

分子動力学法を用いた生体高分子のトリチウム誘起壊変 シミュレーションと精度評価のための実験系の構築

著者	NAKAMURA Hiroaki, FUJIWARA Susumu, HATANO Yuji
雑誌名	プラズマ・核融合学会誌
巻	97
号	10
ページ	561-567
発行年	2021-10
NAIS	13061
URL	http://hdl.handle.net/10655/00013193





解説

分子動力学法を用いた生体高分子のトリチウム誘起壊変シミュレーションと精度評価のための実験系の構築

Molecular Dynamics Simulation on Tritium-Induced Damage of Biopolymers and Experimental System for Validation

中村 浩章^{1,2)}, 藤原 進³⁾, 波多野 雄治⁴⁾

NAKAMURA Hiroaki^{1,2)}, FUJIWARA Susumu³⁾ and HATANNO Yuji⁴⁾

¹⁾自然科学研究機構核融合科学研究所, ²⁾名古屋大学, ³⁾京都工芸繊維大学, ⁴⁾富山大学

(原稿受付: 2021年6月21日)

トリチウムの生体への影響は、トリチウム由来の β 線の飛程が水中や細胞中で数ミクロン程度と短いため、外部被ばくが問題となることはなく、内部被ばくに対する防護が重要となってくる。国内外の研究者によりマウスなどを用いての研究など同分野の研究は広く行われてきている。一方、我々は現実の生体そのものの階層ではなく、原子分子レベルの階層に絞り、トリチウムが生体分子(DNA)へ与える影響を分子動力学シミュレーションで解き明かすと共に、それにより生体分子の損傷機構解明をめざしてきた。さらに、シミュレーションと相補的に、蛍光顕微鏡を用いたDNA一分子観察法によりトリチウム水中でのDNAの二本鎖切断メカニズムの測定も行っている。このような研究の試みは、複雑な生命体そのものに短絡的に結びつけるには、いまだ隔たりがあるが、生体分子そのもののトリチウム影響の必要な基礎情報の蓄積をめざすものである。このように核融合研究で培ってきたシミュレーション技法・測定技法を用いた「トリチウムの影響評価」の試みを紹介する。

Keywords:

DNA, double strand break, single molecule observation, tritium, molecular dynamics simulation, indirect action, disintegration effect, reactive force field, telomeric DNA

1. はじめに

核融合炉の燃料であるトリチウム(³H)は水素の放射性同位体であり、最大エネルギー18.6 keV、平均エネルギー5.7 keVの β 線を放出する。この β 線の体内での飛程は最大で約6 μ m、平均で0.56 μ m程度であり、細胞と比べても小さい[1]。したがって、外部被ばくが問題となることはなく、トリチウムを体内に取り込んだ際における内部被ばくに関してのみ管理が必要である。吸入摂取した場合および経口摂取した場合の実効線量係数が原子力規制委員会告示第六号別表第2に示されている[2]。 β 線のエネルギーが低いことから、¹³⁷Cs等の核種と比べると桁違いに小さな値となっている[1, 2]。一方で、核融合発電が社会から受け入れられるためには、トリチウムのリスクが適切に評価されるよう、科学的知見を蓄積する必要がある。

一般公衆にとって問題となるのは、低線量長期被ばくに伴う確率的影響である。確率的影響は、放射線のエネルギーにより細胞中のDNA上に突然変異が蓄積することで発症し、がんや白血病がこれに相当する[1, 3]。DNAは放射線以外の要因でも日常的に損傷を受けており、生物はその損傷を修復する機能を有している。したがって、線量が低い場合には、人工放射線を受けてもがんの発生率の有意な上昇は見られない。一方で、トリチウムによる低線量長

期被ばくの影響を理解するためには、トリチウムによって生じるDNA損傷と、その他の要因による損傷とは何が同じで、何が違うのかを明らかにする必要がある。

加えて、DNA中の水素と置換したトリチウムがヘリウムに壊変し化学結合が切断されることによるDNA損傷を懸念する声もある。環境中のトリチウムと水素の濃度比が極めて低く(HTOの排水基準の60 Bq/cm³においても[T]/[H]=5×10⁻¹³)、かつDNA中の水素と置換するのは体内に取り込まれたトリチウムのごく一部であること、DNA上の遺伝情報を持つ部位が2%程度であること[1]等を考慮すると、この影響は小さいはずであるが、実験的に壊変効果だけを抽出して評価することは困難である。

近年、コンピュータシミュレーション技術が大きく進展し、DNAのような大きな分子の運動や化学反応を計算できるようになってきた。このような計算技術の進展により、実験だけでは解明することが困難なDNA損傷の詳細(クラスター損傷の有無など)や壊変効果(どの程度の置換量なら問題となりえるか?など)が明らかになることが期待される。一方で、シミュレーション技術の開発段階では、その精度を確認するため、比較的単純な系での実験とシミュレーションの結果を突き合わせる必要がある。

以上のような観点から、著者らは壊変効果をも含めてト

リチウムによる DNA 損傷を評価するための分子動力学に基づくコンピュータシミュレーション技術の開発と、シミュレーションの精度評価に適する単純な DNA 損傷実験系の構築を進めてきた[4]。本解説では、一分子観察法によるトリチウム誘起 DNA 二重鎖切断頻度の評価（第2節）と、分子動力学シミュレーションによるポリエチレン（第3.1節）、さらには、テロメア DNA（第3.2&3.3節）の構造変化について紹介する。

2. トリチウムによる DNA 二重鎖切断実験

二重鎖切断（double strand break, DSB）は最も修復が困難な DNA 損傷の一つであり、その発生メカニズムや損傷形態の詳細な解明が求められる。そこで著者は、将来的にコンピュータシミュレーションの結果と比較検討することを想定し、トリチウムからの β 線照射下における DSB 頻度を単純な系で実験的に計測する手法の確立を進めた。Yoshikawa らは、蛍光材をインターカレーションさせた DNA 分子を蛍光顕微鏡で観察し、その長さの減少速度から DSB 頻度を評価する一分子観察法を開発した [5-7]。著者は、この方法をトリチウム水に適用すると共に、既に照射効果に関する知見が豊富に蓄積されている ^{60}Co γ 線の照射効果と比較した。

試料には T4 GT7 バクテリオファージのゲノム DNA（ニッポン・ジーン製）を用いた。この DNA の長さは $57\ \mu\text{m}$ であり、 $166\ \text{kbp}$ ($\text{bp} = \text{base pair}$) に相当する。この DNA を $4\ \text{MBq}/\text{cm}^3$ の滅菌したトリチウム水中に 3°C で $1\sim 30$ 日間浸漬した。この時の吸収線量率は $0.3\ \text{Gy}/\text{日}$ であり、吸収線量は $0.3\sim 9\ \text{Gy}$ である ($\text{Gy} = \text{J}/\text{kg}$)。なお、このトリチウム濃度は環境中の濃度と比べ桁違いに高く、加速実験となっていることに注意が必要である。DNA 濃度（1 リットルあたりの塩基対のモル数）は $0.175\sim 105\ \mu\text{M}$ となるよう調整した。また、静岡大学理学部放射科学教育研究推進センターにて、同様の濃度となるよう DNA を添加した滅菌水に ^{60}Co を用いて γ 線（ $1.173\ \text{MeV}$ および $1.332\ \text{MeV}$ ）の照射を行った。吸収線量率は $11\ \text{Gy}/\text{時}$ または $65\ \text{Gy}/\text{時}$ とし、最大で $200\ \text{Gy}$ まで照射した。いずれの場合においても、DNA は水中において一分子ずつランダムコイル状でブラウン運動している状態にて照射を受けた。

照射後の滅菌トリチウム水および滅菌水に蛍光材 YOYO-1 を添加し DNA にインターカレーションさせた。この溶液 $15\ \mu\text{l}$ をマイクロピペットにて採取し、ポリ-L-リジンで被覆したガラス基板上に滴下した。ピペット先端で液滴を放射状に広げ、DNA を伸展させると共にガラス基板に貼り付けた。そのうち、一つ一つの DNA 分子の長さを蛍光顕微鏡（オリンパス製 IX73）で測定した。より詳細な実験手順は [8] に記載されている。

図 1 に DNA 蛍光画像の例を示す。白いコントラストが DNA 分子に相当する。DNA 長さの平均値より、[7, 8] に記載された方法で DSB 頻度を単位照射量単位 DNA 長さあたりの DSB 回数として求めた。

図 2 にトリチウムからの β 線照射下および ^{60}Co からの γ 線照射下における DSB 頻度の DNA 濃度依存性を示

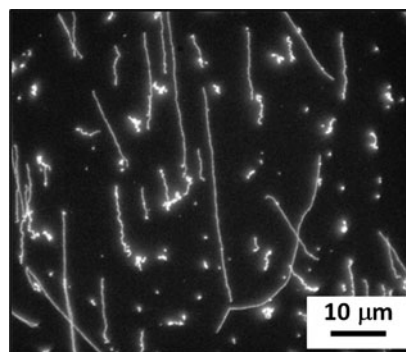


図 1 DNA 蛍光像の例。

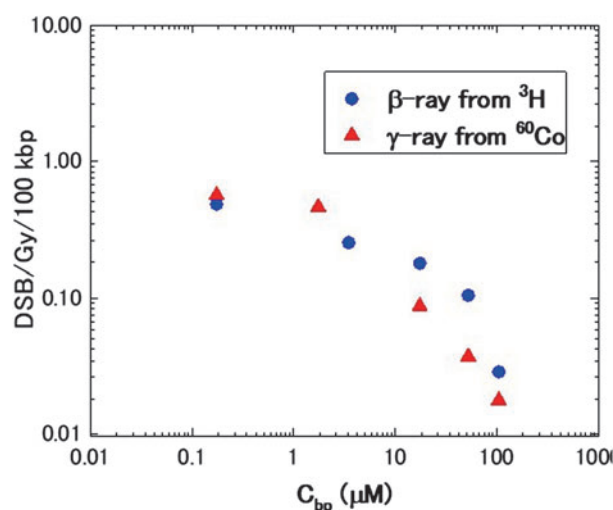


図 2 トリチウムからの β 線照射下および ^{60}Co からの γ 線照射下における DSB 頻度の DNA 濃度依存性。

す。DNA 濃度が約 $20\ \mu\text{M}$ 以上の領域で、DSB 頻度が DNA 濃度の増大と共に大きく減少した。DNA 損傷の一部は、周囲の水への放射線照射で発生するフリーラジカルや活性酸素との化学反応で生じる（間接作用）。発生するフリーラジカルや活性酸素の量に対して DNA の量が相対的に増大することで、DSB 頻度が低下したのと考えられる。このような DNA 濃度の増大に伴う DSB 頻度の低下は、Shimobayashi ら [7] の ^{60}Co γ 線照射実験においても見られている。

低 DNA 濃度領域では、トリチウムからの β 線と ^{60}Co からの γ 線との間で DSB 頻度に顕著な違いは見られなかった。高 DNA 濃度領域 ($\geq 20\ \mu\text{M}$) では β 線照射下の方が γ 線照射下より DSB 頻度が大きかったが、その違いはせいぜい 2 倍程度であった。トリチウムからの低エネルギー β 線の水への線エネルギー付与（放射線が単位距離進むあたりに物質に付与するエネルギー）は約 $5.5\ \text{keV}/\mu\text{m}$ [9] と ^{60}Co からの γ 線の値 ($0.2\ \text{keV}/\mu\text{m}$) と比べ桁違いに大きい。高 DNA 濃度領域 ($\geq 20\ \mu\text{M}$) でトリチウムからの β 線の方が γ 線と比べ DSB 頻度が高かったのは、線エネルギー付与が大きいことによりフリーラジカルや活性酸素が高密度に形成され、効率的に DSB を誘発されたことによると考えられる。なお、本研究で得られた DSB 頻度の違いは、*in vivo* 実験で見られたトリチウムからの β 線と γ 線の生物学的効果比

(relative biological effectiveness, RBE) の違い[9]と同程度であった。著者らは本稿で紹介したデータのみならず、DSB 頻度のトリチウム濃度依存性 (すなわち吸収線量率依存性) や水温依存性についても調べており、今後詳細な解析を進める予定である。

3. トリチウムのヘリウム壊変効果評価のための分子動力学シミュレーション

前節で紹介したように、トリチウムによる DNA の切断については蛍光顕微鏡を用いた測定実験で測定できるようになってきた。測定では、DNA 鎖の切断の有無を見るには十分の解像度があるが、DNA を構成する個々の原子を見るには不十分な解像度である。そこで、原子レベルでの DNA の切断を調べるため、我々は分子動力学 (MD) 法によるシミュレーション技法を構築してきた。

ここで問題になるのが、MD シミュレーションで扱える系の大きさである。実験系の全原子を MD 法でシミュレートすることは現時点では困難である。そこで、我々は、DNA 丸ごとを扱うのではなく、以下のように対象を徐々に大きくしながら MD シミュレーション手法を開発してきた。

1. ポリエチレン：まずは、高分子 (ポリエチレン) でのトリチウム壊変効果のモデル。
 2. テロメア構造の水素結合：DNA の末端にあるテロメアの基本構造を取り出して、研究対象とする。DNA は、2つの“鎖”状の高分子が水素結合により、らせん構造を作っている。テロメア構造間の水素結合へのトリチウム壊変効果を調べるモデル。
 3. テロメア構造の共有結合：DNA の鎖状分子構造は共有結合により形成されている。テロメア構造中の共有結合へのトリチウム壊変効果を調べるモデル。
- 以下、この順に、研究を紹介する。

3.1 ポリエチレンへのトリチウム壊変効果

高分子材料がトリチウム水にさらされると、高分子中の軽水素がトリチウムと置き換わり得ることが実験的に確かめられている[10, 11]。この置換トリチウムが β 崩壊することにより、高分子材料は損傷を受けるが、その損傷メカニズムは未だ完全には明らかになっていない。

高分子を構成する置換トリチウムが β 崩壊し化学的に不活性なヘリウム 3 に壊変すると、化学結合が切断される。我々は、この切断されたヘリウム 3 が速やかに除去され、かつ複数の置換トリチウムが同時に β 崩壊すると、と仮定して、置換トリチウムが取り除かれた後の高分子の構造変化を MD シミュレーションにより調べた。我々はまず、水素の取り除かれたポリエチレン一本鎖の粗視化モデルを対象として、古典 MD シミュレーションを行った[12, 13]。その結果、取り除かれる水素の割合が 1 割を超えると、ポリエチレンの構造が乱れることを明らかにした[13]。

このモデルでは、化学結合の生成や開裂などは扱えないため、水素が取り除かれた後の化学的な構造変化を調べることができない。そこで本稿では、水素が取り除かれた後の高分子材料における可能な化学構造変化を明らかにするため、近年開発された化学反応を扱える反応力場

(ReaxFF[14]) を用いた反応力場 MD シミュレーションを行い、化学結合の変化の様子を調べた[15]。

ポリエチレンの分子モデルとシミュレーション手法は以下の通りである。まず、一本のポリエチレン鎖の全原子モデル $C_{300}H_{602}$ の折り畳まれた配向秩序構造を作成した。次に、このポリエチレンモデルから一定の比率でランダムに水素を取り除き、初期配置とした。全炭素数に対する取り除いた水素数の比 f_H は $f_H = 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2$ とした (取り除いた水素数はそれぞれ 0, 3, 15, 30, 60)。その後、各初期配置から 100 K において 1 ns の MD シミュレーションを行った。NVT アンサンブルを用い、シミュレーションボックスサイズを $400 \text{ \AA} \times 400 \text{ \AA} \times 400 \text{ \AA}$ とした。力場パラメータとして、CHO-2006 の反応力場パラメータを用いた[16]。詳細は文献[15]を参照。

ポリエチレン一本鎖の最終構造のスナップショットを図 3 に示す。この図から、 $f_H = 0$ の場合はポリエチレン鎖の構造が秩序構造のままであったが、 $f_H = 0.2$ の場合は構造が乱れることがわかった。構造変化の時間依存性を定量的に解析するため、全炭素原子の平均二乗偏差を計算した。(平均二乗偏差についての定義は、3.2 節 (1) 式で説明している。) その結果を図 4 に示す。この図より、平均二乗偏差は 0.1~0.2 ns まで徐々に増加し、その後はほぼ一定値を取ることから、モデルは安定構造に落ち着いたことがわ

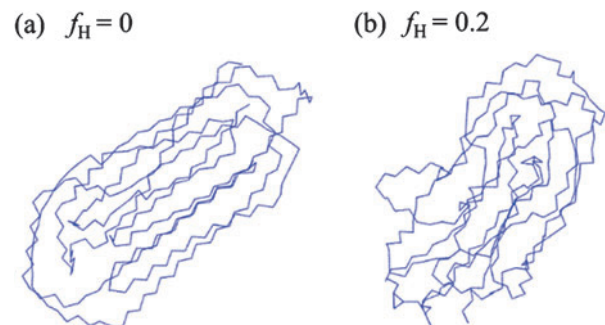


図 3 ポリエチレン一本鎖の最終構造のスナップショット。(a) $f_H = 0$, (b) $f_H = 0.2$. 主鎖の C-C 結合を青線で示している。

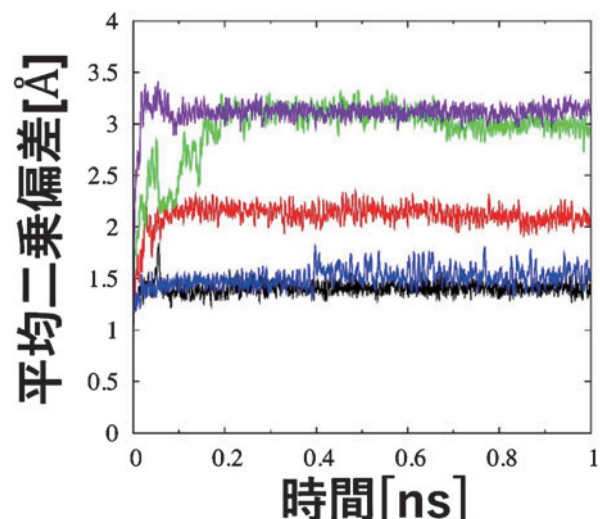


図 4 平均二乗偏差の時間発展。黒: $f_H = 0$, 青: $f_H = 0.01$, 赤: $f_H = 0.05$, 緑: $f_H = 0.1$, 紫: $f_H = 0.2$.

かる。また、 $f_H \geq 0.1$ では、他の場合と比べて初期配置からのずれが顕著であることも明らかになった。

$f_H = 0.2$ の場合のシミュレーションデータを詳細に解析した結果、C-C 二重結合や環状構造、共役構造などの生成を確認することができた。図 5 に、形成された環状構造のスナップショットを示す。この環状構造は、 $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-$ の真ん中の 3 つの炭素によって形成されたものである。今後は、昇温過程の MD シミュレーションを行い、高分子鎖の切断や架橋反応の過程を明らかにする。

3.2 テロメア構造間の水素結合へのトリチウム壊変効果

先のポリエチレンで培った手法を基に、いよいよ生体高分子 DNA を対象とする。前に述べたように DNA 分子の全原子シミュレーションは計算機の性能上困難である。そこで、DNA の末端部でよくみられるテロメアの基本構造 [17] を取り出して計算対象とした。

最初に、テロメアを簡単に説明する。真核生物の染色体の末端部にある構造のことで、特定の繰り返し塩基配列 (テロメア DNA, ヒトの場合は TTAGGG) と種々のたんぱく質から構成される。なお、塩基にはアデニン A, グアニン G, シトシン C, チミン T の 4 種類ある。テロメアが短くなると、動脈硬化やガン化を引き起こすという報告がある。本稿のシミュレーションでは、図 6 のテロメア DNA の塩基配列のみを取り上げる。テロメアに付随する酵素やたんぱく質は扱わず、テロメア DNA に及ぼすトリチウムの β 崩壊の影響のみ調べていく (図 7)。

さて、体内に取り込まれたトリチウムは、テロメア中の塩基中の水素と置換して、やがてヘリウム 3 に β 崩壊する。置換される前の水素は周りの原子と共有結合や水素結合をすることで、DNA の構造形成に寄与していた。しかし、ヘリウムに壊変したため、これらの結合が維持できなくなり、その結果、テロメア DNA 構造崩壊が危惧される。

ここで、現実の体内中での損傷した DNA の修復について述べておく。損傷した DNA は酵素により、相同組換えや非同末端連結などにより修復される [18, 19]。前者の相同組換えでは、DNA の塩基配列がよく似た部位 (相同部位) の DNA 配列を利用して正確な修復を行う。後者の非同

末端連結では、DNA の相同性とは無関係に切断された末端同士を直接連結する。非同末端連結による修復は、再連結に伴ってヌクレオチド数の増減を伴うことがあるため、修復の正確性は低い。本研究では、テロメア DNA 単体のトリチウムの壊変に対する耐久性を、水素結合 (本節) と共有結合 (3.3 節) への影響をそれぞれに限定し、定量的に MD シミュレーションで調べる (図 8)。

図 7 に全粒子の様子を示している。水素結合への影響を調べるために、グアニンの図 8 の NH_2 基中の水素対がヘリウムに壊変したとする。テロメア中にはグアニンが 8 基ある (図 6)。このうちの N 基のグアニンが壊変する。つまり、 $2N$ 個の水素原子がヘリウムに壊変するとして、 β 崩壊の程度を N で定量化する (図 9)。

この各々の N で初期構造として時間発展を、CHARMM 36 力場 [20] を用いた NAMD コード [21] でシミュレートす

5'-TCTAGGGTTAGGGTTAG-3'
3'-AGATCCCAATCCCAATC-5'

図 6 テロメア構造。3' と 5' は 5 つの炭素からなる糖中の炭素の番号を表し、これにより DNA 鎖の末端の方向を明示する。

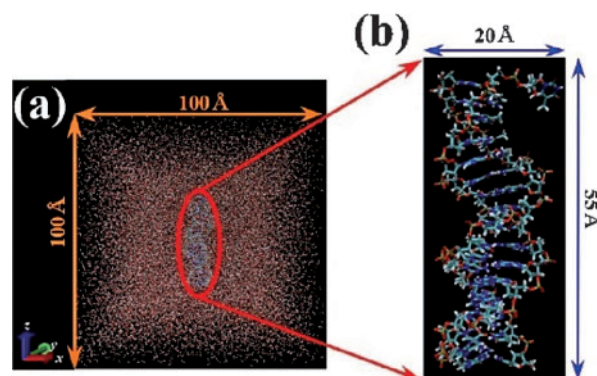


図 7 (a) ヒト DNA のテロメア構造。溶媒として、71,000 個の水分子と 121 個の Na^+ イオンと 89 個の Cl^- イオンからなる溶液の中に存在する。テロメア DNA は 1,078 個の原子で構成されている。シミュレーションボックスは $100 \text{ \AA} \times 100 \text{ \AA} \times 100 \text{ \AA}$ 。 (b) テロメア DNA の初期状態での 3 次元立体構造。

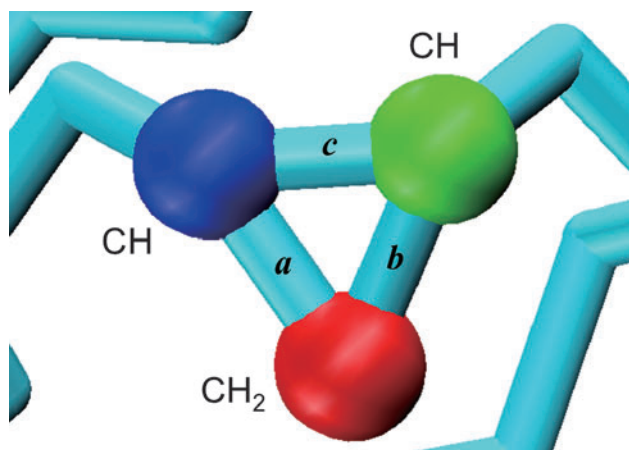


図 5 $f_H = 0.2$ の場合に形成された環状構造のスナップショット (水素は非表示)。平均結合長はそれぞれ、 $a = 1.59 \text{ \AA}$, $b = 1.51 \text{ \AA}$, $c = 1.51 \text{ \AA}$ 。

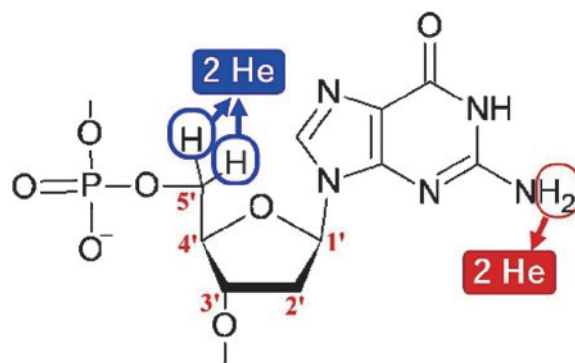


図 8 DNA を構成するヌクレオチド。塩基として、グアニンを考える (デオキシグアノシン-リン酸)。赤丸 (第 3.2 節) や青丸 (第 3.3 節) で記したように「DNA の水素が、溶液中のトリチウムと置換し、やがてヘリウム 3 に β 崩壊した」と仮定し、その影響を分子動力学法でシミュレートする。

る。温度と圧力は、能勢-Hoover Langevin ピストン法で制御する[22, 23]。詳細は文献[24]を参照。

最も β 崩壊が強い場合 ($N = 8$) についてのテロメア構造の時間発展を図10に記した。体温を想定して熱浴温度は 310 K に設定している。時間発展するにつれ、二重鎖がほぐれていく様子が確認される。秩序変数として、以下で定義される平均二乗偏差を定義し、図11にその時間発展を、各々の $N = 0, 2, 4, 6, 8$ の場合について図示した。

$$\text{平均二乗偏差} = \sqrt{\frac{1}{n_0} \sum_{i=1}^{n_0} |\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i^{\text{PDB}}|^2}, \quad (1)$$

ここで、水素を除いた DNA を構成する原子を i とすると、 $1 \leq i \leq n_0$, ($n_0 = 691$)。 $\vec{r}_i(t)$ は、時刻 t における粒子 i の位置ベクトル。 \vec{r}_i^{PDB} は、初期の粒子 i の位置ベクトルである。

図11より、 N が大きくなるにつれ、つまり、 β 崩壊の程度が強くなるにつれ、二重鎖をつないでいる水素結合が弱くなり、平均二乗偏差が大きく成長する様子がわかる。つまり、構造が崩れていることを定量的に観測できた。

3.3 テロメア構造中の共有結合へのトリチウム壊変効果

前節では、水素結合に着目したが、本節では、テロメア構造中の共有結合の切断そのものを対象とする。そのため

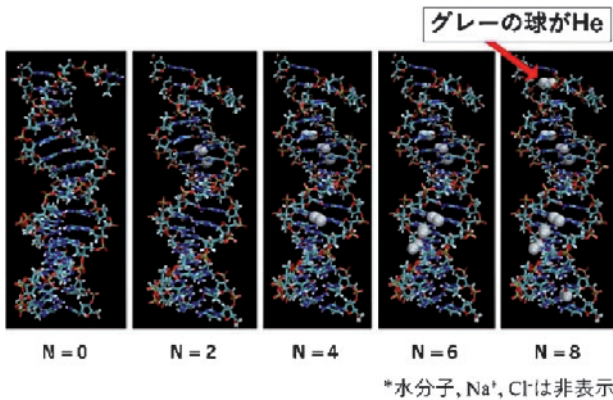


図9 水素結合に及ぼすトリチウム壊変効果の影響を調べるためのテロメアの初期構造。水素がヘリウムに壊変したグアニンの個数を N とする。 $2N$ 個の水素原子がヘリウム3原子(グレーの球)に置き換えられる構造を初期状態として時間発展を、CHARMM36ポテンシャルを用いたNAMDコードでシミュレートする。

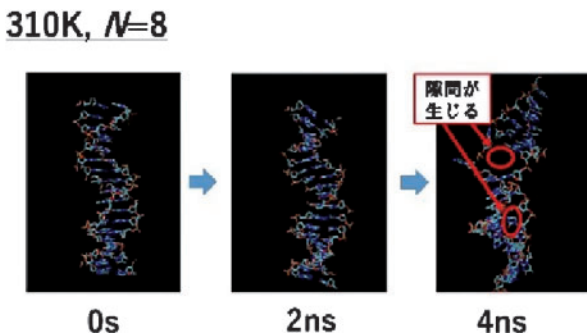


図10 テロメア初期構造 ($N = 8$ の場合) を出発した際の、スナップショット。二重鎖構造が、時間発展するにつれて“ほぐれていく”様子が確認される。熱浴の温度は、体温を想定し 310 K に設定している。

に、共有結合の切断を扱える動的な反応力場(ReaxFF)[14]を用いる。もともとこのReaxFFは、炭化水素を扱うために開発された力場で、生体分子も対象とすべく扱える原子種を拡張されている。今回のテロメア研究では5種類のReaxFFで比較を行い、テロメアの安定構造を再現できる力場(TiClOH.ff)[25]を用いて計算を行った。なお、この反応力場は、3.2節で使ったNAMDコードでは扱えないため、本節では生体高分子MDコードとして、LAMMPS[26]を用いて計算を行う。

次に、共有結合に対するヘリウムへの壊変効果の影響を調べるために、テロメアDNAへの“傷”の入れ方を説明する。前節では、水素結合への影響を調べるために、図8のグアニンの水素をヘリウムにしたが、ここでは、図8の糖の5'の位置の炭素と共有結合をする2つの水素がヘリウムに壊変された(傷ができたと表現する)という設定にする[27]。

テロメアDNAの二重鎖を、図12のようにC鎖とD鎖と名付ける。全く傷を入れていないものを(0,0)と記述する。C鎖の8番目とD鎖の8番目の対で傷を入れたものを(2,2)と表現する。C鎖の2つの水素とD鎖の2つの水素

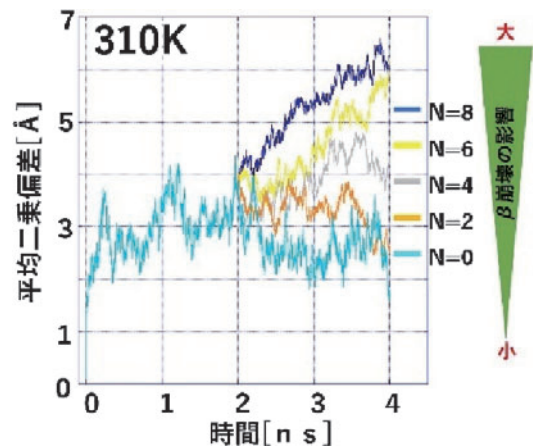


図11 水素結合への影響を調べるモデルでの平均二乗偏差の時間発展。ヘリウムに壊変された度合い (N) が大きくなるにつれ、値が大きくなるのがわかる。これは、テロメアの二重鎖構造が崩れていく様子を定量的に表している。

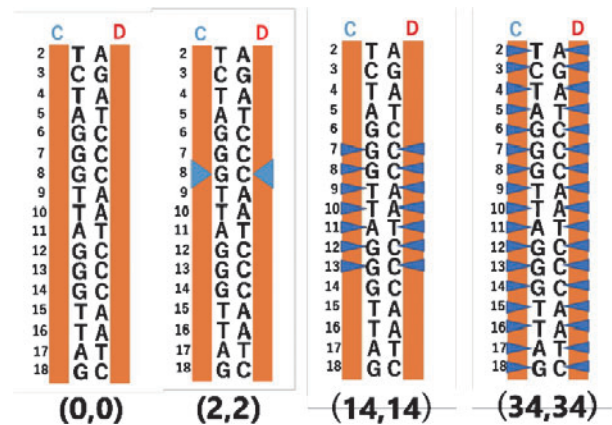


図12 平均二乗偏差の時間発展。数字は、各々の鎖でヘリウムに壊変された水素原子数を意味する。この数で、ヘリウムに壊変された度合いを示す。

が壊変したことを意味する。さらに、図12のように7対の傷と17対全てに傷を入れたものを、それぞれ(14,14)、(34,34)と記述する。このように、4ケースでシミュレーションを実施して、比較検討を行った。

計算結果について以下考察する。まず図13に初期構造から $t=1.85$ ns 経過した時点での(14,14)と(34,34)の場合のスナップショットを示す。 $t=1.85$ nsでは、(14,14)の場合は、初期構造が壊れている様子が確認できる。さらに、(34,34)は共有結合の切断が起こり、3つ程度に分割されていることがわかる。このように、傷が増えると共有結合が切断され、テロメア構造が崩れるということが確認できた。

図14では、定量的にテロメア構造の分割数の時間発展を、4つの場合について示している。(14,14)の場合は、 $t=1.85$ nsで2~3個、(34,34)は3~4個に分割されていることがわかる。(0,0)と(2,2)は最後まで1個のまま、つまり切断が起きないことがわかった。また、二重鎖切断が開始すると、完全に切断されるまで分子数が変化する前後の値を行き来していることがわかる。これは、DNA分子の形状が揺らいでいるためである。共有結合が一度切れるとそのまま分子が離れてしまうのではなく、再度くっついたり離れたりを繰り返し、やがて完全に切れる。そのため、(14,14)で最初の二重鎖切断が発生したのは、 $t=1.4$ ns 時点であると考えられる。

最後に、図15で平均二乗偏差についても解析した。(34,34)が他3つと比較して平均二乗偏差が特に大きく

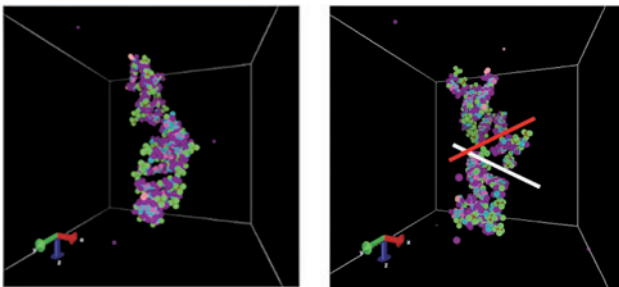


図13 初期構造の図7(b)から、1.85 ns 経過した時点でのテロメア DNA 構造のスナップショット。左図が、(14,14)。右図が(34,34)の場合。初期構造の二重らせん構造が崩れている様子がいずれも確認できる。特に右図(34,34)では、途中の赤と白の補助線のところで鎖が切れている様子が確認できる。図14に鎖が切れた数を定量的に示している。

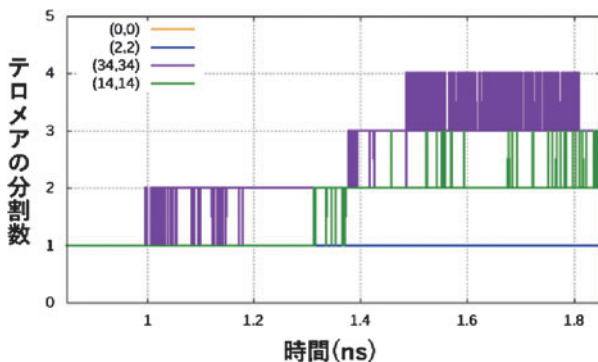


図14 テロメア構造切断による分割数の時間発展。傷の組数を、(0,0)、(2,2)、(14,14)、(34,34)の4つの場合について調べた。

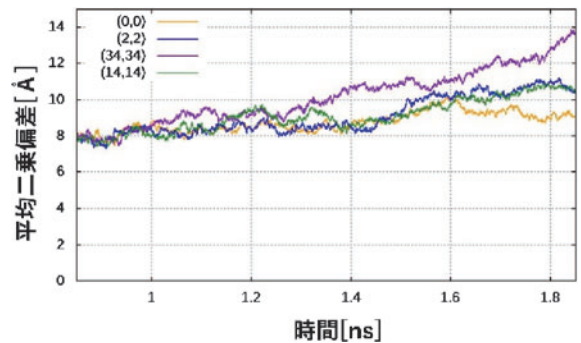


図15 共有結合への影響を調べるモデルでの平均二乗偏差の時間発展。傷の組数を、(0,0)、(2,2)、(14,14)、(34,34)の4つの場合について調べた。

なっていることがわかった。その反面、(14,14)は、(2,2)とほとんど平均二乗偏差に差がない。このことから、二重鎖切断が発生しても、テロメア DNA 分子が常に散り散りになるわけではなく、平均二乗偏差にあまり影響を及ぼさない場合があることを確認できた。

このように、傷をつける個数を増やすことで二重鎖切断が発生させることができた。二重鎖切断の発生回数や発生時刻についてもリンを含む分子数を見ることで確認でき、定量的な評価を得られた。 $t=1.85$ nsで(14,14)が2~3個になっていることから、必要な傷の個数は7対より少ないと考えられる。そのため、より個数を減らしたケースでも二重鎖切断が発生することが推測できる。

4. まとめと今後の展望

DNA 二重らせん構造への、トリチウムの影響評価に、蛍光顕微鏡を用いた一分子観察実験と計算機シミュレーションを用いた二種類の相補的な手法が有効であることを見出した。今後は、今回得られた手法を基に、以下の改良を行う予定である。

まず、測定実験においては、現在は蛍光顕微鏡画像より測定者の目を使ってDNAの長さを測定している。この際、実験する者の“個性”が含まれてしまう。そこで、画像処理を用いたソフトによる客観的かつ再現性のあるDNAの長さ測定法の開発を進めていきたい[28]。また、特定のフリーラジカルや活性酸素に対するスカベンジャーを添加して同様の実験を行い、DSB発生に対する各活性種の寄与を調べる。

次に、シミュレーションにおいては、今回はトリチウムの壊変効果の影響をターゲットとしたが、ReaxFFを用いた反応力場では、例えば、トリチウムなどの放射性物質が溶媒(水分子など)に発生させたヒドロキシ(OH)ラジカルなどがDNAに与える影響(間接作用)についても原子レベルで原理的に評価[29]できる。今後は、この間接作用のMDによる評価をめざす。さらに、得られた反応率などの情報を、Geant4-DNA[30]などのマクロシミュレーションに渡し、MDより大きな時空間でのDNA損傷の評価をめざしていきたい。

謝 辞

本稿で紹介した研究は、富山大の胡中優奈氏・下谷内宏統氏・浅野達哉氏、名古屋大の宮西寿典氏・石黒健人氏、京都工繊大の LI Haolun 氏・水口朋子氏、富山高専の阿蘇司氏、九工大の安永卓生氏、物材機構の中田彩子氏・宮崎剛氏、理研の大塚教雄氏、同志社大の剣持貴弘氏・吉川研一氏・吉川祐子氏、分子研の齊藤真司氏、山形大齋藤誠紀氏、静岡大の大矢恭久氏、和田拓郎氏との共同研究である。本研究の理論計算は、自然科学研究機構核融合科学研究所プラズマシミュレータ、同機構計算科学研究センター、量子科学技術研究開発機構六ヶ所核融合研究所国際核融合エネルギー研究センター計算機シミュレーションセンター JFRS-1 の利用により行ったものである。本研究の一部は、大学共同利用機関法人自然科学研究機構分野融合型共同研究事業 (NINS program No. 01111708), JSPS 科研費 JP21K19845 の助成及び、平成29, 30年度自然科学研究機構分子科学研究所共同利用研究 (課題番号: 101), 自然科学研究機構核融合科学研究所共同研究 (NIFS19KKGS025, NIFS20KUHR058, NIFS20KNSS149) の支援を受けたものである。

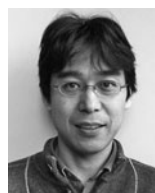
参考文献

- [1] 一般社団法人日本放射線影響学会 放射線災害対応委員会, “トリチウムによる健康影響”, 2019, https://jrns.org/assets/file/tritium_20191212.pdf
- [2] <https://www.nsr.go.jp/data/000045581.pdf>
- [3] 日本保健物理学会・日本放射線影響学会 低線量リスク委員会 (甲斐 倫明ほか): 低線量リスクに関するコンセンサスと課題, 放射線生物研究 55, 85 (2020).
- [4] 藤原 進, 波多野雄治, 中村浩章: 日本物理学会誌 (印刷中).
- [5] Y. Yoshikawa *et al.*, Chem. Phys. Lett. 456, 80 (2008).
- [6] Y. Ma *et al.*, Chem. Phys. Lett. 638, 205 (2015).
- [7] S.F. Shimobayashi *et al.*, J. Chem. Phys. 138, 174907 (2013).
- [8] Y. Hatano *et al.*, Fusion Eng. Des. 146, 100 (2019).
- [9] 馬田敏幸: トリチウムの生体影響評価, 産業医科大学雑誌 39, 25 (2017), https://www.jstage.jst.go.jp/article/juoe/39/1/39_25/_pdf
- [10] K. Ema and Y. Izumi, Fusion Sci. Technol. 41, 378 (2002).
- [11] E.B. Fox *et al.*, Fusion Sci. Technol. 71, 507 (2017).
- [12] S. Fujiwara *et al.*, J. Adv. Simul. Sci. Eng. 6, 94 (2019).
- [13] H. Li *et al.*, Plasma Fusion Res. 14, 3401106 (2019).
- [14] A.C. T. van Duin *et al.*, J. Phys. Chem. A 105, 9396 (2001).
- [15] H. Li *et al.*, Jpn. J. Appl. Phys. 60, SAAB06 (2021).
- [16] K. Chenoweth *et al.*, J. Phys. Chem. A 112, 1040 (2008).
- [17] C.W. Greider, Cell 97, 419 (1999).
- [18] A.A. Goodarzi and P.A. Jeggo, Adv. Genet. 82, 1 (2013).
- [19] 黒沢 綾, 足立典隆: ヒト細胞における DNA 二本鎖切断の修復, Isotope News 721, 8 (2014).
- [20] K. Hart *et al.*, J. Chem. Theory Comput. 8, 348 (2012).
- [21] J.C. Phillips *et al.*, Comput. Chem. 26, 1781 (2005).
- [22] G.J. Martyna *et al.*, J. Chem. Phys. 101, 4177 (1996).
- [23] S.E. Feller *et al.*, J. Chem. Phys. 103, 4613 (1995).
- [24] H. Nakamura *et al.*, Jpn. J. Appl. Phys. 59, SAAE01 (2020).
- [25] Sung-Yup Kim and Adri C. T. van Duin, J. Phys. Chem. A, 117, 5655 (2013).
- [26] <https://www.lammps.org>
- [27] 土田陽平 他: 日本シミュレーション学会論文誌 13, 1 (2021).
- [28] S. Saito *et al.*, J. Adv. Simul. Sci. Eng. 8, 173 (2021).
- [29] Y. Yonetani and H. Nakagawa, Chem. Phys. Lett. 749, 137441 (2020).
- [30] <http://geant4-dna.org/>



なかむら ひろあき
中村 浩章

自然科学研究機構 核融合科学研究所 ヘリカル研究部 教授。名古屋大学大学院工学研究科電気工学専攻客員教授。1996年東京大学大学院理学系研究科物理学専攻博士課程修了。博士 (理学) 取得。主に, PWI シミュレーションを行っています。今回は, PWI で培った分子動力学法を用いて生体高分子の研究成果が出て解説記事としてご紹介でき感慨深いものがあります。今後は, 本課題に加えて, PWI 研究で現れる光との相互作用 (Field-matter interaction) にも着目していきたいと考えております。



ふじ わら すすむ
藤原 進

京都工芸繊維大学 材料化学系 教授。1990年3月慶應義塾大学理工学部物理学科卒業。1995年3月慶應義塾大学大学院理工学研究科物理学専攻後期博士課程修了。博士 (理学)。1995年4月核融合科学研究所助手。2002年4月京都工芸繊維大学助教授。2007年4月同大学准教授。2014年1月同大学教授。現在に至る。2019年4月~2021年3月核融合科学研究所客員教授。専門はソフトマター物理学, 計算物理学。



は た の ゆう じ
波多野 雄治

組織の変更で富山大学学術研究部理学領域所属になりましたが、これまでと同様に研究推進機構水素同位体科学研究センターで材料中の水素同位体挙動, トリチウム計測, 放射線効果等に関する教育・研究に従事しています。センターの一般共同研究の枠組みで, 新たなトリチウム利用等に関する共同研究を実施しています。ご興味のある方は, ホームページをご覧ください。

http://www.hrc.u-toyama.ac.jp/jp/joint_research/