

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：14303

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19845

研究課題名（和文）トリチウム被曝の第三要素「壊変効果」の分子シミュレーションによる解明

研究課題名（英文）Elucidation of the third element of tritium exposure, "decay effect", by molecular simulation

研究代表者

藤原 進（FUJIWARA, Susumu）

京都工芸繊維大学・材料化学系・教授

研究者番号：30280598

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：トリチウム被曝の第三要素「壊変効果」に着目し、置換トリチウムの壊変によるDNA損傷の分子機構を分子シミュレーションにより解き明かすことを目指して、トリチウムの置換部位を特定するための分子動力学（MD）計算を行った。その結果、水分子とOHラジカルとでは、DNAの糖水素へのアクセシビリティが大きく異なることが明らかになった。また、MD計算で得られたトリチウムの置換部位に関するデータをGeant4-DNAに実装することにより、間接作用による鎖切断の判定条件の妥当性を検討できることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

福島での原発事故において、トリチウムを含む大量の汚染水の処理が社会的関心を集めている。トリチウム被曝においては、第三の要素「壊変効果」が存在するにも関わらず、これまで見落とされてきた。従来見落とされていた壊変効果の分子メカニズムを分子シミュレーションにより解き明かすことを目的とした本研究の成果は、生体の放射線被曝に関する理解の新展開に繋がるという学術的意義だけでなく、生体への放射線影響解析の今後の方向性を大きく変革し得るといった社会的な意義も有する。

研究成果の概要（英文）：Focusing on the third element of tritium exposure, "decay effect", we performed molecular dynamics (MD) calculations to identify the substitution site of tritium, aiming to elucidate the molecular mechanism of DNA damage by β -decay of substituted tritium through molecular simulations. The results show that the accessibility of DNA to sugar hydrogens differs significantly between water molecules and OH radicals. It was also found that the data on the substitution site of tritium obtained from MD calculations can be implemented in Geant4-DNA to examine the validity of the conditions for determining strand breakage by indirect action.

研究分野：環境学

キーワード：分子動力学シミュレーション 反応力場 トリチウムの壊変効果 DNAの水和構造 OHラジカル Geant4-DNA

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

福島での原発事故においてトリチウムを含む大量の汚染水の処理が社会的関心を集めている。トリチウムは、原子核が陽子1つと中性子2つから構成される水素の放射性同位体であり、半減期12.3年で極低エネルギーβ線を放出し、放射性壊変によりヘリウム3となる。トリチウムから放出されるβ線の飛程は短いため、人体に対する影響としては外部被曝が問題となることはほとんどなく、内部被曝に対する防護が重要となる。しかし、その損傷の分子メカニズムは、いまだ未解決の問題である。

X線、γ線、中性子線、α線、β線などの電離放射線が、突然変異や細胞死などの生物学的影響を引き起こすことは、よく知られている。電離放射線の生物学的影響に関する広範囲に渡るこれまでの実験及びシミュレーション研究から、DNAが電離放射線障害の重要な標的分子であることが明らかになってきた。一方、トリチウム水として体内に取り込まれたトリチウムの一部は、DNA中の水素に置換されることがあるが、その置換の機構は明らかになっていない。これまでDNAへの放射線の影響は、放射線がDNAに直接ヒットし、分子構造を破壊する直接作用と放射線誘起フリーラジカルや活性酸素がDNAを攻撃し破壊する間接作用の2つの作用のみで評価されてきた。物質中における様々な放射線挙動を調べるために広く開発・検証されてきたモンテカルロ(MC)シミュレーションコードGeant4-DNA (<http://geant4-dna.org/>)やPHITS (<https://phits.jaea.go.jp/indexj.html>)においても、直接作用と間接作用の両効果のみが取り入れられている。トリチウムの生体への影響についても、上記同様、直接作用と間接作用のみで評価されてきた。しかしながら、トリチウム被曝においては、第三の要素として、DNA中の軽水素に置換したトリチウムがβ壊変によりヘリウム3となり、化学結合が切断されて脱離する「壊変効果」が存在するにも関わらず、これまで見落とされてきた。

共同研究者との意見交換により、トリチウムの壊変効果を解明するためには、DNA中のトリチウムの置換部位を特定し、置換トリチウムのβ壊変によるヘリウム3の脱離後の化学結合を適切に取り扱うことが重要であるという認識に至った。そこで、生体分子の分子動力学(MD)計算・反応力場(ReaxFF)MD計算、水和MD計算、Geant4-DNAによるMC計算の経験豊富な研究者を組織し、(1)トリチウムの置換部位を特定するためのMD計算、(2)DNAの壊変効果を解析するためのReaxFF MD計算、(3)その結果のGeant4-DNAへの実装、によりトリチウムの壊変効果を解明するという研究構想に至った。なお、DNAに対するトリチウムの壊変効果を調べる前の予備研究として、高分子鎖に対するトリチウムの壊変効果を、MD計算及びReaxFF MD計算で解析した。その結果、高分子鎖の構造安定性の低下や鎖切断などの化学結合の変化を確認した。このことは、トリチウムの壊変効果は今まで取り組まれていなかったが、実は無視できないほどに大きな影響を及ぼす可能性があることを示している。

2. 研究の目的

本研究では、トリチウム被曝の第三要素「壊変効果」に着目し、置換トリチウムのβ壊変によるDNA損傷の分子メカニズムを分子シミュレーションにより解明することを目的とする(図1)。従来見落とされていた壊変効果の理解は、生体の放射線被曝に関する理解の新展開に繋がるものである。また、生体への放射線影響解析の今後の方向性を大きく変革する可能性を秘めている。

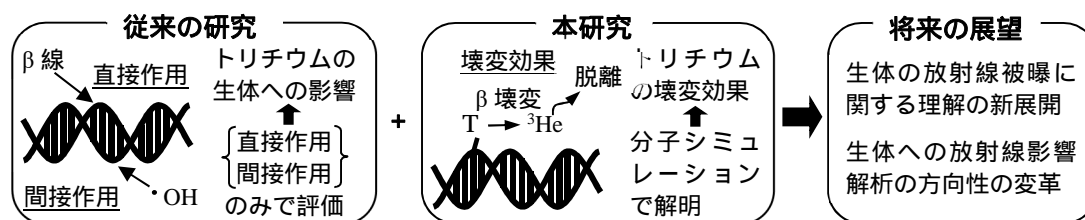


図1. 本研究の目的

3. 研究の方法

置換トリチウムのβ壊変によるDNA損傷の分子メカニズムを明らかにするため、本研究では次の(1)~(3)の研究項目を並行して遂行する。

- (1) MD計算によるDNAの水和構造解析
- (2) ReaxFF MD計算によるDNAの壊変効果の解析
- (3) Geant4-DNAへのデータ・MC計算実装

本研究では、トリチウムの置換部位を特定するためのMD計算とDNAの壊変効果を解析するためのReaxFF MD計算を組み合わせることにより、置換トリチウムの壊変効果を解き明かす。さらに、置換トリチウムと壊変効果をGeant4-DNAに導入し、大規模DNA構造評価への開発を進める。DNA中のどの水素原子がトリチウムに置換されやすいのかを特定するためには、水分子やOHラジカルのアクセスしやすいDNA反応サイトを解析する必要がある。項目(1)では、MD

計算により DNA の水和構造を解析し、トリチウムの置換部位の特定を行う。置換されたトリチウムは β 壊変によりヘリウム 3 に変化するが、ヘリウム 3 は安定であるため化学結合が切断されて脱離する。項目(2)では、ヘリウムが脱離した後、DNA の構造がどのように変わるのかを調べるため、化学結合の切断や再結合といった化学反応を扱える ReaxFF MD 計算を行う。項目(3)では、項目(1)で得られたトリチウムの置換部位に関するデータ及び MC 計算を Geant4-DNA に実装する。計算ソフトは、MD 計算では Amber を、ReaxFF MD 計算では LAMMPS を用いる。

4. 研究成果

上記の研究項目(1)~(3)について、以下の成果が得られた。

(1) MD 計算による DNA の水和構造解析

DNA 水素原子の引き抜きのダイナミクスを分子レベルで解明するために、DNA の周りに水分子と OH ラジカルを配置した系の分子動力学シミュレーションを行い、リボースの各水素原子 (H1', H2', H2'', H3', H4', H5', H5'') への接近回数 (アクセシビリティ) の解析結果と実験で示された水素引き抜きの割合を比較した。DNA の力場は Amber22 の bsc1 力場を、水の力場は TIP3P 力場を用いた。OH ラジカルの各水素原子への接近回数と先行研究で測定された水素引き抜きの割合の関係を図 2 に示す。水素引き抜き反応が進行するには、水分子を形成するような角度 (正四面体角) で OH ラジカルが水素原子にアクセスする必要があると考えられる。しかしながら、そのような配置のみのカウントを行った結果 (図 2 の赤丸) 実験値からのずれが大きくなった。OH ラジカルによる水素引き抜きメカニズムの理解には、分子の形状とアクセスの角度に加えて、水素引き抜きの反応率を考慮する必要があることが分かった。

(2) ReaxFF MD 計算による DNA の壊変効果の解析

置換トリチウムのヘリウム 3 への壊変に伴う DNA の構造変化について、染色体の末端部に存在し特定の繰り返し塩基配列 (ヒトの場合は TTAGGG、T はチミン、A はアデニン、G はグアニン) を有するテロメア DNA (17 塩基対) を取り上げた。本研究では、17 塩基対すべてのリボースの 5' の位置の炭素と共有結合する 2 つの水素がヘリウムに壊変されたとして、ReaxFF MD 計算を行った。力場については、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) を用いて MD 計算を行った。図 3 に DNA のスナップショットを示す。この図から、共有結合の切断が起こることにより DNA が分割され、DNA の構造が崩れることが確認できた。

(3) Geant4-DNA へのデータ・MC 計算実装

間接作用による鎖切断は、主に DNA 分子と OH ラジカルの化学反応によって起こることが知られている。Geant4-DNA を用いたシミュレーションでは、各 OH ラジカルの拡散途中での捕捉効果をシミュレートする代わりに、細胞環境における捕捉能力を参照して、OH ラジカルが相互作用する寿命を 2.5 ナノ秒と仮定した。2.5 ナノ秒の拡散後、空間座標が DNA 骨格の原子のファンデルワールス半径内にあれば、OH ラジカルは DNA をヒットしたと見なした。また、Geant4-DNA では、OH ラジカルと DNA の水素との分子反応は考慮していないため、鎖切断は DNA 中の糖-リン酸基骨格の水素引き抜きに関連していると仮定し、DNA-OH ラジカル反応性を、各水素部位の鎖切断の合計から計算した。その結果、間接効果におけるリボース水素の引き抜きに伴う OH ラジカルの反応性を見積もることが可能となった。今後は、上記項目(1)で行う、リボースの各水素原子の水素引き抜きの割合のデータを Geant4-DNA に実装することにより、DNA-OH ラジカル反応性を精度良く見積もる予定である。

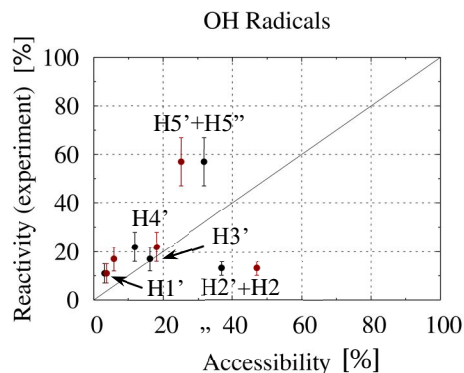


図 2 .OH ラジカルの各水素原子への接近回数 (横軸) と先行研究で測定された水素引き抜き反応の割合 (縦軸) の関係。赤丸は接近角度に条件 (正四面体角 $109^\circ \pm 10^\circ$) を課した場合、黒丸は接近角度に条件を課していない場合。

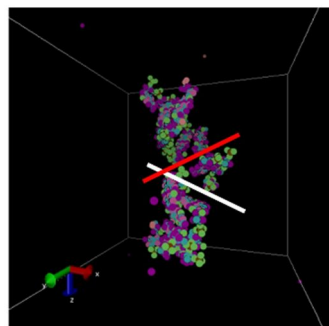


図 3 . 17 塩基対すべてのリボースの 5' の位置の炭素と共有結合する 2 つの水素がヘリウムに壊変された場合のテロメア DNA 構造のスナップショット。初期の二重らせん構造が崩れ、途中の赤と白の補助線のところで鎖が切れている様子が確認できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Hatano Yuji, Nakamura Hiroaki, Fujiwara Susumu, Saito Seiki, Kenmotsu Takahiro	4. 巻 51
2. 論文標題 Damages of DNA in tritiated water	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Enzymes	6. 最初と最後の頁 131 ~ 152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.enz.2022.08.009	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ryuta Kawanami, Susumu Fujiwara, Tomoko Mizuguchi, Yoshiteru Yonetani, Hiroaki Nakamura	4. 巻 -
2. 論文標題 Molecular dynamics study of microscopic mechanism of OH radical-induced DNA damage	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Conference Proceedings of the 41st JSST Annual International Conference on Simulation Technology (JSST 2022)	6. 最初と最後の頁 270 ~ 273
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kento Ishiguro, Hiroaki Nakamura, Shunsuke Usami, Susumu Fujiwara, Seiki Saito	4. 巻 -
2. 論文標題 Evaluation tolerance of DNA damaged by tritium beta decay using MD simulation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Conference Proceedings of the 41st JSST Annual International Conference on Simulation Technology (JSST 2022)	6. 最初と最後の頁 135 ~ 138
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tsukasa Aso, Masahara Hara, Yoshiyuki Hirano, Yoshiteru Yonetani, Susumu Fujiwara	4. 巻 -
2. 論文標題 Atomistic analysis of strand breaks of DNA in tritiated water using Geant4-DNA simulation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Conference Proceedings of the 41st JSST Annual International Conference on Simulation Technology (JSST 2022)	6. 最初と最後の頁 131 ~ 134
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Ishiguro, H. Nakamura, T. Yasunaga, S. Fujiwara, T. Mizuguchi, A. Nakata, T. Miyazaki, T. Kenmotsu, Y. Hatano, S. Saito and Y. Yonetani	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of tritium beta decay in deoxy-D-ribose on duplex of telomeric DNA	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Conference Proceedings of the 40th JSST Annual International Conference on Simulation Technology (JSST 2021)	6. 最初と最後の頁 352 ~ 355
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤原 進、波多野 雄治、中村 浩章	4. 巻 77
2. 論文標題 トリチウムによるDNA損傷のメカニズム 二本鎖切断の蛍光顕微鏡観察およびシミュレーション	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本物理学会誌	6. 最初と最後の頁 35 ~ 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11316/butsuri.77.1_35	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 中村浩章、藤原進、波多野雄治	4. 巻 97
2. 論文標題 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	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 プラズマ・核融合学会誌	6. 最初と最後の頁 561 ~ 567
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 無
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14件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 中村 浩章、石黒 健人、藤原 進、中田 彩子、波多野 雄治、齋藤 誠紀、安永 卓生、米谷 佳晃
2. 発表標題 トリチウム 崩壊を模擬したDNAテロメア構造の二重鎖切断の分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 日本物理学会2023年春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kento Ishiguro, Hiroaki Nakamura, Shunsuke Usami, Susumu Fujiwara, Yuji Hatano
2. 発表標題 Evaluation of the effect of tritium decay on the tolerance of DNA structure by MD simulation
3. 学会等名 The 31st International Toki Conference on Plasma and Fusion Research (ITC-31) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tsukasa Aso, Yoshiyuki Hirano, Masanori Hara, Yoshiteru Yonetani, Susumu Fujiwara
2. 発表標題 Study of damaged DNA sites by hydroxyl radical on the accessibility of deoxyribose hydrogen by using the Geant4-DNA based simulation
3. 学会等名 2022 IEEE Nuclear Science Symposium, Medical Imaging Conference and Room Temperature Semiconductor Detector Conference (2022 IEEE NSS-MIC-RTSD) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryuta Kawanami, Susumu Fujiwara, Tomoko Mizuguchi, Yoshiteru Yonetani, Tsukasa Aso and Hiroaki Nakamura
2. 発表標題 Molecular dynamics study of microscopic mechanism of OH radical-induced DNA damage
3. 学会等名 The 41st JSST Annual International Conference on Simulation Technology (JSST2022) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kento Ishiguro, Hiroaki Nakamura, Shunsuke Usami, Susumu Fujiwara and Seiki Saito
2. 発表標題 Evaluation tolerance of DNA damaged by tritium beta decay using MD simulation
3. 学会等名 The 41st JSST Annual International Conference on Simulation Technology (JSST2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中村 浩章, 石黒 健人, 宇佐見 俊介, 藤原 進, 波多野 雄治
2. 発表標題 トリチウム崩壊がDNA構造の耐性に与える影響のMDシミュレーションによる評価
3. 学会等名 第39回プラズマ・核融合学会 年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中村 浩章, 石黒 健人, 藤原 進, 齋藤 誠紀, 波多野 雄治
2. 発表標題 DNAへのトリチウム壊変効果影響評価についての分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 第14回核融合エネルギー連合講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川波 竜太, 藤原 進, 水口 朋子, 米谷 佳晃, 中村 浩章
2. 発表標題 OHラジカルによるDNA損傷メカニズムの分子動力学シミュレーション研究
3. 学会等名 量子生命科学会第4回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kento Ishiguro, Hiroaki Nakamura, Takuo Yasunaga, Susumu Fujiwara, Tomoko Mizuguchi, Ayako Nakata, Tsuyoshi Miyazaki, Takahiro Kenmotsu, Yuji Hatano, Shinji Saito, Yoshiteru Yonetani
2. 発表標題 Effect of tritium beta decay in deoxy-D-ribose on duplex of telomeric DNA
3. 学会等名 The 40th JSST Annual International Conference on Simulation Technology (JSST2021) (国際学会)
4. 発表年 2021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	中村 浩章 (NAKAMURA Hiroaki) (30311210)	核融合科学研究所・ヘリカル研究部・教授 (63902)	
研究分担者	阿蘇 司 (ASO Tsukasa) (30290737)	富山高等専門学校・その他部局等・教授 (53203)	
研究分担者	米谷 佳晃 (YONETANI Yoshi teru) (80399419)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・関西光科学研究所 光子科学研究部・主幹研究員 (82502)	

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
---------	---------