

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K13614

研究課題名(和文)トリチウム壊変によるDNA鎖切断の分子ダイナミクス

研究課題名(英文)Molecular dynamics of DNA strand breaks induced by tritium transmutation

研究代表者

河野 裕彦 (Kono, Hirohiko)

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：70178226

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：トリチウム壊変が引き起こすDNAの鎖切断過程を探索するため、密度汎関数強束縛法に基づいた反応動力学シミュレーションを行った。反応時の電荷の変化を定量化するマリケン電荷と各原子のエネルギーの変化を定量化する原子分割エネルギーを使った。トリチウムが壊変後Heとして脱離すると、電荷再配置の後、実質的にトリチウムが引き抜かれたDNAは中性となって、ラジカル的な性質を持つ。この条件下では、糖の3'Cあるいは5'Cにトリチウムがある場合、隣接するリン酸基のP-O結合が切断することがわかった。この反応は1本鎖切断で終わっており、修復が困難な2本鎖切断に至る可能性は極めて低いことがわかった。

研究成果の概要(英文)：We simulated DNA strand breaks induced through decays of tritium atoms contained in a DNA by using the density-functional based tight-binding method for electronic structure calculations. The results of simulations were analyzed from the aspect of energy and charge transfer to examine the mechanisms of elementary processes in DNA strand breaks. Charge rearrangement occurs after decays of tritium, which results in a neutral radical species. We found that after a decay of a tritium atom bound to the 3' or 5'-carbon in a sugar, a P-O bond of an adjacent phosphate group breaks. This reaction is mediated through energy and charge transfer between the neighboring sugar and phosphate and terminates with a single strand break; a double strand break, difficult to repair, never takes place as long as two tritium atoms happen to be absorbed to two sugars bridged by the same base pair.

研究分野：理論化学

キーワード：密度汎関数強束縛法 反応動力学 原子分割エネルギー DNA鎖切断 塩基脱離 ヒドロキシルラジカル
水素引き抜き トリチウム壊変

1. 研究開始当初の背景

トリチウム壊変によるデオキシリボ核酸 (DNA) の鎖切断は放射線損傷と関連して、注目を集め、様々な研究が進められてきた。Burki らは、トリチウムを取り込ませた DNA 鎖がトリチウム 1 壊変によって約 2.1 箇所切断され (そのうち約 85% が β 線によると推定)、その吸収線量が X 線を照射した場合と比較するとおよそ 0.48 ラド相当であると報告している [1]。一方、希薄溶液では、0.3 箇所との報告もあり、環境にも大きく左右される。DNA の結合切断の分子論的機構そのものが未解明であり、放射線の影響などを科学的に議論する上で障害になっている。

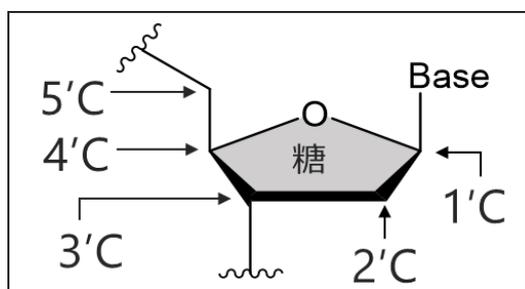


図 1 DNA のデオキシリボース (五炭糖) と核酸塩基。糖の 3' と 5' の位置の炭素にそれぞれにリン酸基がつながっている。

以上のような放射化学的な実験に加えて、近年は分子論的な議論が可能な実験手法による DNA 鎖切断の研究も進められてきた。その一つは、マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI) 法により DNA を断片化し、フラグメントを飛行時間型質量分析法 (TOFMS) で解析するものである [2]。1 本鎖 DNA の場合、塩基が MALDI 法によりプロトン付加されて脱離した後に、糖とリン酸基との間の CO 結合 (主に 3'C との結合) が切断するという結果を報告している (図 1 参照)。また、Mathur らのグループは、DNA を含んだ水溶液に近赤外のパルスを照射すると、様々な鎖切断が起こることを見出している [3]。彼らは、発生した OH ラジカルの衝突によって DNA の鎖切断が起こり、DNA の 2 本の鎖が同じ塩基対のところで切れる 2 本鎖切断は複数の OH ラジカルの衝突が引き金になると結論づけている。また、発生した高熱に

よっても鎖切断は起こるが、それは DNA の 2 本の鎖のうち 1 本が切断する 1 本鎖切断に限られることを報告している。

このような状況下、半経験的手法ながらも密度汎関数法 (DFT) に近い計算精度を有し、化学結合のダイナミクスを高速で追える密度汎関数強束縛 (DFTB) 法が開発されてきた。理論的に扱いやすい少数塩基対 (4 対以上) から構成されるヘアピン DNA (HDNA) なども合成され [4]、DNA の結合切断の分子論を理論と実験が一体となって進める状況が整いつつあった。

- [1] J. E. Cleaver, G. H. Thomas and H. J. Burki, *Science* **177**, 996 (1972).
- [2] L. Zhu et al., *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 6048 (1995).
- [3] A. K. Dharmadhikari et al., *Phys. Rev. Lett.* **112**, 138105 (2014).
- [4] M. McCullagh et al., *J. Phys. Chem. B* **112**, 11415 (2008).

2. 研究の目的

遺伝情報の継承と発現を担うデオキシリボ核酸 (DNA) の安定性や修復の分子論的理解には、その構造のみならず化学結合の生成・切断を含む分子動力学の理解が不可欠である。本研究では、化学反応を高速で追跡できる密度汎関数強束縛 (DFTB) 法を用いて、4 ~ 10 個の塩基対をもつモデル DNA やその水和物のピコ秒反応動力学 (DFTB/MD) シミュレーションを行い、DNA 鎖切断の機構を分子論的に解明する。とくに、DNA の 1 本鎖切断と 2 本鎖切断の機構を解明する。

まず、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI) による一本鎖 DNA の解離質量スペクトルを DFTB/MD を使って再現できるか検証する。次に、活性酸素や熱などによる種々の鎖切断過程を探索し、電荷密度の変化と DNA 鎖切断の相関を調べるとともに、全エネルギーを各原子に分割する原子分割エネルギー解析法を用いて、DNA のどの部分のエネルギー変化が鎖切断につながるかを明らかにする。また、各反応に対して遷移状態を探索し、活性化エネルギーを求める。

以上の鎖切断の基本的理解の基に、さらに、放射性同位体トリチウムの壊変の影響を、(i) 線によって生成した溶媒中の活性酸素と DNA との反応および (ii) トリチウム含有

DNA 中で壊変後生成したヘリウムの化学的影響の2点を中心に調べる(どの位置に壊変するトリチウムがあるかがそのトリチウムを含む DNA の鎖切断に影響するかを調べる)。どの部分の原子分割エネルギーの変化が大きく、切断されやすいかを検討して、一般の DNA 鎖切断のプロトタイプを明らかにする。

3. 研究の方法

DNA 鎖切断の反応動力学シミュレーションでは、各原子が受けている力を各時間ステップで求めるが、それに必要な電子状態計算には、密度汎関数法に近い精度で高速計算が可能な DFTB 法[5]を用いた。本研究では、その中でも Kohn-Sham エネルギーを電荷揺らぎに関して 3 次まで展開した DFTB3[6]法とパラメータセット 3ob-3-1 を組み合わせて用いた[7, 8]。この組み合わせによって、水素結合のエネルギーを比較的精度良く計算できる。実際の計算には、量子化学計算パッケージ DFTB+[9]を利用した。

鎖切断を分子論的に理解するため、開発した原子分割エネルギー解析法により計算結果から DNA 鎖切断の機構を抽出した。具体的には、分子の全ポテンシャルエネルギーと運動エネルギーを各構成原子に分配する手法(原子分割エネルギー法)を用いた。原子 j の位置ベクトルを \mathbf{R}_j とすると、電子状態計算で得られた系の電子エネルギーは $V(\mathbf{R}_1, \mathbf{R}_2, \dots)$ と表せ、これが各原子の動きを決めるポテンシャルエネルギーになる。電子エネルギーをその構成単位(たとえば、電子配置や分子軌道)に分割する方法[10]を系の構成単位を原子として適用すると、 $V(\mathbf{R}_1, \mathbf{R}_2, \dots)$ を各原子 $\{j\}$ に割り当てた原子分割エネルギー $V_j(\mathbf{R}_1, \mathbf{R}_2, \dots)$ に分けることができる(V の添え字が ij のような原子の対になっていない)。

$$V(\mathbf{R}_1, \mathbf{R}_2, \dots) = \sum_{j=\text{全原子}} V_j(\mathbf{R}_1, \mathbf{R}_2, \dots)$$

これに原子の運動エネルギーを加えたものを各原子がもつ動力的エネルギーとした。電荷の流れは Mulliken 電荷を使って解析した。この手法により、得られた鎖切断の過程を Mulliken 電荷と振動エネルギー移動の観点、すなわち、有機電子論と動力学の観点から解析することができた。

- [5] M. Elstner et al., Phys. Rev. B **58**, 7260 (1998).
- [6] M. Gaus et al., J. Chem. Theory Comput. **7**, 931 (2011).
- [7] M. Gaus et al., J. Chem. Theory Comput. **9**, 338 (2013).
- [8] M. Gaus et al., J. Chem. Theory Comput. **10**, 1518 (2014).
- [9] B. Aradi et al., J. Phys. Chem. A **111**, 5678 (2007).
- [10] S. Ohmura et al., J. Chem. Phys. **141**, 114105 (2014).

4. 研究成果

トリチウム壊変が引き起こす DNA の鎖切断過程を探索するため、密度汎関数法の精度に近いながらも高速計算が可能な密度汎関数強束縛 (DFTB) 法に基づいた反応動力学シミュレーション(DFTB/MD)を行った。とくに、水素結合や電荷揺らぎをより正確に記述する DFTB3 を用いた。鎖切断機構の解析には、電荷の変化を定量化するマリケン電荷と各原子のエネルギーの変化を定量化する原子分割エネルギーを使った。

まず、文献[2]の1本鎖 DNA の MALDI による質量解析の結果を再現できるか検証した。計算を高速化するため MALDI の実験よりは高温の 1000 K 程度で、シミュレーションを行ったところ、糖から塩基への電子移動によって誘起された塩基脱離後に、糖の 3'C と隣接するリン酸基の O との間で鎖が切断するという MALDI による質量分析と一致する結果を得た。DFTB3 法を使った動力学シミュレーションが熱効果による鎖切断を適切に再現できることがわかった。

上記のシミュレーションでは真空に放出された DNA を想定しているが、アレニウスプロットから得られた塩基脱離の活性化エネルギーは、約 1.1 eV と極めて低く、常温でも数時間で切れてしまう不安定なものであった。これは、糖の 2'C に結合した水素が塩基に移動する協奏的な過程が存在するからであることが分かった(水の中ではこのような過程が抑制されている)。解析の結果、他の複数のヌクレオチドからの広域的な電子やエネルギーの流入も、塩基脱離や鎖切断に関与していることが明らかになった。

1 本鎖、2 本鎖どちらの DNA でも、熱によ

って糖の電子が塩基に移動して塩基脱離が引き起こされるので、酸化還元電位の高い塩基が脱離しやすく、それを含むヌクレオチド内で鎖が切断する。

トリチウムが β 壊変後 He^+ として脱離すると、電荷再配置の後、実質的にトリチウムが引き抜かれた DNA は中性となって、ラジカルの性質を持つ。この条件下でシミュレーションを行ったところ、糖の3'Cあるいは5'Cにトリチウムがある場合には、隣接するリン酸基の P-O 結合が 0.5 程度の確率で切断することがわかった（糖のそのほかの部位にトリチウムがあった場合には、鎖切断はほとんど起こらず、副次的な反応が起こるだけであった）。この反応は 1 本鎖切断で終わっており、修復が困難な 2 本鎖切断に至る可能性は極めて低いことがわかった。また、この反応の電荷やエネルギーの交換は隣接する糖とリン酸基の間で閉じた局在的なものであった。DNA の 2 本鎖を架橋する塩基にトリチウムがある場合も調べたが、塩基脱離は起こるが、予想に反して、鎖切断にまでは至らなかった。

また、トリチウムの β 壊変後に生成する He カチオンを含む DNA 分子の電子状態のエネルギー（基底電子状態より 40 eV 程度高い）および He カチオンの反跳エネルギーが周囲の熱に変換されることを想定して、熱による DNA 鎖切断の DFTB/MD シミュレーションも行った。その結果、1500 K に達するような高熱でも、1 本の鎖しか切断せず、熱が 2 本鎖同時切断の原因になることはないという文献[3]を支持する結論になった。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計4件)

菱沼 直樹, 及川 啓太, 岡田 朝彦, 菅野 学, 山崎 馨, Wilfredo Credo Chung, 齋藤 敦子, 河野 裕彦, DNA鎖切断の反応動力学シミュレーションとAVS/Expressを用いた三次元可視化, 東北大学サイバーサイエンスセンター 大規模科学計算システム広報 (SENAC), **50**, No.1, 3-12, (2017) 査読有

Kiyonobu Nagaya, Hirohiko Kono, Kiyoshi Ueda, Ultrafast Dynamics of a Nucleobase

Analogue Illuminated by an Ultra-Short Intense X-ray Pulse of SACLA, SPring-8/SACLA Research Frontiers, (2017) (印刷中) 査読有

K. Nagaya, K. Motomura, E. Kukk, H.

Fukuzawa, S. Wada, T. Tachibana, Y. Ito, S. Mondal, T. Sakai, K. Matsunami, R. Koga, S. Ohmura, Y. Takahashi, M. Kanno, A.

Rudenko, C. Nicolas, X.-J. Liu, Y. Zhang, J. Chen, M. Anand, Y. H. Jiang, D.-E. Kim, K.

Tono, M. Yabashi, H. Kono, C. Miron, M.

Yao, and K. Ueda, Ultrafast Dynamics of a

Nucleobase Analogue Illuminated by a Short Intense X-ray Free Electron Laser Pulse,

Phys. Rev X, **6**, 021035, 1-9, (2016)

DOI:https://doi.org/10.1103/PhysRevX.6.021035, 査読有

K. Nagaya, K. Motomura, E. Kukk, Y. Takahashi, K. Yamazaki, S. Ohmura, H.

Fukuzawa, S. Wada, S. Mondal, T. Tachibana, Y. Ito, R. Koga, T. Sakai, K.

Matsunami, K. Nakamura, M. Kanno, A. Rudenko, C. Nicolas, X.-J. Liu, C. Miron, Y.

Zhang, Y. Jiang, J. Chen, M. Anand, D. E. Kim, K. Tono, M. Yabashi, M. Yao, H.

Kono and K. Ueda, Femtosecond Charge and Molecular Dynamics of I-containing

organic molecules Induced by Intense X-Ray Free-Electron Laser Pulses, Faraday

Discussions, **194**, 537-562, (2016), DOI: 10.1039/C6FD00085A, 査読有

〔学会発表〕(計16件)

岡田朝彦, 及川啓太, 菱沼直樹, 菅野 学, 木野康志, 秋山公男, 河野裕彦, 短鎖 DNA の鎖切断シミュレーション, 日本化学会第 97 春季年会, 2017 年 3 月 16 日, 慶應義塾大学 日吉キャンパス, 横浜

及川 啓太, 菱沼 直樹, 菅野 学, 木野 康志, 秋山 公男, 河野 裕彦, カウンターカチオンが引き起こす DNA 鎖切断: 化学反応動力学シミュレーション解析, 第 10 回分子科学討論会, 神戸ファッションマート, 神戸, 2016 年 9 月 15 日

河野裕彦, DNA の鎖切断: 反応動力学と電子論, 化学反応経路探索のニューフ

ロンティア(SRPS2016), 京都教育文化センター, 京都, 2016年9月12日, (招待講演)

K. Ueda, K. Nagaya, K. Motomura, E. Kukk, Y. Takahashi, K. Yamazaki, S. Ohmura, H. Fukuzawa, S. Wada, S. Mondal, T. Tachibana, Y. Ito, R. Koga, T. Sakai, K. Matsunami, K. Nakamura, M. Kanno, A. Rudenko, C. Nicolas, X.-J. Liu, C. Miron, Y. Zhang, Y. Jiang, J. Chen, M. Anand, D. E. Kim, K. Tono, M. Yabashi, M. Yao, H. Kono, Femtosecond Charge and Molecular Dynamics of I-containing organic molecules Induced by Intense X-Ray Free-Electron Laser Pulses, Ultrafast Imaging of Photochemical Dynamics: Faraday Discussion, September, 1, 2016, Edinburgh, United Kingdom (招待講演)

Y. Takahashi, M. Kanno, N. Hishinuma, K. Nakamura, K. Nagaya, H. Fukuzawa, S. Ohmura, K. Ueda, H. Kono, Simulation of XFEL-induced Coulomb explosion: Momentum correlations and energy distributions of fragment ions of multiply charged 5-iodouracil, 第32回化学反応討論会, June, 1, 2016, 大宮ソニックシティ, さいたま市大宮

及川 啓太, 菱沼 直樹, 菅野 学, 木野 康志, 秋山 公男, 河野 裕彦, 12塩基対二本鎖DNAの鎖切断過程: 溶媒中のカウンターカチオンの効果, 第19回理論化学討論会, 2016年5月24日, 早稲田大学, 東京

菱沼 直樹, 石母田 和樹, 及川 啓太, 菅野 学, 木野 康志, 秋山 公男, 河野 裕彦, DNA鎖切断の化学反応動力学シミュレーション, 第19回理論化学討論会, 2016年5月23日, 早稲田大学, 東京

Hirohiko Kono, Naoki Hishinuma, Keita Oikawa, Kazuki Ishimoda, Manabu Kanno, Yasushi Kino, Kimio Akiyama, Reaction dynamics simulation of DNA strand breaks: Analysis based on atom resolved energy and charge, Molecules and Laser Fields - An Honorary André Bandrauk Symposium, May, 5, 2016, Orford, Canada, (招待講演)

及川 啓太, 菱沼 直樹, 菅野 学, 木野 康志,

秋山 公男, 河野 裕彦, 短鎖モデルDNAの鎖切断過程: 化学反応動力学による解析, 日本化学会第96春季年会, 2016年3月24日, 同志社大学 京田辺キャンパス, 京都

Hirohiko Kono, Naoki Hishinuma, Manabu Kanno, Yasushi Kino, and Kimio Akiyama, Molecular dynamics simulation of the strand break processes in model DNAs: Analysis of electron and energy transfer, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (PACIFICHEM 2015), Dec.19, 2015, Honolulu, Hawaii (招待講演)

河野 裕彦, ナノ・バイオ分子の動力学: 分子ペアリング内部回転とDNA鎖切断, 第6回CMSI研究会, 2015年12月7日, 東京大学, 東京

菱沼 直樹, 菅野 学, 木野 康志, 秋山 公男, 河野 裕彦, 化学反応動力学によるDNA鎖切断過程の探索: 電荷・振動エネルギー解析, 第5回CSJ化学フェスタ2015, 2015年10月15日, タワーホール船堀, 東京

H. Kono, N. Hishinuma, M. Kanno, Strand Breaks in Model DNAs Induced by the Charge and Energy Transfer among Nucleotides, 6th Japan-Czech-Slovakia International Symposium on Theoretical Chemistry, Oct. 12, 2015, Smolenice Castle, Slovakia (招待講演)

N. Hishinuma, M. Kanno, Y. Kino, K. Akiyama, H. Kono, DNA strand break caused by charge and vibrational energy transfer between nucleotides: Reaction dynamics approach, 第59回放射化学討論会, 2015年9月25日, 東北大学, 仙台
菱沼 直樹, 菅野 学, 木野 康志, 秋山 公男, 河野 裕彦, モデル二本鎖DNAにおける鎖切断過程の電荷・エネルギー移動解析, 第9回分子科学討論会, 2015年9月17日, 東京工業大学大岡山キャンパス, 東京

H. Kono, An Atom Resolved View of Chemical Reactions: Application to Nanocarbons and Model DNAs, 第31回化学反応討論会, June, 5, 2015, 北海道大学, 札幌 (招待講演)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河野 裕彦 (KONO, Hirohiko)
東北大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号：70178226

(2) 研究分担者

木野 康志 (KINO, Yasushi)
東北大学・大学院理学研究科・准教授
研究者番号：00272005

(3) 連携研究者

秋山 公男 (AKIYAMA, Kimio)
東北大学・多元物質科学研究所・准教授
研究者番号：10167851

関根 勉 (SEKINE, Tsutomu)
東北大学・高度教養教育・学生支援機構・
教授
研究者番号：20154651

菅野 学 (KANNO, Manabu)
東北大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号：30598090