

令和 4 年 5 月 17 日現在

機関番号：53203

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K11650

研究課題名(和文) 量子化学/分子動力学計算によるDNA損傷の分子解離確率論的計算モデルの構築

研究課題名(英文) Development of a stochastic DNA damage model with a molecular dynamics calculation

研究代表者

阿蘇 司 (Aso, Tsukasa)

富山高等専門学校・その他部局等・教授

研究者番号：30290737

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、量子化学・分子動力学計算による知見を組み込んだDNA損傷の確率的モデル開発として、Geant4-DNAを基盤とするシミュレーションのフレームワークの構築と、それを用いたトリチウムによるDNA損傷の評価を行った。プロテインデータベースが提供するDNA構造を利用し、本研究でのシミュレーション手法により直接作用と間接作用の双方を評価できた。DNA損傷のSSB/DSB比は、先行研究一致することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

トリチウムは、原子力発電施設の処理水に含まれており除去が不可能な放射性元素です。本研究ではトリチウムの内部被曝を評価することを目指して、その発端となるDNA損傷が生じる可能性を評価するためのシミュレーションを開発しました。DNA損傷には、放射線が直接影響を与える直接作用と、放射線により生じたラジカルが与える間接作用があります。シミュレーションは、これらの作用の割合等を求めることができます。将来的に、例えば間接作用を低減させる放射防護剤などの検討評価などへの応用が期待されます。

研究成果の概要(英文)：In this study, a Monte Carlo simulation framework based on Geant4-DNA was developed, for the purpose of evaluating DNA damages by using a stochastic model. The simulation imports DNA models from the proton data bank and is capable of simulating both the direct and the indirect DNA damages. We focused on tritium-induced DNA damages and verified that the ratio of single-strand breaks to double-strand breaks is consistent with the results of previous studies.

研究分野：計算科学,放射線物理

キーワード：モンテカルロシミュレーション Geant4-DNA トリチウム 分子動力学計算 量子力学計算

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 放射線による生体細胞影響は、放射線医療や被曝管理において重要であるが、経験的な数理モデルが用いられている。更に詳細な知見を得るために、物理化学の側面から原子分子レベルでの評価が求められている。

(2) 放射線による DNA 損傷は、DNA 分子への物理作用(直接作用)とラジカルによる化学作用(間接作用)により生じる。近年、放射線による水中の物理反応とラジカル発生及びその拡散を計算可能なモンテカルロシミュレーションが開発された。このシミュレーションを拡張することによって、原子分子レベルで DNA 損傷を評価可能な計算モデルの構築が期待されている。

2. 研究の目的

(1) 原子分子レベルでの DNA 損傷の確率論的計算モデルを設計構築する。これにより、直接作用や間接作用によって DNA 鎖切断に至る反応パラメータを評価可能なシミュレーションフレームワークを開発する。

(2) 開発したシミュレーションフレームワークによる計算に基づいて DNA 鎖切断を評価する。先行研究論文との比較や分子動力学計算/量子化学計算による知見を導入した評価を行い、開発したシミュレーションの妥当性を検証する。

(3) 放射性同位体元素が DNA 分子内の元素と置換されて鎖切断が生じる可能性がある。特にトリチウムは DNA の水素と置換される可能性があり、同位体効果が顕著である場合には、トリチウムによる置換の確率を導入する必要がある。そのため同位体置換の可能性を実験と量子力学計算を用いて調査する。

3. 研究の方法

(1) 原子分子レベルでの DNA 損傷を評価するためのシミュレーション開発を、Geant4-DNA[1]を用いて行った。Geant4-DNA は、放射線と水との電磁相互作用及び水の放射化学に基づく化学作用の計算を行うことができる。原子分子レベルでの DNA 損傷を扱うために、Protein Data Bank (PDB) が提供する 2 重螺旋 DNA 分子の原子構造を読み込み、その原子配置を DNA 損傷判定に利用する。但し、シミュレーション体系は一樣な水とし、計算によって得られた放射線の付与エネルギー、あるいはラジカルの位置座標と DNA の構成原子の位置座標との対応付けを行って、DNA 損傷の発生並びに損傷箇所を判定する。DNA 損傷の候補となる反応点の具体的な要件は、直接作用においては放射線によるエネルギー付与が 8.22 eV 以上であることとし、間接作用においては放射線により生じたラジカル種の拡散と反応を追跡して 2.5 ns 経過した時点で存在する OH ラジカルとした。この 2.5 ns は細胞内での OH ラジカルと DNA 分子との平均反応時間とされている。これらの反応点の座標と DNA 分子を構成する原子の座標との距離を計算し、反応点が原子の Van der Waals 半径内にあり、かつ最も距離が近い原子が損傷箇所であると見なした。DNA の構成原子のうち、損傷箇所が塩基を除く、リン酸基または五炭糖である場合、鎖切断(Strand break, SB)と見なす。DNA の 2 重螺旋構造の双方に SB があり、SB が 10 塩基ペア以内であるとき二本鎖切断(Double strand break, DSB)とし、DSB 以外の単独または片方の DNA 鎖にある反応点は、一本鎖切断(Single strand break, SSB)と見なした。

本研究では、低エネルギー電子を放出するトリチウムによる DNA 損傷を評価した。トリチウムの壊変で放出されるベータ線の平均エネルギーは 5.7 keV、飛程は 0.57 μm である。トリチウム水からトリチウム単体を分離することは不可能であり、摂取した場合には内部被曝となる。シミュレーションでは、PDB の DNA 構造を囲むバウンディングボックスを設け、その内部にトリチウムをランダムに配置して Geant4 の G4RadioactiveDecay 物理プロセスによってベータ壊変をさせた。ベータ線の電磁相互作用と水の放射化学作用は、Geant4-DNA の G4EmDNAPhysics_option2 と G4EmDNAChemistry_option3 を用いた。ラジカルの拡散及び化学反応は、Geant4-DNA の Independent Reaction Times method (IRT)を用いている。

(2) 開発したシミュレーションでの原子分子レベルを考慮した DNA の SB 判定方法とその結果を検証するために、異なる手法を用いた Forster らの報告[2]を参照して円筒形に簡略化した DNA 構造モデルでの解析を行なって比較した。このモデルでは、直接作用は半径 1.3 nm、間接作用は半径 1.0 nm の円筒形の内部を損傷に至る反応範囲とする。その反応範囲内に、直接作用では 10.79 eV 以上のエネルギー付与がある場合、間接作用ではラジカル発生後の 2.5 ns 後に OH ラジカルがある場合を SB 条件としている。但し、Geant4-DNA シミュレーションで得られたこれらの反応点は、解析時に complete linkage method を用いてクラスタ化し、反応範囲となる円筒形領域をクラスタと対応付けて判定を行う。円筒形領域内の反応点は、測定や計算に基づいてあらかじめ設定された確率に従って SB 判定を行う方法が取られている(直接作用は 11%、間接作用は

約 20%)。本研究のシミュレーションで得られた SSB/DSB 比を Forester らの結果と比較して検証を行なった。

(3) 間接作用は OH ラジカルによる DNA 分子の水素引き抜き反応を発端として、DNA 鎖切断に至ると考えられている。Balasubramanian による報告 [3] によれば、OH ラジカルの反応割合は、DNA 鎖構造の水素原子の溶媒接触面積 (Solvent-accessible surface area, SASA) に依存するとされている。更に、Yonetani らは分子動力学計算を用いた DNA 構造の動的な変化を考慮した SASA-MD 並びに溶媒中分子の水素原子へのアクセス数を評価している [4]。本研究のシミュレーションにおいても OH ラジカル反応に起因する SB 数について、これらの先行研究結果との比較により検証した。

(4) 同位体効果の可能性を調査するために、構造が簡素なグリシンを重水(D₂O)に溶解して Co-60 のガンマ線を最大 10 kGy まで照射した。放射線照射によって二重水素(D)のラジカルが生成され、グリシン上の水素(H)が D に置き換わる反応を調査する。試料は照射後に乾燥させて赤外線吸収スペクトルを計測する。また、量子力学計算 GAMESS を用いてグリシン上の H を D に置換した場合の基本振動を求め、計測結果と比較して置換箇所を特定する。更に GAMESS を用いて、各箇所での置換が生じた場合の自由エネルギーを計算して同位体効果の寄与の可能性について考察した。

4. 研究成果

(1) Geant4-DNA を利用して原子分子レベルでの DNA 損傷を評価するためのシミュレーション開発を行なった。PDB の二重螺旋構造を持つ B-DNA の構造データを読み込み、解析を行なっている。また、IRT を採用することにより 10⁶ 回のトリチウム壊変の計算を 50 スレッドの計算機を用いて 2 時間程度で行えるようになった。

(2) 本研究で開発したシミュレーション手法と Forster らの手法を、トリチウムのベータ線によって生じる DNA 損傷の観点で比較した。SSB/DSB 比は、Forster らの手法では 28.4、本研究の手法では 28.8 となり良く一致する結果が得られた。

(3) OH ラジカルによって生じる DNA 反応サイトの割合と SASA との関係を図 1 に示す。SASA 値は、Balasubramanian らの値を用いた。本シミュレーションでは、OH ラジカルと DNA 分子との分子動学的相互作用は考慮されないため、水素引き抜き反応を直接評価することはできない。そこで、損傷箇所の原子が含まれる DNA サイトで水素引き抜き反応が起きたと仮定した。つまり、1'から 5'の水素について、1' (H1', C1'), 2' (H2', H2'', C2'), 3' (H3', O3', C3'), 4' (H4', O4', C4'), 5' (H5', H5'', O5', C5', and P, OP1, OP2)の範囲の損傷が帰属するものとした。図 1 より、それぞれの DNA サイトでの反応割合は、Balasubramanian らの測定値と誤差の範囲で一致していることが確認できた。

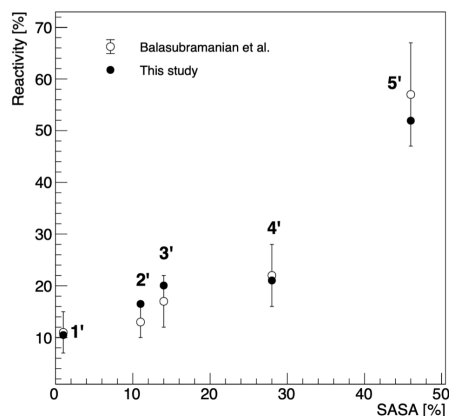


図 1 反応サイトと溶媒接触面積の関係

(4) 重水に溶解したグリシンにガンマ線照射を行なった後、赤外線吸収スペクトルの測定結果から、2340 cm⁻¹から 2370 cm⁻¹の領域でスペクトル変化が観測された。GAMESS による量子化学計算では、基本振動は、C-D は 2330 cm⁻¹ ~ 2340 cm⁻¹, N-D は 2660 cm⁻¹ ~ 2675 cm⁻¹, O-D は 2660 cm⁻¹ であることから、実験で得られたスペクトル変化は、C-D 振動である。また GAMESS を用いて、C₂H₅NO₂ + D₂O ⇌ C₂H₄DNO₂ + HDO の自由エネルギーを求めて平衡定数を評価したところ、O-D、N-D の生成は僅かに安定する方向の反応であるものの、C-D の生成に至る反応は同位体効果が駆動する置換反応ではないことがわかった。

(引用文献)

- [1] S. Incerti et al., Med. Phys., 45, 2018, e722-e739.; M.A. Bernal et al., Phys. Med. 31, 2015, 861-874.; S. Incerti et al., Med. Phys. 37, 2010, 4692-4708.; S. Incerti et al., Int. J. Model. Simul. Sci. Comput. 1, 2010, 157-178.
- [2] J.C. Forster et al., Radiat. Res. 190, 2018, 248-261.
- [3] B. Balasubramanian, W.K. Pogozelski, T.D. Tullius, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 1998, pp.9738-9743.
- [4] Y. Yonetani, H. Nakagawa, Chem. Phys. Lett., 749, 2020, 137441.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 T. Aso, W. Takase, T. Sasaki | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Galet - Geant4 Based Application Templet for Primers | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Transactions on GIGAKU e-journal | 6. 最初と最後の頁 1-11 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件/うち国際学会 4件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 T.Aso, M.Hara, Y.Hirano |
| 2. 発表標題 Study on the DNA-damage by Tritium using Geant4-DNA simulation |
| 3. 学会等名 The 61st Annual Conference of Japanese Society for Medical and Biological Engineering（国際学会） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 T. Aso, Y. Hirano, M. Hara, S. Fujiwara |
| 2. 発表標題 Geant4-DNA Based Monte Carlo Simulation to Study Tritium-induced DNA Damage |
| 3. 学会等名 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference（国際学会） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 T. Aso, M. Hara, S. Fujiwara, Y. Hirano |
| 2. 発表標題 Geant4-DNA based Monte Carlo simulation and its prospects to verify DNA-level experiments |
| 3. 学会等名 International Symposium on Radiation Safety and Detection Technology (ISORD-10)（国際学会） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 阿蘇司, 岡本雅生 |
| 2. 発表標題 Geant4-DNAを用いたDNA損傷モデル評価のためのシミュレーション開発 |
| 3. 学会等名 日本物理学会北陸支部定例学術講演会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 阿蘇司 |
| 2. 発表標題 モンテカルロシミュレーションツールキットとそのアプリケーション開発例 |
| 3. 学会等名 日本原子力学会「2019年秋の大会」(招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 T.Aso, S.Okada, T.Sasaki |
| 2. 発表標題 Introduction to Geant4 and Geant4-DNA |
| 3. 学会等名 The 37th JSST Annual International Conference on Simulation Technology (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-----------|---|--|----|
| 研究 分担者 | 原 正憲 (Hara Masanori) (00334714) | 富山大学・研究推進機構 水素同位体科学研究センター・准教授 (13201) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|---|----|
| 研究分担者 | 藤原 進 (Fujiwara Susumu) (30280598) | 京都工芸繊維大学・材料化学系・教授 (14303) | |
| 研究分担者 | 平野 祥之 (Yoshiyuki Hirano) (00423129) | 名古屋大学・医学系研究科（保健）・准教授 (13901) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |