

四重鎖 DNA のキラターゼ活性

(筑波大院数物) ○鳥越果林・岡本 千奈・百武 篤也, 山本 泰彦
 Chelatase Activity of G-Quadruplex DNA (*Department of Chemistry, University of Tsukuba*)
 ○Karin Torigoe, China Okamoto, Atsuya Momotake, Yasuhiko Yamamoto

We analyzed the chelatase activity of a parallel-stranded G-quadruplex DNA ([d(TTAGGG)]₄) for the formation of copper(II) protoporphyrin IX (Cu-PPIX) from Cu²⁺ and protoporphyrin IX (PPIX). We found that, in the presence of 10 equivalents of [d(TTAGGG)]₄ relative to PPIX, the initial formation rate of Cu-PPIX is increased by a factor of ~35, indicating that the DNA exhibits the chelatase activity. Since PPIX was found to bind selectively to the 3'-terminal G-quartet of the DNA to form a PPIX-DNA complex, the hydrophobic interface between the PPIX and G-quartet planes in the complex is likely to be suitable for the activity.
Keywords : DNAzyme; G-Quartet; Chelatase Activity; Porphyrin; Copper Ion

ヘム、クロロフィルなど環状テトラピロール類の金属錯体の生成では、最終段階で環状テトラピロールへの金属イオンの挿入が起こる。この金属イオン挿入反応は遅いので、生体内では酵素キラターゼが存在する。グアニンを豊富に含む DNA もキラターゼ活性を示すことが報告されているが(Y. Li and D. Sen (1996), N. Sugimoto *et al.* (1998)), 反応機構は明らかにされていない。本研究では、塩基配列 d(TTAGGG)の平行型四重鎖DNA([d(TTAGGG)]₄)のキラターゼ活性を解析した。なお、環状テトラピロールとしては Protoporphyrin IX (PPIX (Figure 1)), そして、金属イオンとしては Cu²⁺などを用いた。

まず、¹H NMR により [d(TTAGGG)]₄ と PPIX の相互作用を解析した。[d(TTAGGG)]₄ の G4、G5、G6 イミノプロトンに由来するシグナルは、結合した PPIX の環電流効果のため、それぞれ 0.33、0.88、2.58 ppm 高磁場シフトして観測された。これらの結果から、PPIX は [d(TTAGGG)]₄ の 3'末端 G-カルテットに特異的に結合することが明らかになった(Figure 2)。PPIX の [d(TTAGGG)]₄ への結合様式は、ヘムの場合と同様であった(C. Okamoto *et al.* (2021))。

PPIX への Cu²⁺の挿入に対する [d(TTAGGG)]₄ のキラターゼ活性の評価は、PPIX の吸収スペクトルで観測される Q 帯(480 – 650 nm)の Cu²⁺添加後の経時変化の解析から得られる初速度を指標として行った。PPIX 濃度に対して 10 当量の [d(TTAGGG)]₄ を添加した場合、反応の初速度が約 35 倍増大することが明らかになり、四重鎖 DNA のキラターゼ活性が確認できた。[d(TTAGGG)]₄ の G6 G-カルテット (Figure 3)と PPIX の疎水性接触界面で、電子豊富なカルボニル酸素原子が集まっている G-カルテットの中央に結合した金属イオンが PPIX に配位するために必要な複数の反応が促進されると考えられる。

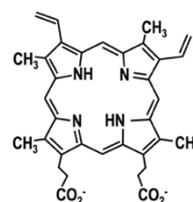


Figure 1. Protoporphyrin IX (PPIX)の分子構造

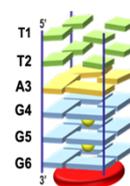


Figure 2. PPIX と [d(TTAGGG)]₄の複合体の模式図(複合体下部の円盤はPPIXを表す)

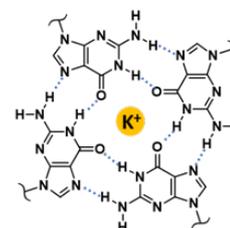


Figure 3. G-カルテットの分子構造