川 晃一^{1,2}, 庄司 光男³, 中谷 和彦², 重田 育照³, 山口 兆^{2,4}

Study of Binding Small Molecular for DNA mismatching site with Molecular Dynamics Simulation approach

○Koichi Miyagawa^{1,2}, Mitsuo Shoji³, Kazuhiko Nakatani², Yasuteru Shigeta³, Kizashi Yamaguchi^{2,4}

¹ Graduate School of Science, Osaka University, Japan

² Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University, Japan

³ Center for Computational Sciences, University of Tsukuba, Japan

⁴ Institute for NanoScience Design, Osaka University, Japan

【Abstract】

Expansion of CAG triplet nucleotide repeat is related to genetic disorder such as Huntington's disease. Nakatani et al. reported that a small molecular, NA, could uniquely bind to A-A mismatching site in the CAG repeat and contributed to big stabilization of mismatching-duplex. On the other hand, the study of structure-activity relationships of the NA indicates that a little structure change of NA led to the weakness of binding capability. To find out these differences of binding capability, we performed the molecular dynamics calculation for binding state of DNA duplex and NA-derivative and focused on the complex structure changes or its bond condition differences. The result of calculation shows that the binding states of between the small molecular and N7 site of Adenosine or Guanosine are possibly related to the duplex-NA complex stability.

【序】

CAG のトリヌクレオチドのリピートの伸長は Huntington 病などの遺伝子に起因する疾病と関連する。小分子 NA は核酸の CAG リピートの A-A ミスマッチ部位に特異的に結合し(Fig.1)、さらに二本鎖の安定性に大きく寄与することが報告されている[1]。一方、NA 分子の構造活性相関研究から、わずかな構造変化によりほとんど結合に寄与しなくなることが示されている[2]。これらの分子構造と結合能の差を明らかにするために、分子動力学シミュレーションにより DNA の二本鎖と NA 誘導体との結合状態を起点として、その構造や結合状態の解析を行った。

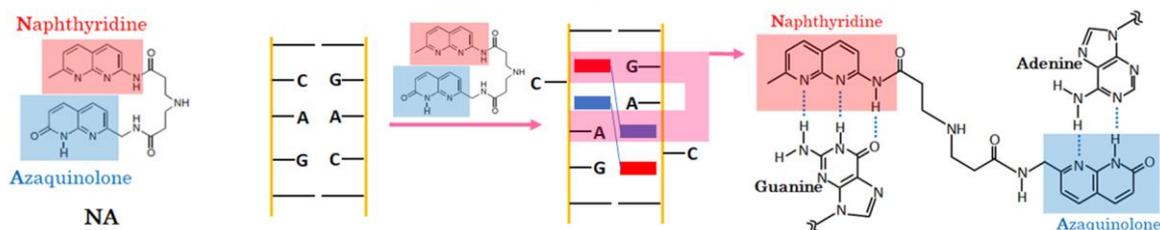


Fig. 1. Schematic diagram of NA binding to A-A mismatching site

【方法 (実験・理論)】

CAG ミスマッチに NA が結合した構造は中谷らによる NMR 構造[1] (PDBID: 1X26) を用いた。NA の誘導体が結合した状態は、NMR 構造をもとに作成し、Generalized Born (GB) モデル中で構造最適化を行った後、計算に用いた。力場は DNA に対しては Amber Force Field (OL15) を適用し、一方、小分子に対しては General Amber Force Field (GAFF) を適用した。分子の電荷は Gaussian09 を用いて、B3LYP/6-311G**レベルで計算した後、Amber16 の Antechamber プログラムを用いて RESP 電荷へと変換した。また、すべての MD 計算は、Amber16 パッケージの Sander と Pmemd を用いて行い、Particle Mesh Ewald 法をカットオフ値 10 Å として用いた。計算系の設定においては、DNA の負電荷を中和するために、Na⁺を加えた後、TIP3P の水モデルを 1 万分子程度加え、実験条件の塩濃度を再現するために Na⁺、Cl⁻をそれぞれ 20 原子加えた。温度は 300K に設定し、100 ns の分子動力学シミュレーションを行った。

【結果・考察】

NA 誘導体のダイナミクス中では、グアニンとナフチリジン間とアデニンとアザキノロン間の水素結合の様子に大きな変化は見られなかった。しかし、NA 誘導体のリンカー部位の二級アミンが新たな水素結合を形成していることが判明した。そこで、Fig.2 のようにリンカーの N 原子と水素結合を形成しうるアデニンまたはグアニンの N7 位と距離に着目し、その距離の分布を求めた(Fig.3)。結合性が現れる小分子では、アデニンの N7 位とよく結合している傾向があるのに対し、結合性が示されない分子では、アデニンの N7 から離れる構造や、グアニンの N7 に近づく構造を取りうるということが分かった。

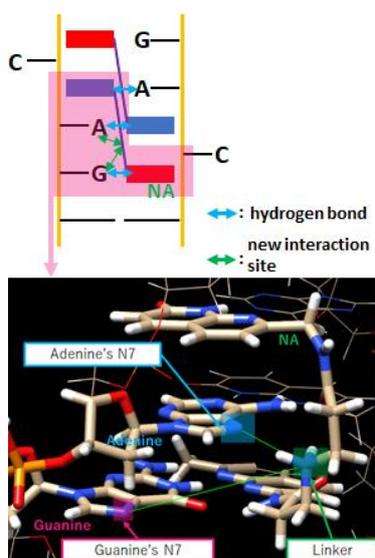


Fig. 2. New interaction site (green arrow line) of NA with Adenine and Guanine

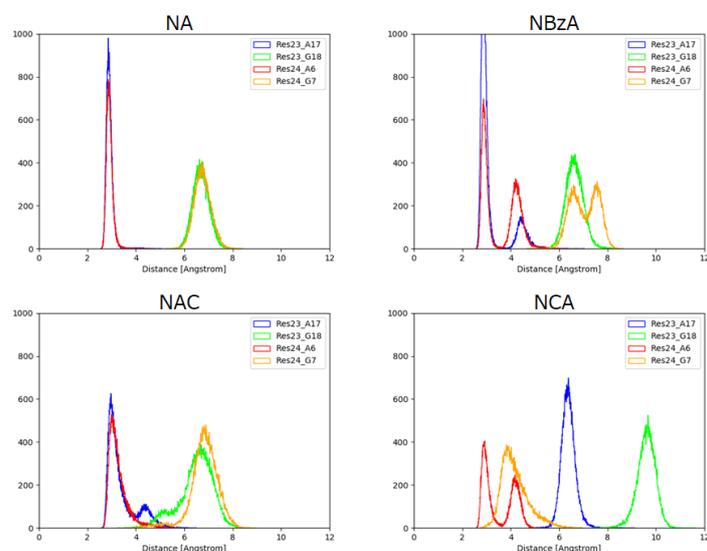


Fig. 3. Distribution of the distance between NA derivatives' linker and N7 site of Adenine or Guanine

結合する分子同士でも NA と NBzA との結合性の違いについては、小分子と核酸塩基部分とのスタッキングの効果が関わっていると考えられる。現在、これらの差異を考察するために、量子化学計算を試みている。

【参考文献】

- [1] K. Nakatani, S. Hagihara, Y. Goto, et al., *Nat. Chem. Biol.*, **1**, 39 (2005).
- [2] J. Li, A. Sakata, H. He, et al., *Chem. Asian J.*, **11**, 1971 (2016).