1P33

# 密度汎関数によるミスマッチのある LNA-DNA 二重鎖の電子状態解析

（豊橋技科大院工 [1]、プエルトリコ大 [2]）

○夏目貴行 [1]、Yasuyuki Ishikawa[2]、出立兼一 [1]、塚本貴志 [1]、栗田典之 [1]

natsume@theo.tutkie.tut.ac.jp

**【はじめに】**

遺伝情報をより高速且つ高精度に解析するため、DNA 以外の様々な人工核酸を用いたバイオチップの開発が進められ、特に LNA（locked nucleic acid）を用いたバイオチップに注目が集まっている。LNA は DNA との結合能力が高く、LNA-DNA 二重鎖は DNA-DNA 二重鎖よりも安定な二重鎖を形成するため、DNA 塩基配列をより高精度に検出できる。また、二重鎖形成時に塩基間にミスマッチが発生した場合、LNA-DNA の安定性が大きく変化するため、LNA 一重鎖を用いたチップは、一塩基変異多型の検出にも優れている。我々は、密度汎関数法に基づく第一原理分子軌道計算により、ミスマッチのある LNA-DNA 及び DNA-DNA の電子状態を解析し、ミスマッチよる影響を明らかにした。

**【計算手法】**

これまでの実験で、ミスマッチを含む LNA-DNA 二重鎖の融解温度が解析されており、ミスマッチによる安定性の変化が明らかにされている。本研究では、実験構造と同じ塩基配列を持つ、8 塩基対から成る B 型 DNA-DNA 及び LNA-DNA の二重鎖構造を作成した。その構造に、Fig.1 に示す 2 種類の T-G ミスマッチを導入し、その部分のみ AMBER 力場で構造最適化し、ミスマッチを含む二重鎖の構造を作成した。その構造の電子状態を、非経験的分子軌道計算プログラム Dmol[3] の RPBE 汎関数、及び DNP の基底関数を用いて計算した。

**【計算結果】**

各二重鎖構造に対する、一重鎖間の結合エネルギーを Table 1 に示す。LNA-DNA に 2 種類のミスマッチを導入した場合、結合エネルギーは共に減少し、実験で得られたミスマッチによる融解温度の変化と定性的に一致する。一方、DNA-DNA の場合は、Fig.1(a)のミスマッチを導入した場合、結合エネルギーが増加し、実験結果を説明できない。しかし、Fig.1(b)のミスマッチを導入すると、結合エネルギーは 15.3 kcal/mol 減少し、実験結果と定性的に一致する。従って、DNA-DNA 中に導入された T-G ミスマッチは、Fig.1(b)の構造を取ると予測できる。

このような結合エネルギーの変化の原因を説明するため、各二重鎖構造の水素結合部位の電荷分布を解析した。その結果、LNA-DNA では、水素結合に関与する水素原子の電荷が、ミスマッチにより大きく減少することが明らかになった。そのため、LNA-DNA では、ミスマッチによって水素結合がより弱くなり、結合エネルギーの減少が DNA-DNA より大きくなったと結論できる。

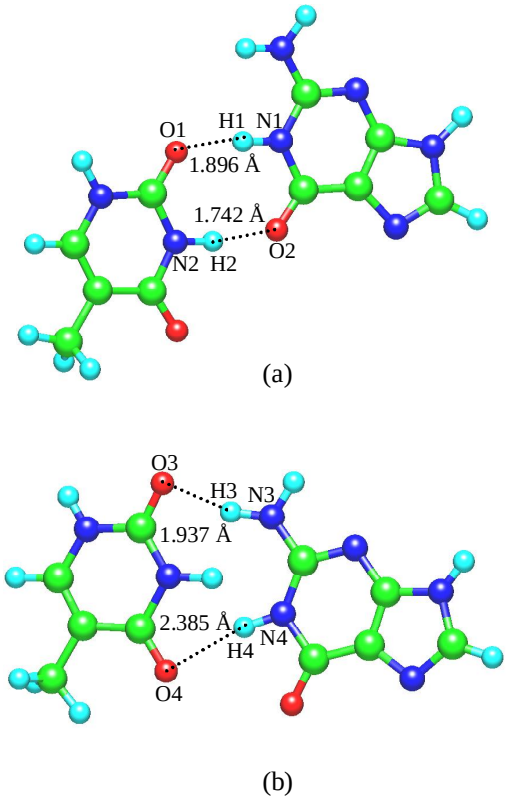


Figure 1. (a) More stable T-G mismatch, (b) Less stable T-G mismatch.

Table 1. The hybridization energies (kcal/mol) for DNA-DNA and LNA-DNA with and without the T-G mismatches.

| | No mismatch | T-G mismatch (a) | T-G mismatch (b) |
|---|---|---|---|
| DNA-DNA | -135.7 | -138.1 | -120.4 |
| LNA-DNA | -151.5 | -148.6 | -132.6 |