



Title	ポリアミンとZ-DNAの相互作用に関するX線構造研究
Author(s)	大石, 宏文
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3087987
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

ポリアミンとZ-DNAの相互作用
に関するX線構造研究

1991年

大石宏文

ポリアミンとZ-DNAの相互作用
に関するX線構造研究

1991年

大石宏文

目 次

頁

序論		1
----	-------	---

第1章 スペルミジンと二本鎖左巻き $d(CG)_3$ 複合体結晶の X線結晶構造解析

第1節 結果と考察

第1項 全体構造		3
第2項 二本鎖 $d(CG)_3$ とスペルミジンの相互作用様式		5
第3項 二本鎖 $d(CG)_3$ と金属イオンとの相互作用様式		7
第4項 二本鎖 $d(CG)_3$ の原子の揺らぎと平均溶媒 接触許容表面積の関係		11
第5項 結晶中での分子パッキング		15

第2章 PA(24)と二本鎖左巻き $d(CG)_3$ 複合体結晶の X線結晶構造解析

第1節 結果と考察

第1項 全体構造		17
第2項 二本鎖 $d(CG)_3$ とPA(24)との相互作用様式		18
第3項 二本鎖 $d(CG)_3$ と金属イオンとの相互作用様式		20
第4項 二本鎖 $d(CG)_3$ の原子の揺らぎと平均溶媒接触 許容表面積の関係		24
第5項 結晶中での分子パッキング		27

第3章 スペルミジン・ $d(CG)_3$ 複合体、 $PA(24) \cdot d(CG)_3$
複合体及びスペルミン・ $d(CG)_3$ 複合体のX線
結晶構造解析結果の比較及び考察

第1節	Watson-Crick型塩基対での水素結合距離及び 結合角度の比較	28
第2節	各複合体結晶における $d(CG)_3$ の糖擬回転角度の比較	31
第3節	各複合体結晶における $d(CG)_3$ の糖-塩基間の回転角 度の比較	34
第4節	各複合体結晶中での二本鎖 $d(CG)_3$ とポリアミン および金属イオンとの相互作用様式の比較	36
第5節	各複合体結晶での二本鎖 $d(CG)_3$ 骨格の比較	42
第6節	各複合体結晶の結晶内分子パッキング様式の比較	49
結論		52
謝辞		53
第4章	実験の部	
第1節	スペルミジンと二本鎖左巻き $d(CG)_3$ 複合体結晶の X線結晶構造解析	54
第2節	$PA(24)$ と二本鎖左巻き $d(CG)_3$ 複合体結晶の X線結晶構造解析	59
第3節	各複合体結晶における $d(CG)_3$ の原子間結合距離、 原子間結合角の比較	63
引用文献		80

序 論

ポリアミン誘導体（図1）は細胞増殖やDNA、RNA、タンパク質の合成促進並びに種々の酵素活性の調節に関与していると考えられている〔1〕。特にスベルミンは細胞における生合成経路のメディエーターとなることやラット胎児組織のスベルミジン量は成熟ラット組織中の量に対して数倍高いことから、ポリアミンとDNA、RNA、あるいはタンパク質との相互作用に興味を持たれている〔2〕。In vitroの実験より、（1）T4ファージのポリアミンはDNAと結合し負の電荷を中和するのに必要なカチオンの40%を占めている〔3〕。（2）ポリアミンは核酸の熱変性、あるいは物理的切断に対して保護作用を示す〔4〕。（3）ポリアミンはタンパク質合成に必要な Mg^{2+} の至適濃度を低下させる〔5〕。（4）通常右巻きで存在するpoly(dG-dC)はポリアミンの濃度の上昇に伴って左巻きに変化する〔6〕等の知見が現在までに得られている。とりわけDNA、特に癌との関連性〔7〕が考えられている左巻きDNAと各種のポリアミン並びに金属イオンとの相互作用に関する情報を得る目的で、その複合体結晶の構造解析を行うことはポリアミンの生理的役割を考える上で重要な知見が得られるものと思われる。

そこで著者は、鎖長の異なるスベルミジン(SPM), $NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH_2$ とその誘導体 N-(2-aminoethyl)-1,4-diamino-butane (PA(24))、 $NH_2(CH_2)_2NH(CH_2)_4NH_2$ について、それぞれ二本鎖d(CG)₃（図2）との複合体結晶を調製し、そのX線結晶構造解析を行った〔8、9〕。この結果を基にスベルミジンとDNA、PA(24)とDNA、および金属イオン(Mg^{2+} , Na^+)とDNAとの結合様式について検討した。また最近、二本鎖d(CG)₃とスベルミン(SP)複合体結晶のX線結晶構造解析が行われ、その構造が明らかにされた〔10〕。従って著者は、その鎖長の異なるこれら3種のポリアミンの左巻きd(CG)₃への結合様式、金属イオンとの結合様式に関して比較検討した。

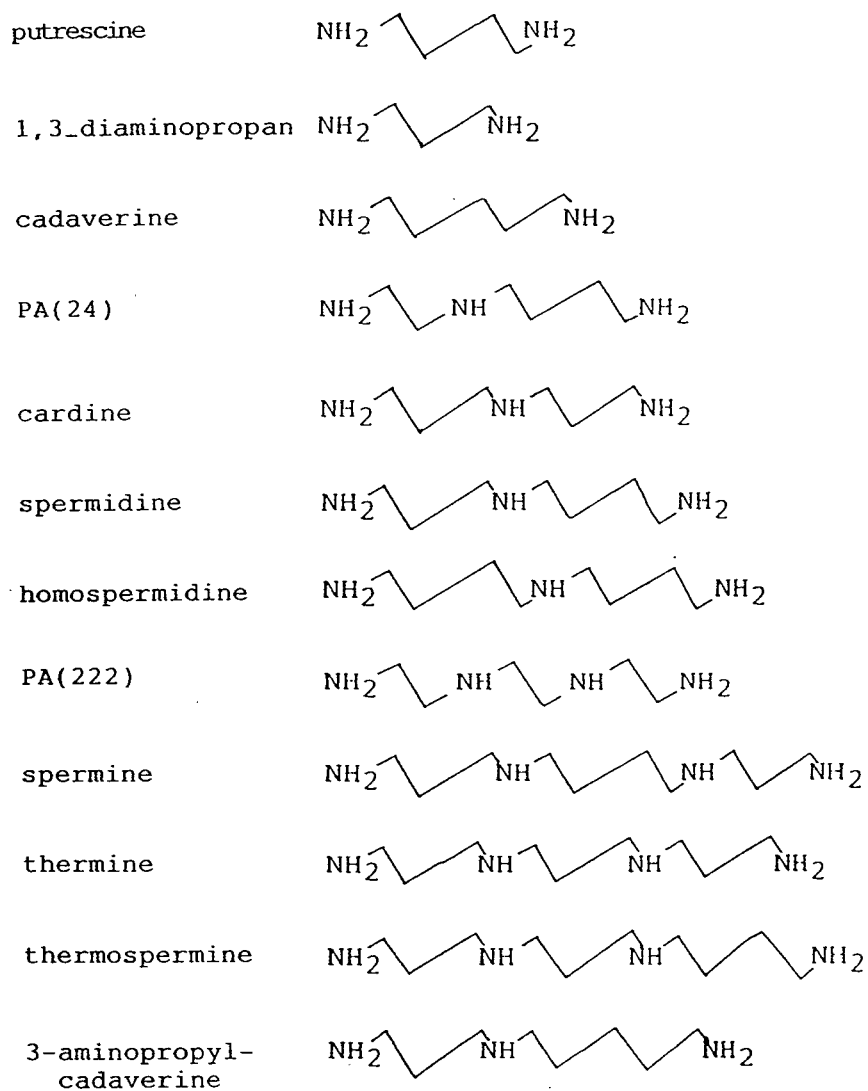


図 1 ポリアミンの 1 次構造と原子名

$C1 - p2 - G2 - p3 - C3 - p4 - G4 - p5 - C5 - p6 - G6$
 二本鎖 $d(CG)_3$ $G12 - p12 - C11 - p11 - G10 - p10 - C9 - p9 - G8 - p8 - C7$

図 2 二本鎖左巻き $d(CG)_3$ の 1 次構造

本 論

第 1 章 スペルミジンと二本鎖左巻き $d(CG)_3$ 複合体結晶の X 線結晶構造解析

第 1 節 結果と考察

第 1 項 全体構造

X 線構造解析の結果、 $d(CG)_3$ はスペルミジンとの複合体において左巻き二本鎖を形成し、一巻き 12 残基の Z 型構造をとっていることが、判明した (図 3)。左巻き $d(CG)_3$ 二本鎖につき、1 分子のスペルミジン、3 個の Mg^{2+} イオンおよび、1 個の Na^+ イオンが結合していた。これはスペルミジンのもつ 3 個の窒素原子が 3 価のカチオンとなり、これに 3 個の Mg^{2+} イオンと 1 個の Na^+ イオンが加わって、合計 10 の正電荷となり、結果として二本鎖 $d(CG)_3$ の 10 個のリン酸基の持つ負電荷を電氣的に中和することによっている。 $d(CG)_3$ 二本鎖は C 軸に沿ってスタッキング相互作用により head-to-tail 状に連なっていた。スペルミジンと二本鎖左巻き $d(CG)_3$ 複合体分子の $d(CG)_3$ 部分の原子間結合距離、結合角及び塩基間相互作用の様子は既に公表されているデータと非常によく似たものであった [10]。 $d(CG)_3$ のシチジンにおける糖鎖回りの捻れ角は a n t i コンフォメーションでありグアノシンの糖鎖回りの捻れ角はすべて s y n コンフォメーションをとっていた金属カチオンは $d(CG)_3$ 二本鎖が作る溝に配位結合、水素結合及び水を介した水素結合し $d(CG)_3$ 分子のコンフォメーションの安定化に寄与していた。スペルミジンは隣接する $d(CG)_3$ 二本鎖間に存在し、直接的な二本鎖との相互作用は見られなかったが、水を介した水素結合によってその二本鎖のリン酸基の持つ電荷の中和に大きな役割を果たしていた。

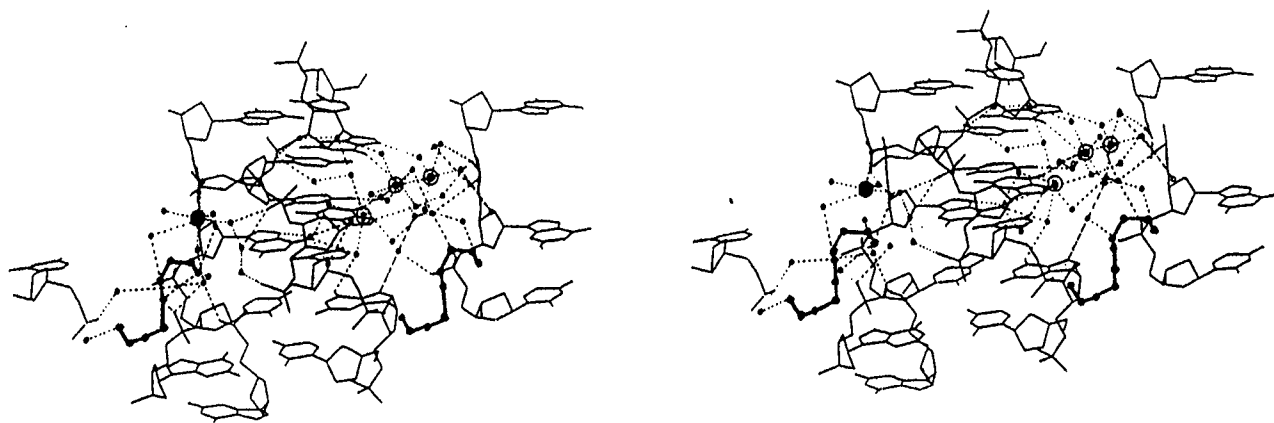


図3 スペルミジン・d(CG)₃の分子構造

図3で太線の分子はスペルミジンを示しており、●印はNa⁺を、◎印はMg²⁺を示し、点線は水素結合を示している。

第2項 二本鎖 $d(CG)_3$ とスベルミジンの相互作用様式

スベルミジンと $d(CG)_3$ 二本鎖の相互作用様式の模式図を図4に示した。また、図5にその立体図を示してある。これによれば全ての窒素原子、つまり2個の末端アミノ基(N1とN10)および中央のイミノ基(N5)は水分子の酸素原子と水素結合を形成し、それらは水を介して間接的に、 $d(CG)_3$ 二本鎖のリン酸基の酸素原子に結合していた。また、スベルミジンの末端アミノ窒素N1は、さらに $d(CG)_3$ 分子のG6、およびG*12のリン酸基と水を介して結ばれ、イミノ窒素N5は対称移動した隣の $d(CG)_3$ 分子の、C**3のリン酸基と水を介した水素結合により結ばれている。一方、反対側の末端アミノ窒素N10は対称移動した隣の $d(CG)_3$ 分子のC**3のリン酸基と水を介して水素結合していた。このようにスベルミジン複合体においては、 $d(CG)_3$ の二本鎖とスベルミジンとの間に水を介した架橋構造が見られ、又、対称移動した隣接 $d(CG)_3$ との間にも同様の水を介した架橋構造が形成されていた。これらはいずれも $d(CG)_3$ のリン酸基の酸素原子との間で形成されている(図4)。以上の相互作用は $d(CG)_3$ 二本鎖が熱的あるいは物理的な力で一本鎖に分かれることに対してスベルミジンが保護作用を示しているものと考えられる。

$d(CG)_3$ 二本鎖間に多くの直接的な水素結合を形成していたスベルミンと $d(CG)_3$ 複合体結晶の解析例[10]とは対称的に、スベルミジンの場合は $d(CG)_3$ に対し水を介した弱い架橋構造のみが形成されていた。このことはすべてのポリアミン分子がDNAの二重らせん分子の溝のくぼみに直接的に結合するのではないということを示している。しかしながらこれらのポリアミンはいずれも溝の近くに存在して、DNA構造の安定化に寄与している。又、比較的長い鎖を持つスベルミジンは隣接二本鎖DNA間の結合及び安定化にもその役割を果たしている事が推察された。

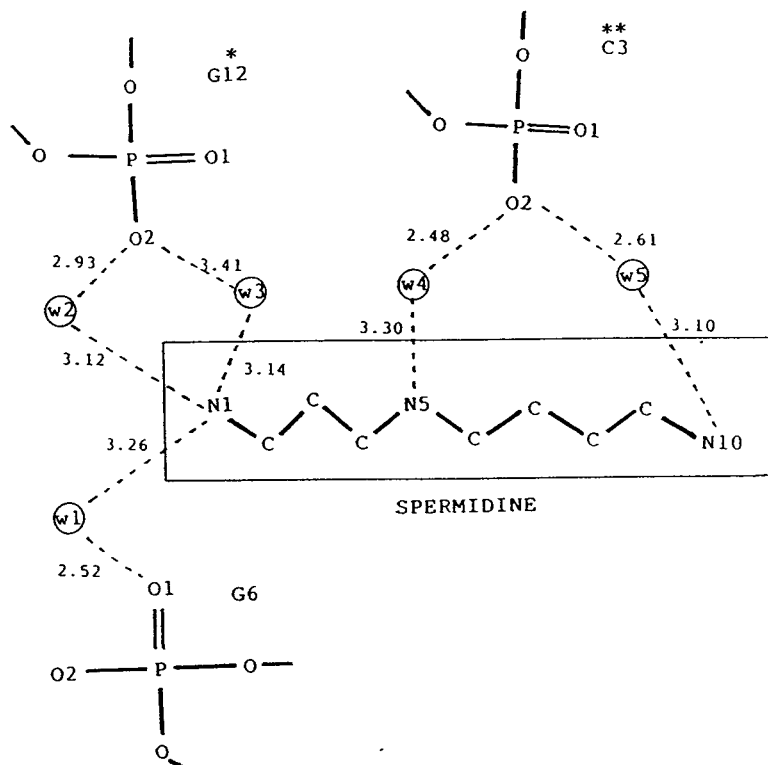


図 4 スペルミジン・ $d(CG)_3$ に於ける結合様式の略図

図 4 で示した小さな円は水素結合に関与する結晶水 (w) を示し、*印は二本鎖 $d(CG)_3$ 分子内に金属錯体による架橋構造が形成されていることを示し、**印は隣接二本鎖 $d(CG)_3$ 中の分子を示し、スペルミジンとの架橋構造があることを示している。

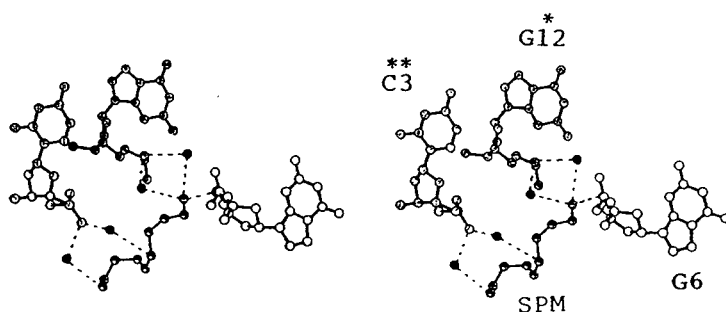


図 5 スペルミジン・ $d(CG)_3$ に於ける結合様式の立体図

図 5 は図 4 を ORTEP 図で示したものであるが、●印は水素結合に関与する結晶水を示し、○印はスペルミジン分子を示している。

第3項 二本鎖 $d(CG)_3$ と金属イオンとの相互作用様式

複合体結晶中には独立な3個の Mg^{2+} イオンと1個の Na^+ イオンが存在していた。3個の Mg^{2+} を、それぞれ15Mg, 16Mg, 17Mg と呼ぶことにする。15Mg と16Mgとは1つのクラスター構造を形成し、15Mgが5分子の水分子と配位結合して四角錐体型構造を取っていたのに対して、16Mgは6分子の水分子と配位結合して八面体型構造を取っていた(図6、7)。このクラスター構造を形成している2個のMgイオンは配位結合水を介してG2、C3、C*9及びG*10の各塩基ならびにC*9、G**10のリン酸基の酸素原子と結ばれ、また対称移動した隣接 $d(CG)_3$ 分子のC**11リン酸基の酸素原子も水素結合している。一方、17Mgは八面体型を取っており、G**4、G**8塩基及び対称移動した $d(CG)_3$ 分子のG6、G*10、C*11塩基と水を介して結合し(図8、9)、さらにスベルミジンと水を介して結ばれている。この様にして15Mg, 16Mgおよび17Mgは $d(CG)_3$ 二本鎖内及び隣接二本鎖間で架橋構造を形成している事が明らかになった。一方、 Na^+ イオンは $d(CG)_3$ のG4、C5および対称移動したG**2のリン酸基と水素結合し、また、スベルミジンとも水分子を介して結ばれ、八面体型配位結合様式をとっていた。これは左巻きDNA構造における最初の例である(図10、11)[#]。このように $d(CG)_3$ -スベルミジン複合体分子の場合、金属と二本鎖 $d(CG)_3$ 間に直接的な水素結合、あるいは水を介した水素結合は形成されていたが、直接的な金属と二本鎖 $d(CG)_3$ との配位結合は見られなかった。尚、全ての水素結合距離は2.8 Å ~ 3.3 Åであった。

[#]注：この図6～図11において大きな円で囲んだ水分子(w)は金属イオンと配位結合している水分子を示し、小さな円で囲んだ水分子(w)は水を介して二本鎖 $d(CG)_3$ と金属錯体との間で、水素結合する水を示している。また*印は二本鎖 $d(CG)_3$ 分子内に金属錯体による架橋構造が存在することを示し、**印は隣接二本鎖 $d(CG)_3$ 間に金属錯体による架橋構造が形成されていることを示している。また、図7、図9、図11、はこれらの相互作用様式のORTEP図である。これらの図で●印はスベルミジン分子をまた、○印は金属錯体分子を示している。

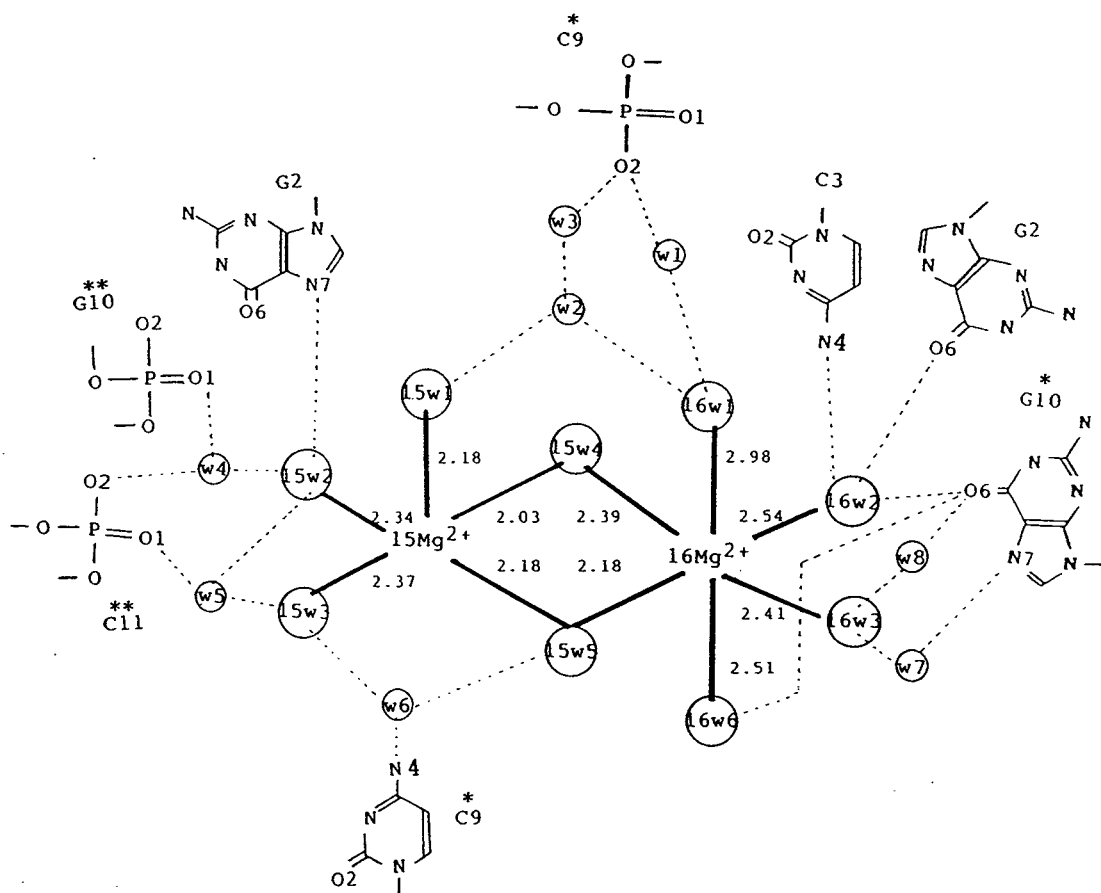


図6 スペルミジン・d(CG)₃に於けるマグネシウム錯体の結合様式の略図

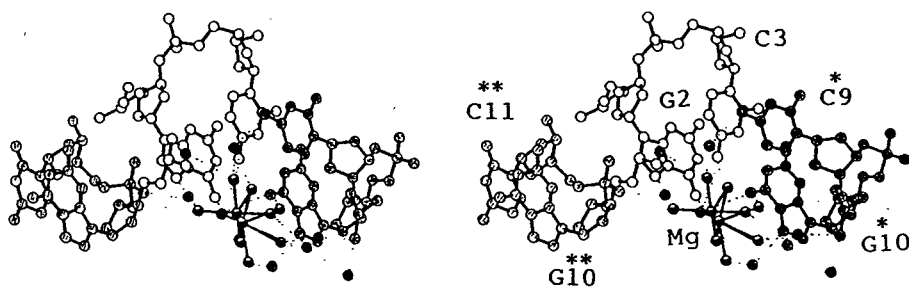


図7 スペルミジン・d(CG)₃に於けるマグネシウム錯体の結合様式の立体図

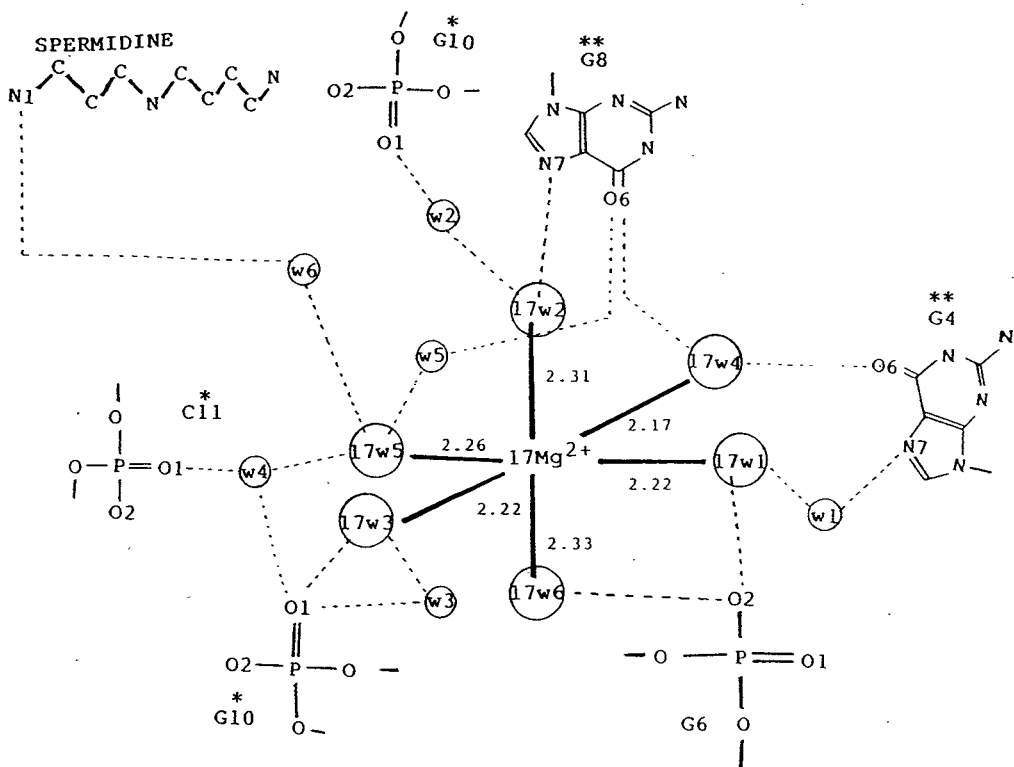


図8 スペルミジン・d(CG)₃に於けるマグネシウム錯体の結合様式の略図

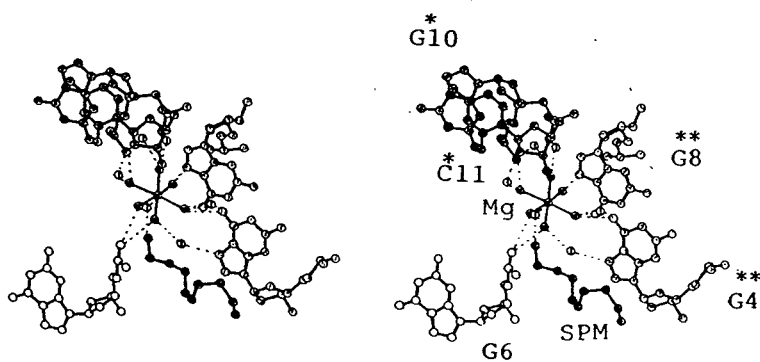


図9 スペルミジン・d(CG)₃に於けるマグネシウム錯体の結合様式の立体図

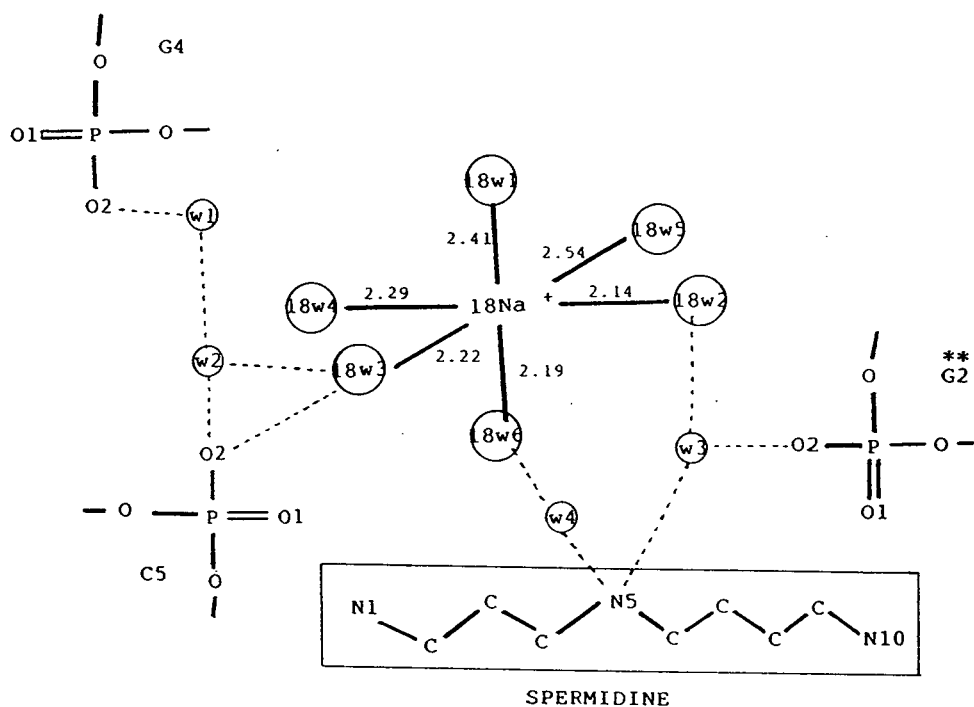


図 1 0 スペルミジン・d(CG)₃に於けるナトリウム錯体の結合様式の略図

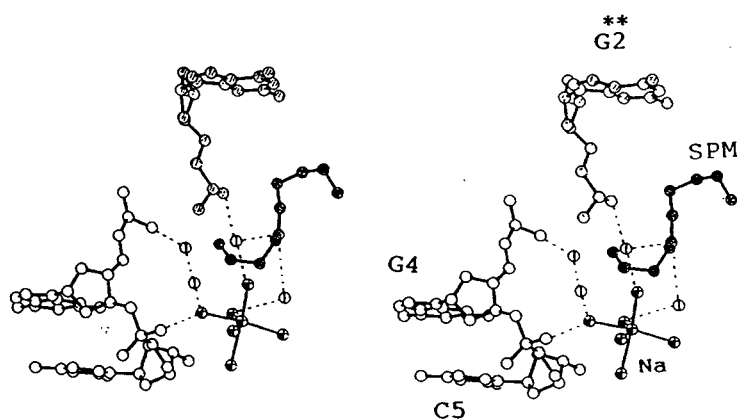


図 1 1 スペルミジン・d(CG)₃に於けるナトリウム錯体の結合様式の立体図

第4項 二本鎖d(CG)₃の原子のゆらぎと平均溶媒接触面積の関係

図12にはスperlミジン-d(CG)₃複合体における、DNA各残基の塩基、糖鎖、リン酸の平均温度因子を示し、図13には各残基の塩基、糖鎖、リン酸の平均溶媒接触許容表面積を示した。溶媒接触許容表面積の計算は、LeeとRichardsの方法に従った[20]。温度因子は、一般的に塩基部が低く、また、糖鎖も安定した値を示すが、リン酸部分は一般的に大きな値を示していた。これは、塩基部分は二本鎖d(CG)₃分子内で、Watson-Crick型の水素結合[21]及びスタッキング効果[22、23]によって安定化し、ゆらぎが小さいことによっている。また、糖鎖は、パッカリング等により比較的不安定であるものの、環状でありDNA鎖中ではある決まったコンフォメーションをとると考えられゆらぎも小さかったと考えられる。しかしリン酸基は分子の外側に直線状に位置し大きい親水性のために外界からの影響を受けやすく、結果として、ゆらぎも大きくなったと考えられる。

今回X線結晶構造解析を行ったスperlミジン-d(CG)₃複合体結晶において温度因子は塩基で5 Å²前後、糖鎖も5 Å²前後である。G6、C7、G8、G12、ではやや高く、反対にG4、C5、C9、G10では低い値をとっていた。これは、図13の平均溶媒接触許容面積にも反映されており、G6、C7、G8、G12が分子の外側へ露出していることより、ややゆらぎが大きくなる結果その温度因子も高くなったものと考えられる。一方リン酸は上述の通り露出表面積も大きく温度因子も塩基、糖鎖等と比較すると2倍前後の10 Å²付近の値となっていた。しかし、リン酸の場合、分子の末端よりも分子の中央に位置するG4、C9などの温度因子の方が高くなっていた。これは露出表面積が大きくなることのほかに、後で説明するZ-I型構造と、Z-II型構造の変化[10]を受けやすい位置であることに相当している。

次に平均溶媒接触面積であるが、これは先にも述べたように塩基部は分子の内側にあるために露出表面積が小さくなり、糖部分は、塩基部よりも外側にむいている為やや大きくなっていた。とくに、G6、C7、G8、

G 1 2のように末端にある糖はかなり大きな値を取っている。リン酸基は完全に分子表面に露出して溶媒と接触しているために、他とは比較できないほど大きな値を取っている。図 1 3は二本鎖 $d(CG)_3$ 分子の各残基毎の塩基、糖鎖リン酸基の平均溶媒接触面積を示しているが、さらに、金属錯体を入れたときの平均溶媒接触面積への影響を斜線で、スベルミジンを入れたときの平均溶媒接触面積への影響をクロス線で表している。スベルミジン- $d(CG)_3$ 複合体結晶の場合、分子表面に対するスベルミジンの影響は全く現れていなかった。これは、スベルミジンが水を介して $d(CG)_3$ 分子と結合していること、および隣接分子間にスベルミジンが存在することによるものと考えられる。一方、金属錯体の影響は、特に大きな変化は Na^+ 錯体が直接水素結合しているリン酸基のC 9前後、および、 Mg^{2+} 錯体が直接水素結合しているリン酸基のC 5、G 8、G 1 0付近に見られた。

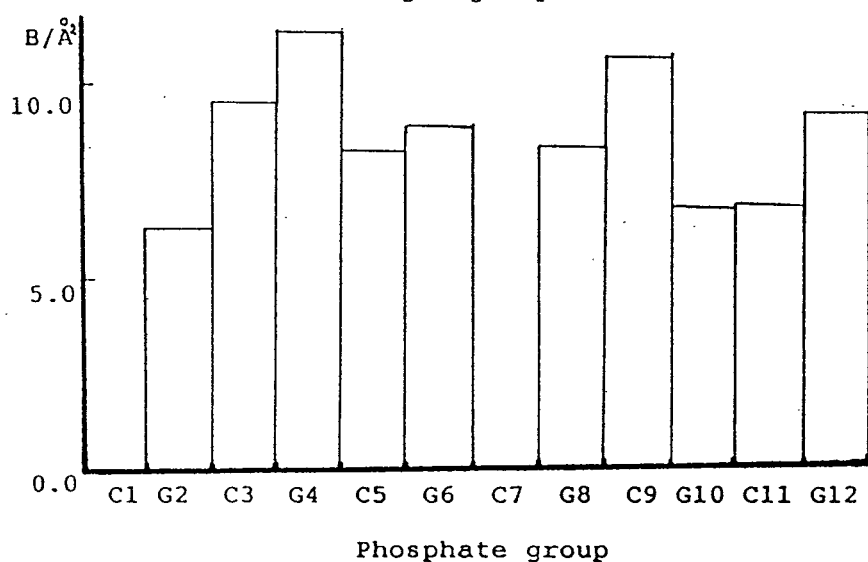
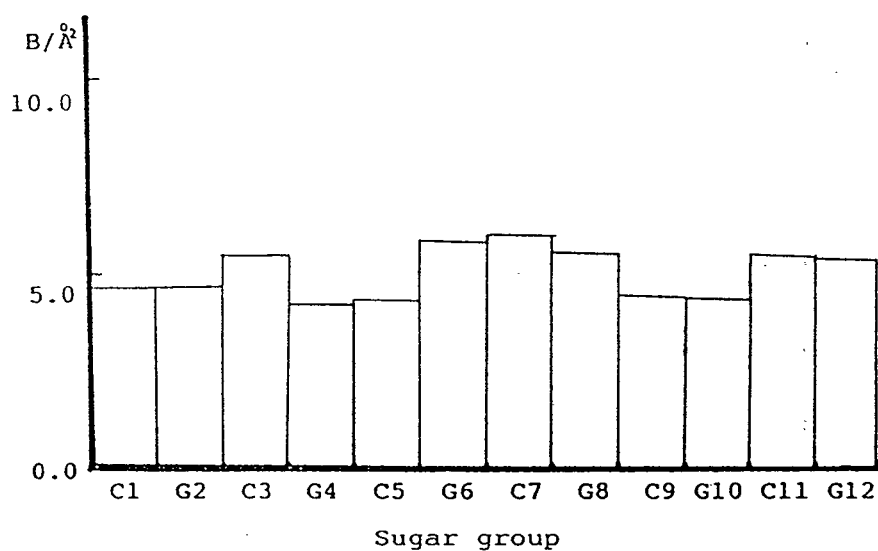
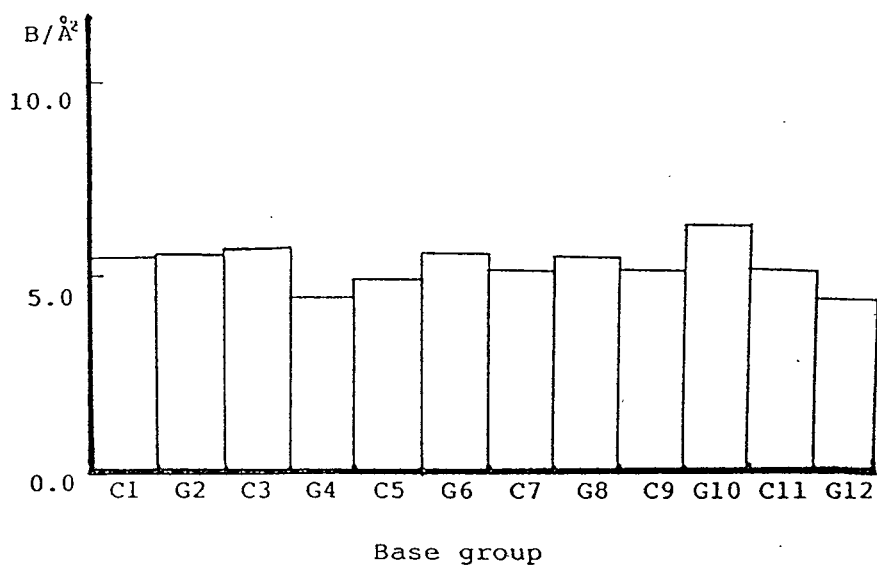
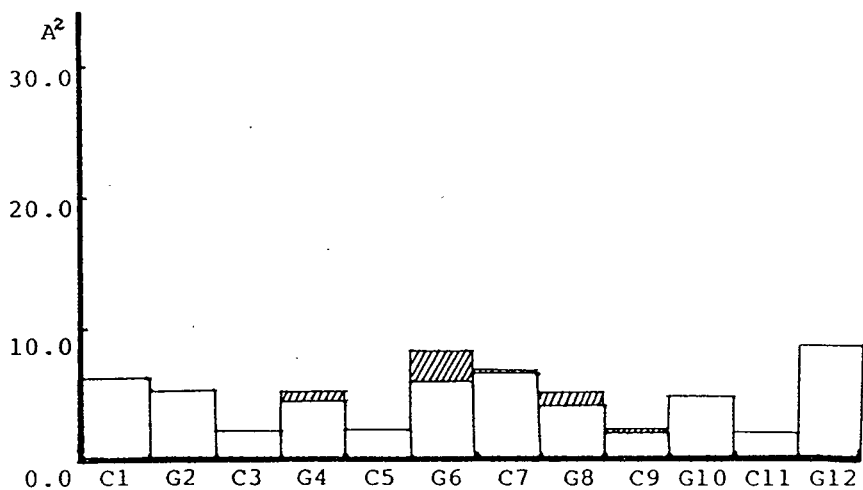
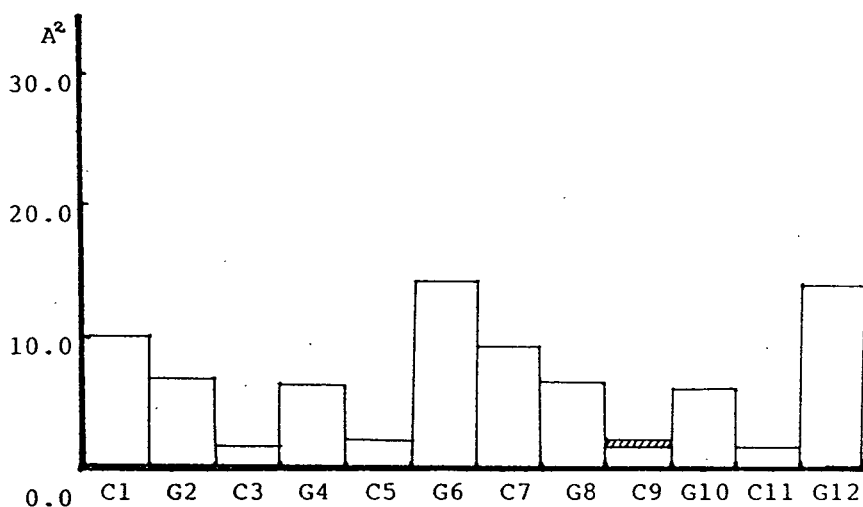


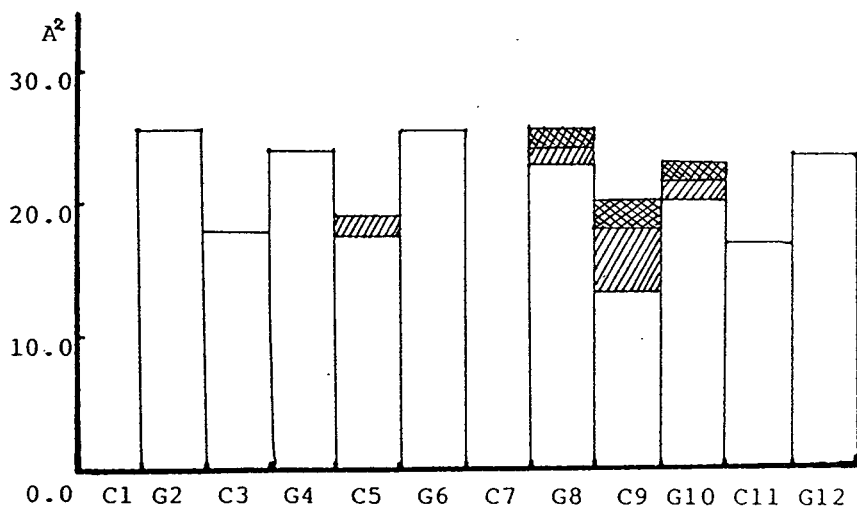
図 1 2 スペルミジン・d(CG)₃に於ける二本鎖d(CG)₃各残基の温度因子



Base group



Sugar group



Phosphate group

図13 スペルミジン・d(CG)₃に於ける二本鎖d(CG)₃各残基の平均許容表面積

第5項 結晶中の分子パッキング

図14は結晶中のスペルミジン-d(CG)₃複合体分子のパッキングの様子を示している。通常、空間群がP2₁2₁2₁の場合、中心の分子に対して12個の分子が取り巻いている。これに関しては後述する。この図において、次の対称操作によって関係づけられる隣接複合体5分子を含めて示した。

対称操作：A分子 (x, y, z)、 B分子 ($-x+0.5, -y+1, z+0.5$)、
C分子($-x+1.5, -y+1, z+0.5$)、 D分子($x-0.5, -y+1.5, -z$)、
E分子($x+1, y, z$)

結晶中でA分子とD分子とは、head to tail の関係にあり、縦につながったA分子のG6とD分子のC1の間、および、A分子のC7とD分子のG12の間でスタッキング相互作用による安定化が起きている。さらに、A分子のG6糖鎖のO3' とD分子のC1糖鎖のO5' の間およびA分子のC7糖鎖のO5' とD分子のG12糖鎖のO3' の間に水素結合が形成され、縦方向にかなり強く結合した二本鎖d(CG)₃分子が連なっていた。この分子の回りに隣接B, C, E分子が存在し、これらは縦につながる対称操作によって互いに連なり、結果として非常に密に詰まった結晶構造を取っていた。また、スペルミジン及び金属イオンは隣接二本鎖d(CG)₃間を埋め尽くすような形で結晶内に存在していた。一個の結晶格子にはちょうど4つのd(CG)₃が存在して結晶格子を埋めていた。また、12残基でちょうど一回転していることも明かとなった。

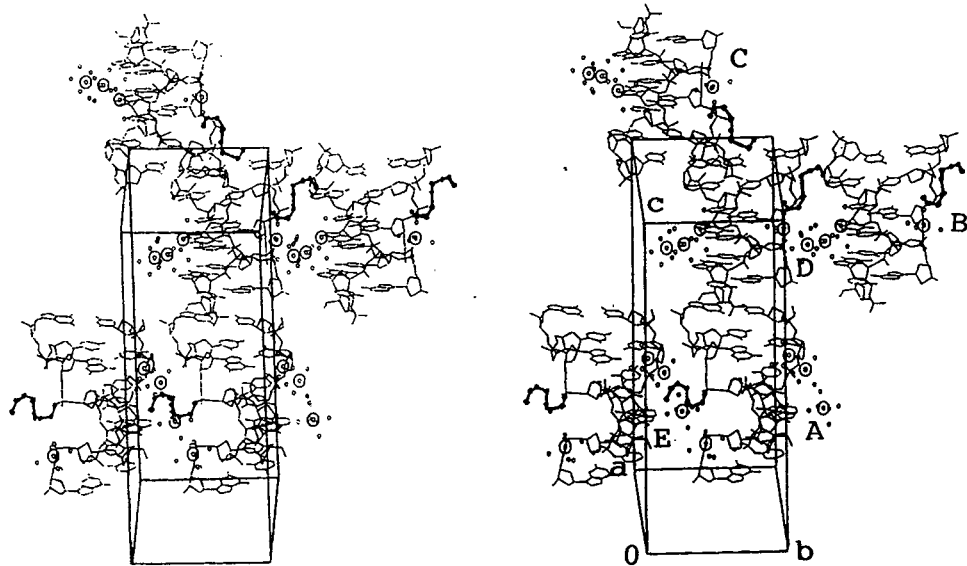


図 1 4 スペルミジン・ $d(CG)_3$ に於ける二本鎖 $d(CG)_3$ 複合体分子の結晶内
パッキングの様子

第2章 PA(24)と二本鎖d(CG)₃複合体のX線結晶構造解析

第1節 結果と考察

第1項 全体構造

X線構造解析の結果、d(CG)₃分子は、PA(24)との複合体においても左巻きのZ型構造をとっていた(図15)。一つの二本鎖d(CG)₃に対して1分子のPA(24)、3個のMg²⁺イオンおよび1個のNa⁺イオンが存在し、d(CG)₃の負電荷を電氣的に中和していた。また、PA(24)は二本鎖d(CG)₃に結合してその立体構造の安定化に寄与していた。

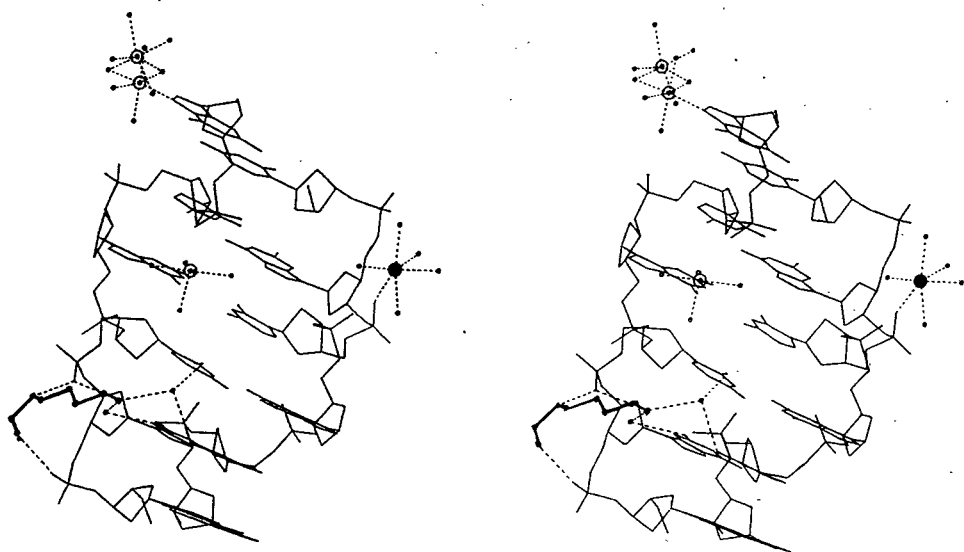


図15 PA(24)・d(CG)₃の分子構造

図15で太線はPA(24)を示しており、●印はNa⁺を、◎印はMg²⁺で示してある。

第2項 二本鎖 $d(CG)_3$ と PA(24) との相互作用様式

PA(24)の場合、末端のアミノ窒素、および中央のイミノ窒素が $d(CG)_3$ のG2およびC3のリン酸基の酸素原子と水素結合していた。このようにリン酸基との直接の相互作用は二本鎖 $d(CG)_3$ の一方側のDNA鎖との間で見られなかった。もう一方側には水を介した水素結合によってG2、C3、およびC*11の塩基部とPA(24)の末端アミノ窒素との間が結ばれていた(図16、17)。このようにPA(24)複合体の場合、二本鎖 $d(CG)_3$ の片方の鎖のリン酸基と直接の水素結合が形成され、他方の鎖とは水を介した塩基との間の水素結合によって結ばれていた。この複合体においては二本鎖 $d(CG)_3$ 分子の間でPA(24)による架橋構造が見られ、隣接 $d(CG)_3$ 分子間では見られなかった。このことはスペルミジン複合体の場合とは異なっている。なお、 $d(CG)_3$ 分子内でのPA(24)による架橋構造は、この構造の熱変性および、物理的分解に対する保護効果をもつものと考えられる。図16はPA(24)と、二本鎖 $d(CG)_3$ との結合様式を略図で示している。図17は、図16のORTEP図である。

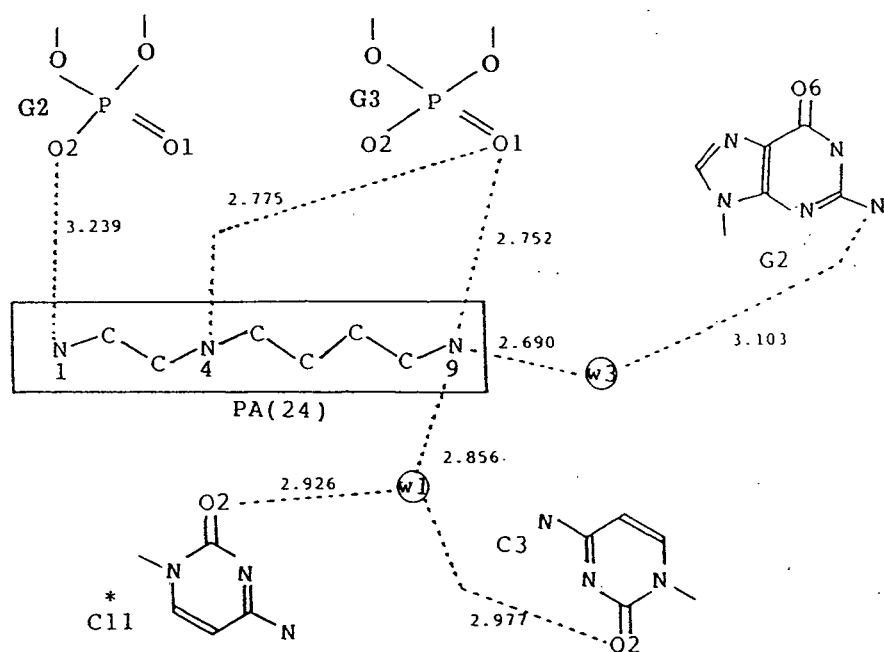


図 1 6 PA(24)・d(CG)₃に於ける結合様式の略図

円内は水素結合に関与している水を示している。また、*印は二本鎖d(CG)₃分子内でPA(24)による架橋構造が存在することを示している。

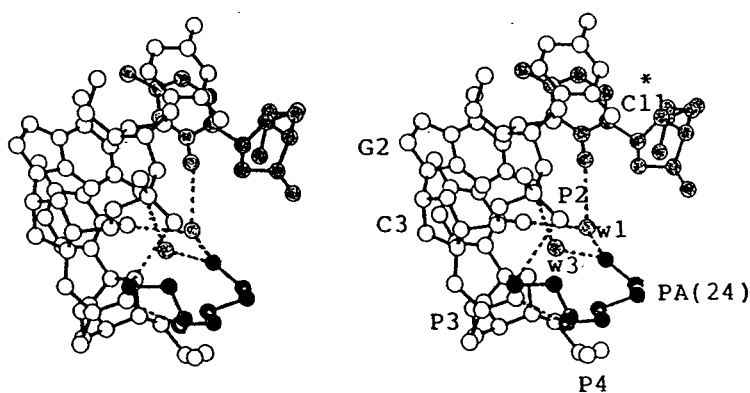


図 1 7 PA(24)・d(CG)₃に於ける結合様式の立体図

ここで●印はPA(24)を示し、○印は二本鎖d(CG)₃の相手側の鎖を示している。また水素結合に関与している水も示してある。

第3項 二本鎖d(CG)₃と金属イオンとの相互作用様式

PA(24)複合体では、d(CG)₃二本鎖にたいして、3個のMg²⁺と1個のNa⁺が存在し、それぞれは水及びd(CG)₃との間で配位結合を形成していた。3個のMg²⁺イオンをそれぞれ15Mg, 16Mg, 17Mgで区別すると、15Mgと16Mgは水を介した配位結合により、それぞれ八面体構造をもつクラスター構造を形成している(図18、19)。15Mgはまた、G6塩基のN7原子と直接配位結合していた。この15Mgと16Mgのクラスター構造は対称移動によって連続的に並んでいるd(CG)₃間の架橋に参与していた。一方、17Mg原子は5分子の水と配位結合を形成し、四角錐体型構造を形成していた(図20、21)。この17Mgに配位する2個の水はいずれも核酸のリン酸基の酸素原子との間で水素結合を形成し、分子の安定化に寄与していた。Na⁺イオン原子においてはd(CG)₃のC9のリン酸基の酸素とNa⁺イオンとが直接配位結合していた(図22、23)。以上のように、PA(24)複合体では金属カチオンとの相互作用もかなり多く、d(CG)₃分子の構造の安定化に寄与しているものと考えられる。

この図18、図20、図22は各金属原子間及び二本鎖d(CG)₃との相互作用様式を略図で示してある。図19、図21、図23は、これらの相互作用様式をORTEP図で示してある[#]。このようにd(CG)₃-PA(24)複合体の場合、金属錯体と二本鎖d(CG)₃との間で直接および水を介した水素結合が見られた。又、金属錯体と二本鎖d(CG)₃間の直接的な配位結合も見られた。これらの水素結合距離は、いずれも2.8 Å～3.3 Åの範囲にあった。

[#]注：ここで大きな円印は配位結合している水を示し、小さな円印は水素結合を介して二本鎖d(CG)₃と金属イオンと、連結させている水を示している。*印は二本鎖d(CG)₃分子内に金属錯体による架橋構造が存在することを示しており、**印は隣接二本鎖d(CG)₃間に金属錯体による架橋構造が形成されていることを示しており、***印は隣接二本鎖d(CG)₃分子内に金属錯体による架橋構造があることを示している。これらの図で、●印はPA(24)分子を○印は金属錯体分子を示している。

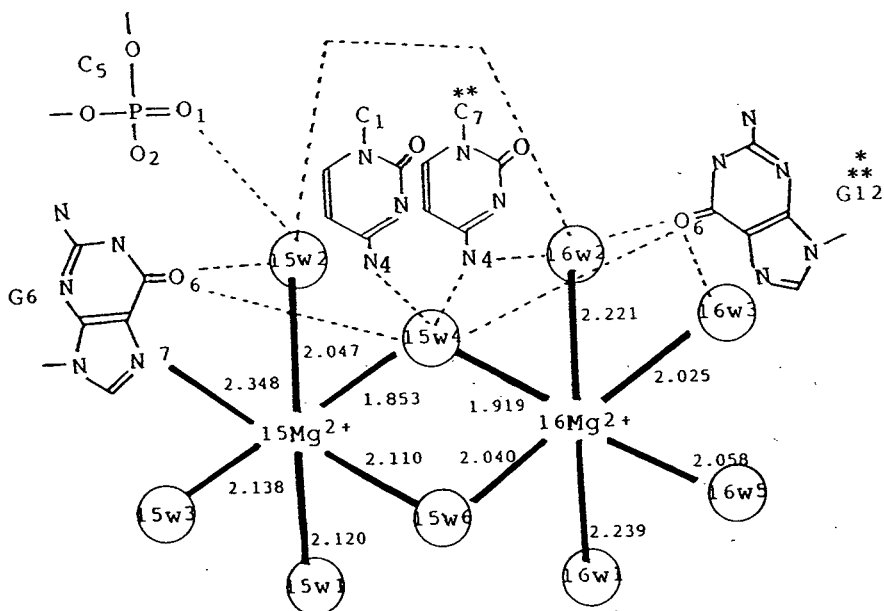


図 18 PA(24)・d(CG)₃に於けるマグネシウム錯体の結合様式の略図

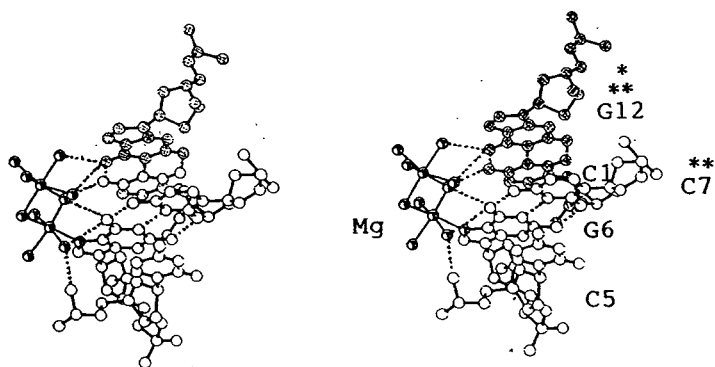


図 19 PA(24)・d(CG)₃に於けるマグネシウム錯体の結合様式の立体図

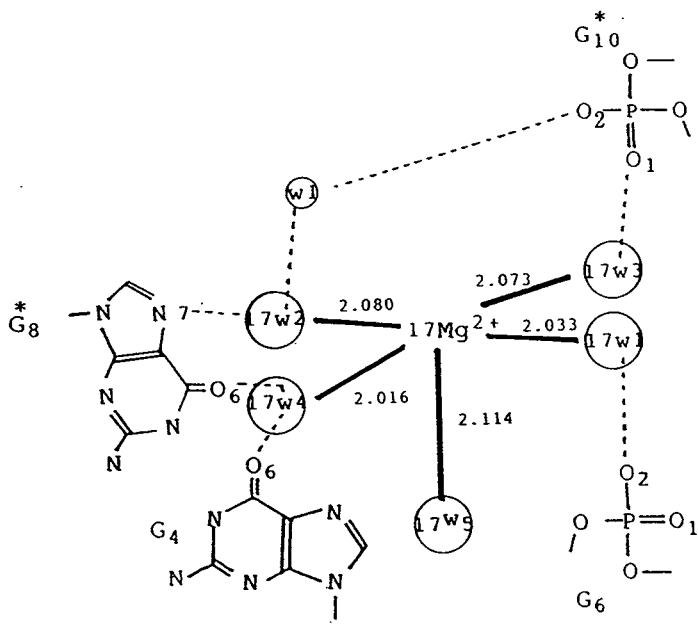


図 20 $\text{PA}(24) \cdot d(\text{CG})_3$ に於けるマグネシウム錯体の結合様式の略図

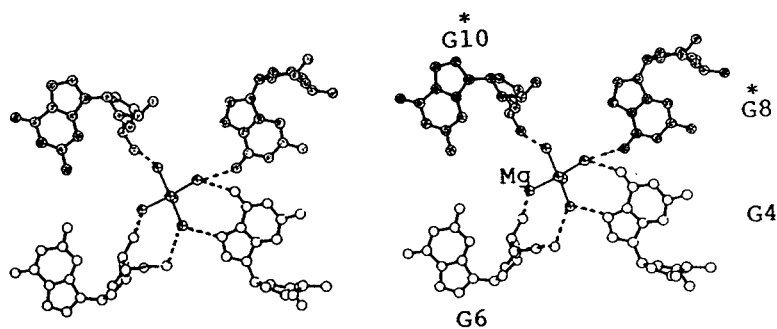


図 21 $\text{PA}(24) \cdot d(\text{CG})_3$ に於けるマグネシウム錯体の結合様式の立体図

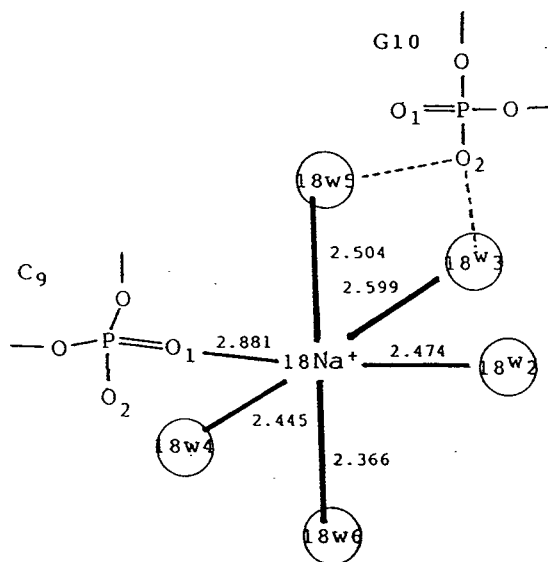


図 2 2 PA(24) · d(CG)₃ に於けるナトリウム錯体の結合様式の略図

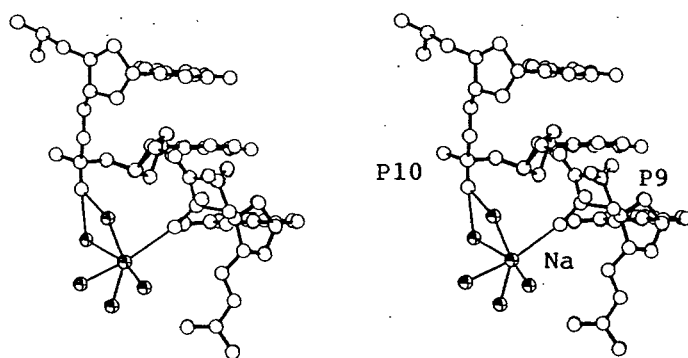


図 2 3 PA(24) · d(CG)₃ に於けるナトリウム錯体の結合様式の立体図

第4項 二本鎖 $d(CG)_3$ の原子のゆらぎと平均溶媒接触許容表面積との関係

図24には $PA(24)-d(CG)_3$ 複合体結晶中の二本鎖 $d(CG)_3$ 分子を塩基部、糖鎖、リン酸基に分けて各残基毎の平均温度因子を、また、図25には各残基毎の平均溶媒接触許容表面積を示した。 $PA(24)-d(CG)_3$ 複合体の平均温度因子は、スベルミジン- $d(CG)_3$ 複合体の場合と同様、 $5 \text{ \AA}^2$ 前後の低い値を示した。糖鎖も $5 \text{ \AA}^2$ をやや上回る程度で比較的安定化していた。しかし、末端に存在するG6, C7, G8は外界からの影響を受け、若干高い値を示している。このことはG6, C7, G8の糖鎖がかなり分子表面に露出していることからとも言えることである(図25)。リン酸部分も、スベルミジン- $d(CG)_3$ 複合体の場合と同様に、平均温度因子が $10 \text{ \AA}^2$ 前後の値を示しているが、C9のリン酸基だけが大きな値になっている。この大きな値をとる原因として、C9のリン酸基が完全にZ-I型とZ-II型を1/2ずつ統計的に取っている結果によると考えられる。図25に示すように平均溶媒接触面積は塩基、糖鎖、リン酸基の順に大きくなっている。斜線は金属錯体が $d(CG)_3$ に及ぼす平均接触面積を、クロス線は $PA(24)$ が $d(CG)_3$ に及ぼす平均接触面積を示している。 $PA(24)-d(CG)_3$ 複合体では、塩基部に金属イオンが直接配位結合している割合が多いため、金属錯体と $d(CG)_3$ の平均接触許容表面積は大きくなっている。G4, C5, G6, C7, G8付近の糖鎖と金属錯体の平均接触許容面積も、大きくなっている。これはクラスターを形成した Mg^{2+} がG6に直接配位結合していることに大きな原因があるのではないかと考えられる。また、リン酸基に関してもC5, G6のリン酸基と金属錯体との平均接触許容面積も大きくなっているが、これもクラスターを形成した Mg^{2+} の影響であろうと考えられる。また、C9のリン酸に対する金属錯体の影響は、C9のリン酸基に Na^+ が直接配位している事に由来していると考えられる。つぎに $PA(24)$ の影響はG4, G6, G12のリン酸基にのみに現れている。これは、図17のORTEP図からも明らかなように、 $PA(24)$ 分子はG4のリン酸基と末端のG12のリン酸基、及び隣接する $d(CG)_3$ の末端のG6に巻き付く様な型を取っており、それによってリン酸基に対する $PA(24)$ 分子の影響が現れて

いるものと考えられる。以前から明かにされているように、核酸への金属の結合が重要であることを示している [24、25、26、27]。このうらづけとして、 Mg^{2+} はリン酸基同士を結び付けるので tRNA の高次構造の安定化に寄与していることが、はっきりと証明されている [28、29]。図 26 [30] に示すように、アルカリ金属イオンの濃度を上げると熱による DNA のらせん=コイル転移の温度 T_m が高くなる。このことはおそらく、負に荷電したリン酸基間の反発力がカチオンによって補われるためであると考えられる。

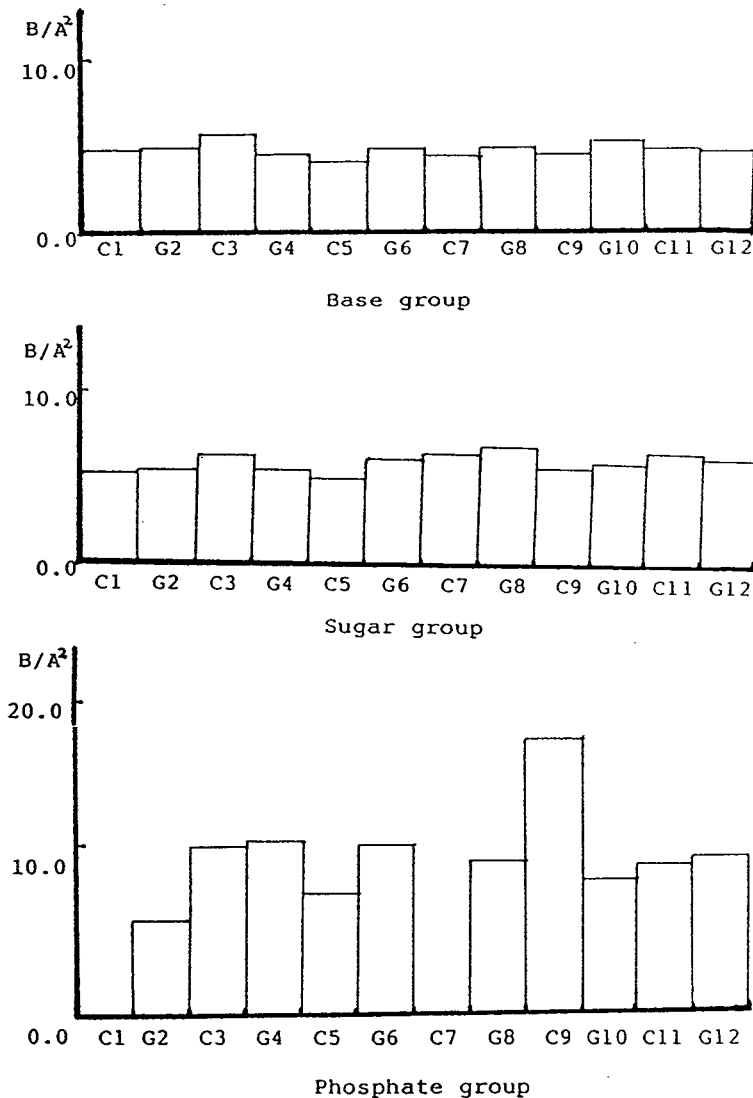


図 2 4 PA(24)・d(CG)₃ に於ける二本鎖 d(CG)₃ 各残基における温度因子

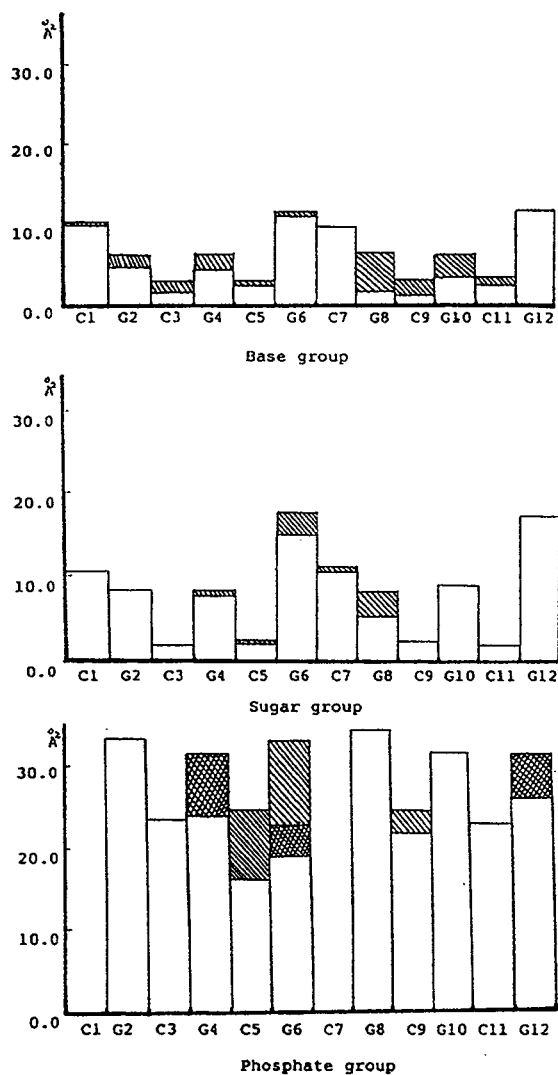


図 25 PA(24)・d(CG)₃に於ける二本鎖d(CG)₃各残基における平均
許容表面積

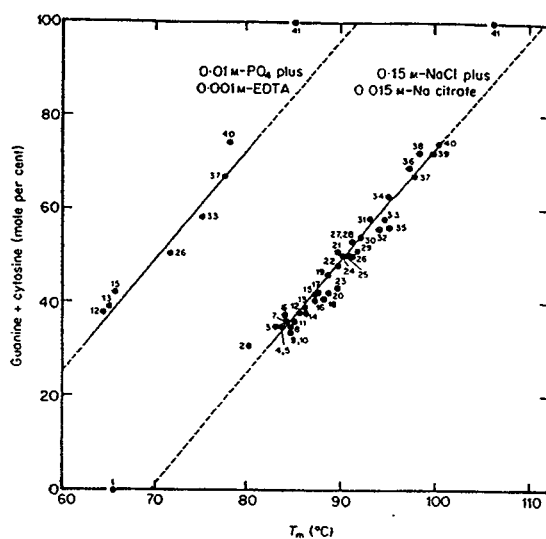


図 26 d(GC)含量に対する融解温度 T_m の依存性

第5項 結晶中での分子パッキング

図27は結晶中のPA(24)-d(CG)₃複合体分子のパッキングを示した。スペルミジン-d(CG)₃複合体分子の場合と同様に、結晶軸(a, b, c)と次の対称操作で位置づけられる5つの複合体を示した。

対称操作：A分子(x, y, z)、B分子(-x+0.5, -y+1, z+0.5)、
C分子(-x+1.5, -y+1, z+0.5)、D分子(x-0.5, -y+1.5, -z)、
E分子(x+1, y, z)

スペルミジン-d(CG)₃複合体分子の場合と全く同様に、A分子とD分子はhead to tailの関係で縦に連なっており、また隣接するB分子、C分子とE分子も他の対称操作によって縦に連なり、それらが集合して結晶を構成していた。スペルミジン-d(CG)₃複合体の場合と比較すると、本結晶は隣接分子間に比較的大きな空間が形成されている。これによってC9のリン酸部分が自由に回転できるようになり、後で述べるZ-I型とZ-II型d(CG)₃が統計的に1/2づつ含まれる構造を取るようになったものと思われる。スペルミジン-d(CG)₃複合体の場合と比較すると、隣接分子間との接触は非常に少なかった。

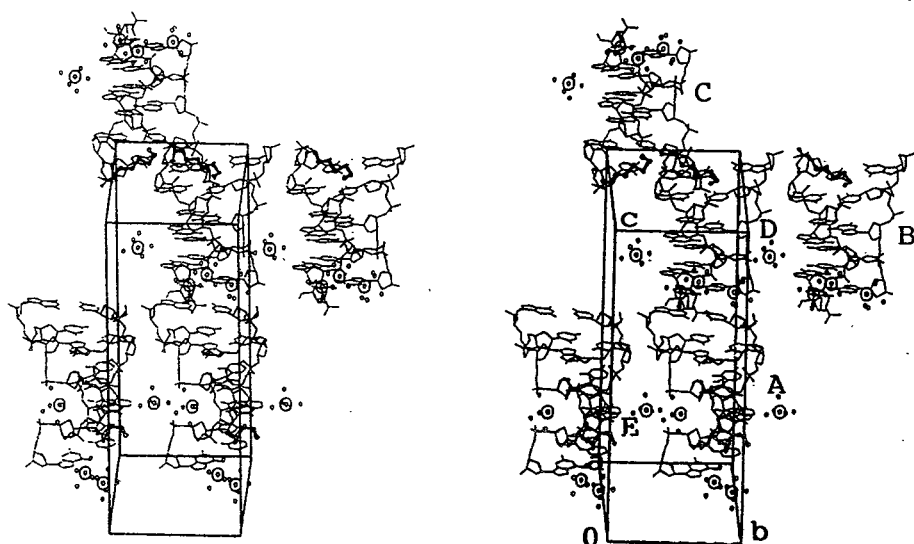


図27 PA(24)・d(CG)₃に於ける二本鎖d(CG)₃複合体分子の結晶内パッキングの様子

第3章 スペルミジン・ $d(CG)_3$ 複合体、 $PA(24) \cdot d(CG)_3$ 複合体、 及びスペルミン・ $d(CG)_3$ 複合体のX線結晶構造解析結果 の比較及び考察

第1節 Watson-Crick型塩基対での水素結合距離 および、水素結合角度の比較

表1には各複合体でのWatson-Crick型塩基対(図28)の水素結合距離[21]を広い溝側(N4-O6)と中央(N3-N1)と狭い溝側(O2-N2)とに分けて示した。Gessnerらはスペルミン複合体において、 $d(CG)_3$ のWatson-Crick型水素結合距離に変化は見られなかったが、C5-G8塩基対のN4-O6結合距離がMg複合体において長くなっているのは興味深いことだと述べている。著者が解析を行った $PA(24)$ 複合体、SPM複合体においては、全体的にみてやや $PA(24)$ 複合体の水素結合距離が他よりも短くなっていた。これは $PA(24)$ 分子が、二本鎖 $d(CG)_3$ のリン酸基と直接強く結合していることによるのかもしれない。SPM複合体においては、C7-G6塩基対のN4-O6、C9-G4塩基対のN4-O6およびN3-N1水素結合距離が非常に短くなっていた。これは後で示す回転角、 α 、の値が他の場合と大きく異なっていることによると考えられる。

広い溝側、中央、及び狭い溝側の水素結合距離を比較した場合、共通して言える事は、中央の水素結合距離が一番長く、次いで狭い溝側、広い溝側の順番になっている。また、表2には各複合体の二本鎖 $d(CG)_3$ のシチジン側のWatson-Crick型水素結合角を示し、表3には各複合体における二本鎖 $d(CG)_3$ のグアニン側のWatson-Crick型水素結合角を示した。通常 sp^2 窒素及び sp^2 酸素が取る水素結合角は 120° であり、狭い溝側ではシチジン、グアニン塩基共に 120° 前後の値を取っていた。

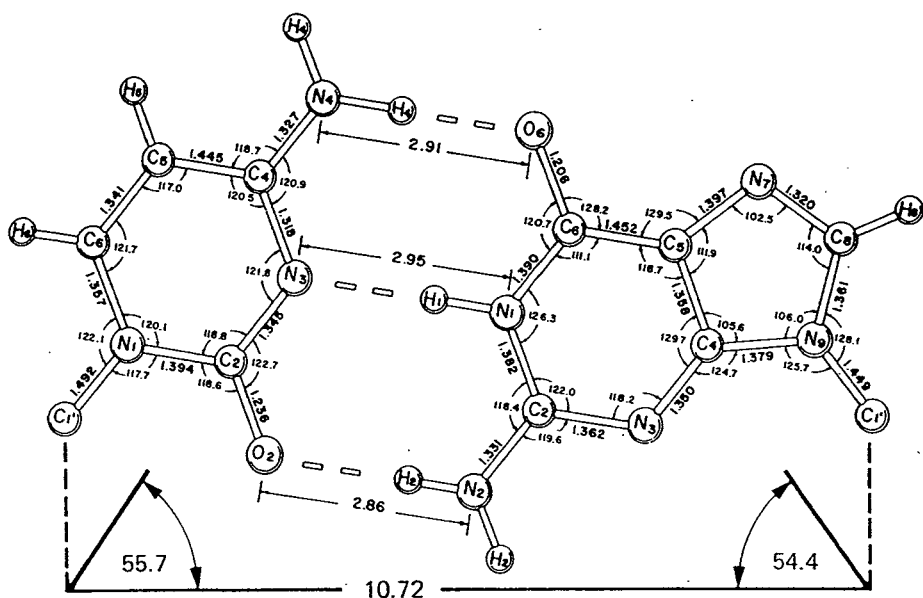


图28 Watson-Crick型塩基対

Table 1. Watson-Crick hydrogen bonds of the magnesium(Mg), the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) form

C-G	Form	C1-G12	C3-G10	C5-G8	C7-G6	C9-G4	C11-G2
N4-O6 (surface)	Mg	2.86	2.81	2.91	2.89	2.84	2.83
	SP	2.90	2.84	2.80	2.87	2.87	2.80
	PA(24)	2.82	2.78	2.88	2.85	2.85	2.79
	SPM	2.92	2.89	2.83	2.74	2.77	2.80
N3-N1 (imino)	Mg	2.91	2.92	2.92	2.98	2.96	2.91
	SP	2.93	2.93	2.95	2.93	2.94	2.93
	PA(24)	2.87	2.87	2.88	2.98	2.96	2.90
	SPM	2.97	2.89	2.89	2.94	2.87	2.90
O2-N2 (groove)	Mg	2.82	2.86	2.89	2.90	2.93	2.95
	SP	2.85	2.92	2.93	2.89	2.88	2.85
	PA(24)	2.84	2.88	2.88	2.94	2.92	2.86
	SPM	2.87	2.85	2.87	2.93	2.88	2.87

Table 2. Bond angles of the Watson-Crick hydrogen bonds of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Cytidine Angle	Residues Form	C1	C3	C5	C7	C9	C11
C C G C4-N4-O6	Mg	116	119	118	119	121	117
	SP	114	117	119	114	118	119
	PA(24)	118	119	117	119	120	120
	SPM	114	118	123	123	123	112
C C G C4-N3-N1	Mg	121	124	122	123	122	123
	SP	123	120	121	121	119	123
	PA(24)	121	121	123	122	121	122
	SPM	119	120	123	119	124	119
C C G C2-N3-N1	Mg	113	115	116	115	117	115
	SP	116	114	119	116	115	116
	PA(24)	116	115	117	117	118	114
	SPM	110	119	118	118	119	113
C C G C2-O2-N2	Mg	122	124	125	125	122	121
	SP	126	123	122	123	119	119
	PA(24)	122	123	124	123	123	123
	SPM	119	125	127	124	126	121

Table 3. Bond angles of the Watson-Crick hydrogen bonds of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Guanosine Angle	Residues Form	G2	G4	G6	G8	G10	G12
G G C C6-O6-N4	Mg	127	125	127	124	126	125
	SP	127	125	130	126	127	128
	PA(24)	124	127	128	126	125	125
	SPM	125	131	124	126	123	123
G G C C6-N1-N3	Mg	116	115	116	117	115	116
	SP	113	114	113	113	111	116
	PA(24)	114	117	114	117	116	117
	SPM	114	120	117	119	117	114
G G C C2-N1-N3	Mg	120	121	122	120	122	121
	SP	122	120	122	120	123	120
	PA(24)	122	120	120	122	122	120
	SPM	122	124	119	124	119	117
G G C C2-N2-O2	Mg	119	122	120	118	130	122
	SP	124	122	120	120	121	119
	PA(24)	121	121	119	121	120	121
	SPM	119	124	118	124	123	118

第2節 各複合体結晶に於けるd(CG)₃の糖擬回転角度の比較

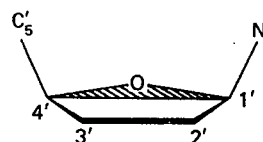
5員環の糖のパッカリングについては擬回転角度(pseudo rotation)を用いて比較することが出来る。擬回転という概念は最初シクロペンタンで考えられ[31、32]、その後、置換基のついたフラノース環にも適用された[33]。糖のパッカリングの様式とその命名法を図29に、フラノース環のナンバリングを図30に示した。そこで、通常、糖のパッカリングは、表4に示したように捻れ角 $\nu_0, \nu_1, \nu_2, \nu_3, \nu_4$ で表される。シクロペンタンのコンフォメーションは平均的な中間体を経由して変化するのではなく、最大にパッカリングしたまま、事実上、エネルギーの障壁無しに回転する。その結果、無限のコンフォメーションが存在する。これは最大捻れ角(パッカリングの角度) $\nu_{\max}$ と擬回転位相角Pによって記述できる[34、35]。ヌクレオチドのように5員環が非対称的に置換されている場合は、ポテンシャルエネルギーに域値が生じるため擬回転が制限される特定のパッカリング様式を取る。表4に示したようにヌクレオチドでは、擬回転角Pは糖環内の捻れ角を使って計算できる[35]。表4に糖の捻れ角より求められるP値と、それに対応するコンホメーションを示した。また表5には糖のねじれ角より求められる $\nu_{\max}$ を示した。 $\nu_{\max}$ が小さいほど糖の平面性が高いことを示している。通常2'置換基の電子陰性度がつよいほどC2'-endo型になりやすいと言われている。左巻きDNAの場合、シチジン側はC2'-endo型、グアニン側はC3'-endo型を取ると考えられているがP値からすると、SPM複合体のC1, C3, C11のリボース環がそれぞれC2'-exo, C1'-endo, C1'-exo型を取っていた。また、グアニン側ではMg複合体のG2とPA(24)複合体のG8が、C4'-exo型を取っていたが、エネルギー的にはC3'-endo型と大差ないと考えられる。しかしながらグアニン側のG6およびG12はC2'-endo型をとっていた。一方 $\nu_{\max}$ 値はMg複合体のG10およびPA(24)複合体のG8およびG12で非常に低い値を取っていたが、これらのリボース環はかなり平面性がよいものと考えられる。

Table 4. Torsional parameters of the ribose phosphate backbone for the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

	C1	C3	C5	C7	C9	C11
Mg	154	145	151	157	153	151
P-value	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo
	SP	158	149	156	152	147
PA(24)	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo
	158	159	151	152	150	149
SPM	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo
	158	143	145	144	147	142
	C1'-exo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C2'-endo	C1'-exo

	G2	G4	G6	G8	G10	G12
Mg	40	26	170	36	35	162
P-value	C4'-exo	C3'-endo	C2'-endo	C3'-endo	C3'-endo	C2'-endo
	SP	34	31	159	32	24
PA(24)	C3'-endo	C3'-endo	C2'-endo	C3'-endo	C3'-endo	C2'-endo
	30	23	168	43	19	162
SPM	C3'-endo	C3'-endo	C2'-endo	C4'-exo	C3'-endo	C2'-endo
	34	26	159	35	14	166
	C3'-endo	C3'-endo	C2'-endo	C3'-endo	C3'-endo	C2'-endo

$\nu_0 = C4'-O4'-C1'-C2'$
 $\nu_1 = O4'-C1'-C2'-C3'$
 $\nu_2 = C1'-C2'-C3'-C4'$
 $\nu_3 = C2'-C3'-C4'-O4'$
 $\nu_4 = C3'-C4'-O4'-C1'$



$$\tan P = \frac{(\nu_4 + \nu_1) - (\nu_3 + \nu_0)}{2 \cdot \nu_2 \cdot (\sin 36^\circ + \sin 72^\circ)}$$

図 30 フラノース環のナンバリング

Table 5. Torsional parameters of the ribose phosphate backbone for the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

	C1	C3	C5	C7	C9	C11
vmax	Mg	39	34	39	37	38
	SP	33	35	35	37	38
	PA(24)	39	38	38	33	34
	SPM	46	33	41	37	37
	G2	G4	G6	G8	G10	G12
vmax	Mg	34	26	35	26	20
	SP	37	31	32	33	28
	PA(24)	26	27	31	18	17
	SPM	26	31	30	37	24

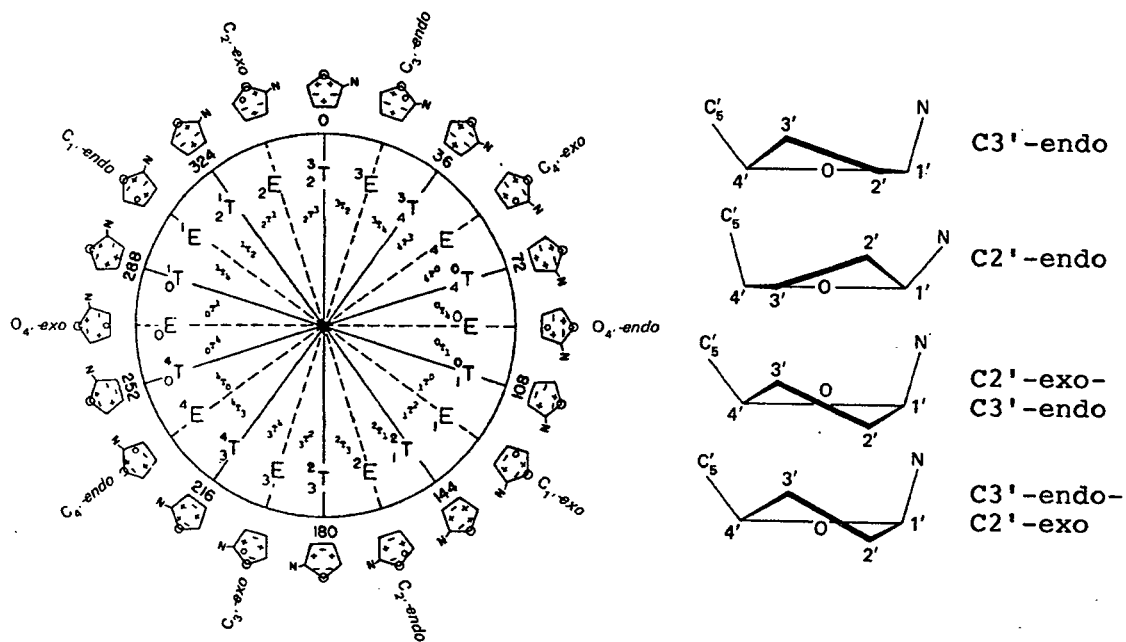


図 29 糖のパッカリングの様式と命名法

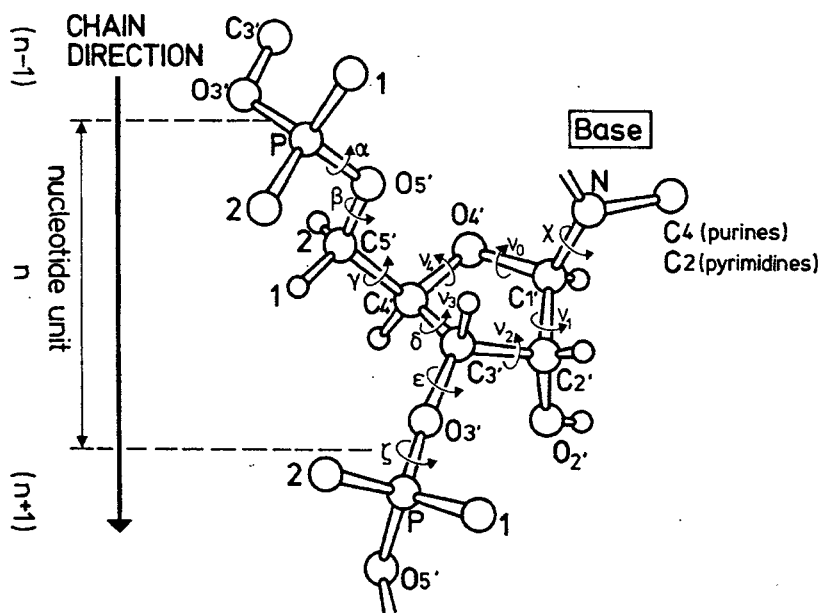
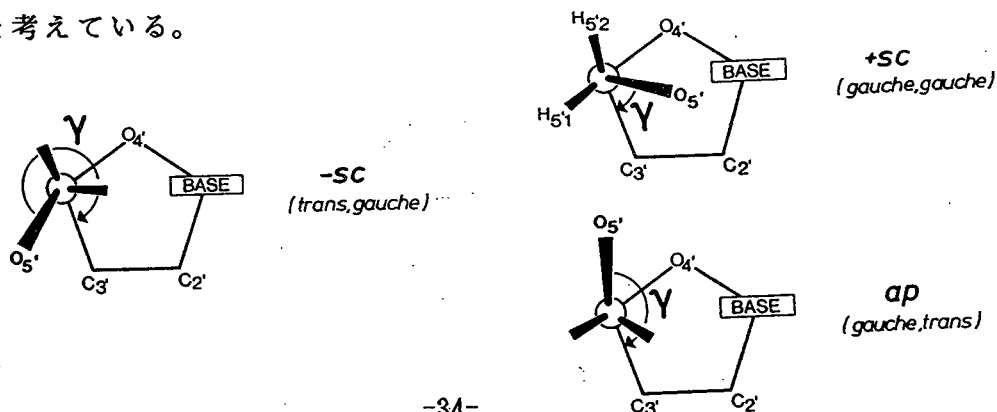


図 31 糖-塩基間の各捻れ角の名前

第3節 各複合体結晶におけるd(CG)₃の糖-塩基間の回転角度の比較

糖-塩基間の回転は立体的に制限されており、主として anti コンフォメーションをとりやすい [36、37]。anti コンフォメーションでは、糖と塩基の間に特に立体的な障害はないが、syn コンフォメーションになると、塩基のかさ高い部分が糖の上に位置し、原子間接触が生じる [38、39]。糖-塩基間の各捻れ角の様子を図31に、anti コンフォメーション、syn コンフォメーションの様子を図32に示した。ヌクレオシドの結晶構造データを調べると、C2'-endo型パッカリングをもつ、プリンヌクレオシドにおいては、syn型と anti型コンフォメーションが殆ど同じ割合で存在するが、C3'-endo型パッカリングではグリコシド結合回りの配向は anti型コンフォメーションになっている [40]。一般に左巻きDNAではグアニン側は anti型、シチジン側は syn型を取る事が報告されている。また、ねじれ角 O5'-C5'-C4'-C3' は、通常左巻きDNAでは、シチジン側が、*gg* (*gauche-gauche*)、グアニン側は *gt* (*gauche-trans*) コンフォメーションを取ると言われている [41、42、43、44、45]。表6にMg、SP、PA(24)、およびSPM各複合体における二本鎖d(CG)₃の χ 値および、ねじれ角 O5'-C5'-C4'-C3'の値を示してある。その結果、シトシン側では χ 値は若干のずれはあるものの一定範囲におさまっていた。しかし、グアニン側ではG6、G12は他よりもかなり高い χ 値が観察されている。これはG6、G12の糖がd(CG)₃末端に位置し χ の回転が起こりやすく、特殊な synコンフォメーションを取った結果と思われる。このため糖のパッカリングもくずれて、C2'-endo型を取ったのではないかと考えている。



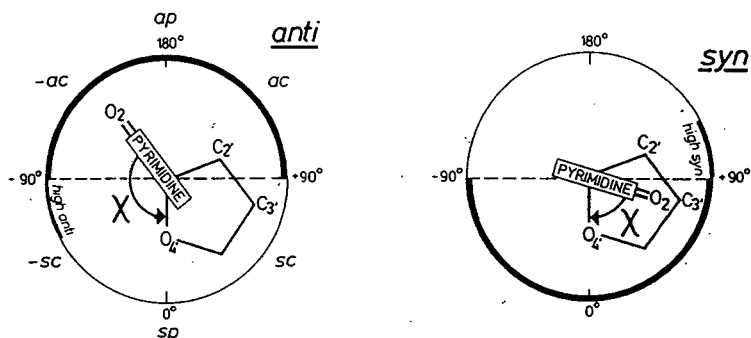


図 3.2 糖-塩基間の回転角度による a n t i コンフォメーションおよび s y n コンフォメーション

Table 6. Torsional parameters of the ribose phosphate backbone for the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

		C1	C3	C5	C7	C9	C11
X -value	Mg	-150	-150	-152	-151	-154	-156
	SP	-152	-159	-145	-146	-160	-155
	PA(24)	-150	-152	-149	-147	-157	-157
	SPM	-148	-154	-152	-149	-157	-157
		anti	anti	anti	anti	anti	anti
		G2	G4	G6	G8	G10	G12
X -value	Mg	60	59	78	61	62	73
	SP	55	55	77	66	65	80
	PA(24)	64	55	79	65	65	78
	SPM	61	56	75	66	65	79
		syn	syn	syn	syn	syn	syn
		C1	C3	C5	C7	C9	C11
ϕ_{oc}	Mg	52	50	48	55	55	56
	SP	47	48	45	53	54	47
	PA(24)	52	45	40	48	55	50
	SPM	44	52	40	48	61	47
		gg	gg	gg	gg	gg	gg
		G2	G4	G6	G8	G10	G12
ϕ_{oc}	Mg	178	180	-178	172	179	-177
	SP	173	177	180	174	179	-176
	PA(24)	180	-177	-179	175	-179	-177
	SPM	177	175	180	177	176	-178
		gt	gt	gt	gt	gt	gt

X O4'-C1'-N1-C2
O4'-C1'-N9-C4

ϕ_{oc} O5'-C5'-C4'-C3'

第4節 各複合体結晶での二本鎖 $d(CG)_3$ とポリアミンおよび金属イオンとの相互作用様式の比較

PA(24)・ $d(CG)_3$ 複合体では $d(CG)_3$ 二本鎖間に PA(24) による架橋構造が見られた。一方、スベルミジン・ $d(CG)_3$ 複合体及び既に報告されているスベルミン複合体 [10] の場合においては、 $d(CG)_3$ 二本鎖間のみならず隣接分子間にもスベルミジン、スベルミン による架橋構造が見られ、これが $d(CG)_3$ 分子の熱的及び物理的分解に対する強い保護効果を示していると考えられた。スベルミン複合体においてはさらに、スベルミンと $d(CG)_3$ 分子リン酸基との間の相互作用に加えて、スベルミンと塩基との直接的な相互作用もかなり見られている。この複合体においては1分子の $d(CG)_3$ にたいして2分子のスベルミンが結合しているが、これはスベルミンのもつ正電荷が PA(24)、スベルミジン などよりも一価多いことによる。これらポリアミンと $d(CG)_3$ との複合体に於ける構造上の共通点と相違点は表7にまとめた。また図33には三複合体の構造比較を立体図で示した。上から順にスベルミジン- $d(CG)_3$ 複合体、PA(24)- $d(CG)_3$ 複合体、およびスベルミン- $d(CG)_3$ 複合体のX線構造解析の結果である。図34は3つの複合体の構造をa b面から投影したものである。図33と同様に、上からスベルミジン- $d(CG)_3$ 、PA(24)- $d(CG)_3$ 、スベルミン- $d(CG)_3$ の順番になっている。ポリアミンはいづれの場合も、二本鎖 $d(CG)_3$ の切れ目あたりに存在し、マグネシウムの位置は3個のうちの1個がスベルミジン- $d(CG)_3$ 複合体、PA(24)- $d(CG)_3$ 複合体ではよく似た位置にありPA(24)- $d(CG)_3$ 複合体とスベルミン- $d(CG)_3$ 複合体では Mg^{2+} の位置が、全く同じものが1個存在していた。

スベルミン複合体の場合には、1個の Mg^{2+} イオンが $d(CG)_3$ との結合に関与し、この Mg^{2+} イオンは隣接 $d(CG)_3$ 分子の上下間で、PA(24) 複合体の場合のように、架橋構造を形成していた。いずれのポリアミン複合体においても、 Mg^{2+} イオンが $d(CG)_3$ に直接結合していた。なお今回のPA(24)複合体及びスベルミジン複合体において、Z-DNA構造に対する Na^+ イオンの可能な相互作用様式が $d(CG)_3$ を例として初めて明らかにすることができた。

Table 7

The structural comparison between spermine, PA(24) and spermidine complexes

	spermine	PA(24)	spermidine
number of polyamine per a complex	2	1	1
the ratio of charges by polyamine per a complex	80%	30%	30%
number of Mg ion per a complex	1	3	3
the ratio of charges by Mg ion per a complex	20%	60%	60%
number of Na ion per a complex	0	1	1
the ratio of charges by Na ion per a complex	0%	10%	10%
the direct bridge formation by polyamine between the intra strand of d(CG) ₃	2	3	0
the bridge formation by polyamine via water molecule between intra strand of d(CG) ₃	1	3	0

Table 7 continued

the direct bridge formation by polyamine between the inter strand of d(CG) ₃	4	0	0
the bridge formation by polyamine via water molecule between inter strand of d(CG) ₃	0	0	6
the direct bridge formation by Mg complexies between the intra strand of d(CG) ₃	3	0	5
the bridge formation by Mg complexies via water molecule between intra strand of d(CG) ₃	1	0	5
the direct bridge formation by Mg complexies between the inter strand of d(CG) ₃	0	9	0
the bridge formation by Mg complexies via water molecule between inter strand of d(CG) ₃	0	0	3
the direct bridge formation by Na complex between the intra strand of d(CG) ₃	0	0	0

Table 7 continued

the bridge formation by Na complex via water molecule between intra strand of $d(CG)_3$	0	0	0
the direct bridge formation by Na complex between the inter strand of $d(CG)_3$	0	0	1
the bridge formation by Na complex via water molecule between inter strand of $d(CG)_3$	0	0	2
the direct coordination bonds to the $d(CG)_3$ by Mg ion	1	1	0
the direct coordination bonds to the $d(CG)_3$ by Na ion	0	1	0
Z-II conformation	P-5	P-5	P-5 P-9
disorder	P-6 P-12	P-6 P-9 P-12	P-6 P-12

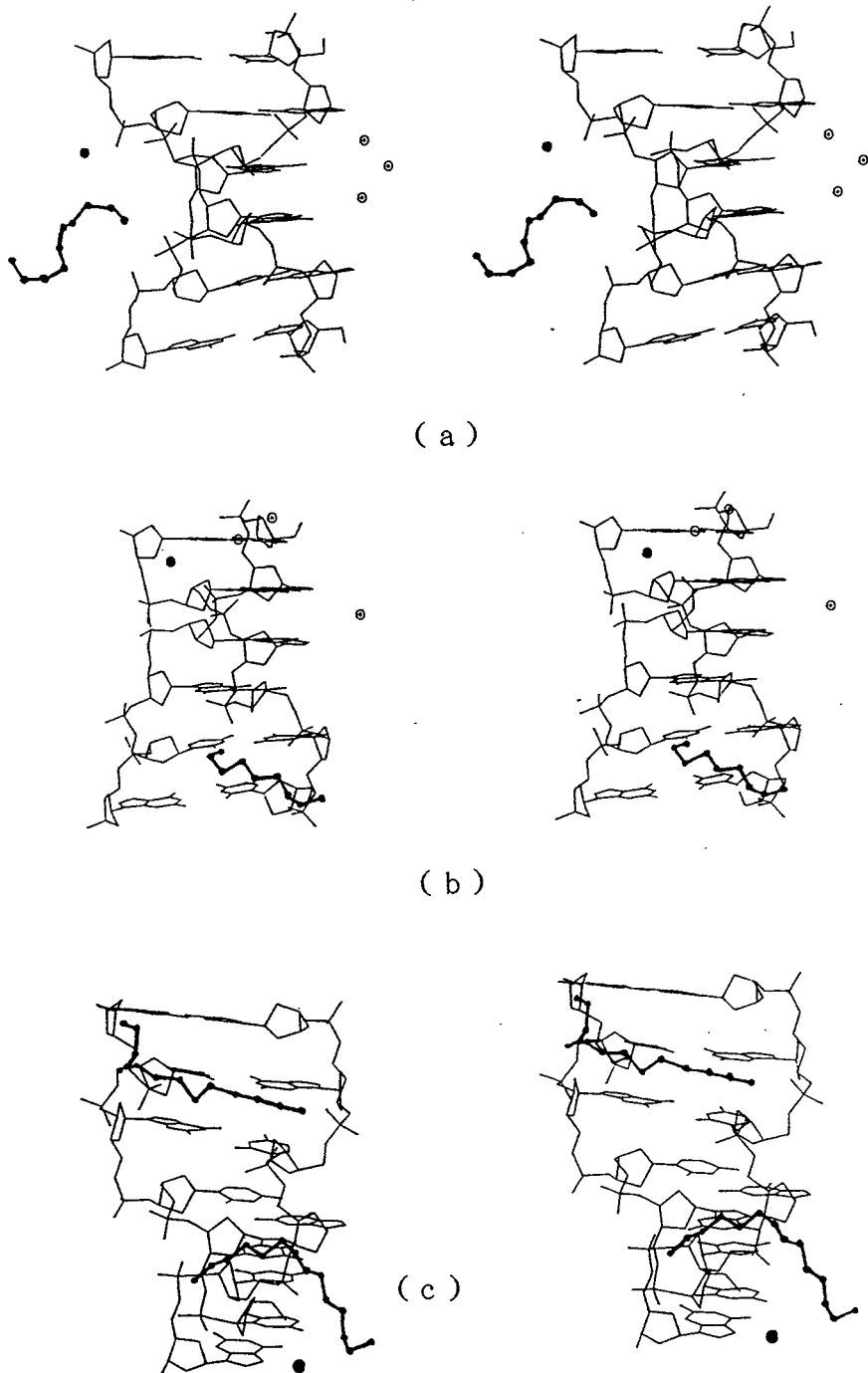
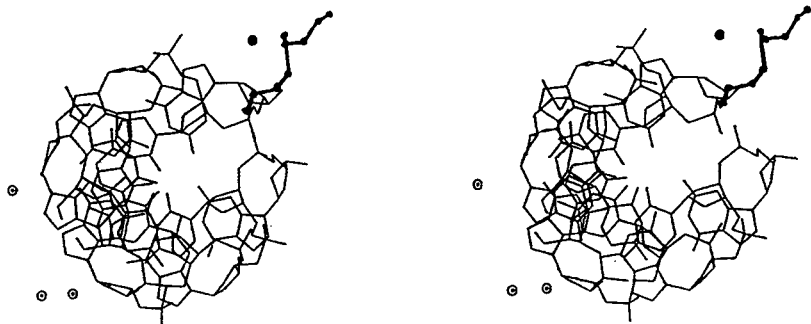


図 3 3 a c 面から見た各複合体分子の構造比較

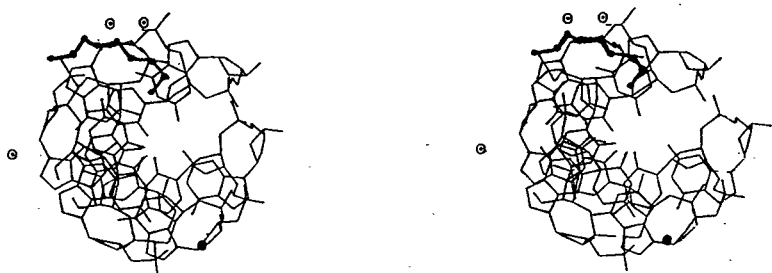
(a) スペルミジン複合体 (b) PA(24) 複合体

(c) スペルミン複合体

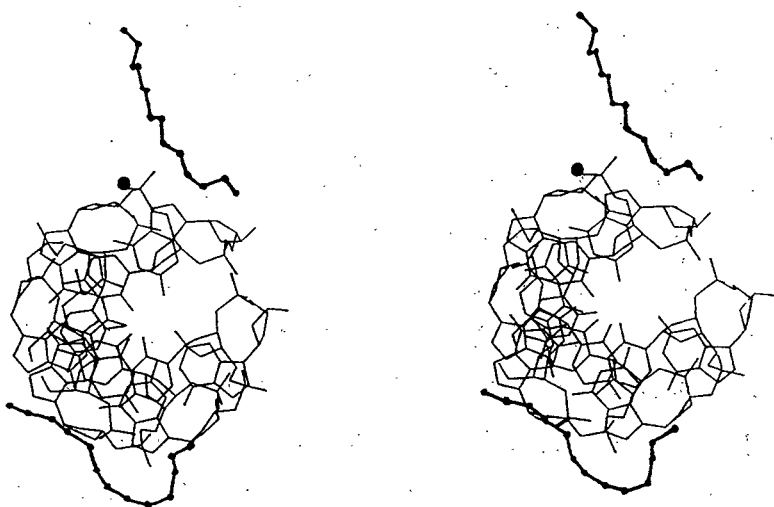
太線はポリアミン分子を示し、●印はNa⁺を、⊙印はMg²⁺を示している。



(a)



(b)



(c)

図 3 4 a b 面から見た各複合体分子の構造比較

(a) スペルミジン複合体 (b) P A (2 4) 複合体

(c) スペルミン複合体

太線はポリアミン分子を示し、●印は Na^+ を、○印は Mg^{2+} を示している。

第5節 各複合体結晶での二本鎖d(CG)₃の骨格の比較

二本鎖DNA分子は、通常非常に安定で外界からの影響を受けにくいとされている。このことは、左巻き二本鎖Z-DNAについても同じ事が言える。Z型DNAにおいては、通常とりやすいと言われているZ-I型と通常の条件では起こりにくいZ-II型が存在する。Z-I型とZ-II型の差は骨格のねじれ角に現れている。その図をGessnerらの文献から引用して図35に示した。またMg, SP, PA(24), SPM各複合体における骨格のねじれ角 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ε 、 ζ 、 η を、シチジン側については、表8に、グアニン側については、表9に示した。その略図をシチジン側は図36に、グアニン側は図37に示した。表8、9、及び図36、37から明らかなようにシチジン側の骨格のねじれ角C5、C9における α 、 β およびグアニン側G4、G8の骨格のねじれ角 ε および ζ に大きな変化が見られる。これは通常とりえる骨格のねじれ角 α 、 β がZ-I型の場合-SC/-SCであるのに対して、Z-II型でAP/+SCに変化していることを示している[46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57] (SC:syn-clinal, AP:anti-periplanar)。今回、X線結晶構造解析を行ったPA(24)複合体、およびスベルミジン複合体の場合のねじれ角を調べてみると、両複合体共にC5のリン酸回りのねじれ角がZ-II型を取っていた。これは、スベルミン複合体においても見られる(図35)。C9のリン酸回りのねじれ角は、スベルミジン複合体のみがZ-II型と同じであったが、この様子は図38に示した。また、興味深いことに、PA(24)複合体の場合、C9のリン酸回りのねじれ角から判断すると、Z-I型とZ-II型が統計的に半分ずつ含まれることが判明した。SP複合体PA(24)複合体、SPM複合体の二本鎖d(CG)₃骨格を抜き出し重ね合わせたステレオ図を図39に示した。円で囲んだ部分が9番目のリン酸基の部分を示し、Z-I型とZ-II型が混ざりあっていることが、この図からも明かである。さらにDNAの骨格で興味深い点は、G6およびG12のリン酸回りのねじれ角が通常は見られない領域にあること、およびG6、G12の糖のパッカリングが、通常の左巻きDNAのとりC3'-endo型

からC 2' - e n d o型に変化している事である。これらは、PA(24)複合体スベルミジン複合体 およびスベルミン複合体いづれについても共通して言える事であって、ポリアミン分子が有意にDNA本来のコンフォメーションを変化させ得ることを意味している。

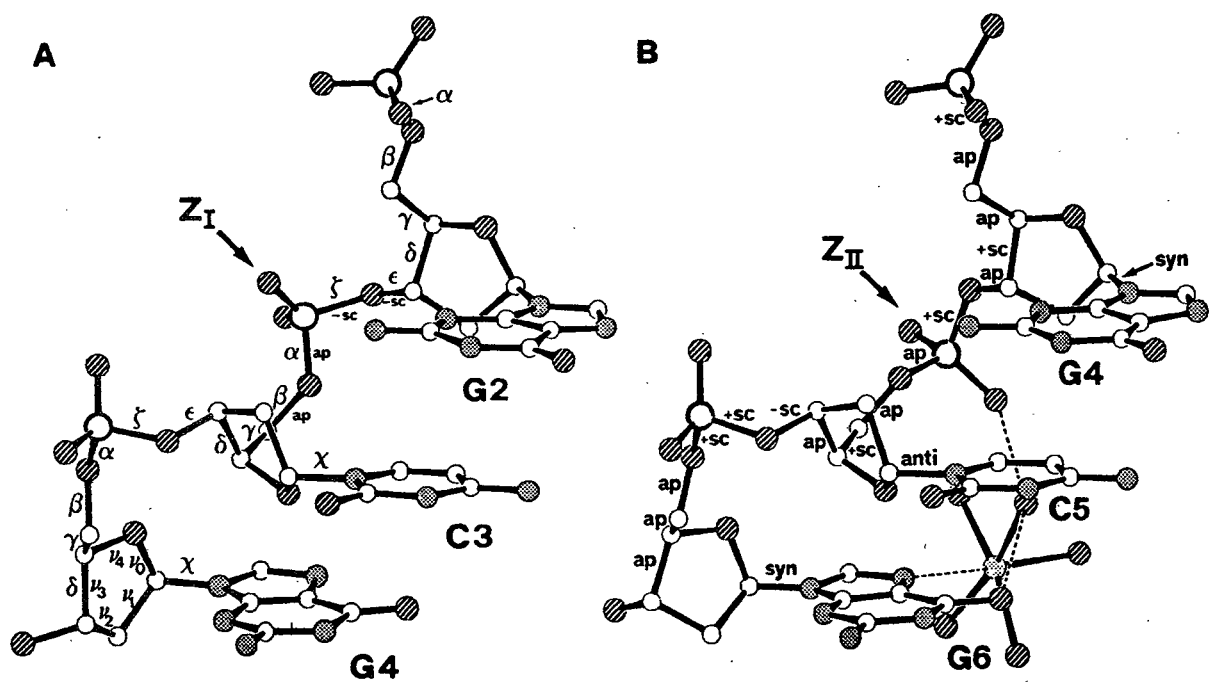


図35 Z-I型構造とZ-II型構造の比較

Table 8. Torsion angles of the ribose phosphate backbone for the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

	C1	C3	C5	C7	C9	C11
α	Mg	-147	166		-162	-150
	SP	-142	168		-138	-146
	PA(24)	-146	169		-148	-148
	SPM	-143	169		-171	-148
β	Mg	-121	160		-164	-119
	SP	-123	166		-135	-124
	PA(24)	-115	164		-137	-119
	SPM	-126	166		-166	-117
γ	Mg	52	50	48	55	56
	SP	47	48	45	53	47
	PA(24)	52	45	40	48	50
	SPM	44	52	40	48	47
δ	Mg	145	148	142	139	142
	SP	144	154	138	149	143
	PA(24)	142	153	143	142	142
	SPM	147	152	148	140	144
ϵ	Mg	-95	-100	-100	-92	-101
	SP	-94	-101	-93	-89	-96
	PA(24)	-93	-102	-93	-94	-102
	SPM	-92	-99	-90	-95	-96
ζ	Mg	79	81	80	74	70
	SP	82	75	73	77	72
	PA(24)	77	77	75	74	76
	SPM	77	75	75	80	70
χ	Mg	-150	-150	-152	-151	-156
	SP	-152	-159	-145	-146	-155
	PA(24)	-150	-152	-149	-147	-157
	SPM	-148	-154	-152	-149	-157

Table 9. Torsion angles of the ribose phosphate backbone for the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

		G2	G4	G6	G8	G10	G12
α	Mg	62	64	77	67	64	84
	SP	63	70	74	61	65	79
	PA(24)	61	64	77	65	63	83
	SPM	67	70	75	57	64	91
β	Mg	-172	-174	175	-171	-175	-177
	SP	-175	-172	178	-174	177	-176
	PA(24)	-175	-174	178	-172	-177	-175
	SPM	-173	-165	174	-173	-179	-173
γ	Mg	178	180	-178	172	179	-177
	SP	173	177	180	174	179	-176
	PA(24)	180	-177	-179	175	-179	-177
	SPM	177	175	180	177	176	-178
δ	Mg	91	92	149	101	96	149
	SP	96	94	150	97	104	150
	PA(24)	98	97	147	100	101	149
	SPM	91	95	153	114	103	146
ϵ	Mg	-120	-179		-124	-116	
	SP	-118	-179		-115	-112	
	PA(24)	-119	-175		-110	-119	
	SPM	-117	-179		-131	-115	
ζ	Mg	-65	69		-25	-70	
	SP	-68	66		-75	-69	
	PA(24)	-73	65		-64	-69	
	SPM	-74	61		-27	-73	
χ	Mg	60	59	78	61	62	73
	SP	55	55	77	66	65	80
	PA(24)	64	55	79	65	65	78
	SPM	61	56	75	66	65	79

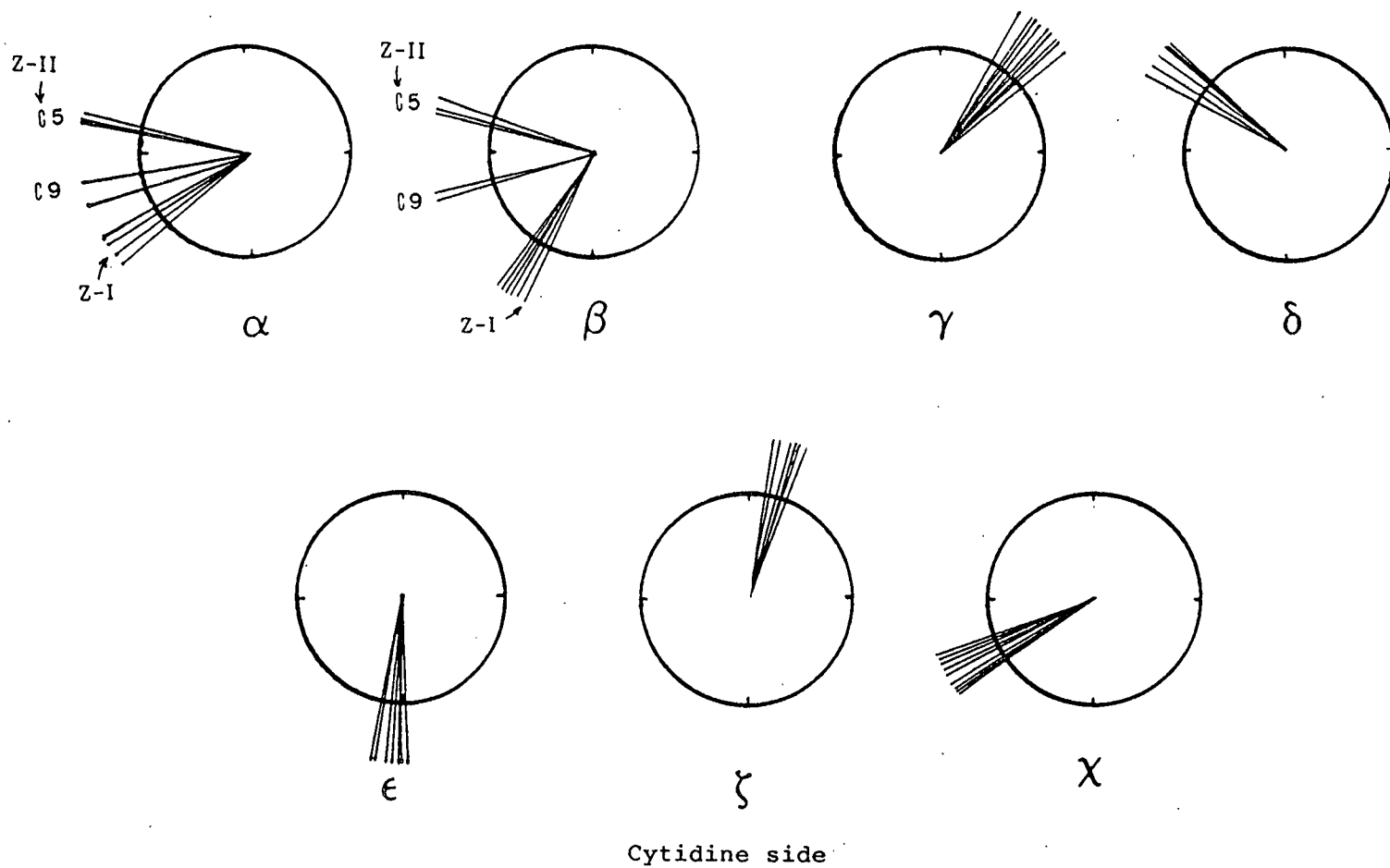


図 36 シチジン側の骨格の捻れ角の略図

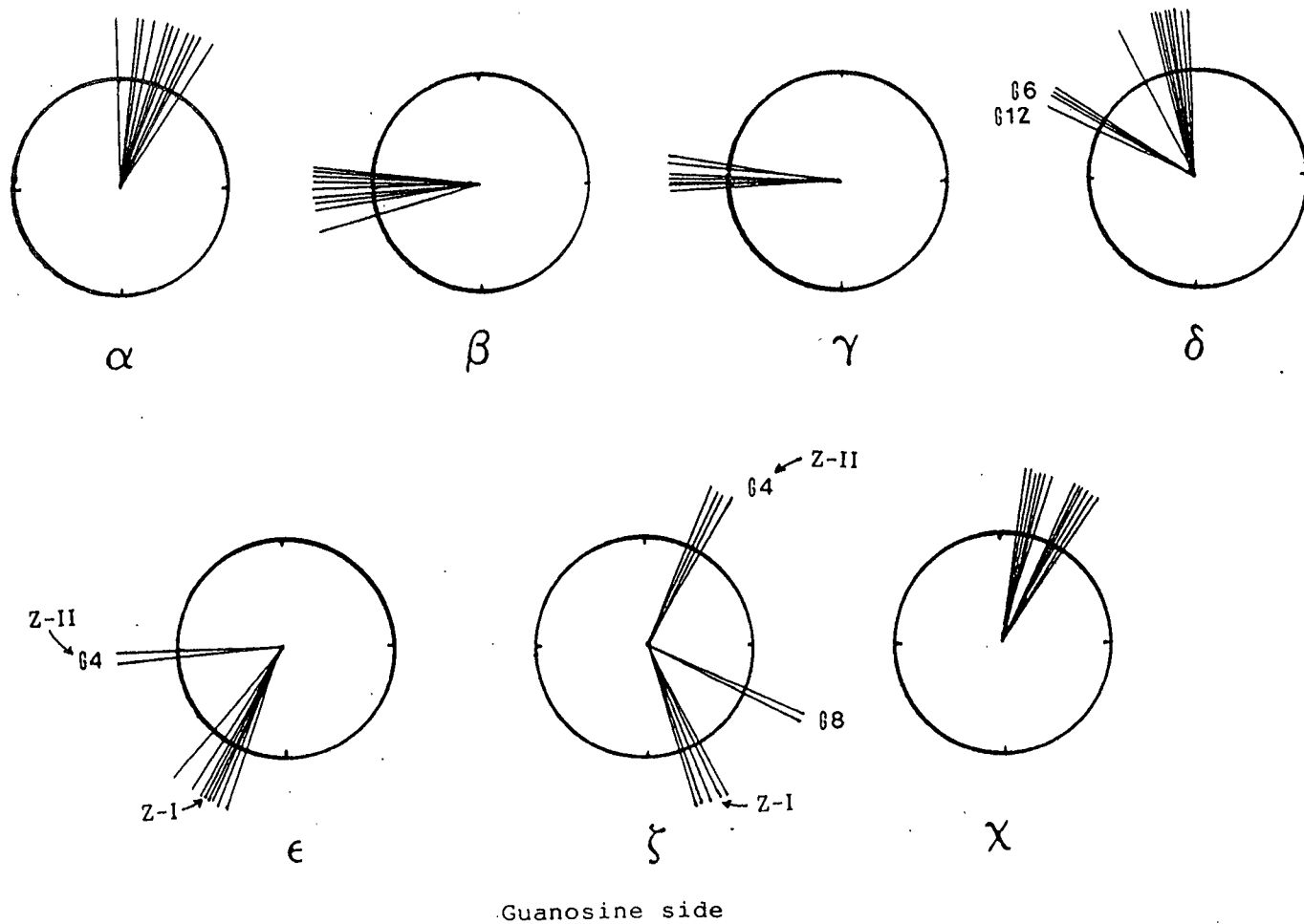


図 37 グアニン側の骨格の捻れ角の略図

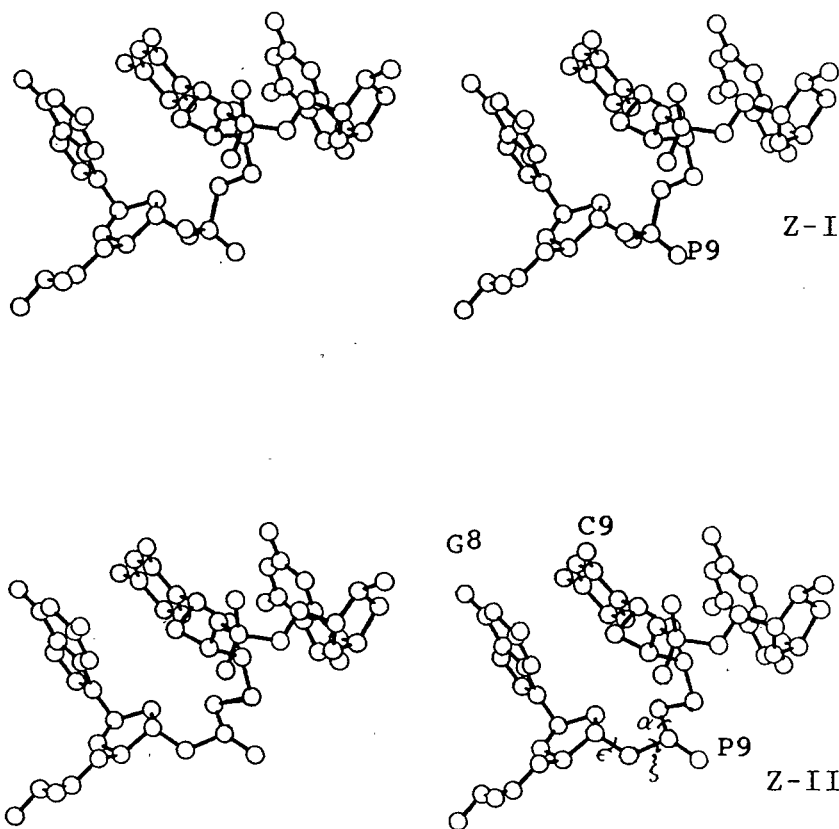


図 3 8 スペルミジン複合体に於ける Z - I I 型構造

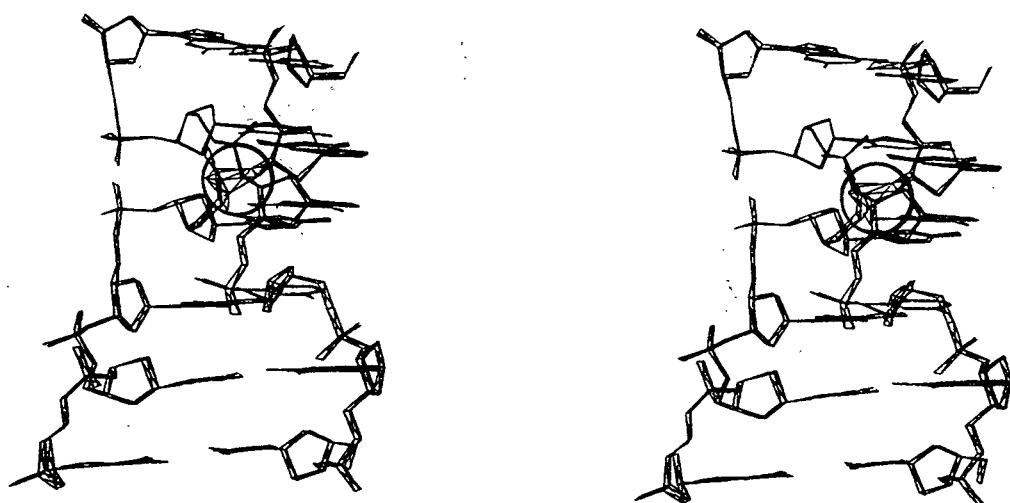


図 3 9 各複合体分子における $d(CG)_3$ を重ね合わせた図

第6節 各複合体結晶の結晶内分子のパッキング様式の比較

図40に結晶軸 ac 面から見た二本鎖 $d(CG)_3$ 分子、ポリアミン分子、金属イオン分子の結晶内でのパッキングの様子をステレオ図で示した。上からスペルミジン- $d(CG)_3$ 複合体結晶、PA(24)- $d(CG)_3$ 複合体結晶、スペルミン- $d(CG)_3$ 複合体結晶の順番である。また図41には結晶軸 ab 面から見た $d(CG)_3$ 分子、ポリアミン分子、金属イオン分子の結晶内でのパッキングの様子をステレオ図で示した。順番は図40の場合と同じである。前にも述べたように、ある一つの複合体分子のまわりには12分子の複合体が存在する。これは、この複合体分子をある直方体の箱に詰めたときのこの箱の辺の数に相当する。この12個の対称操作は次に示す通りである。

対称操作： 1: $(-x+0.5, -y+1, z-0.5)$, 2: $(-x+0.5, -y+1, z+0.5)$,
3: $(-x+1.5, -y+1, z-0.5)$, 4: $(-x+1.5, -y+1, z+0.5)$,
5: $(x-0.5, -y+1.5, -z)$, 6: $(x+0.5, -y+1.5, -z)$,
7: $(-x, y-0.5, -z-0.5)$, 8: $(-x, y+0.5, -z-0.5)$,
9: $(-x+1, y-0.5, -z-0.5)$, 10: $(-x+1, y+0.5, -z-0.5)$,
11: $(x-1, y, z)$, 12: $(x+1, y, z)$

表10にはMg, SP, PA(24), SPM各複合体における $C1' - C1'$ 間の距離(塩基対を形成する両鎖の $C1'$ (糖)間の距離)を示した。

図40からも明らかなように、SPM複合体においてはスペルミジンが二本鎖DNAの広い溝にはまっており、また金属イオンもこの広い溝に存在するために非常に密な結晶構造を取っている。それに対してPA(24)及びスペルミン複合体の場合、空間の多い構造を取っている。すなわちPA(24)の場合には、 $d(CG)_3$ にPA(24)分子が巻き付き、二本鎖 $d(CG)_3$ 分子を引き締めているような構造を取っている事がその原因の一つと考えられる。図41より分かるように、やはりスペルミジン及びスペルミンは二本鎖 $d(CG)_3$ 間に存在して隣接分子間の安定化を図っている。表10の $C1' - C1'$ 間距離を見ても、PA(24)複合体分子では他より非常に短くなっている。これは明かにPA(24)によって二本鎖 $d(CG)_3$ が安定化される事を示している。

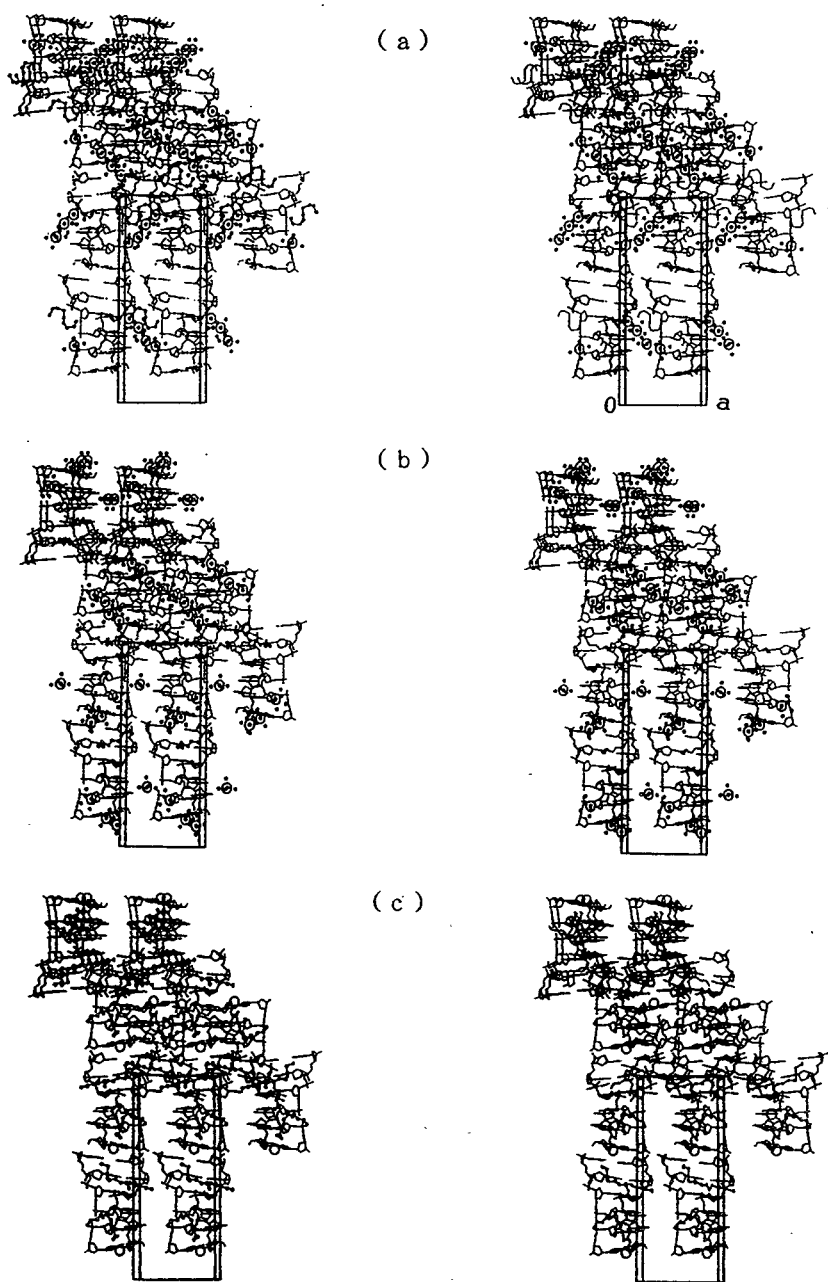


図 40 ac 面から見た各複合体分子の結晶内構造比較
 (a) スペルミジン複合体 (b) PA(24) 複合体
 (c) スペルミン複合体

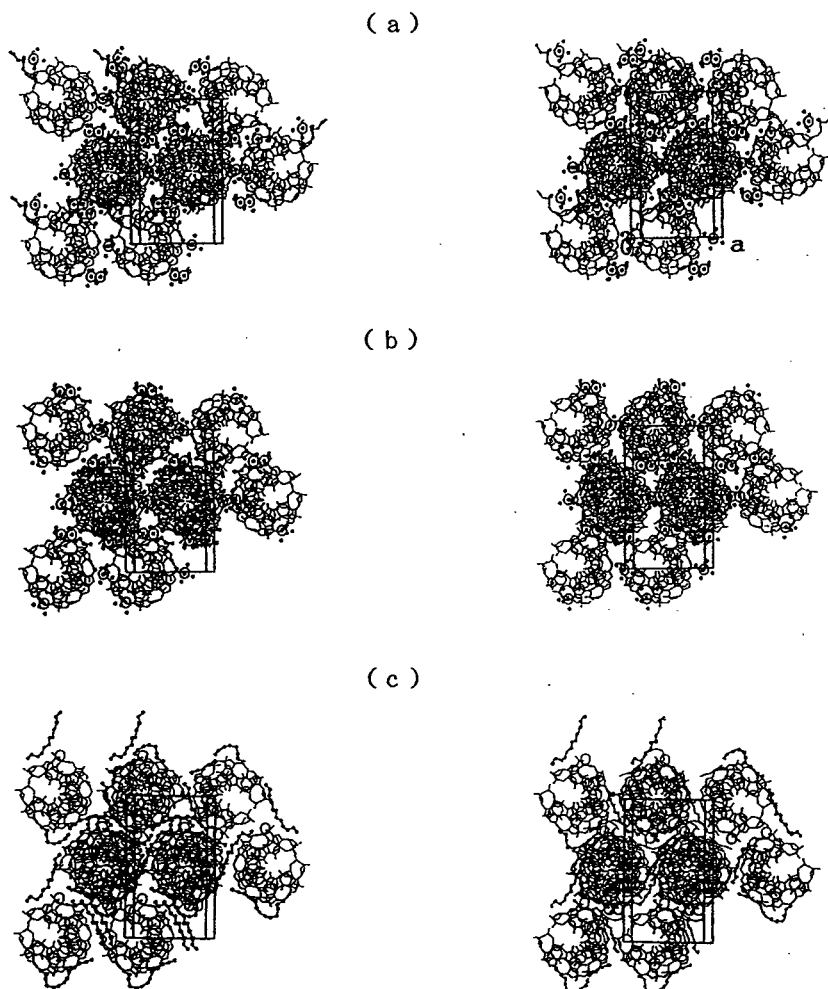


図 4 1 a b 面から見た各複合体分子の結晶内構造比較
 (a) スペルミジン複合体 (b) PA (24) 複合体
 (c) スペルミン複合体

Table 10. Distance in the base pairs of the magnesium the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Distance	Forms	1-12	3-10	5-8	7-6	9-4	11-2
C1'-C1'	Mg	10.86	10.81	10.82	10.80	10.86	10.78
	SP	10.84	10.82	10.77	10.87	10.88	10.90
	PA(24)	10.79	10.73	10.80	10.81	10.78	10.72
	SPM	10.79	10.86	10.80	10.83	10.89	10.73

結 論

ポリアミンとしてスペルミジンおよびN-(2-aminoethyl)-1,4-diaminobutane(PA(24))を用い、左巻き二本鎖Z-DNA構造をとるDNAオリゴマー、 $d(CG)_3$ 、との複合体結晶の1 Å分解能でのX線構造解析を行い、以下の新しい知見を得た。

- (1) DNAのリン酸基の持つ負電荷は、ポリアミン、Mgイオン、Naイオンの正電荷によって中和されていた。
- (2) ポリアミンの窒素原子はDNA、特にリン酸基と直接的あるいは水を介した水素結合により結合し、両者の間に強い親和性を示し、DNAの熱変性、物理的分解に対しても保護作用を示すことが示唆された。
- (3) ポリアミンと金属、および金属とDNAとの間の特異的結合様式を原子レベルで明らかにした。特に、 Na^+ イオンとZ-DNAとの相互作用様式を明らかにしたのは今回が初めてである。
- (4) 左巻き二本鎖Z-DNA構造は、ポリアミンの存在下でそのコンホメーション変化を受けることが明らかになった。
- (5) スペルミジン・ $d(CG)_3$ 複合体およびPA(24)・ $d(CG)_3$ 複合体のX線結晶構造解析結果とスペルミン・ $d(CG)_3$ 複合体のX線結晶構造解析結果との比較検討を行い、ポリアミンの持つ正電荷量の変化によって生じるポリアミンと左巻き二本鎖Z-DNAとの相互作用様式の相違点について考察した。

謝 辞

本研究に際し、終始御指導、御鞭撻を賜りました、大阪大学薬学部薬品物理化学教室 富田 研一教授に深く感謝致します。DNAの合成、結晶化、データ測定及び解析におきまして、終始御指導、御鞭撻を賜りました、大阪大学薬学部薬品物理化学教室 箱嶋 敏雄博士に深く感謝致します。試料の提供に際し、御便宜を賜りました、マサチューセッツ工科大学 A. Rich教授、イリノイ大学 A. H. - J. Wang教授、ライデン大学 G. van der Marel教授ならびに、J. H. van Boom教授に感謝いたします。研究に際し、御指導及び有益な御討論、御助言をいただきました大阪薬科大学薬品物理化学教室 井上 正敏教授ならびに、石田 寿昌教授に深く感謝致します。研究に際し、御助言、御支援をいただきました、大阪大学薬学部薬品物理化学教室の諸氏に感謝致します。

第4章 実験の部

第1節 スペルミジンと二本鎖左巻きd(CG)₃複合体結晶のX線結晶構造解析

合成DNAオリゴマーであるd(CG)₃アンモニウム塩は合成し、スペルミジン三塩酸塩は市販のものを用いた。また、ポリアミンと金属カチオンがDNAオリゴマーの構造安定化に関与している事はよく知られている事である[11]。一般的にはMgCl₂がDNAオリゴマーとの複合体を結晶化させる際によく使われ、これらの塩濃度及び、ポリアミン濃度を上昇させることによってDNAオリゴマー左巻きZ-型構造をとることは既に明らかにされている[12]。そこで著者らはこれらの化合物を用いて蒸気拡散平衡法により約2週間でX線結晶構造解析に適した良好な結晶を得た。結晶化の条件は表1.1に示した。データ測定に用いた結晶の大きさは約0.5X0.3X0.3mm³であった。結晶学的データは表1.2に示した。

データ測定の際の温度は-10℃で、結晶はガラスキャピラリーに封入し母液で上下を塞いで回折計に固定し、Nicolet P3自動4軸回折計を用い線源はCu・Kαで行った。強度データは4°毎分のωスキャン法で1Å分解能までのデータを得ることができた。得られたデータにたいしては、半経験的吸収補正および劣化補正を行った[13]。今回得られた結晶はスペルミン-d(CG)₃複合体結晶のものと結晶学的には同型であったため、位相の決定は先のd(CG)₃の座標[14]を用い分子置換法により行った。この位相を用いて立体的束縛を加えた、プログラム(NUCLS)[15]で座標の精密化を行った結果、初期のR値は1Å分解能で0.31であった。スペルミジン、Mg²⁺、およびNa⁺の位置はPROTEINパッケージ[16]のフーリエ合成、およびプログラム(FRDO)[17、18]による2|F_o| - |F_c|図の観察を繰り返すことによって見つけることが出来た。120回の精密化の結果、117個の水分子を見つけることができ現在のR値は6301反射に対して0.191である。精密化の過程は表1.3に各パラメーターの平均r.m.s.は表1.4に

示した。 全座標の平均 r.m.s. は 0.016 で R-値の Luzzati プロットによる平均 r.m.s. は 0.10 であった (図 4 2) [19]。これらの計算はすべて大阪薬科大学情報処理室の DEC 社製 MicroVAX II および、大阪大学蛋白質研究所附属蛋白工学基礎研究センターの日本電気製 ACOS-930 SYSTEM で行った。

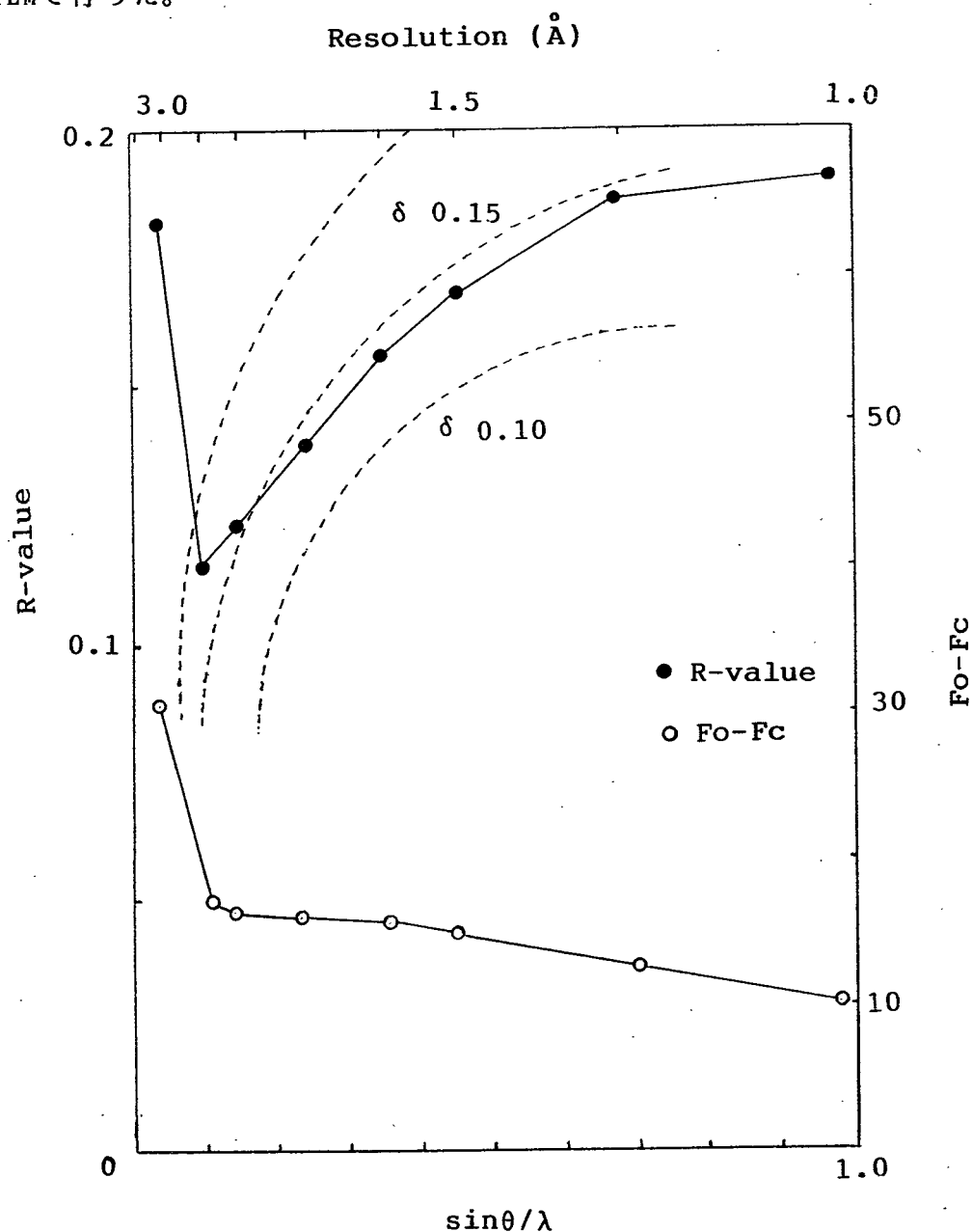


図 4 2 スペルミジン・d(CG)₃ データの Luzzati プロット

Table 11. The condition of crystallization

SPM form	
deoxy(CG) ₃ ammonium salt	2mM
SPM trihydrochloride	10mM
MgCl ₂	15mM
Sodium cacodylate	30mM
PH	7.0
Method	vapor diffusion

Table 12. Crystal data of deoxy(CG)₃·spermidine complex

Polyamine	spermidine
Crystal system	orthorhombic
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Cell constants	
a (Å)	17.930
b (Å)	31.230
c (Å)	44.640
Z	4
Final R-value	0.191

Table 13. Statistics of stereochemical-restraint least-squares refinement

Stage	1	2	3	4	5
No. of cycles	11	35	30	30	14
<Fo-Fc>	19.57	14.77	13.64	13.46	14.65
r.m.s. CR	0.029	0.039	0.042	0.021	0.016
r.m.s. MR	0.000	0.180	0.031	0.057	0.026
r.m.s. BS	0.82	0.77	0.68	0.31	0.24
Resolution(Å)	8.0-1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Fo/ σ (Fo)	3.0	3.0	3.0	4.0	4.0
No. of reflections	7901	7901	7901	6301	6301
No. of parameters	960	1372	1384	1480	1484
No. of atoms	240	240	240	240	240
No. of polyamine atoms	0	0	0	10	10
No. of water molecules	0	103	103	117	117
No. of Mg ²⁺	0	0	3	3	3
No. of Na ⁺	0	0	0	0	1
R initial	0.317	0.274	0.222	0.207	0.193
R final	0.300	0.222	0.207	0.193	0.191

CR: Shift of computational refinement

MR: Shift of manual revision

BS: Shift of thermal parameter

Table 14. Weighting parameters at the final stage spermidine

Restrains	σ (Å)	r.m.s. (Å)	No.
Distances(total)			887
1-2 neighbor(Å)	0.030	0.062	117
1-3 neighbor(Å)	0.050	0.075	352
Planar 1-4 neighbor(Å)	0.020	0.052	160
Planar groups(Å)	0.040	0.086	216
Chiral volumes(Å ³)	0.070	0.066	42
Non-bonded contacts(total)			1042
Single torsion(Å)	0.500	0.144	20
Multiple torsion(Å)	0.500	0.465	135

第2節 PA(24)と二本鎖d(CG)₃複合体結晶のX線結晶構造解析

合成DNAである d(CG)₃ と、合成ポリアミンである PA(24) の複合体結晶をスペルミジン複合体の場合と同様の結晶化条件下で得ることが出来た。結晶化の条件は表15に、結晶学的データは表16に示した通りである。データ測定は室温-10°Cで結晶はガラスキャピラリーに母液と一緒に封入し回折計に固定した。Nicolet P3自動4軸回折計で測定し、線源にはCu・K α を用いた。強度データ測定は4°毎分のスピードで ω -スキャン法を用いた。1 Å分解能の回折データを集め、結晶構造はスペルミジン複合体の場合と同様の分子置換法で求めることが出来た。すなわちスペルミン-d(CG)₃複合体結晶と同型であったため位相の決定には先のd(CG)₃の座標をもちい分子置換法により行った[14]。この位相を用いた結果、初期のR-値は1 Å分解能で0.39であった。Mg²⁺およびNa⁺の位置はPROTEINパッケージ[16]のフーリエ合成およびプログラム(FRORO)[17、18]による2|F_o|-|F_c|図より見つけることが出来た。98回精密化を繰り返した結果、97個の水分子を見つけることができ現在のR-値は8921反射に対して0.161である。精密化の過程は表17に各パラメーターの平均r.m.s.は表18にしめした。全座標の平均r.m.s.は0.014でR-値のLuzzatiプロットによる平均r.m.s.は0.15であった(図43)[19]。

Table 15. The condition of crystallization

PA(24) form	
deoxy(CG) ₃ ammonium salt	2mM
PA(24) trihydrochloride	10mM
MgCl ₂	15mM
Sodium cacodylate	30mM
PH	7.0
Method	vapor diffusion

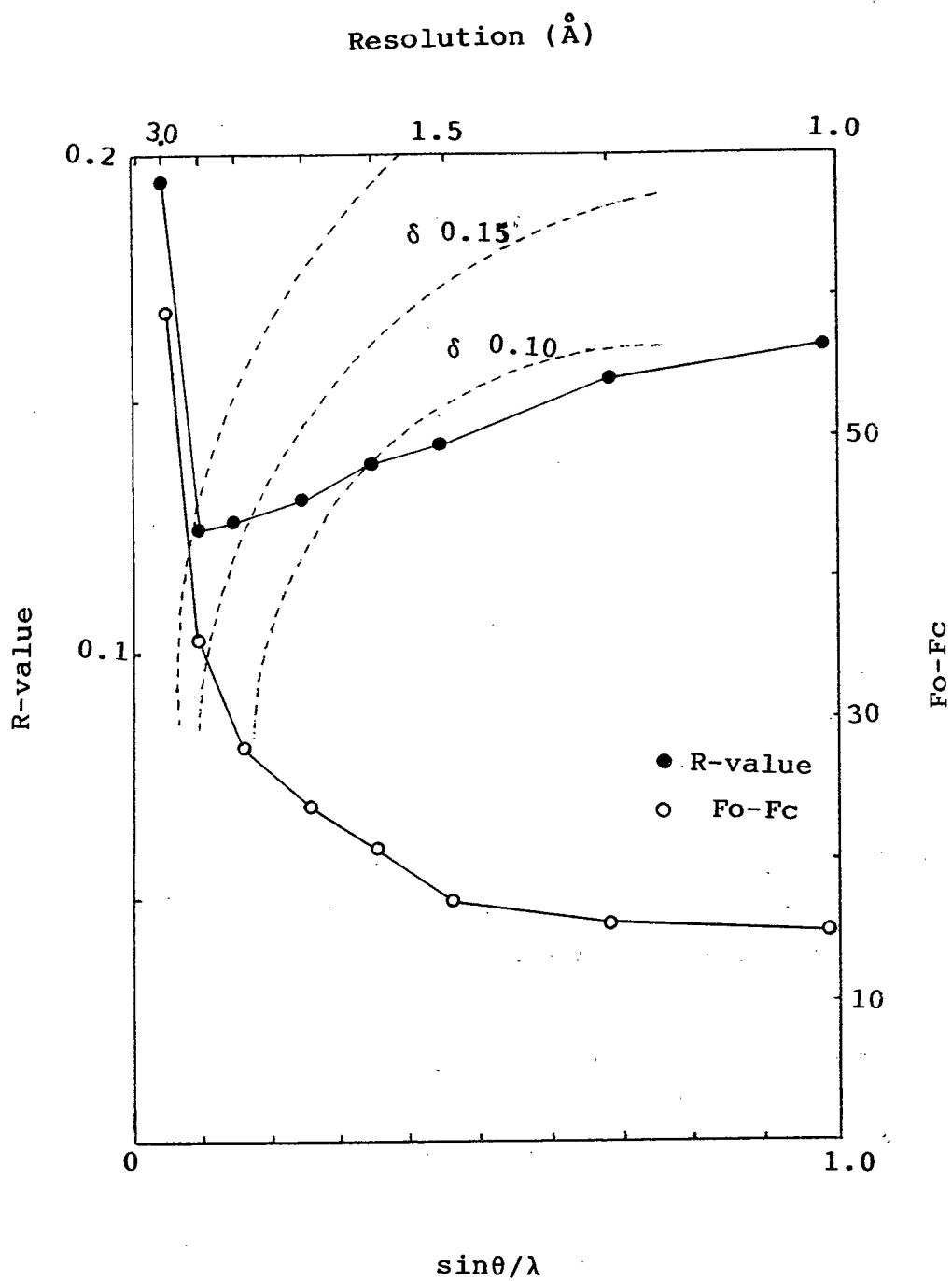


図 43 スペルミジン・d(CG)₃データのLuzzatiプロット

Table 16. Crystal data of deoxy(CG)₃·PA(24) complex

Polyamine	PA(24)
Crystal system	orthorhombic
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Cell constants	
a (Å)	17.940
b (Å)	31.230
c (Å)	44.550
Z	4
Final R-value	0.161

Table 18. Weighting parameters at the final stage PA(24)

Restraints	σ (Å)	r.m.s. (Å)	No.
Distances(total)			959
1-2 neighbor(Å)	0.030	0.056	135
1-3 neighbor(Å)	0.050	0.053	351
Planar 1-4 neighbor(Å)	0.020	0.030	160
Planar groups(Å)	0.040	0.072	216
Chiral volumes(Å ³)	0.070	0.234	97
Non-bonded contacts(total)			1041
Single torsion(Å)	0.500	0.132	16
Multiple torsion(Å)	0.500	0.222	66

Table 17. Statistics of stereochemical-restraint least-squares refinement

Stage	1	2	3	4	5
No. of cycles	10	25	30	20	13
<Fo-Fc>	20.68	16.74	12.98	12.55	10.46
r.m.s. CR	0.041	0.060	0.051	0.033	0.011
r.m.s. MR	0.000	0.230	0.121	0.087	0.048
r.m.s. BS	0.86	0.76	0.88	0.41	0.30
Resolution(Å)	8.0-1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Fo/ σ (Fo)	3.0	3.0	3.0	4.0	4.0
No. of reflections	9389	9389	9389	8921	8921
No. of parameters	960	1324	1336	1396	1400
No. of atoms	240	240	240	240	240
No. of polyamine atoms	0	0	0	9	9
No. of water molecules	0	91	91	97	97
No. of Mg ²⁺	0	0	3	3	3
No. of Na ⁺	0	0	0	0	1
R initial	0.392	0.294	0.231	0.198	0.176
R final	0.338	0.242	0.201	0.176	0.161

CR: Shift of computational refinement

MR: Shift of manual revision

BS: Shift of thermal parameter

第3節 各複合体結晶における $d(CG)_3$ の原子間結合距離、 原子間結合角の比較

最初の左巻き二本鎖DNA構造を持つ $d(CG)_3$ のX線結晶構造解析結果は1979年にRichらによって報告されている[14]。さらに、Gessnerらによって1989年に $Mg \cdot d(CG)_3$ とスベルミン $\cdot d(CG)_3$ の左巻き $d(CG)_3$ のX線結晶構造解析の結果の比較が行われている[10]。今回著者はそれに加え、スベルミジン $\cdot d(CG)_3$ [8]と $PA(24) \cdot d(CG)_3$ [9]の構造比較を行った。 $Mg \cdot d(CG)_3$ のものをMg、スベルミン $\cdot d(CG)_3$ をSP、 $PA(24) \cdot d(CG)_3$ をPA(24)、スベルミジン $\cdot d(CG)_3$ のものをSPMと略すことにする。Gessnerらが述べているように、スベルミンが結合することによって $d(CG)_3$ 分子の原子間結合距離、結合角には大きな変化は見られていない。今回著者らが解析を行った $PA(24)-d(CG)_3$ 及び、スベルミジン $-d(CG)_3$ 複合体分子での $d(CG)_3$ の原子間結合距離、結合角にはGessnerらのものと有意な差は見られなかった。表19に各複合体での $d(CG)_3$ のシチジン側の塩基の原子間結合距離を、表20にはグアニン側の塩基の原子間結合距離を、表21には各複合体での $d(CG)_3$ のシチジン側の糖鎖の原子間結合距離を、表22には $d(CG)_3$ のグアニン側の糖鎖の原子間結合距離を、表23には各複合体での $d(CG)_3$ のシチジン側のリン酸基の原子間結合距離を、表24には $d(CG)_3$ のグアニン側のリン酸基の原子間結合距離を示した。また、表25には各複合体での $d(CG)_3$ のシチジン側塩基の原子間結合角を、表26には、グアニン側塩基の原子間結合角を、表27には各複合体における $d(CG)_3$ のシチジン側の糖鎖の原子間結合角を、表28には $d(CG)_3$ のグアニン側の糖鎖の原子間結合角を示す。また、表29には各複合体での $d(CG)_3$ のシチジン側リン酸基の原子間結合距離を、表30には $d(CG)_3$ のグアニン側リン酸基の原子間結合角を示した。

Table 19. Bond lengths of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Bond	Form	C1	C3	C5	C7	C9	C11
C1'-N1	Mg	1.55	1.52	1.52	1.48	1.47	1.54
	SP	1.50	1.45	1.46	1.51	1.48	1.53
	PA(24)	1.52	1.48	1.55	1.48	1.45	1.51
	SPM	1.54	1.45	1.60	1.43	1.53	1.54
N1- C2	Mg	1.39	1.38	1.40	1.37	1.38	1.39
	SP	1.34	1.49	1.41	1.38	1.47	1.42
	PA(24)	1.39	1.40	1.37	1.34	1.36	1.39
	SPM	1.46	1.35	1.32	1.38	1.28	1.46
C2-O2	Mg	1.22	1.23	1.24	1.25	1.25	1.23
	SP	1.22	1.22	1.25	1.27	1.20	1.26
	PA(24)	1.21	1.24	1.23	1.26	1.26	1.21
	SPM	1.17	1.25	1.22	1.30	1.25	1.18
C2-N3	Mg	1.35	1.39	1.34	1.38	1.35	1.37
	SP	1.40	1.36	1.32	1.35	1.36	1.35
	PA(24)	1.35	1.37	1.39	1.37	1.37	1.36
	SPM	1.33	1.35	1.43	1.34	1.44	1.35
N3-C4	Mg	1.33	1.35	1.37	1.37	1.35	1.37
	SP	1.27	1.37	1.35	1.35	1.39	1.32
	PA(24)	1.35	1.36	1.34	1.40	1.37	1.37
	SPM	1.30	1.43	1.39	1.43	1.37	1.33
C4-N4	Mg	1.35	1.37	1.37	1.35	1.37	1.37
	SP	1.33	1.29	1.38	1.33	1.27	1.32
	PA(24)	1.35	1.36	1.38	1.35	1.37	1.36
	SPM	1.39	1.32	1.41	1.32	1.40	1.38
C4-C5	Mg	1.45	1.39	1.42	1.43	1.42	1.40
	SP	1.54	1.51	1.45	1.50	1.48	1.46
	PA(24)	1.45	1.42	1.41	1.41	1.42	1.43
	SPM	1.49	1.40	1.35	1.42	1.41	1.48
C5-C6	Mg	1.35	1.32	1.33	1.33	1.35	1.33
	SP	1.29	1.31	1.28	1.36	1.34	1.38
	PA(24)	1.33	1.33	1.33	1.37	1.36	1.35
	SPM	1.32	1.29	1.41	1.33	1.39	1.32
C6-N1	Mg	1.40	1.37	1.37	1.38	1.36	1.38
	SP	1.40	1.38	1.44	1.35	1.39	1.34
	PA(24)	1.38	1.38	1.39	1.40	1.35	1.35
	SPM	1.36	1.42	1.39	1.44	1.40	1.36

Table 20. Bond lengths of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Bond	Form	G2	G4	G6	G8	G10	G12
C4'-N9	Mg	1.40	1.42	1.43	1.43	1.37	1.44
	SP	1.44	1.47	1.42	1.47	1.42	1.48
	PA(24)	1.47	1.39	1.40	1.41	1.43	1.44
	SPM	1.46	1.42	1.49	1.42	1.50	1.44
N9-C8	Mg	1.36	1.33	1.36	1.36	1.35	1.32
	SP	1.40	1.34	1.42	1.33	1.39	1.42
	PA(24)	1.37	1.35	1.36	1.34	1.32	1.38
	SPM	1.32	1.42	1.36	1.41	1.34	1.32
N9-C4	Mg	1.41	1.42	1.37	1.39	1.40	1.43
	SP	1.39	1.39	1.33	1.37	1.41	1.41
	PA(24)	1.43	1.42	1.40	1.41	1.40	1.40
	SPM	1.50	1.38	1.38	1.38	1.38	1.50
C8-N7	Mg	1.33	1.35	1.30	1.33	1.35	1.34
	SP	1.32	1.27	1.34	1.35	1.34	1.27
	PA(24)	1.31	1.36	1.34	1.33	1.36	1.32
	SPM	1.32	1.29	1.38	1.29	1.37	1.29
N7-C5	Mg	1.37	1.41	1.38	1.37	1.36	1.40
	SP	1.35	1.38	1.39	1.39	1.38	1.47
	PA(24)	1.37	1.37	1.40	1.37	1.36	1.38
	SPM	1.38	1.42	1.39	1.42	1.33	1.42
C5-C4	Mg	1.38	1.34	1.35	1.36	1.39	1.36
	SP	1.39	1.34	1.42	1.38	1.30	1.33
	PA(24)	1.37	1.35	1.37	1.36	1.37	1.39
	SPM	1.32	1.36	1.39	1.35	1.43	1.38
C5-C6	Mg	1.44	1.42	1.43	1.42	1.42	1.42
	SP	1.45	1.44	1.40	1.45	1.49	1.34
	PA(24)	1.46	1.39	1.41	1.43	1.43	1.43
	SPM	1.49	1.35	1.43	1.40	1.43	1.50
C4-N3	Mg	1.36	1.34	1.34	1.38	1.39	1.35
	SP	1.33	1.34	1.38	1.33	1.37	1.32
	PA(24)	1.32	1.39	1.32	1.35	1.35	1.34
	SPM	1.32	1.42	1.28	1.38	1.28	1.30

Table 20. Continued

N3-C2	Mg	1.33	1.34	1.33	1.35	1.33	1.37
	SP	1.33	1.33	1.32	1.31	1.28	1.36
	PA(24)	1.35	1.29	1.35	1.32	1.33	1.38
	SPM	1.41	1.26	1.37	1.28	1.34	1.42
C2-N1	Mg	1.37	1.33	1.33	1.36	1.35	1.38
	SP	1.39	1.36	1.38	1.36	1.43	1.38
	PA(24)	1.33	1.36	1.33	1.37	1.38	1.36
	SPM	1.31	1.41	1.38	1.36	1.44	1.32
C2-N2	Mg	1.27	1.31	1.31	1.29	1.31	1.29
	SP	1.38	1.35	1.32	1.35	1.34	1.34
	PA(24)	1.30	1.32	1.29	1.30	1.28	1.27
	SPM	1.31	1.34	1.24	1.32	1.24	1.25
N1-C6	Mg	1.33	1.38	1.36	1.36	1.33	1.35
	SP	1.41	1.41	1.42	1.40	1.44	1.40
	PA(24)	1.34	1.36	1.36	1.36	1.35	1.35
	SPM	1.35	1.47	1.33	1.38	1.30	1.33
C6-O6	Mg	1.26	1.25	1.27	1.27	1.27	1.27
	SP	1.22	1.22	1.21	1.23	1.18	1.26
	PA(24)	1.25	1.27	1.25	1.24	1.26	1.26
	SPM	1.26	1.27	1.30	1.23	1.26	1.20

Table 21. Bond lengths of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Bond	Form	C1	C3	C5	C7	C9	C11
O5'-C5'	Mg	1.45	1.44	1.48	1.45	1.47	1.38
	SP	1.47	1.44	1.49	1.44	1.43	1.53
	PA(24)	1.46	1.45	1.42	1.48	1.46	1.38
	SPM	1.42	1.42	1.47	1.46	1.47	1.41
C5'-C4'	Mg	1.53	1.56	1.52	1.55	1.57	1.49
	SP	1.46	1.58	1.54	1.54	1.58	1.51
	PA(24)	1.51	1.54	1.58	1.52	1.58	1.48
	SPM	1.58	1.63	1.45	1.63	1.52	1.52
C4'-C3'	Mg	1.50	1.55	1.52	1.53	1.49	1.53
	SP	1.56	1.56	1.53	1.56	1.61	1.59
	PA(24)	1.55	1.53	1.53	1.58	1.54	1.57
	SPM	1.56	1.53	1.50	1.56	1.48	1.58
C4'-O4'	Mg	1.45	1.48	1.45	1.43	1.44	1.46
	SP	1.45	1.45	1.43	1.45	1.42	1.45
	PA(24)	1.45	1.44	1.43	1.43	1.38	1.43
	SPM	1.47	1.39	1.52	1.34	1.47	1.51
O4'-C1'	Mg	1.39	1.41	1.45	1.46	1.45	1.41
	SP	1.42	1.37	1.40	1.41	1.43	1.40
	PA(24)	1.42	1.42	1.42	1.43	1.44	1.42
	SPM	1.48	1.44	1.37	1.48	1.42	1.46
C1'-C2'	Mg	1.53	1.53	1.58	1.49	1.56	1.50
	SP	1.54	1.68	1.60	1.60	1.59	1.57
	PA(24)	1.56	1.58	1.60	1.58	1.60	1.51
	SPM	1.51	1.50	1.59	1.56	1.53	1.57
C2'-C3'	Mg	1.57	1.51	1.55	1.53	1.51	1.61
	SP	1.49	1.58	1.53	1.53	1.58	1.52
	PA(24)	1.57	1.56	1.49	1.50	1.54	1.56
	SPM	1.56	1.50	1.56	1.48	1.53	1.64
C3'-O3'	Mg	1.46	1.45	1.46	1.45	1.43	1.37
	SP	1.48	1.48	1.44	1.44	1.42	1.48
	PA(24)	1.44	1.44	1.42	1.44	1.44	1.42
	SPM	1.41	1.49	1.47	1.51	1.48	1.39

Table 22. Bond lengths of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Bond	Form	G2	G4	G6	G8	G10	G12
O5'-C5'	Mg	1.39	1.43	1.39	1.47	1.45	1.47
	SP	1.41	1.43	1.43	1.39	1.45	1.42
	PA(24)	1.46	1.40	1.36	1.41	1.38	1.35
	SPM	1.40	1.31	1.32	1.37	1.39	1.29
C5'-C4'	Mg	1.56	1.52	1.57	1.48	1.53	1.53
	SP	1.57	1.57	1.52	1.51	1.56	1.54
	PA(24)	1.52	1.52	1.52	1.51	1.46	1.53
	SPM	1.55	1.51	1.44	1.51	1.45	1.57
C4'-C3'	Mg	1.56	1.52	1.55	1.57	1.49	1.50
	SP	1.55	1.54	1.53	1.55	1.57	1.64
	PA(24)	1.56	1.51	1.52	1.55	1.52	1.58
	SPM	1.51	1.44	1.49	1.53	1.49	1.53
C4'-O4'	Mg	1.35	1.40	1.42	1.47	1.46	1.38
	SP	1.43	1.45	1.46	1.44	1.49	1.41
	PA(24)	1.40	1.40	1.45	1.42	1.42	1.39
	SPM	1.36	1.46	1.51	1.51	1.53	1.38
O4'-C1'	Mg	1.49	1.46	1.46	1.44	1.38	1.42
	SP	1.47	1.50	1.47	1.46	1.42	1.47
	PA(24)	1.46	1.46	1.42	1.42	1.40	1.47
	SPM	1.43	1.46	1.39	1.32	1.41	1.48
C1'-C2'	Mg	1.56	1.50	1.57	1.58	1.65	1.59
	SP	1.53	1.53	1.58	1.52	1.57	1.49
	PA(24)	1.53	1.52	1.57	1.58	1.58	1.57
	SPM	1.51	1.48	1.62	1.66	1.57	1.54
C2'-C3'	Mg	1.51	1.46	1.52	1.42	1.51	1.52
	SP	1.50	1.55	1.48	1.58	1.48	1.48
	PA(24)	1.48	1.55	1.49	1.50	1.50	1.52
	SPM	1.53	1.55	1.57	1.52	1.53	1.52
C3'-O3'	Mg	1.43	1.46	1.43	1.47	1.48	1.45
	SP	1.44	1.43	1.48	1.39	1.41	1.44
	PA(24)	1.45	1.47	1.45	1.42	1.47	1.45
	SPM	1.39	1.51	1.47	1.46	1.55	1.54

Table 23. Bond lengths of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Bond	Form	C1	C3	C5	C7	C9	C11
P-O3'	GpC Phosphate Groups						
	Mg		1.59	1.61		1.54	1.64
	SP		1.65	1.57		1.58	1.62
	PA(24)		1.59	1.59		1.67	1.63
	SPM		1.61	1.56		1.65	1.63
P-O1P	Mg		1.52	1.52		1.55	1.54
	SP		1.45	1.47		1.49	1.46
	PA(24)		1.49	1.49		1.52	1.50
	SPM		1.53	1.50		1.38	1.42
P-O2P	Mg		1.49	1.49		1.45	1.44
	SP		1.49	1.51		1.48	1.50
	PA(24)		1.46	1.49		1.41	1.48
	SPM		1.47	1.48		1.45	1.50
P-O5'	Mg		1.59	1.63		1.56	1.65
	SP		1.58	1.62		1.54	1.57
	PA(24)		1.59	1.63		1.68	1.65
	SPM		1.61	1.63		1.61	1.59

Table 24. Bond lengths of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Bond	Form	G2	G4	G6	G8	G10	G12
P-O3'	Mg	1.63	1.62	1.67	1.61	1.58	1.61
	SP	1.61	1.58	1.61	1.60	1.62	1.59
	PA(24)	1.58	1.62	1.61	1.62	1.59	1.63
	SPM	1.63	1.62	1.71	1.58	1.68	1.60
P-O1P	Mg	1.46	1.45	1.46	1.47	1.49	1.50
	SP	1.50	1.38	1.42	1.47	1.45	1.52
	PA(24)	1.48	1.44	1.49	1.50	1.50	1.53
	SPM	1.46	1.38	1.43	1.59	1.50	1.45
P-O2P	Mg	1.46	1.44	1.32	1.43	1.39	1.33
	SP	1.48	1.61	1.50	1.48	1.48	1.49
	PA(24)	1.45	1.43	1.36	1.41	1.42	1.38
	SPM	1.46	1.47	1.37	1.41	1.32	1.36
P-O5'	Mg	1.57	1.64	1.69	1.59	1.62	1.64
	SP	1.55	1.59	1.60	1.61	1.63	1.62
	PA(24)	1.56	1.65	1.65	1.59	1.61	1.63
	SPM	1.59	1.66	1.61	1.53	1.58	1.66

Table 25. Bond angles of both the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Angle	Form	C1	C3	C5	C7	C9	C11
C1'-N1-C2	Mg	118	115	116	113	118	114
	SP	119	115	121	118	117	117
	PA(24)	117	118	116	119	118	116
	SPM	118	122	113	117	116	113
C1'-N1-C6	Mg	120	123	123	124	123	123
	SP	120	127	120	120	122	123
	PA(24)	123	123	123	120	122	122
	SPM	123	121	119	126	116	125
C6-N1-C2	Mg	122	122	122	123	119	123
	SP	121	118	119	122	120	120
	PA(24)	120	120	122	121	120	122
	SPM	119	117	128	117	128	122
N1-C6-C5	Mg	121	121	120	121	124	121
	SP	123	124	119	124	121	122
	PA(24)	123	122	122	121	126	121
	SPM	128	119	117	123	117	124
C6-C5-C4	Mg	117	119	120	119	116	117
	SP	114	120	121	113	122	115
	PA(24)	117	120	116	119	113	119
	SPM	112	127	117	121	116	116
C5-C4-N3	Mg	119	120	119	119	122	122
	SP	121	116	121	121	114	121
	PA(24)	119	117	123	119	122	118
	SPM	118	113	125	116	125	118
C5-C4-N4	Mg	119	124	122	124	122	120
	SP	116	123	121	117	123	121
	PA(24)	121	125	119	125	121	126
	SPM	118	128	122	128	124	116
N3-C4-N4	Mg	122	116	119	117	116	118
	SP	122	121	119	123	122	118
	PA(24)	120	119	119	116	117	116
	SPM	124	118	113	116	111	126

Table 25. Continued

C4-N3-C2	Mg	126	122	122	122	120	121
	SP	121	125	120	122	127	123
	PA(24)	124	124	121	121	120	124
	SPM	131	120	119	123	116	128
N1-C2-N3	Mg	115	116	118	116	119	116
	SP	119	117	121	117	116	118
	PA(24)	117	118	117	120	119	116
	SPM	112	123	115	121	118	112
N1-C2-O2	Mg	120	123	123	123	120	122
	SP	122	119	118	122	117	116
	PA(24)	120	121	124	120	119	121
	SPM	117	120	130	121	127	122
N3-C2-O2	Mg	125	121	120	120	120	122
	SP	119	124	121	121	127	126
	PA(24)	123	121	120	120	119	122
	SPM	131	116	115	119	115	126

Table 26. Bond angles of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Angle	Form	G2	G4	G6	G8	G10	G12
C1'-N9-C4	Mg	127	131	130	131	130	130
	SP	132	129	133	126	132	133
	PA(24)	124	129	129	129	129	129
	SPM	125	134	126	128	131	127
C1'-N9-C8	Mg	125	123	122	124	125	123
	SP	124	122	119	125	126	123
	PA(24)	127	125	124	127	127	123
	SPM	133	122	121	129	118	129
C8-N9-C4	Mg	107	106	107	105	105	106
	SP	104	108	108	109	101	104
	PA(24)	109	106	107	104	104	108
	SPM	100	104	113	103	111	105
N9-C8-N7	Mg	112	114	112	114	115	115
	SP	114	112	108	113	114	113
	PA(24)	110	112	113	116	117	112
	SPM	120	111	107	114	109	121

Table 26. Continued

N9-C4-C5	Mg	103	106	105	107	104	105
	SP	106	102	108	103	109	108
	PA(24)	102	106	105	106	106	103
	SPM	105	110	102	110	102	99
N9-C4-N3	Mg	128	126	129	125	129	125
	SP	125	128	128	130	121	122
	PA(24)	128	126	128	126	125	128
	SPM	121	126	133	126	128	125
C5-C4-N3	Mg	128	128	126	128	127	130
	SP	129	129	124	127	129	130
	PA(24)	130	128	128	126	129	129
	SPM	134	124	124	125	130	136
C4-N3-C2	Mg	113	111	114	112	111	110
	SP	113	122	115	114	111	112
	PA(24)	110	110	114	113	110	112
	SPM	107	112	119	110	115	110
N3-C2-N1	Mg	123	126	125	124	127	125
	SP	123	123	123	123	126	121
	PA(24)	126	127	122	125	127	124
	SPM	127	130	119	132	124	121
N3-C2-N2	Mg	116	117	117	115	116	119
	SP	123	120	120	119	120	120
	PA(24)	117	116	117	117	116	117
	SPM	114	118	118	115	124	115
N1-C2-N2	Mg	120	117	118	121	117	116
	SP	114	117	116	118	114	119
	PA(24)	116	118	121	117	118	118
	SPM	119	112	122	112	116	124
C2-N1-C6	Mg	124	122	122	123	123	122
	SP	125	126	124	127	124	123
	PA(24)	123	122	126	121	122	122
	SPM	124	115	123	117	123	129

Table 26. Continued

C5-C6-N1	Mg	116	113	115	116	116	116
	SP	111	109	112	109	106	113
	PA(24)	115	115	113	116	115	117
	SPM	112	116	117	115	119	113
C5-C6-O6	Mg	124	127	127	123	124	124
	SP	129	129	130	129	132	130
	PA(24)	123	127	128	125	125	124
	SPM	123	134	124	127	120	121
N1-C6-O6	Mg	119	120	118	120	119	120
	SP	120	122	118	122	122	117
	PA(24)	123	117	119	119	121	119
	SPM	124	110	120	117	122	126
C8-N7-C5	Mg	105	103	105	104	102	103
	SP	104	105	108	102	102	105
	PA(24)	107	105	103	103	101	104
	SPM	100	108	106	105	106	99
N7-C5-C4	Mg	112	111	111	111	114	112
	SP	112	112	107	113	112	109
	PA(24)	113	111	112	112	113	113
	SPM	115	107	112	108	112	117
N7-C5-C6	Mg	132	130	131	132	129	131
	SP	129	128	132	127	124	130
	PA(24)	132	131	130	131	130	131
	SPM	129	132	131	131	136	132
C4-C5-C6	Mg	115	119	118	117	117	118
	SP	119	120	121	120	123	120
	PA(24)	115	118	118	117	117	116
	SPM	115	122	117	121	112	111

Table 27. Bond angles of both the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Angle	Form	C1	C3	C5	C7	C9	C11
O5'-C5'-C4'	Mg	111	106	107	104	106	113
	SP	112	109	105	113	111	111
	PA(24)	111	109	108	107	107	116
	SPM	108	104	110	108	105	115
C5'-C4'-O4'	Mg	112	108	110	114	108	109
	SP	108	106	110	107	108	106
	PA(24)	110	109	106	110	107	107
	SPM	106	108	106	108	110	103
C5'-C4'-C3'	Mg	114	114	114	118	117	114
	SP	118	115	115	114	110	115
	PA(24)	116	117	115	116	114	116
	SPM	119	110	116	112	114	115
O4'-C4'-C3'	Mg	101	106	105	103	106	106
	SP	105	107	107	106	109	104
	PA(24)	106	105	105	104	108	104
	SPM	106	110	102	108	108	106
C4'-O4'-C1'	Mg	113	109	110	112	109	112
	SP	108	112	109	109	109	109
	PA(24)	111	110	109	111	111	112
	SPM	105	109	108	108	108	106
O4'-C1'-C2'	Mg	105	106	104	104	104	106
	SP	109	106	108	108	107	108
	PA(24)	106	106	105	106	105	106
	SPM	108	105	109	105	104	111
C1'-C2'-C3'	Mg	96	103	98	100	98	101
	SP	99	97	97	97	100	98
	PA(24)	98	97	97	99	99	100
	SPM	96	105	93	98	102	95
C4'-C3'-C2'	Mg	107	104	107	106	107	103
	SP	107	105	106	106	101	106
	PA(24)	103	106	108	107	105	104
	SPM	104	102	111	106	104	107

Table 27. Continued

C4'-C3'-O3'	Mg	108	105	106	109	109	108
	SP	106	106	111	109	105	106
	PA(24)	104	109	107	106	105	106
	SPM	109	103	110	103	104	105
C2'-C3'-O3'	Mg	107	101	108	107	109	108
	SP	108	101	109	107	107	110
	PA(24)	112	105	111	107	109	109
	SPM	113	97	103	109	103	110
C2'-C1'-N1	Mg	110	112	109	113	113	111
	SP	115	108	111	110	111	108
	PA(24)	111	109	110	110	110	110
	SPM	109	112	107	110	108	102
O4'-C1'-N1	Mg	105	103	104	106	106	105
	SP	105	107	106	106	106	103
	PA(24)	105	109	106	110	110	105
	SPM	101	109	101	106	109	102

Table 28. Bond angles of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Angle	Form	G2	G4	G6	G8	G10	G12
O5'-C5'-C4'	Mg	105	102	99	108	110	104
	SP	105	105	106	106	104	104
	PA(24)	106	104	108	110	110	107
	SPM	105	114	111	113	115	103
C5'-C4'-O4'	Mg	105	110	110	107	107	112
	SP	105	108	106	109	105	110
	PA(24)	108	109	108	109	111	111
	SPM	107	109	103	103	108	118
C5'-C4'-C3'	Mg	110	112	111	117	113	110
	SP	110	111	112	110	109	113
	PA(24)	112	113	117	118	113	112
	SPM	107	115	115	116	115	108
O4'-C4'-C3'	Mg	104	104	106	101	107	107
	SP	101	105	103	102	105	104
	PA(24)	105	104	104	104	107	110
	SPM	106	107	107	100	109	110
C4'-O4'-C1'	Mg	111	112	113	111	114	113
	SP	112	111	113	111	108	109
	PA(24)	111	112	112	113	112	108
	SPM	106	106	107	113	107	108
O4'-C1'-C2'	Mg	107	106	103	108	104	103
	SP	105	105	102	109	111	106
	PA(24)	106	108	106	109	108	104
	SPM	115	108	112	113	109	104
C1'-C2'-C3'	Mg	101	105	103	103	104	99
	SP	104	107	102	102	103	101
	PA(24)	105	100	100	101	103	99
	SPM	96	104	95	94	105	101
C4'-C3'-C2'	Mg	106	107	103	111	106	104
	SP	105	103	109	105	106	101
	PA(24)	104	107	107	110	107	99
	SPM	107	103	110	114	104	100

Table 28. Continued

C4'-C3'-O3'	Mg	107	105	112	103	105	110
	SP	105	105	107	107	106	109
	PA(24)	106	106	109	108	105	111
	SPM	111	102	112	105	103	109
C2'-C3'-O3'	Mg	115	116	110	109	117	106
	SP	110	113	108	107	110	113
	PA(24)	111	109	113	112	111	113
	SPM	110	106	101	101	108	107
C2'-C1'-N9	Mg	116	117	117	114	111	114
	SP	114	116	114	116	115	116
	PA(24)	117	118	115	112	111	114
	SPM	115	117	113	114	110	118
O4'-C1'-N9	Mg	107	106	109	106	110	109
	SP	107	105	107	107	106	105
	PA(24)	108	109	110	110	113	107
	SPM	110	102	108	112	108	107

Table 29. Bond angles of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Angle	Form	C1	C3	C5	C7	C9	C11
C3'-O3'--P	Mg		124	123		131	117
	SP		121	122		120	122
	PA(24)		120	124		123	117
	SPM		125	122		127	115
O3'-P-O1P	Mg		113	113		98	114
	SP		112	114		110	111
	PA(24)		112	113		116	111
	SPM		108	118		89	116
O3'-P-O2P	Mg		102	101		114	99
	SP		104	105		104	105
	PA(24)		103	105		90	105
	SPM		107	101		110	101
O3'-P-O5'	Mg		104	102		111	99
	SP		99	100		102	98
	PA(24)		101	104		96	103
	SPM		101	103		110	99
O1P-P-O2P	Mg		121	120		113	121
	SP		119	117		115	121
	PA(24)		123	116		143	119
	SPM		124	111		134	120
O1P-P-O5'	Mg		110	113		101	118
	SP		112	111		110	110
	PA(24)		114	112		105	117
	SPM		115	110		86	115
O2P-P-O5'	Mg		105	107		118	102
	SP		109	108		114	109
	PA(24)		102	106		97	100
	SPM		100	113		122	103
P-O5'-C5'	Mg		123	118		118	121
	SP		122	117		124	125
	PA(24)		123	115		117	118
	SPM		122	120		112	125

Table 30. Bond angles of the magnesium, the spermine(SP), the PA(24), and the spermidine(SPM) forms

Angle	Form	G2	G4	G6	G8	G10	G12
C3'-O3'-P	Mg	122	121	117	123	124	122
	SP	124	119	122	120	121	120
	PA(24)	124	120	119	125	126	120
	SPM	126	120	116	124	119	125
O3'-P-O1P	Mg	109	107	113	105	105	104
	SP	111	111	111	103	105	106
	PA(24)	110	110	111	104	105	102
	SPM	107	107	110	104	99	111
O3'-P-O2P	Mg	103	102	94	109	112	107
	SP	106	101	104	112	111	107
	PA(24)	105	104	100	108	108	109
	SPM	108	101	90	109	111	104
O3'-P-O5'	Mg	103	104	101	109	107	102
	SP	104	106	106	106	105	105
	PA(24)	106	105	104	106	107	105
	SPM	105	109	105	109	106	103
O1P-P-O2P	Mg	124	129	136	119	116	129
	SP	119	122	119	118	120	120
	PA(24)	120	125	124	119	120	125
	SPM	120	127	134	115	119	122
O1P-P-O5'	Mg	108	104	106	108	110	110
	SP	107	107	106	110	108	108
	PA(24)	105	102	110	112	110	108
	SPM	108	107	109	108	115	109
O2P-P-O5'	Mg	108	109	102	107	106	103
	SP	110	109	110	108	106	110
	PA(24)	110	109	106	106	106	107
	SPM	109	105	105	112	108	107
P-O5'-C5'	Mg	123	120	118	116	118	114
	SP	121	118	121	118	116	120
	PA(24)	117	115	121	117	118	119
	SPM	122	121	128	120	121	116

引用文献

- [1] Elizabeth R., Williams R.J.P.(1987) *Biochem.J.* 245, 641-647
- [2] Alexandre H., Geuskens M.(1984) *Arch.Biol.* 95, 55-70
- [3] Schellman J.A., Parathasarathy N.(1984) *J.Mol.Biol.* 175, 313-329
- [4] Morgan J.E., Blankenship S.W.(1986) *Arch.Biochem.Biophys.* 24, 225-232
- [5] Otto P., Bakhshi A.K., Ladik J.(1986) *Chem.Phys.*, 108, 223-231
- [6] Muvao M., Atreyi M., Shashi S.(1991) *FEBS lett.* 278, 63-65
- [7] Morton L.J., Feuerstein B.G.(1986) *Pharm.Res.*, 3, 311-317
- [8] Ohishi H., Kunisawa S., van der Marel G, van Boom J.H., Rich A, Wang A.H.-J., Tomita K. and Hakoshima T. (1991) *FEBS lett.*, 284, 238-244
- [9] Ohishi H., Inubushi K., van der Marel G., van Boom J.H., Rich A., Wang A.H.-J., Tomita K. and Hakoshima T. (1991) in preparation
- [10] Gessner R.V., Frederick C.A., Quigley G.J., Rich A., Wang A.H.-J.(1989) *J.Biol.Chem.*, 264, 7921-7935
- [11] Gessner R.V., Quigley G.J., Wang A.H.-J., van der Marel G.A. van Boom J.H. and Rich A. (1985) *Biochemistry*, 24, 237-240
- [12] Crawford J.L., Kolpak, F.J., Wang A.H.-J., Quigley G.J., van Boom J.H., van der Marel G. and Rich A. (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 77, 4016-4020
- [13] North A.C.T., Phillips D.C. and Matthews F.S. (1968) *Acta Crystallogr.*, A24, 351-359

- [14] Wang A.H.-J., Quigley G.J., Kolpak F.J., Crawford J.L.,
van Boom J.H., van der Marel G., Rich A. (1979) *Nature*, 282,
680-686
- [15] Hendrickson, W.A. and Konnert J.H. (1980) in *Biomolecular
structure, function, conformation and evolution* (Srinivasan,
R.ed.) vol. 1, pp. 43-57, pergamon, Oxford
- [16] Steigeman W. (1974) *Dissertation*, TU Munchen, F.R.G.
- [17] Buerger M.J. (1950) *J. Appl. Phys.*, 21, 909
- [18] Colman, P.M., Felhammer, H. and Bartels, K. (1975)
Crystallographic Computing Techniques (Ahmed F.R., Huml K.,
Sedlacek B.) pp.248-258, Munksgaard
- [19] Luzzati, P.V. (1952) *Acta Crystallogr.*, 5, 802-810
- [20] Lee B. and Richards F.M. (1970) *J. Mol. Biol.* 55, 379-400
- [21] Rosenberg J.M., Seeman N.C., Day R.O. and Rich A. (1976)
J. Mol. Biol., 104, 145-167
- [22] Ts'o P.O.P. (1974) *Bases nucleosides, and nucleotides. In:*
Basic Principles in Nucleic Acid Chemistry (Ts's P.O.P., Ed.),
Vol. I pp. 453-584, Academic Press, New York.
- [23] Ts'o P.O.P., Melvin S.I. and Olson A.C. (1963)
J. Amer. Chem. Soc. 85, 1289-1296
- [24] Eichhorn G.L. (1973) *Inorganic Biochemistry*, Elsevier,
Amsterdam
- [25] Sissoeff I., Grisvard J. and Guille E. (1976)
Prog. Biophys. Molec. Biol. 31, 165-199
- [26] Pezzano H. and Podo F. (1980) *Chem. Rev.* 80, 365-401
- [27] Mildvan A.S. and Loeb L.A. (1979) *CRC Crit. Rev. Biochem.*
6, 219-244

- [28] Lindahl T., Adams A. and Fresco J.R. (1966)
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 55, 941-948
- [29] Holbrook S.R., Sussman J.L., Warrant R.W., Church G.M. and
Kim S.H. (1977) Nucl. Acids Res. 4, 2811-2820
- [30] Marmur J. and Doty P. (1962) J. Mol. Biol. 5, 109-118
- [31] Kilpatrick J.E., Pitzer K.S. and Spitzer R., (1947)
J. Amer. Chem. Soc. 69, 2483-2488
- [32] Pitzer K.S. and Donath W.E., (1959) J. Amer. Chem. Soc. 81,
3213-3218
- [33] Hall L.D., Steiner P.R. and Pedersen C., (1970) Can. J. Chem.
48, 1155-1165
- [34] Altona C., Geise H.J. and Romers C., (1968) Tetrahedron 24,
13-32
- [35] Altona C. and Sundaralingam M., (1972) J. Amer. Chem. Soc.
94, 8205-8212
- [36] Donohue J. and Trueblood K.N., (1960) J. Mol. Biol. 2,
363-371
- [37] Haschemeyer A.E.V. and Rich A., (1967) J. Mol. Biol. 27,
369-384
- [38] Suck D. and Saenger W., (1972) J. Amer. Chem. Soc. 94,
6520-6526
- [39] Rao S.T. and Sundaralingam M., (1970) J. Amer. Chem. Soc.
92, 4963-4970
- [40] de Leeuw H.P.M., Haadnoot C.A.G. and Altona C., (1980)
Isr. J. Chem. 20, 108-126
- [41] Sundaralingam M., (1975) Jerus. Symp. Quant. Chem. Biochem.
5, 417-456

- [42] Sundaralingam M., (1969) Biopolymers 7, 821-860
- [43] Sundaralingam M., (1976) Ann. N. Y. Acad. Sci. 255, 3-42
- [44] Wilson H.R., (1973) Jerus. Symp. Quant. Chem. Biochem. 5, 261-270
- [45] Saenger W., (1973) Angew. Chem, Int. Ed. Engl. 12, 591-601
- [46] Davies D.B., (1978) Prog. NMR Spectrosc. 12, 135-225
- [47] Danyluk S.S., (1979) Nucleoside Analogues. Chemistry, Biology and Medical Application (Walker R.T., DeClercq E. and Eckstein F. Eds.), pp.15-34. Plenum Press, New York.
- [48] Dhingra M.M. and Sarma R.H. (1979) Stereodynamics of Molecular Systems (Sarma R.H., Ed.), pp.3-38. Pergamon, New York.
- [49] Davies D.B. and Danyluk S.S., (1974) Biochemistry 13, 4417-4434
- [50] Guschlbauser W. and Son Tran-Dinh, (1975) Nucleic Acids Res. Spec. Publ. No.1, S85-88
- [51] Evans F.E. and Sarma R.H., (1974) J. Biol. Chem. 249, 4754-4759
- [52] Alderfer J.L. and Ts'o P.O.P., (1977) Biochemistry 16, 2410-2416
- [53] Smith I.C.P., Mantsch H.H., Lapper R.D., Deslauriers R. and Schleich T. (1973) Jerus. Symp. Quant. Chem. Biochem. 5, 381-401
- [54] Cheng D.M., Dhingra M.M. and Sarma R.H., (1978) Nucleic Acids Res. 5, 4399-4416
- [55] Ezra F.S., Lee C.H., Kondo N.S., Danyluk S.S. and Sarma R.H. (1977) Biochemistry 16, 1977-1987

- [56] Cheng D.M. and Sarma R.H., (1977) J. Amer. Chem. Soc. 99,
7333-7348
- [57] Chachaty C., Zemb T., Langlet G., Son Tran-Dinh., Buc H. and
Morange M. (1976) Eur. J. Biochem. 62, 45-53

