

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22903

研究課題名(和文) DNAの損傷除去を決める塩基配列特異性の作用機序解明に向けた量子化学的挑戦

研究課題名(英文) Quantum chemical challenge to elucidate the functional mechanism of base sequence specificity deciding removal of the DNA damage

研究代表者

鈴木 愛 (Suzuki, Ai)

東北大学・未来科学技術共同研究センター・准教授

研究者番号：40463781

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：DNAに近接する第一水和水はDNA自体の構造維持や、外部から接近してくる酵素との仲介役を果たす。DNA配列に固有の水和構造を担う水和水の分子配向が健康な塩基配列の時と損傷がある時とで如何に変容するかを、広範囲な量子ダイナミクスを適用して解析した。健康なDNA、損傷が除去される孤立損傷をもつDNA塩基配列、損傷が残存したままとなる連続損傷をもつDNA塩基配列のDNA鎖の骨格構造を比較解析した。損傷の有無でDNA鎖に対する水分子の配向は異なり水和水と構築する電位差が顕著なほど遠方から明瞭に認識できる損傷と考えられる。損傷周りの屈曲が有利な配列ほど損傷除去酵素との複合体形成に有利であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

DNAの損傷除去や修復過程は、DNA塩基配列固有の水分子の運動性や配向にも依存し修復時に酵素に密着する際の構造であるDNAの屈曲性や損傷の除去率に影響すると考えられる。DNAの損傷がピンポイントでは無く広範囲に及ぶ場合、その損傷領域を一体として捉えることに意義があるため、必然的に計算領域も広範囲にわたり、周辺水分子も含めて原子数の多さ故に計算負荷も大きくなる。広範囲にわたる損傷の大きさをそのまま捉えながら無傷と比較検証するために高速な量子分子動力学法を適用することは生体構成分子に対する現実的な理論計算手法の適用という観点からも学術的な意義が大きい。

研究成果の概要(英文)：A mutagenic lesion, 7, 8-dihydro-8-oxoguanine (8oxoG) is generated by oxidative stress. The DNA (deoxyribonucleic acid) glycosylases as typified by the human repair enzyme 8-oxoguanine glycosylase (hOGG1) are known to act particularly on the single 8oxoG lesions and remove them. The hOGG1 plays a catalytic role in the enzymic reaction process by rotating and cleaving N-glycosidic bond of the 8oxoG nucleoside. Each electronic configuration around the single 8oxoG lesion as well as one-nucleotide apart tandem 8oxoG lesions in the DNA with surrounding water network is compared with that of undamaged DNA at body temperature by an accelerated quantum-chemical method. Tandem 8oxoG lesions which sandwich one adenine have cross-binding hydrogen bonds along the helical axis between the hydrogen and the adducted oxygen and fix individual lesions, keeping them secured in the helix. Eversion of 8oxoG for enzymic catalyzation is difficult to take in the case of the clustered 8oxoG lesions.

研究分野：生体分子の計算

キーワード：水 8-オキソグアニン DNA 塩基配列

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

DNAの健康状態を監視し損傷を除去するヒト修復除去酵素 8-oxoguanine glycosylase (hOGG1)は、DNA中のグアニンが酸化損傷を受けた分子である7,8-dihydro-8-oxoguanine(8-オキソグアニン)が孤立または離散して塩基配列中に存在している時は高効率で除去するが、8-オキソグアニンが密集して存在している場合は除去しない。hOGG1とDNAの間には、何らかの選別基準に則した分子認識機構が存在し、損傷除去反応が起こる塩基配列と、損傷が残存したままとなる塩基配列のパターンがあると考えられる。hOGG1の触媒作用により、DNA中の8-オキソグアニンとリボース間のN-グリコシド結合が反転し(図1)、DNA中に孤立して存在する配列中の8-オキソグアニンは除去されるが、損傷がクラスター化して存在した場合に、どのような因子によってhOGG1の反応性が変容するのか、そのメカニズムが理解されていない。DNA配列に固有の因子に影響されるhOGG1とDNAとの初期の分子認識過程は実験では解明し難い。

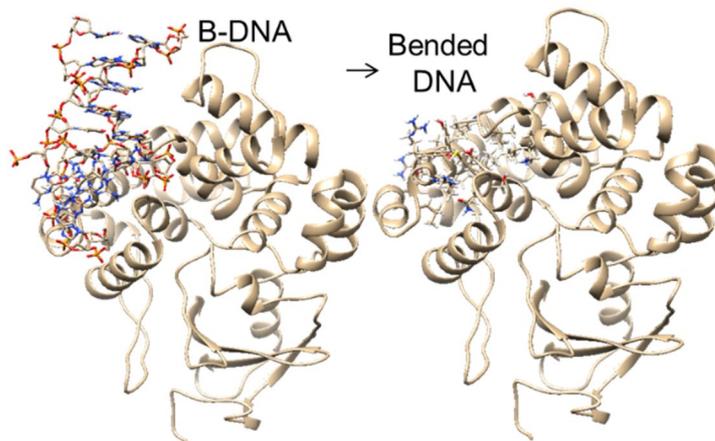


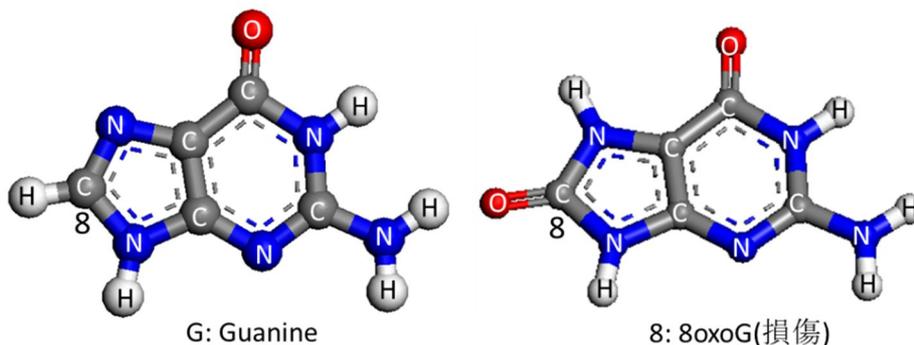
図1. DNA-修復酵素複合体

2. 研究の目的

広範囲な量子ダイナミクスを、健康なDNA塩基配列、損傷が除去される塩基配列、損傷が残存したままとなる塩基配列(表1)の3次元構造に適用し、DNA鎖の骨格の差異を3次的に解析し、その塩基配列との相関を同定する。基質-酵素間で適用されてきたDNAの塩基配列が特異的に酵素と作用する基質特異性のメカニズムが当てはまる可能性を検証する事を目的とする。水分子の配向や集積の仕方も解析する。

表1. 無傷、孤立損傷、連続損傷の塩基配列.

sequences		
Undamaged	1 × 8oxoG	2 × 8oxoG
5'-d(G ₇ A ₈ G ₉)-3' 3'-d(C ₇ T ₈ C ₉)-5'	5'-d(oG ₇ A ₈ G ₉)-3' 3'-d(C ₇ T ₈ C ₉)-5'	5'-d(oG ₇ A ₈ oG ₉)-3' 3'-d(C ₇ T ₈ C ₉)-5'



3. 研究の方法

酸化損傷のひとつである8oxoG(8-オキソグアニン)を含むDNA骨格構造のX線結晶構造は、生体内の状態とは異なるパッキング構造であり、DNAに8oxoGが含まれる事で、生体内部に存在するDNAにどのような違いが生じるのか、本来の生体内部を正確に描写する上で不可欠な水分子雰囲気中の分子ダイナミクス(図2)を適用した。

G:C(Guanine:Cytosin)を含む無傷のDNA、1か所の孤立損傷 8oxoG:C(8-オキシグアニン:Cytosin)をもつDNA、2か所の連続した損傷 8oxoG:C(8-オキシグアニン:Cytosin)をもつDNAを体内と同じ体温、水和環境下で緩和した後、量子計算を行い、その結果得られた個々の原子の電荷を用いて分子動力学計算を行った。損傷の有無によって変化するDNA骨格およびグリコシド結合角の差を解析する。また動径分布関数による水分子の集合形成タイプについても解析する。

実在するDNA周辺を取り囲む水分子やDNA配列内の損傷を適切に表現できる、精度が第一原理計算と同等でありながら高速な量子ダイナミクスをDNA 3次元構造に適用して解析を進める。

DNAおよび周辺水分子に対する拡散係数、動径分布関数、ポテンシャルマップを取得することによって、DNAに損傷がある場合に、無傷DNAと比較して並進運動や回転運動にどのような変化があるかを解析した。広範囲な量子ダイナミクスを、健康なDNA、損傷が除去される塩基配列、損傷が残存したままとなる塩基配列の3次元構造に適用し、DNA鎖の結合角の差が積算する事で起こると考えられる骨格ゆがみを3次的に数値解析し、塩基配列と骨格との相関を同定する。DNA骨格やグリコシド結合角を無傷なDNAのねじれ角と比較し、DNAが損傷を受けることによって生じると想定される骨格構造のゆがみを解析し、8oxoG損傷除去率の実測値と、損傷除去される配列パターン、損傷除去されない配列パターンを相対比較する事により、塩基配列の特異性を見出す。

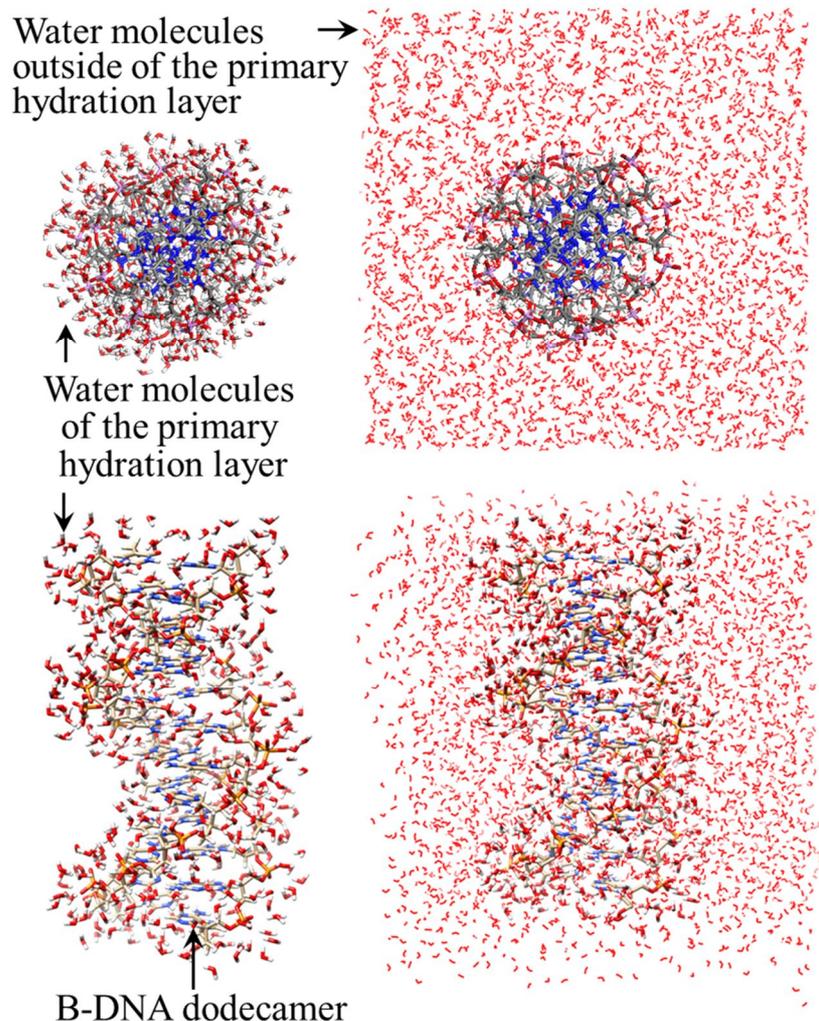


図2 . 水和水中のDNA 3次元構造

4 . 研究成果

一般的に一旦うまく開始することのできた酵素反応は高効率で進むため、除去反応が進行しないケースは、除去酵素が損傷を無視してしまうか、認識できても反応開始に至らない何らかの障害があると考えられる。一方で、DNAに付随した周辺の水分子は、DNA自体の構造維持や、接近する特定の酵素との仲介となる。こうした反応前の分子認識過程において、外側から接近するhOGG1が最初に認識するのは、DNAの溝深い部分よりもDNA鎖の外側であり、特に8oxoGは外側の水素原子が酸素原子に置き換わっているため、直接的に第一水和水に構造的あるいは電子的な影響を及ぼしている。損傷除去反応を開始できる塩基配列とそうでない塩基配列が、水分子を介在してどのように除去酵素に投影されるかが、反応開始判断の基準になっていると想定される。そこで、振動しながらもDNA鎖と垂直な方向に連なる広範囲の水分子の挙動を捉えるため、高速化量子化学ダイナミクスを用いてG:C(Guanine:Cytosin)を含む無傷のDNA塩基配列、G:C塩基対1か所が孤立損傷8oxoG:Cに変異した塩基配列をもつDNA、連続した2か所の8oxoG:C損傷をもつDNAの3次元構造とその近傍の第一水和水の特徴を調べた。

無傷 DNA と損傷 DNA 周りの水分子の動径分布解析

単独 8-オキソグアニン損傷をもつ DNA、連続した 8-オキソグアニン損傷をもつ DNA が無傷の DNA と如何に異なるかを広範囲な量子ダイナミクスを用いて、周辺水分子も含めた大規模な解析を行った。DNA 周辺の水分子の DNA 損傷の表面塩基に対する動径分布解析からは、単独損傷部位に対しては、水分子の水素を DNA 側に配向させる傾向(図 3 b)が無傷の DNA (図 3 a)や連続損傷部位(図 3c)よりも顕著であることがわかった。

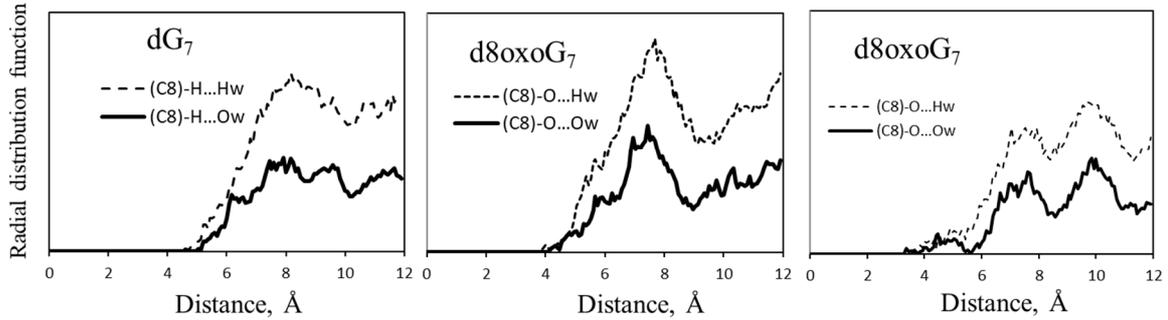
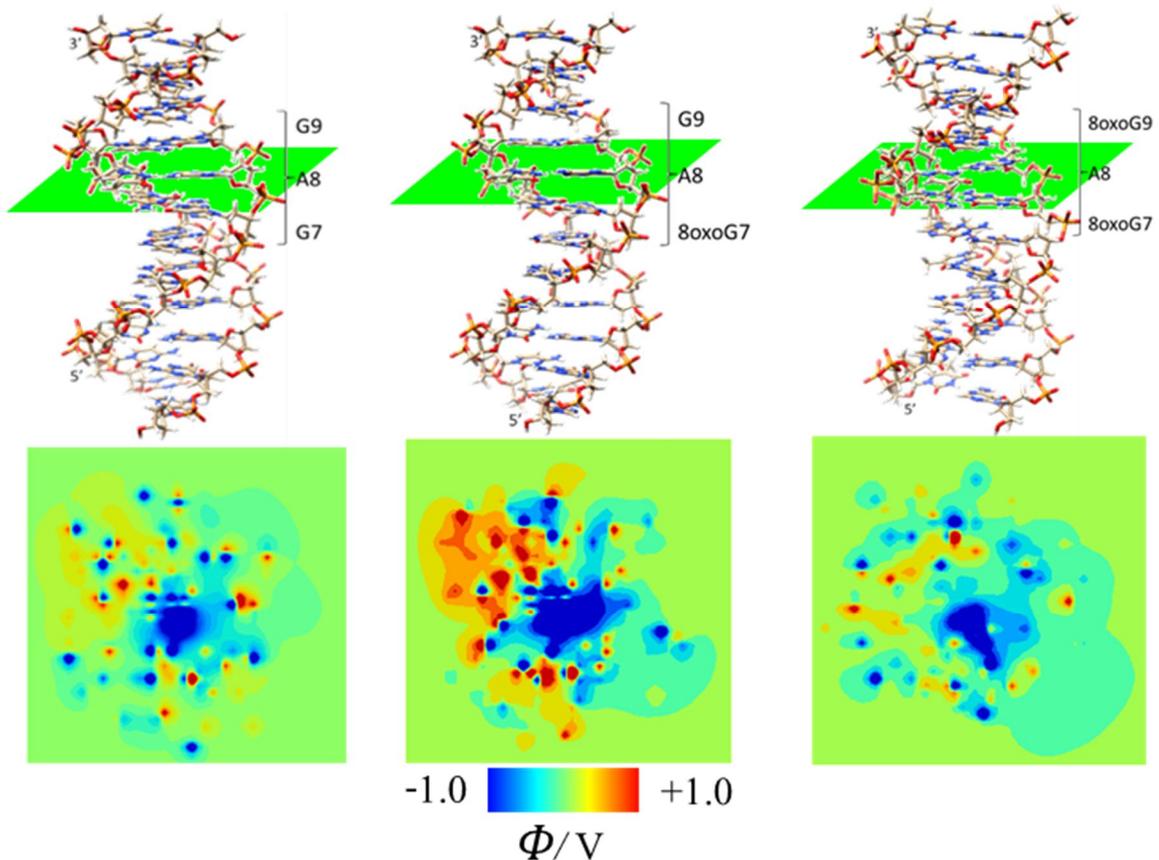


図 3. (a)無傷 DNA G₇H₈ (b)単独損傷 DNA 8oxoG₇H₈ (c)連続損傷 DNA 8oxoG₇H₈ 周りの水分子 水素 H_w と酸素 O_w の動径分布解析

無傷 DNA と損傷 DNA とその水和水がつくる電位構造

反応前の分子認識過程において、外側から接近する hOGG1 が最初に認識するのは、DNA 鎖の外側であり、特に 8oxoG は外側の水素原子が酸素原子に置き換わっているため、直接的に第一水和水に構造的あるいは電子的な影響を及ぼしているが、その電子構造が長距離からの認識としてはたらく電位構造としてどのように投影されるかを図 4 の通り、比較したところ、8oxoG₇ 単独損傷 DNA が構築する電位が顕著であり、hOGG1 は連続損傷よりも単独損傷の方が、損傷を認識しやすい指標になっていると考えられる。



無傷 DNA

8oxoG₇ 単独損傷 DNA

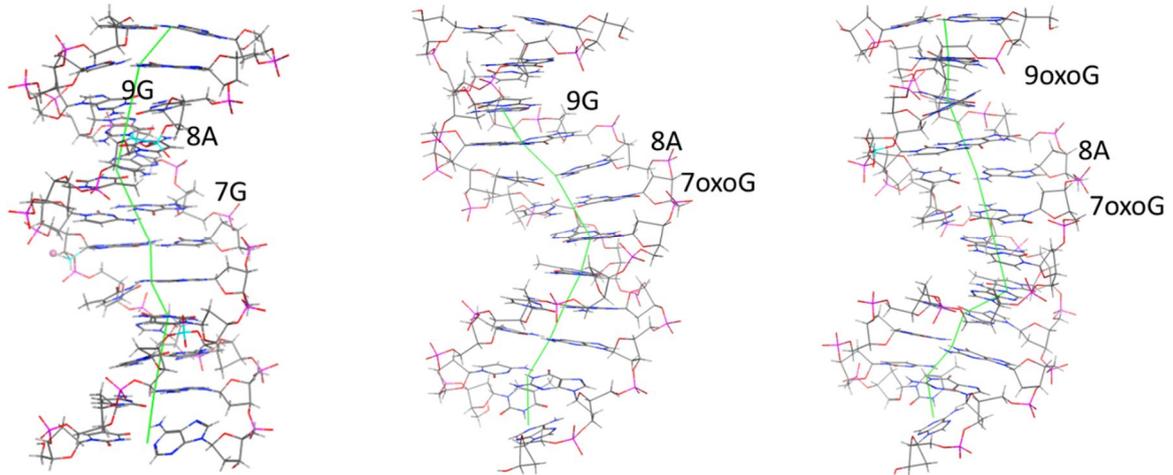
8oxoG₇ および 8oxoG₉ 連続損傷 DNA

図 4 . DNA とその水和水が構築する電位

無傷 DNA と損傷 DNA の骨格構造

体温での高速化量子ダイナミクスにより、単独損傷を有する DNA、同一鎖上に 2 連続損傷を持つ DNA とそれらの周辺水分子の骨格構造を解析したところ、図 5 の通り、単独損傷 DNA は 8oxoG 近傍の屈曲が見られ、単独損傷 DNA の方が連続損傷 DNA より有利に酵素と密接なコンフォメーションを取りやすいと考えられる。この理由を DNA 鎖内部の塩基同士の結合エネルギーから解析すると、連続損傷 8oxoG は、DNA ヘリックス内側において 8oxoG 同士が互いの損傷末端酸素が中間のアデニンの 8 位水素と微弱に結合していることがわかった(図 6 破線)。このことから、連続損傷中の各 8oxoG は内部に固定され、各々の 8oxoG が独立してヘリックス外側に反転することは無く、孤立損傷は除去されやすく、連続損傷は残存しやすいと考えられる。

DNA の損傷除去や修復過程は、DNA 配列自体に依存するとされてきたが、DNA 鎖自体の損傷有無の如何によって、骨格構造が決定される要因は認められるが、酵素との仲介役を果たす媒体である水分子の配向や電位構造も DNA 配列に依存したものでありこれらが統合的に損傷除去の度合いを決定すると考えられる。

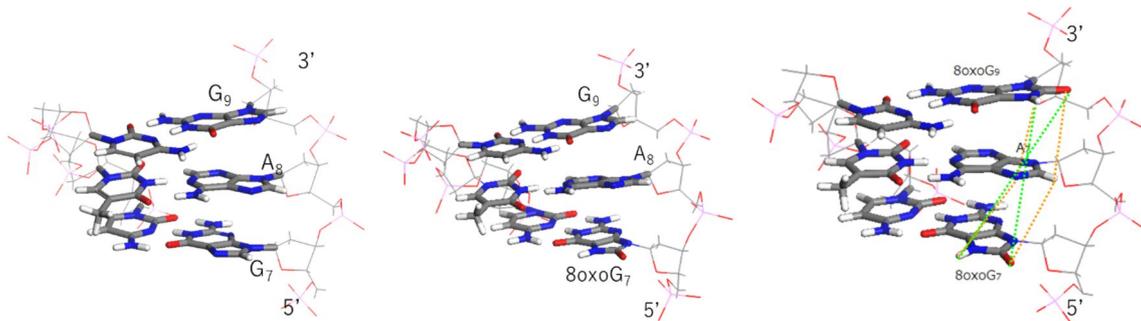


無傷 DNA

8oxoG₇ 単独損傷 DNA

8oxoG₇ および 8oxoG₉ 連続損傷 DNA

図 5 . DNA の骨格構造



無傷 DNA

8oxoG₇ 単独損傷 DNA

8oxoG₇ および 8oxoG₉ 連続損傷 DNA

図 6 . 連続損傷 DNA が有する DNA ヘリックス内の損傷塩基同士の微弱な結合

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 G. Diguët, J. Y. Cavaille, G. Sebald, T. Takagi, H. Yabu, Ai Suzuki, R. Miura	4. 巻 190
2. 論文標題 Physical behavior of electrostrictive polymers. Part 1: Polarization forces	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Computational Materials Science	6. 最初と最後の頁 1-10/110294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.commatsci.2021.110294	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ai Suzuki, Masayuki Miyano, Ryuji Miura, Gildas Diguët, Jean-Yves Cavaille, Gael Sebald	4. 巻 1
2. 論文標題 Estimation of Multiple Coefficients to Express Longitudinal and Transverse Electrostriction in the PTMO Crystal	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of Seventeenth International Conference on Flow Dynamics	6. 最初と最後の頁 100-101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ai Suzuki, Masayuki Miyano, Ryuji Miura, Kuniaki Ara	4. 巻 1
2. 論文標題 Analysis of the Hydrogen Permeation in the Liquid Sodium with Titanium Layer by Accelerated Quantum Chemical Molecular Dynamics Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of Seventeenth International Conference on Flow Dynamics	6. 最初と最後の頁 172-173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ai Suzuki, Masayuki Miyano, Ryuji Miura, Manabu Yasui	4. 巻 1
2. 論文標題 Potential Analysis of the Hydration Layer around the Injured DNA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of Seventeenth International Conference on Flow Dynamics	6. 最初と最後の頁 328-329
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 鈴木 愛, 宮野 正之, 三浦 隆治, 荒 邦章	4. 巻 34巻1号
2. 論文標題 ナトリウム-水反応の混相領域への量子分子動力学解析の適用	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Multiphase Flow	6. 最初と最後の頁 134-139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3811/jjmf.2020.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ai Suzuki, Masayuki Miyano, Ryuji Miura, Jean-Yves Cavaille, Gildas Diguët, Gael Sebald	4. 巻 -
2. 論文標題 Polarization and Elasticity Characterization in Crystal and Amorphous States of Polytetramethylene Oxide Elastomer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 proceeding of the 16th International Conference on Flow Dynamics	6. 最初と最後の頁 382-383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ai Suzuki, Masayuki Miyano, Ryuji Miura, Kuniaki Ara	4. 巻 -
2. 論文標題 Morphology Analysis of Hydrogen Produced from Sodium-Water Reaction over the Transition Metal	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 proceeding of the 16th International Conference on Flow Dynamics	6. 最初と最後の頁 192-193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 Ai Suzuki, Masayuki Miyano, Ryuji Miura, Gildas Diguët, Jean-Yves Cavaille, Gael Sebald
2. 発表標題 Estimation of Multiple Coefficients to Express Longitudinal and Transverse Electrostriction in the PTMO Crystal
3. 学会等名 Seventeenth International Conference on Flow Dynamics (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ai Suzuki, Masayuki Miyano, Ryuji Miura, Kuniaki Ara
2. 発表標題 Analysis of the Hydrogen Permeation in the Liquid Sodium with Titanium Layer by Accelerated Quantum Chemical Molecular Dynamics Study
3. 学会等名 Seventeenth International Conference on Flow Dynamics (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Potential Analysis of the Hydration Layer around the Injured DNA
2. 発表標題 Ai Suzuki, Masayuki Miyano, Ryuji Miura, Manabu Yasui
3. 学会等名 Seventeenth International Conference on Flow Dynamics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ai Suzuki
2. 発表標題 Polytetramethylene oxide (PTMO)結晶の誘電率および電歪効果に関する計算化学的研究
3. 学会等名 日本レオロジー学会 エレクトロレオロジー研究会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 愛, 宮野 正之, 三浦 隆治
2. 発表標題 分子シミュレーションによるポリマー結晶の軸方向に沿った応力強度および電歪挙動解析
3. 学会等名 第54回 X線材料強度に関するシンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ai Suzuki
2. 発表標題 Quantum Chemical Insight into Catalyst Durability
3. 学会等名 Catalysis Virtual 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ai Suzuki, Akira Sassa, Manabu Yasui, Masamitsu Honma
2. 発表標題 Analysis by an Accelerated Quantum Chemical Molecular Dynamics Method for the 8-oxoG added DNA structure
3. 学会等名 The Chem-Bio Informatics Society 情報計算法学生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 愛, 佐々 彰, 安井 学, 本間 正充
2. 発表標題 水分子に囲まれた8-オキソグアニン付加DNAと無傷DNAの高速化量子計算を用いた骨格比較解析
3. 学会等名 第6回アジア環境変異原学会 / 日本環境変異原学会第48回大会 合同大会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ai Suzuki, Masayuki Miyano, Ryuji Miura, Jean Yves Cavaille, Gildas Diguët, Gael Sebald
2. 発表標題 Characterization in Crystal and Amorphous States of Polytetramethylene Oxide Elastomer
3. 学会等名 The 16th International Conference on Flow Dynamics (ICFD2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ai Suzuki, Masayuki Miyano, Ryuji Miura, Kuniaki Ara
2. 発表標題 Morphology Analysis of Hydrogen Produced from Sodium-Water Reaction over the Transition Metal
3. 学会等名 The 16th International Conference on Flow Dynamics (ICFD2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 愛, 宮野 正之, 三浦 隆治
2. 発表標題 Evaluation of DNA backbone winding by molecular dynamics study
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 愛, 宮野 正之, 三浦 隆治
2. 発表標題 Electrostrictive Behavior of Amorphous Polytetramethylene Oxide Elastomer
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	安井 学 (YASUI MANABU) (50435707)	国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部・室長 (82601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関