

DNAの鎖切断: 反応動力学と電子論

(東北大院理)河野 裕彦

【序】 DNA が放射線損傷を受けると、核酸塩基の脱離や二量体化、DNA 鎖切断が起こることが知られている。これらは塩基配列の転写において問題となり、人体に発ガンなどの悪影響を及ぼす。DNA の損傷は、放射線のエネルギーが標的 DNA に直接吸収されて障害をおよぼす直接作用と、エネルギーを吸収した他の分子が DNA と反応して障害を及ぼす間接作用に分けられる。間接作用の代表例は、放射線のエネルギーがまず水分子に吸収されて、ヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) などが生じ、それら活性種が水溶液中を移動して DNA に作用する過程である。直接作用では、DNA が励起あるいはイオン化し、その際発生するエネルギーによって DNA の共有結合が切れる。そのほか、Sanche らは、放射線の電離作用によって生成する二次電子のうち数 eV 程度の低エネルギー電子の付加で鎖切断が誘起されるという負イオン経由の機構を提案している[1]。

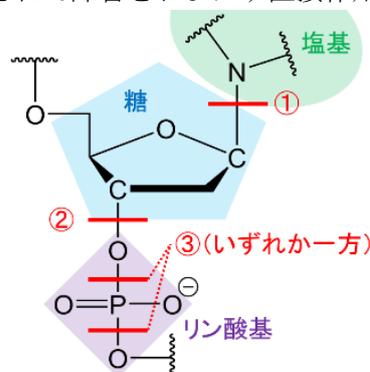


図 1 これまでに提案されている DNA の結合切断部位。①は塩基脱離、②と③は鎖切断。

これまでの実験や理論研究から、熱や放射線によって切断される DNA の結合は、①糖と核酸塩基の間の C-N 結合[2]、②糖とリン酸基の間の C-O 結合[2]、③リン酸基内の P-O 結合[3]の 3 箇所であることが示唆されている (図 1)。我々のグループも、熱励起後の DNA の鎖切断 (真空条件) の動力学シミュレーションを行い、①と②の切断を見出している[4]。しかしながら、ほとんどの理論研究では、DNA の周りのカウンターカチオンや溶媒 (タンパク質などを含む) の影響を考慮しておらず、現状では DNA 損傷の現実の機構を分子論的に議論するに至っていない。

本研究では、まず、DNA 鎖切断を分子論的に議論するため、放射線によるイオン化や引き続いて起こる分子ダイナミクスモデルを構築した。そのモデルに基づき、真空中あるいはカウンターカチオンや水分子に囲まれた DNA (4 から 12 塩基対の短鎖 DNA) に対して、DFT に近い精度で高速計算が可能な Density-Functional based Tight-Binding method (DFTB 法) [5,6]を使った化学反応動力学シミュレーション DFTB/MD を実行した。得られた結合切断や鎖切断の素過程を Mulliken 電荷とエネルギー移動の観点、つまり、反応の電子論と動力学の観点から解析した。エネルギー移動の解析には、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) を用いた[7]。以下に、DNA 損傷の直接機構のモデルとして、放射線による重原子の内殻イオン化後の多重オーグジュイオン化が引き起こす振動励起を提案し、それに基づいて得られた DNA 鎖切断のシミュレーションの結果、とくに、カウンターカチオンが直接関与する鎖切断の機構について報告する。

【内殻イオン化と分子ダイナミクス】近年、X 線自由電子レーザー (XFEL) が生み出す高強度のフェムト秒 X 線パルスが利用できるようになり、分子を標的とする様々な実験が行われるようになってきた。その一つが、一瞬にして電子をはぎ取られ多価イオン化した分子のクーロン爆発やその分子イメージングへの応用である。すで

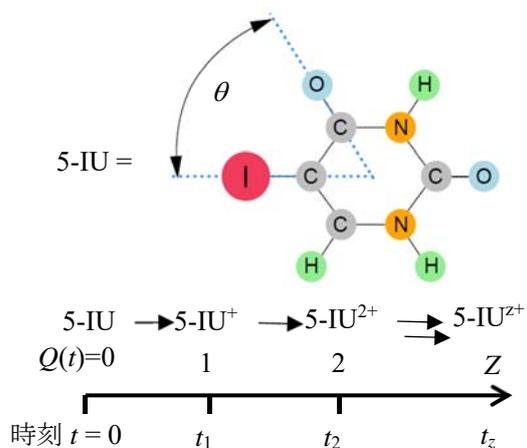


図 2 5-IU のオーグジュイ過程による逐次イオン化のモデル。価数 $Q(t)$ を最終の Z 価まで 1 価ずつ増やす。

に、放射線増感材として用いられるヨウ素のような重原子を持つ分子への適用が始まっている[8,9]。クーロン爆発の機構は、i)X線に敏感に反応する重原子の内殻イオン化やオーグマー過程を繰り返して分子が多価イオン化し、ii)重原子に局在した正電荷が分子全体に移動し、iii)余剰の分子振動エネルギーを生み出しながら、クーロン爆発によって原子イオンが放出される、というものである。ヨードメタンを標的とした実験では[8]、XFEL照射から約10 fsで+10価の電荷を持つ親カチオンが最も多く生成することが報告された。ヨウ素原子に内殻イオン化後の多重オーグマーイオン化によって生成した正電荷が、分子内を5 fsより短い時間で移動することが示唆された。図2に示した5-ヨードウラシル(5-IU)に対しても同様の実験が行われた[9]。我々は、内殻イオン化後の多重オーグマーイオン化と各イオン化に伴う振動エネルギー発生過程をモデル化し、クーロン爆発のDFTB/MD計算を行った[9]。得られたイオンフラグメントの運動エネルギー分布やフラグメント間の角度相関は、実験結果と一致した。5-IU¹⁰⁺では、クーロン爆発直前の運動エネルギーは、1原子あたり10 eV近くにも達していた。放射線によってリン原子の内殻イオン化がDNAで起こった場合、多重オーグマーイオン化とともに振動エネルギーが生まれ、高振動励起のDNAが生成すると考えられる。

【DNA鎖切断の反応動力学と分子機構】まず、孤立短鎖DNA (MALDIのDNA鎖切断[2]などに相当)に対して、1原子あたり0.3 eV~0.4 eVの運動エネルギーを与えて振動励起させ、その後の結合切断のダイナミクスをDFTB/MDで数100 ps程度追跡した。主な鎖切断は、糖からリン酸基への水素移動を伴うC-N切断(図1①)が起きて塩基が脱離し、その後C-Oの鎖切断②が生じる過程であった。この一連の過程は初期時刻から10 ps程度で進行し、他のヌクレオチドを巻き込んだ広域の電子・エネルギー移動によって引き起こされていた。電子を受け取りやすい塩基側のヌクレオチドで鎖切断が起こる傾向があった。電子移動は振動エネルギーの移動を伴っており、有機電子論的な考えが動力学的な裏付けをもつことが示された。

DNAの周りに水分子やカウンターカチオンが存在するモデルとしては、図3のX線結晶構造が既知である12塩基対二本鎖DNA[(CGCGAATTCGCG)₂]を用いた[10]。DFTB/MDの結果、カチオンが水和構造を保っている間は、鎖切断は起こらなかった。これは、カチオンによりDNA内の電子移動が抑制されたためと考えられる。しかし、Na⁺はすぐに“裸”に近い不完全な水和状態になり、容易にリン酸基と中間体を形成した。そのため、P-O切断の障壁が低くなって、リン酸基内のP-O結合が1 ps以内に切れていた(図1③に対応し、電子・エネルギー移動は局所的)。興味深いことに、Na⁺を人体で最も多いカチオンであるK⁺に置き換えると、中間体の形成は無く、鎖切断は見られなかった。

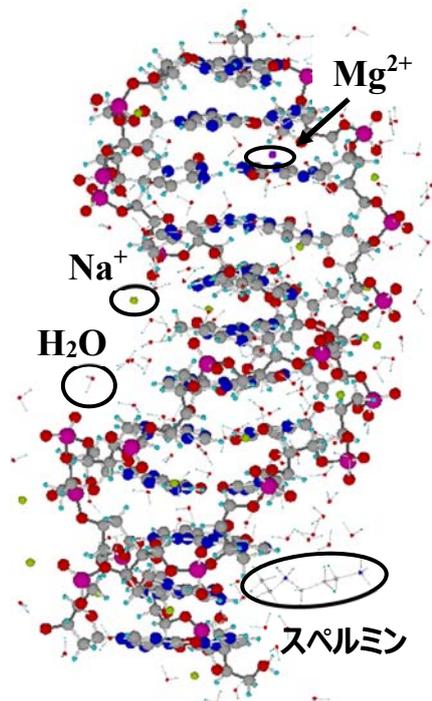


図3 計算に用いた12塩基対DNA。H₂O 148分子、スperlミン1分子、Na⁺ 18個、Mg²⁺ 1個が存在している。

- [1] B. Boudaiffa et al., *Science* **287**, 1658 (2000). [2] L. Zhu et al., *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 6048 (1995).
 [3] J. Rak et al., *J. Phys. Chem. B* **115**, 1911 (2011). [4] 菱沼直樹ら, 第9回分子科学討論会 2E10(2015).
 [5] M. Elstner et al., *Phys. Rev. B* **58**, 7260 (1998). [6] M. Gaus et al., *J. Chem. Theory Comput.* **7**, 931 (2011).
 [7] 動力学への適用のアイデアは, S. Ohmura et al., *J. Chem. Phys.* **141**, 114105 (2014).
 [8] K. Motomura et al., *J. Phys. Chem. Lett.* **6**, 2944 (2015). [9] K. Nagaya et al., *Faraday Discussions* (in press).
 [10] X. Shui et al., *Biochemistry* **37**, 8341 (1998).