

分子動力学シミュレーションによる 一本鎖DNA塩基スタッキングの配列依存性

畑 宏明^{1*}、渡部 絵里子²

¹ 東京大学大学院 理学系研究科 物理学専攻

² 東京大学大学院 工学系研究科 化学システム工学専攻

*メールアドレス: hata@genta.c.u-tokyo.ac.jp

著者紹介

畑 宏明 : 陶山明研究室に所属。陶山研究室は合成DNAなどの生体分子を使って、高性能の分子システムを創ることに挑戦している。それらのシステムは分子サイズの電子機器やナノサイズの医薬として応用できる可能性がある。

渡部 絵里子 : 山下・牛山研究室に所属。当研究室は理論的アプローチによる化学反応の量子ダイナミクス の 解明とその制御を中心課題としている。最近、渡部は固体高分子型燃料電池の正極に使用できる、白金にかわる材料として近年注目されている Ta₃N₅ の触媒活性に関する研究を報告した。その研究において、Ta₃N₅ の触媒活性が表面構造によって変化することが、第一原理計算法によって示された。

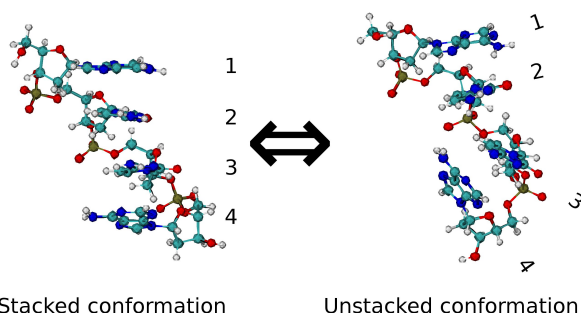


図 1. 一本鎖DNAのスタッキング状態と非スタッキング状態における構造の例。DNA配列はACCA。各塩基を1から4の数字で示している。溶媒露出面積(SASA)は、スタッキング状態が9.83 nm²、非スタッキング状態が10.35 nm²で、非スタッキング状態の方が大きな値をとる。

本研究は、MERIT自主キャンプにおける渡部の発表をうけて、畑から渡部に提案されたものである。畑はDNAの微細な構造変化が起こる機構は、実験的手法では研究が困難であると考えていた。それに対して渡部が理論化学の方法論を提供し、その機構を調べる新たな方法が生まれた。

はじめに

DNA塩基のスタッキング相互作用は、DNAの二重らせん構造を安定化する主要な要因である。この塩基のスタッキングは一本鎖DNAの場合でも起こる。一本鎖DNAにおける塩基スタッキング(SSBS)の形成は、DNA鎖間の相互作用に影響する可能性があり、関連する技術(ポリメラーゼ連鎖反応、種々のプロッティング技術、DNAナノテクノロジーなど)の効率を左右すると考えられる。しかし、このSSBSは二重鎖のDNAの場合とは異なり、その安定性をDNA配列から見積ることができない。それゆえ、SSBSのDNA配列に対する依存性についてさらなる理解が求められている。近年、SSBSを促す4つの連続する塩基の並びがあることを示唆する実験結果が報告された[1]。本研究では、報告された4塩基の並び(配列)の1つについて、分子動力学シミュレーションを用いてそのSSBSの安定性を評価した。

方法

分子動力学シミュレーションはQiらの方法[2]にのっとり行った。以下に簡潔に述べる。2つのDNA配列、ACCAとTTTGに対して300Kの温度条件で1ns間のシミュレーションを行った。ACCAはSSBSを促す可能性があるとして報告された配列であり、TTTGはそのような性質がないだろうと報告されている比較対照の配列である。シミュレーション開始時におけるDNA

の構造は、二重鎖の B-DNA 構造から片方の鎖を取り除くことで得た。また全てのシミュレーションは Gromacs 4.6.2、Amber 03 力場を用いて行った。

結果

シミュレーションの結果得られた一連の DNA 構造は溶媒露出面積 (SASA) を基準に分類した。SASA は今回の場合、溶媒である水分子が接触できる DNA の表面積である。この SASA は DNA のスタッキングが壊れるにつれて大きくなるので (図 1)、この値をもとに SSBS の程度を定量化した。

図 2 に 2 つの DNA 配列の SASA の分布を示した。ACCA の場合、 9.83 nm^2 のところにピークがある (図 2A)。そのピークにおいて、DNA 鎖は主にスタッキングを形成した状態をとっていた (図 2A、右上)。一方、TTTG の場合は 10.21 nm^2 のところにピークがあり、そこでは DNA のスタッキングが部分的に壊れていた (図 2B)。この結果は、ACCA の配列のスタッキング形成確率が TTTG よりも高いことを示す。よって、先行研究で実験的に示唆された内容を支持する結果が得られた [1]。

議論

DNA の機能に関わる構造変化のような生体分子過程を、原子レベルで調べる分子動力学シミュレーションは、膨大な数の水分子を取り込む必要があるため、計算機の性能が追いつかず、これまで行うことが難しかった。しかし本研究では、最新の計算機と計算アルゴリズムを使用することで、水分子を含む系で DNA 分子の構造変化を効率的に計算することができた。その結果、SSBS の DNA 配列依存性に関する理論的な知見が得られた。その依存性に関するメカニズムをより詳細に理解するためには、より多くの DNA 配列について詳細な検討を行う必要がある。このような研究は、核酸間の相互作用が速い系を設計するのに役立つ、それはバイオテクノロジーやナノテクノロジーにおいて非常に重要だと考えられる。

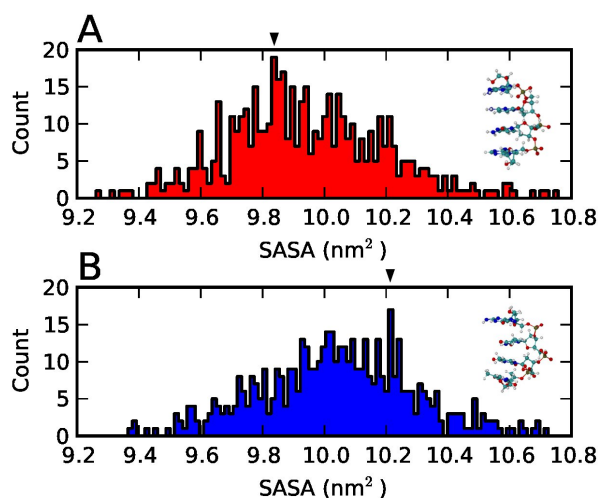


図 2. 溶媒露出面積 (SASA) の分布。(A) 一本鎖 DNA の塩基スタッキングを促す配列の場合。(B) 比較対照の DNA 配列の場合。分布のピークの位置を逆三角で示した。ピークにおける構造の例を各パネルの右上に示した。

謝辞

本研究の一部は、文部科学省の HPCI 戦略プログラム分野 1 「予測する生命科学・医療および創薬基盤」が有する SCLS 計算機システムを利用しました。

参考文献

- [1] Ramprakash, J., Lang, B., and Schwarz, F. P. November 2008 *Biopolymers* **89**(11), 969–979.
- [2] Qi, W., Song, B., Lei, X., Wang, C., and Fang, H. November 2011 *Biochemistry* **50**(44), 9628–9632.

Sequence Dependence of Single-Stranded DNA Base-Stacking Studied by Molecular Dynamics Simulations

Hiroaki Hata^{1*}, Eriko Watanabe²

¹Department of Physics, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

²Department of Chemical System Engineering, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

*Corresponding author: hata@genta.c.u-tokyo.ac.jp

About the Authors

Hiroaki Hata is a Ph.D. student working in Akira Suyama's Lab. He and his colleagues have tried to experimentally engineer smart molecular systems using biomolecules like synthetic DNA. Such systems could be potentially applied in molecular scale electronics and nanomedicine.

Eriko Watanabe is a Ph.D. student working in Yamashita-Ushiyama Lab. Her group have tried to elucidate and control chemical reaction dynamics based on the methodology of the theoretical chemistry. Most recently, she reported a study about catalytic activities of Ta₃N₅ that have been investigated as a new cathode of polymer electrolyte fuel cells without platinum. In the study, using the *ab initio* calculations, she showed that Ta₃N₅ catalytic activities can be changed by controlling the surface structure.

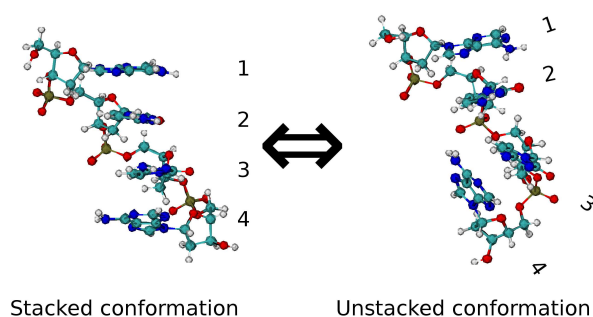


Figure 1. Typical stacked and unstacked conformation for a DNA segment (ACCA). The four nucleic acid bases are indexed by 1-4. The solvent accessible surface area (SASA) of 10.35 nm² in the unstacked conformation is significantly larger than the SASA of 9.83 nm² in the stacked conformation.

The following study was proposed by Hata to Watanabe, after her presentation at the MERIT self-directed camp. Hata had found it difficult to study mechanisms of minor conformational changes of DNA using experimental approaches, and Watanabe provided him with the methodology of theoretical chemistry and a new way to study the mechanisms.

Introduction

Stacking interaction of nucleic acid bases plays a central role in stabilization of the DNA double helix structure. In the case of single-stranded DNA, the base-stacking can occur. The single-strand base-stacking (SSBS) of DNA is likely to affect the interaction between nucleic acid strands and the DNA-related technology such as polymerase chain reaction, various blotting techniques, and DNA nanotechnology. However, the stability of SSBS of DNA can not be estimated from the sequence, unlike the double helix structure. Thus the further insight into the sequence dependence of SSBS has been highly desired. Recently, the existence of some DNA base quadruplets facilitating the SSBS has been suggested experimentally [1]. In the present study, the stability of SSBS for one of the SSBS-facilitating base quadruplets was evaluated using molecular dynamics (MD) simulations.

Methods

MD simulations were performed according to Qi et al. [2] Briefly, two DNA segments of ACCA and TTTG were simulated at 300 K for 1 ns. The former is considered to facilitate SSBS and

the latter is a control. The initial conformations were obtained using the double helix structures of B-DNA. All MD simulations were performed via Gromacs 4.6.2 with the Amber 03 force field.

Results

The conformations obtained from snapshots during the simulation were characterized according to the solvent accessible surface area (SASA) of the DNA segments. The SASA is defined as the surface area of the DNA segment accessible to a water molecule. The SASA increased as more the stacked conformation was broken (Fig. 1), thus the SASA of the DNA segment describes the stacking geometry of the bases.

Figure 2 shows the distributions of the SASA for the two DNA segments. For ACCA, a peak at 9.83 nm^2 appeared (Fig. 2A). At the peak, the DNA segment formed the stacked conformation (Fig. 2A, inset). On the other hand, for TTTG, a peak at 10.21 nm^2 appeared and, at the peak, the SSBS was partially broken (Fig. 2B). This result indicates that the probability of forming stacked conformation of the DNA segment ACCA was larger than that of TTTG. This result is consistent with the experimental result reported previously [1].

Discussion

MD simulations for atomic-level characterization of biomolecular processes such as the conformational transitions associated with DNA function have been prevented by the computational demands with the simulations including a large number of water molecules. However, in this study, MD simulations of DNA molecules with waters were performed using recent advances in algorithms, software, and computer hardware. As a result, the theoretical understanding of the sequence dependence of SSBS was obtained. To gain further insight into the dependence, the detailed investigation with many sequences will be necessary. This kind of study will be helpful to facilitate the experimental designs for fast interaction between nucleic acids, and such process is believed to be very important in bio/nanotechnology.

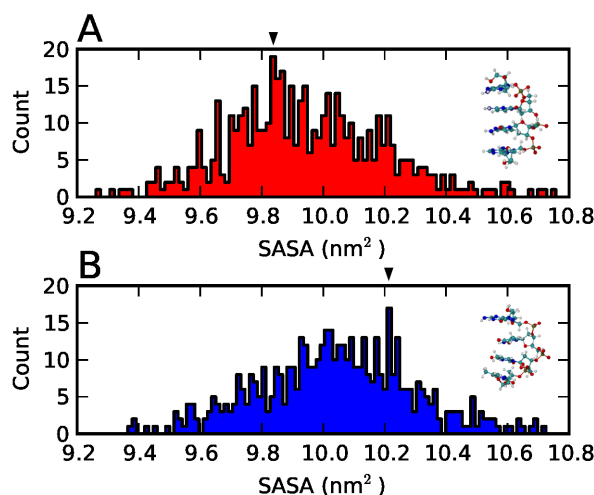


Figure 2. Distributions of the solvent accessible surface area (SASA) for conformations of (A) a SSBS-facilitating, and (B) a control base quadruplet. A typical conformation at a peak is shown in the upper right of each panel. Arrowheads indicate the peaks.

Acknowledgments

This research was partially supported by MEXT SPIRE Supercomputational Life Science.

References

- [1] Ramprakash, J., Lang, B., and Schwarz, F. P. November 2008 *Biopolymers* **89**(11), 969–979.
- [2] Qi, W., Song, B., Lei, X., Wang, C., and Fang, H. November 2011 *Biochemistry* **50**(44), 9628–9632.