

DNA 鎖合成過程のモデル反応における DFT 計算

(1 筑波大・化、²アドバンスソフト) 守橋 健二¹、泉 智恵美¹、下堂 靖代²

1. 序論

DNA 鎖を合成する際、モノヌクレオチドが取り込まれ phosphodiester 結合が形成される。非酵素及び酵素中におけるこの反応過程をモデル化して、ab initio MO および DFT 計算による活性化障壁の予測を試みた。DNA 鎖合成反応のモデルとして、鋳型鎖を除いた一本鎖 DNA のみを扱い、塩基部分を水素で置き換えた分子を設定した (図 1)。反応物 1 の 3' 位の酸素が反応物 2 の位の P に攻撃し、遷移状態 (TS) を経て、phosphodiester 結合を形成し (3) pyrophosphoric acid (4) が脱離する反応系である。酵素モデル反応は、酵素として逆転写酵素を仮定し、逆転写の際に触媒作用を及すと考えられている 2 つの Mg 原子を各分子に導入して計算を行った。

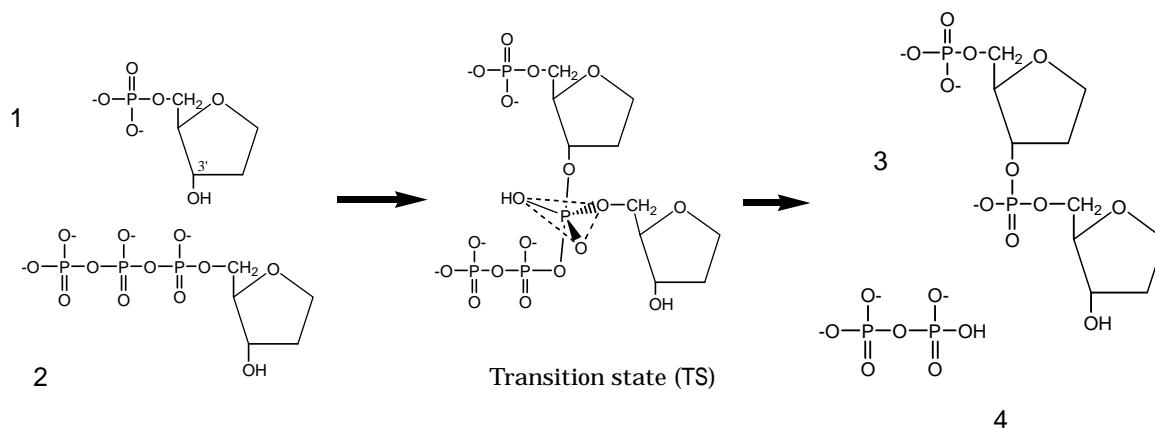


図 1 . DNA 鎖の合成を仮定して設定したモデル反応

2. 計算方法

RHF/3-21G^(*) を用いて、反応物 1、2 及び生成物 3、4 について構造最適化を行った。遷移状態の構造は 1、2 の最適化構造に基づいて、妥当と思われる TS 構造を仮定してエネルギー計算を行った。まず非酵素反応系の計算を行った後、酵素モデル反応として 2 つの Mg 原子を導入した反応系及び遷移状態の計算を行った。以上の計算は、リン酸部位のプロトンがすべて解離した状態で行った。

3. 計算結果及び考察

反応物 2 及び Mg を導入した反応物 2(Mg) の構造最適化の結果、図 2 に示す構造が得られた。非酵素反応では図に示す原子の二面角が $\text{POPO} = 183.5^\circ$ となった。一方、酵素反応では同じ部位の二面角が $\text{POPO} = 119.5^\circ$ となり、三リン酸部分が Mg を取り囲むように折れ曲がっている。三リン酸の部位には酸素の負電荷が密集しているため互いに反発するが、Mg 原子の存在下では酸素の負電荷による反発が抑えられ、図 2 のような構造をとりうるほど安定化するということがわかる。また、逆転写酵素中の Mg-O 間距離は X 線解析により平均 2.2 程度と知られているが、RHF/3-21G^(*) 構造最適化の計算結果、Mg-O 間距離の平均は 1.979 となり実験値より短くなった。

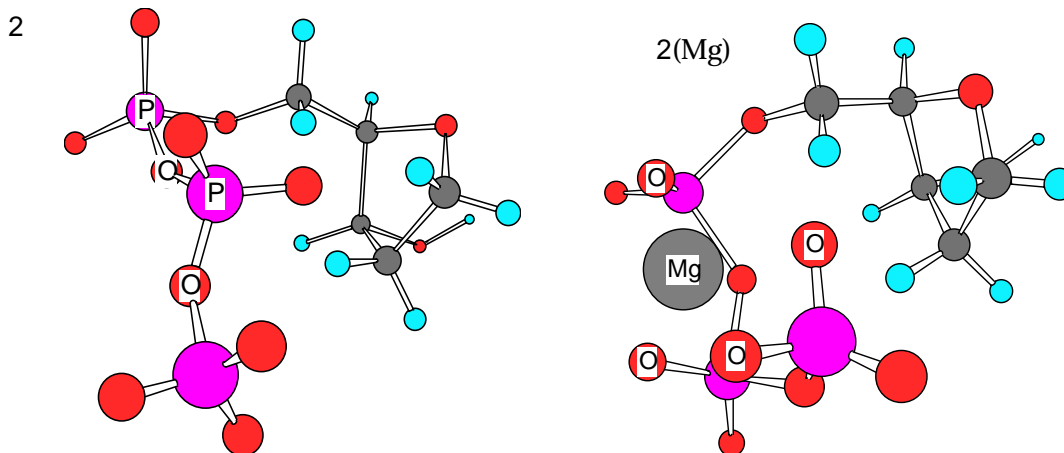


図 2 . 反応物 2 及び 2(Mg)の RHF/3-21G(*)最適化構造

反応物 1、2 の最適化構造から遷移状態を仮定した。酵素モデル反応系では、その遷移状態の構造に二つの Mg 原子を導入して計算した。

非酵素及び酵素中における、生成物 1、2、反応物 3、4 の RHF/3-21G(*) 構造最適化による全エネルギーと、遷移状態の一点計算による全エネルギーの計算結果を表 1 に示した。また、表 1 では非酵素及び酵素中での生成系 (3 + 4) 及び遷移状態 TS の相対エネルギー E (単位:kcal/mol) を反応系の全エネルギー $E(1+2)$ を基準として示した。

表 1 . 非酵素反応の全エネルギー E 及び酵素反応の全エネルギー E_{Mg} (au) と相対エネルギー E (kcal/mol)

	RHF/3-21G(*)// RHF/3-21G(*)				RHF/3-21G(*)
	1	2	3	4	TS
E	-979.29056	-2014.10414	-1883.60156	-1199.89940	-3082.61553
E	0		-66.7		488.9
E_{Mg}	-1177.99761	-2303.43653	-2082.29536	-1398.95105	-3480.70316
E_{Mg}	0		117.8		457.8

酵素モデル反応の活性化障壁は非酵素反応より 30.2 kcal/mol 低下しただけで、反応が進行するほどの活性化障壁の低下はみられなかった。この原因として、反応物及び生成物については構造最適化を行ったが、遷移状態の構造については仮定した構造での一点計算しか行っていないためである。適切な遷移状態が得られれば、相対エネルギーはさらに低下するはずである。

酵素モデル反応系で活性化障壁の低下がみられたのは、Mg 原子を導入すると Mg から O へ電子移動が起こり、 Mg^{2+} と O と間の静電相互作用により安定化するためである。また、反応物 2 の位のリンに直接結合する酸素の負電荷の合計が非酵素反応より小さくなっており、反応物 1 の 3'位の酸素が反応物 2 の位のリンに求核攻撃をする際、リンに結合する酸素の負電荷による反発が軽減され反応が進みやすくなると考えられる。

今回扱った反応系において、酵素モデルとして二つの Mg 原子を導入したところ活性化障壁の低下が見られた。実際の DNA 伸長反応においても、逆転写酵素中に含まれるマグネシウムの働きにより反応の活性化障壁を下げ反応速度を速めることが考えられる。DFT 計算結果については当日発表する。