

文献「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」の紹介

2022年8月6日

三好 永作

核問題研究会

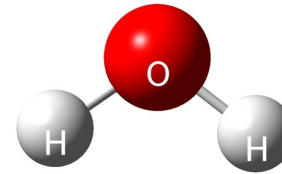
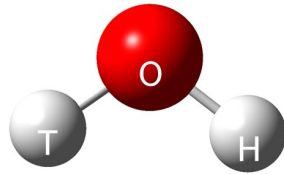
トリチウム水から生体有機分子 へのトリチウムの転移について

2021年7月31日

三好 永作

核問題研究会

水素・トリチウム交換反応

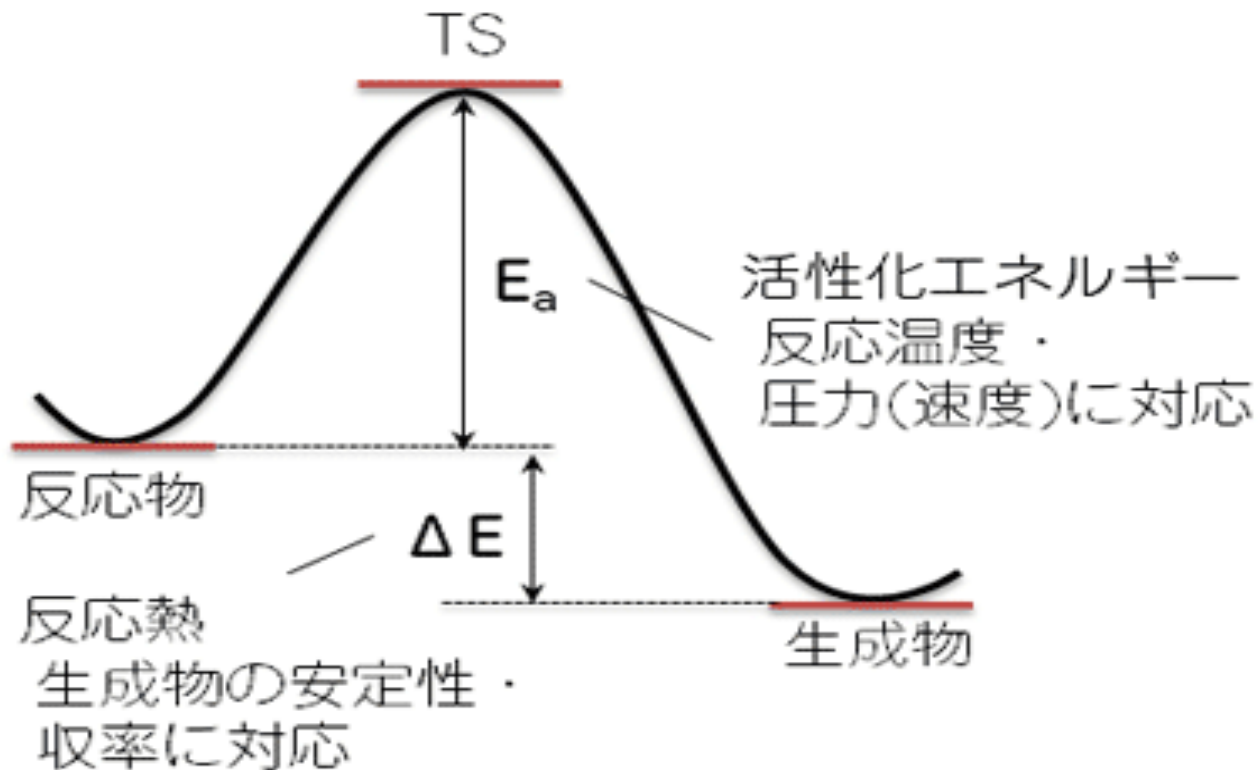


上の化学反応が進行すれば生体内の有機分子
(R-H) の中にトリチウムが取り込まれR-T
ができる。

このような化学反応はどのように進行するか

化学反応の進み方

化学反応が進むには、途中の峠を越えなければならない。
この峠のことを化学では、遷移状態（TS）という。出発点からの峠の高さを活性化エネルギーという。この高さが高ければ反応は中々進まないが、低ければ進み易い。



Udagawa & Tachikawa論文の紹介

T.Udagawa and M. Tachikawa, "Reaction mechanism of hydrogen-tritium exchange reactions between several organic and HTO molecules", RSC Adv. 8, 3878 (2018).

(抄録)

幾つかの小さな有機分子とトリチウム水分子 (HTO) の間のH-T交換反応のメカニズムを量子化学計算 (M06-2X/6-311++G(d,p)) を使い調べた. 第2のHTO分子を考慮した. H-T交換反応に対する有機分子の反応性は以下であった.



酢酸

エチルアルコール

メタン, エタン

アセトアルデヒド, アセトン, エチレン

まとめ

使用した量子化学計算 (M06-2X/6-311 ++G(d,p)) の結果がそれほど大きな誤差を含まないのであれば, この計算から有機分子とトリチウム水の間のH-T交換反応について以下のことが言える.

(括弧内の数値はkcal/mol単位の活性化エネルギー)

- (1) メタン(51), エタン(52), エチレン(46), アセトアルデヒド(33), アセトン(32)については, H-T交換反応は常温では起きない.
- (2) エチルアルコール(5.4)と酢酸(1.1)については, H-T交換反応は常温で起きる.

はじめに

文献：藤原進, 波多野雄治, 中村浩章「トリチウムによるDNA損傷のメカニズムー二本鎖切断の蛍光顕微鏡観察およびシミュレーション」日本物理学会誌77, 35-41 (2022)

トリチウムの β 壊変： $T \rightarrow {}^3\text{He} + e^{-}(\beta) + \bar{\nu}$

β 線の最大エネルギー：18.6 keV, 平均エネルギー：5.7keV

DNAへの放射線の影響

- ①直接作用：放射線のエネルギーがDNAに直接吸収されて障害を起こす
- ②間接作用：放射線誘起フリーラジカルや活性酸素がDNAを攻撃し損傷を与える
- ③壊変効果：DNA中の軽水素 (${}^1\text{H}$) に置換したトリチウムがヘリウム(${}^3\text{He}$)に壊変し化学結合が切断する. ここではこの問題に実験とシミュレーションから取り組んだ

蛍光顕微鏡での二本鎖切断定量評価

照射後観察法：切断されたDNAの長さを測定することで平均切断回数 N を次式で算出する方法

$$N = L_0 / L_{\text{ave}} - 1$$

L_0 ：切断前の長さ

L_{ave} ：切断後の平均長さ

長期間トリチウム水中にDNAを浸す必要があり，放射線以外の要因でDNAが切断されないことが重要．滅菌状態と水温が大切．

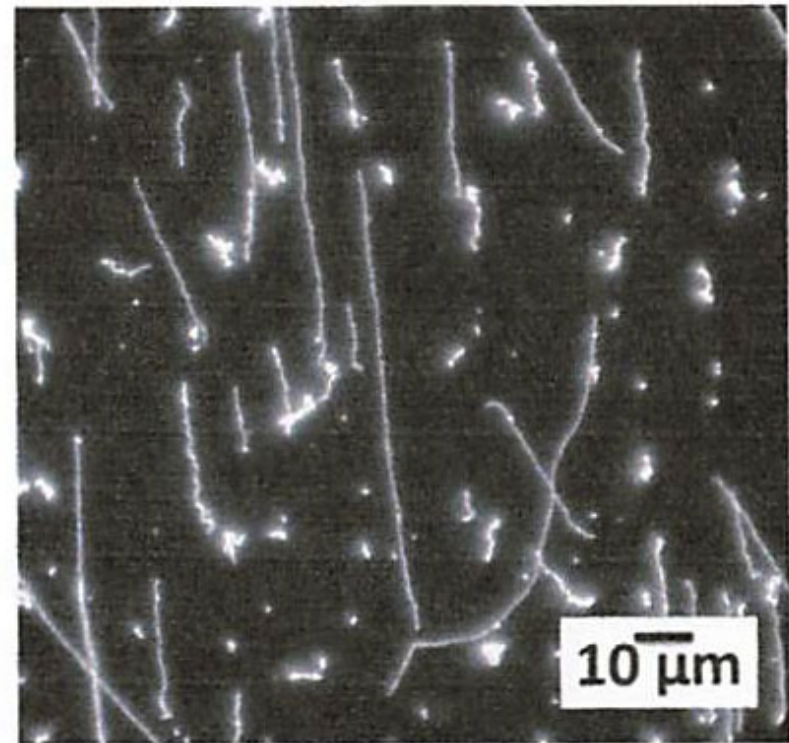


図1 T4 GT7 ゲノム DNA の典型的な蛍光顕微鏡画像.

T4 GT7 DNAの平均長さの経時変化

1.3 kBq/cm³, 5.2 MBq/cm³のトリチウム水および注射用水中のT4 GT7 DNAの平均長さの経時変化

- 5.2 MBq/cm³のトリチウム水中では速やかにDNA長さが減少しておりトリチウムのβ線でDNA二本鎖切断が起きている。
- 1.3 kBq/cm³のトリチウム水と注射用水の経時変化はほぼ同様にゆっくり減少している。これは熱運動や溶存酸素との反応などによる切断か
- 注射用水と5.2 MBq/cm³のトリチウム水中の14日後のNは、それぞれ0.6, 3.1となり、β線でのDNA二本鎖切断は2.5回となる。14日間のβ線照射量は5.7 Gyなので、切断速度は1Gyあたり0.4DSB (double-strand break)となる。

T4 GT7 DNAの初期長さ：57 μm

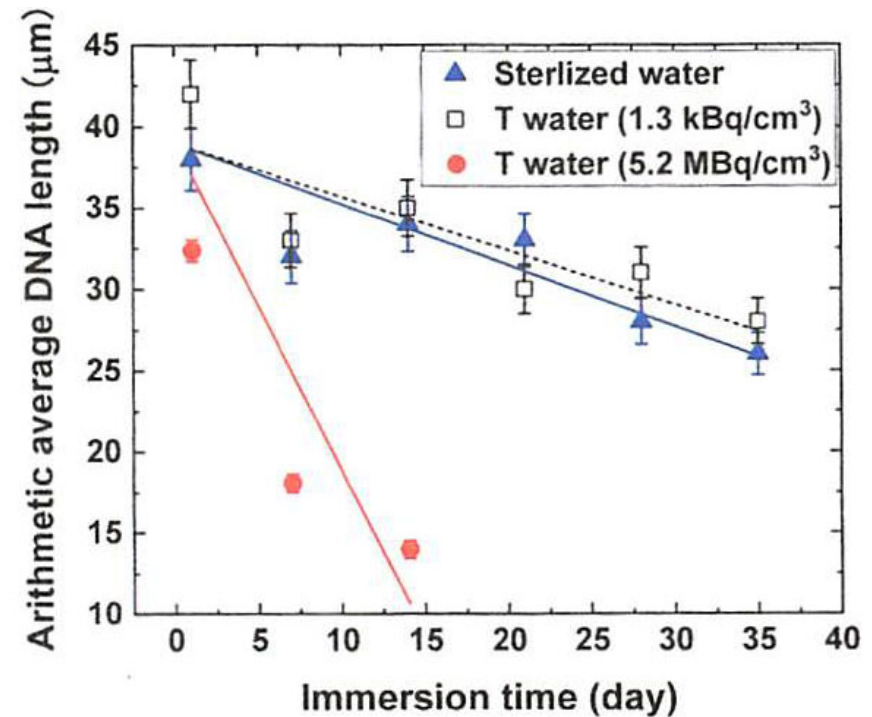


図2 注射用水、1.3 kBq/cm³および5.2 MBq/cm³のトリチウム水中におけるT4 GT7 DNAの平均長さの経時変化。

壊変効果による構造変化 高分子

置換トリチウムがヘリウムに化学結合が切断され構造変化が起きる. その様子を分子動力学(MD)シミュレーションで再現する

- 2998個のCH₂基と両端のCH₃基からなる直線状高分子.
- 800Kから300Kまでゆっくり冷却し, 折りたたまれた配向秩序構造を確認.
- 置換トリチウムが壊変したモデルとしてランダムにCH₂基(sp³)をCH基(sp²)に変えた. 変えた基の数は0, 3, 30, 300 ($f_H=0, 0.001, 0.01, 0.1$)
- 300Kから550Kまで5K/nsの速度で, さらに800Kまで5K/nsの速度で昇温. 各温度で1nsずつMDシミュレーションを実行 (3回行った)
- 650Kから700Kの間で無秩序構造に変化

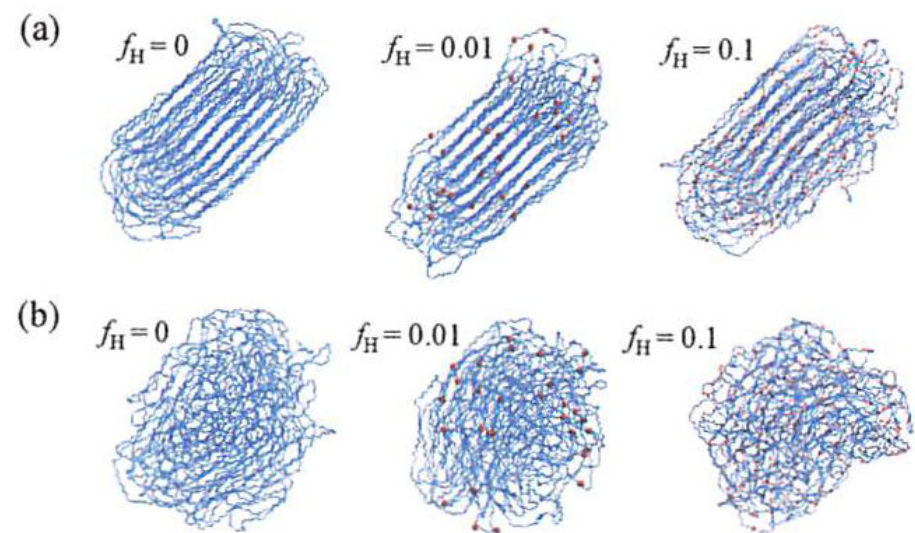


図4 各 f_H に対するポリエチレン1本鎖のスナップショット. (a) 650 K, (b) 700 K. 力場はDREIDING力場.²⁹⁾ 青: CH₂粒子, 赤: CH粒子. 図は, 文献25より改変.

650Kと700Kでのスナップショット

壊変効果による構造変化 DNA

タンパク質-DNA複合体構造からタンパク質を取り除いたテロメア二重らせんDNAの3次元構造をモデルとして採用（テロメア：「末端部分」）

- ・ 17個の塩基配列からなるテロメアDNA (1078原子), 71000個の水分子, 121個の Na^+ , 89個の Cl^- で系を構成
- ・ CHARMM力場, 系の圧力は1気圧, 温度は290K (or 310K)になるように調整
- ・ グアニンのアミノ基 (NH_2) の2つの水素がトリチウムに置換し β 壊変した場合 (Γ) を考える
- ・ β 壊変したグアニンの個数をNとする

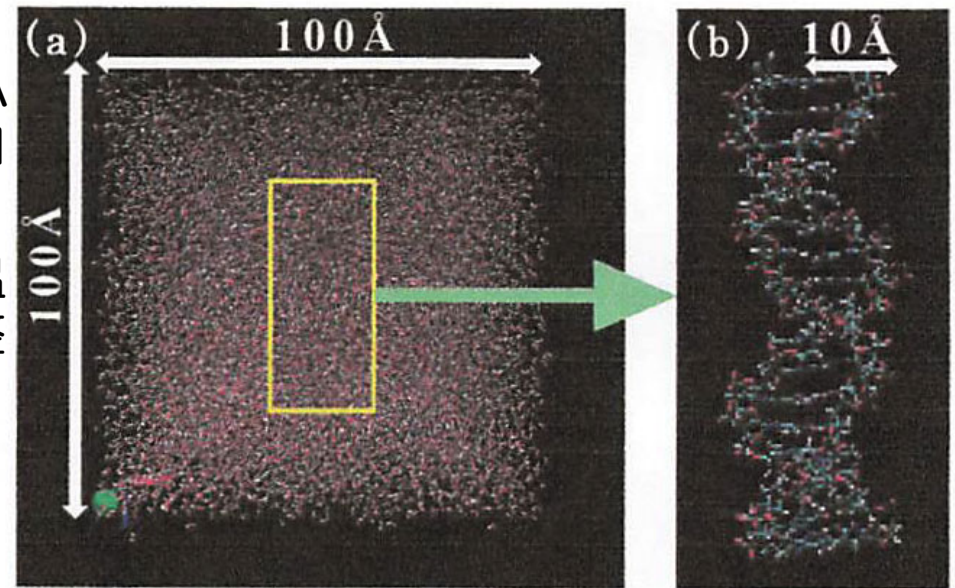


図7 (a) シミュレーションモデル, 初期のシミュレーションボックスは $100 \text{ \AA} \times 100 \text{ \AA} \times 100 \text{ \AA}$. (b) 初期のテロメアDNAの構造.

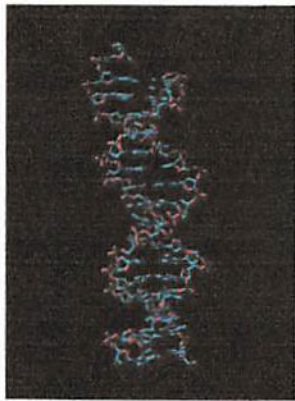
シミュレーションモデルと初期のテロメアDNAの構造

壊変効果による構造変化 DNA (2)

- β 壊変したグアニンの個数を N とする

$$\text{RMSD}(t) = \left[\frac{1}{n_0} \sum_{i=1}^{n_0} |\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(0)|^2 \right]^{1/2}$$

(a) 310K, $N=0$
4ns



(b) 310K, $N=8$
4ns

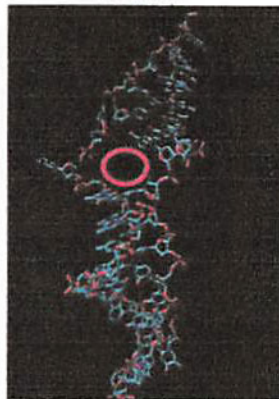


図8 DNA構造の時間発展の様子。温度 $T=310$ K. (a) もともとのテロメアDNA ($N=0$) の場合は、構造に揺らぎはあるものの、鎖間の距離はほとんど変わらない。(b) $N=8$ 個の壊変グアニン (Γ) の場合、時間が経つにつれ、鎖間の隙間 (赤円) が広がる。図は、文献37より改変。

- $N=0$ の時には鎖間の距離はほとんど変わらない
- $N=8$ の時には鎖間の隙間が広がる

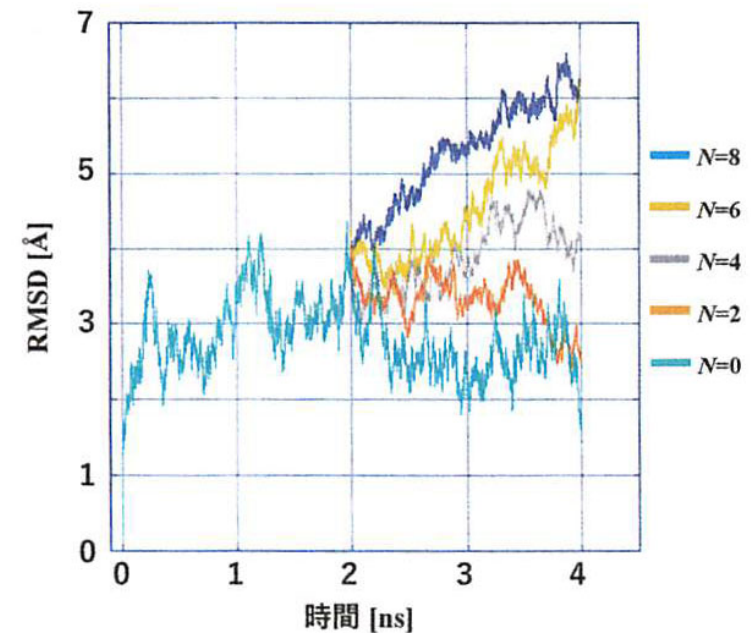


図9 テロメアDNAの平均二乗偏差 (RMSD) の時間発展。温度 $T=310$ K. 壊変グアニンの数 N が多くなるほど、RMSDが大きくなる。これは、 β 壊変が進むほど、テロメアDNAの二重らせん構造が崩れることを意味する。

- 平均二乗偏差 (RMSD) は N が大きいほど大きくなる

まとめ

- (1) 蛍光顕微鏡によるDNA二本鎖切断定量評価法により,
MBq/cm³程度の高濃度トリチウム水中では, 非トリチウム
水中と比べてDNA二本鎖切断が速やかに起こることが明らかになった.
また, 1kBq/cm³程度の濃度では有意な照射効果が見られないことが確認された.
- (2) DNAのMDシミュレーションを行うことで, グアニン
のアミノ基 (NH₂) の水素が除去されることにより, 水素
結合が消失し二重らせん構造が壊れる様子が明らかになった.