

## 研究経過報告書

2021年 9月 1日

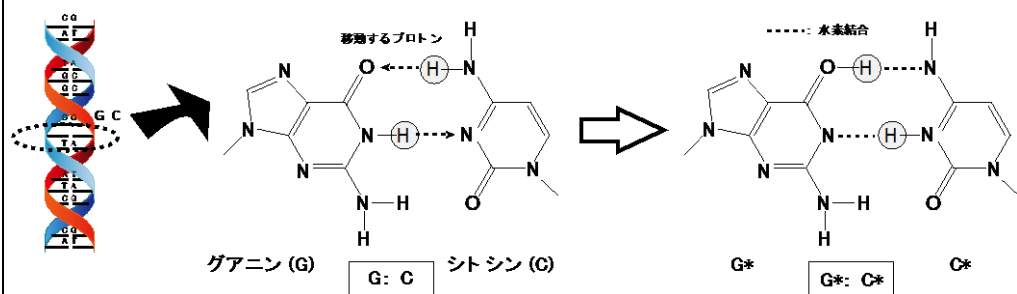
研 究 員 (留学者)	所属 理工学部 職 教授 氏名 小田井 圭
派 遣 期 間	令和 2年 9月 1日 ~ 令和 3年 8月 31日
研究主題等	<b>研究課題 1</b> : DNA塩基配列の突然変異に関する量子化学的研究 <b>研究課題 2</b> : ヒト成長ホルモンの分子動力的研究
報 告 事 項	<p>(研究活動の概要、内容、成果等、添付書類の見出し等)</p> <p>■研究活動の概要</p> <p>令和2年度学外派遣研究員等制度を利用し、令和2年9月1日から令和3年8月31日の1年間、オーストリア・ウィーン大学理論化学研究所で上記2テーマの研究をする予定であった。しかし、COVID-19の影響で派遣先からの受入許可待ち状態が続いた。私自身のワクチン接種も令和3年8月となり結局1年間、受入許可が得られず本学にて研究室の計算機設備を使って研究することになった。</p> <p>巨大な計算機リソースを必要とする<b>研究課題 2</b>については、派遣先のコンピュータ設備を利用して分子動力学計算をする予定であったため、1年間全く研究活動が出来なかった。そのため本報告は本学研究室の計算機リソースを利用した<b>研究課題 1</b>についてのみとなる。</p> <p>■研究内容</p> <p>課題「DNA塩基配列の突然変異に関する量子化学的研究」</p> <p>「ヒトがん細胞のDNA変異の原因は3分の2が塩基配列の突然変異であり、体外から入って来る発がん性化学物質や紫外線などの環境因子ではない」という報告が2017年のScience誌に掲載された。これは、“がん”などの病気の原因となる遺伝子変異の多くが体内の機構から起こっていること示す報告である。</p>

報告事項

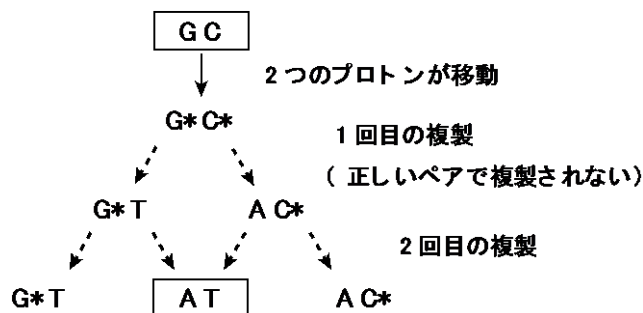
一方、生体にはダメージを受けた塩基を修復する機構も備わっている。この修復機構の研究成果は2015年のノーベル賞に繋がっている。我々の体内には塩基の変異を起こす機構とそれを修復する機構の両方が存在していることになる。

DNAはアデニン (A) 、グアニン (G) 、チミン (T) そしてシトシン (C) という4つの塩基から構成されている。AはTと、GはCと塩基対(ペア)を作り二重らせん構造を形成しており、その並ぶ順序がタンパク質合成に大切な役割をしている。DNAは細胞分裂の際などに、二重らせん構造がほどけ、2本鎖となりそれらそれぞれの鎖が鋳型となって、同じ遺伝情報を持ったDNAが複製されるというシステムになっている。

このA-TおよびG-Cがペアを形成するために分子間力として水素結合が存在している。A-Tペアには水素結合が2つ、G-Cペアには3つある。我々の研究グループは、この水素結合に注目した。具体的には、ペアを組む2つの水素結合中のプロトンが同時に交換される可能性があると考えた。



この考え方は、量子化学者レフディンが1963年に提唱した塩基配列の異変に関する一つのモデルである。これは上図に示すように、例えばG-Cペアの場合、GとCの間で2つのプロトン移動（二重プロトン移動、DPTと略す）が稀に起こりG\*-C\*ペアとなるという仮説である。この仮説に従うと、G\*-C\*が複製される時、正しい相手とのペアを作れず A-Tペアに変異するのである（下図）。



この研究の目的は、塩基対の間で起こるプロトン移動というミク

ロな現象に着目して、マクロな現象である遺伝子情報の変異および細胞のがん化へ至る仕組みを調査することである。

計算には計算科学用ソフトウェアGaussian09 を利用し密度汎関数法 (Density Functional Theory, DFT ) 法を採用した。交換汎関数と相関汎関数の組み合わせはB3LYP (Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr)を用いた。基底関数系は6-311++g(d,p) を使用した。分子間の相互作用を扱うため、基底関数には分極関数だけでなく分散関数も考慮している。計算は全て気相中でのものである。一部の計算は、国士舘大学理工学部で導入し2020年末より稼動したスーパーコンピュータSX-Aurora TSUBASAを利用した。

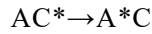
### ■成果

2020年9月からの在外派遣期間にはいるまでに得られている研究成果は、(1) G-Cペアに関しては、プロトン移動に起因する変異が起こる可能性が高い；(2) A-Tペアの場合は、G-C対とは異なるメカニズムが働いている可能性があることである (Umesaki, K.; Odai, K.; A kinetic approach to double proton transfer in Watson-Crick DNA base pairs. J. Phys. Chem. B 2020, 124, pp1715-1722.)。

そこで、9月からはDTPにより変異が起こる可能性があるG-Cペアについて重点的に量子化学計算を実施した。具体的には、Watson-Crick型のG-C塩基対 (ペア) がDTPを起こすことで、2回の複製後A-T塩基対へtransition (変異) する確率をDTF法と遷移状態理論を用いて計算した。レフディンモデルの仮定によりG-CにDTPが起きた互変異性体G\*-C\*が複製することでG\*-TおよびAC\*が生成される。それらの互変異性体G\*-TおよびA-C\*のDTPの可能性も検討し、G\*-TからG-T\*への、およびA-C\*からA\*-Cへの固有反応座標と遷移確率も求めた。またG\*-Tなどの互変異性について赤外吸収およびラマンスペクトルを求め、それぞれに特長的な基準振動を計算した。ただし、基準振動の結果については、この報告書では割愛させて頂く。

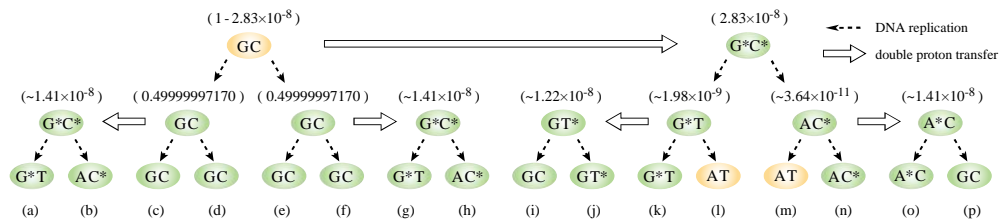
細かな計算過程や理論については後述する論文を参照して頂き、主だった結果のみを報告させて頂く。まず、DTP反応の遷移確率 (反応が起こる可能性) は下表のようになった。

DPT Reaction	Transition Probability
GC→G*C*	$2.83 \times 10^{-8}$
G*T→GT*	0.140



$$2.57 \times 10^{-3}$$

遷移確率の値で興味深いことは、G-C → G\*-C\*反応に比べて、G\*-T → G-T\*反応およびA-C\* → A\*-C反応の確率が極めて高いことである。このことは、G-CペアでDTPが起こり、複製によりG\*-TおよびA-C\*が生成されると、かなりの確率でG-T\*およびA\*-Cが生成されることを示す（下図.を参照のこと）。これにより、次の2回目の複製において、複製ミスとなるA-Tペアの発生がある程度抑制されることになる。



報告事項

上図は、DNA塩基配列が正確に複製されるという仮定の下で、DPTを起こし、2回の複製を経て現れる様々なペアの出現確率である。DPTによるG-CペアからA-Tペアへの移行には2つのプロセスがある。1つは、上図中の(1)により示される経路で、DPTによりG-CペアからG\*-C\*ペアが生成され、1回目のDNA複製でG\*-Tペアとなり、2回目の複製でA-Tペアへ変異するプロセスである。もう1つは、図中の(m)で、DPTによりG-CペアからG\*-C\*ペアが現れ、1回目のDNA複製で出来たA-C\*ペアから、2回目の複製でA-Tペアへ変異する経路である。

下表は、右の表は、A-T、A-C\*、A\*-C、G-T\*、G\*-T、およびG-C塩基対が、DPTによるG-C塩基対から上図の2回の複製で現れる確率を示す。

Mutation	Probability of appearance
GC->AT	$1.31 \times 10^{-8}$
GC->AC*	$2.12 \times 10^{-8}$
GC->A*C	$1.82 \times 10^{-11}$
GC->GT*	$9.91 \times 10^{-10}$
GC->G*T	$2.02 \times 10^{-8}$
GC->GC	0.999999944

この結果は、人間の体細胞中に30億ペアの塩基があり、その半数

報告事項

がG-Cペアであると仮定すると2回の複製で約20(19.7)塩基がA-Tに変異するというものである。これらの結果を2021年4月頃より1本の論文にまとめはじめ、6月にはアメリカ化学会誌に投稿し8月中旬にアクセプトをもらうことが出来た。K Odai, K Umesaki; Kinetic Study of Transition Mutations from G-C to A-T Base Pairs in Watson-Crick DNA Base Pairs: Double Proton Transfers, *J. Phys. Chem. A*. 2021。現在、校正作業中である。  
また、学会発表はコロナ禍のため行わなかった。

■今後の課題

G-Cペアについては一連の研究成果が得られたが、A-Tペアの場合は、G-C対とは異なるメカニズムが働いている可能性があり、まだ成果が得られていない。現在、DNA二重鎖に水和している水分子に着目して、A-T塩基対の変異のメカニズムを調査している。

今回、COVID-19のため、理論化学計算では有名なウィーン大学での共同研究は実現できなかったが、自研究室において研究活動に没頭できる環境・時間を提供して頂き感謝いたします。この在外派遣期間中で得た知識や新たな研究手法などを今後の教育・研究活動に活かしていきたいと考えている。