

ヒドロキシルラジカルが誘起するDNA鎖切断の経路探索： 化学反応動力学シミュレーション

東北大院理

○岡田朝彦，及川啓太，菱沼直樹，花崎浩太，菅野学，河野裕彦

Path search of DNA strand breaks induced by hydroxyl radicals: Chemical reaction dynamics simulations

○Tomohiko Okada, Keita Oikawa, Naoki Hishinuma,
Kota Hanasaki, Manabu Kanno, Hirohiko Kono
Department of Chemistry, Tohoku University, Japan

【Abstract】 DNA, which plays a major role in protein synthesis and genetic inheritance in living bodies, can be seriously damaged, e.g., by base losses and strand breaks when exposed to radiation. Previous experiments suggest that double strand break (DSB), which is particularly difficult to repair, is mainly caused by hydroxyl radicals. We performed reaction dynamics simulations of the strand break in a short model DNA induced by hydroxyl radical attacks using the density-functional-based tight-binding method and investigated its detailed mechanism. In vacuum, hydroxyl radicals approach DNA and extract an H atom from sugar, immediately followed by a single strand break (SSB) at a P-O bond between sugar and phosphate. The result of potential energy analysis indicates that the reaction barrier for the strand break is lowered to almost zero by the H extraction. We also found that DSB is caused by two independent SSBs and that strand break in aqueous solution occurs in the same mechanism as in vacuum.

【序】 DNAは放射線によって塩基脱離や鎖切断などの損傷を受ける。特に二本の鎖が同じ箇所で切れる二本鎖切断は修復が困難な損傷として知られている。高強度フェムト秒短波長赤外パルスの水溶媒中DNAに照射した実験[1]では、一本鎖切断は熱やOHラジカルによって引き起こされていた。さらに、波長1.35 μmの光では二本鎖切断は起こらなかったが、高い運動エネルギーをもつOHラジカルが発生する波長2.2 μmの長波長パルスを照射した場合には二本鎖切断が確認された。これは、二本鎖切断が主に高エネルギーのOHラジカルによって引き起こされることを示唆している。

これまでの我々の反応動力学シミュレーションでは、熱は塩基脱離を伴う一本鎖切断のみを引き起こし(Fig. 1)、実験[2]と一致する結果が得られている。本研究ではOHラジカルが誘起するDNA鎖切断の機構を明らかにすることを目的とする。一本鎖DNAおよび二本鎖DNAに対しOHラジカルを接近させる反応動力学シミュレーションを行った。見出された鎖切断過程に関してポテンシャルエネルギーの観点から解析を行った。

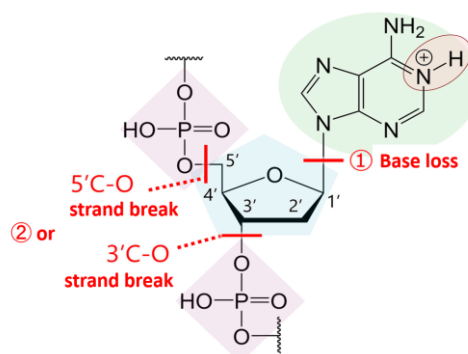


Fig. 1. Mechanism of the strand break induced by heat suggested in our previous simulations.

【モデル・手法】 真空中一本鎖 DNA のモデルとしてチミン 4 塩基の短鎖 DNA、d(TTTT) を用いた。この DNA に対し様々な運動エネルギーをもった 1 個の OH ラジカルを接近させるシミュレーションを行った。

二本鎖 DNA のモデルには [d(TTTT)]₂ を採用した。真空条件では一本鎖の場合と同様に計算を行った。水存在下のモデルとしては、[d(TTTT)]₂ の周辺に 300 個程度の水分子を円柱状に配置した。この系に対して 6 個の OH ラジカルを同時に接近させるシミュレーションを行った。このとき、水および DNA は円柱内にとどまる条件を課して計算を実行した。

全ての条件において、DNA は約 310 K の平衡状態にあり、その遠方には系全体の電荷を 0 にするように Na⁺ を配置した。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密度汎関数強束縛(DFTB)法[3]を用いた。中でも、水素結合や電荷揺らぎをより正確に記述できる DFTB3[4]を採用した。

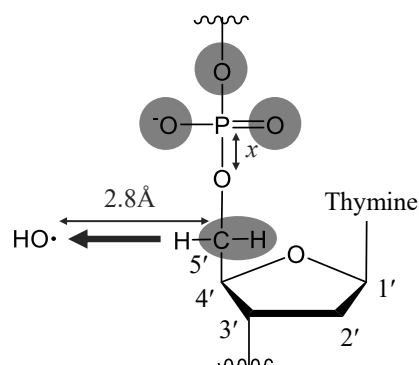


Fig. 2. Model of the potential energy analysis for P-O bond cleavage. We calculated the potential energies at each x before and after H extraction.

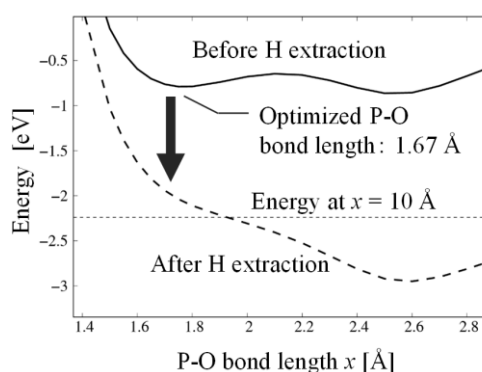


Fig. 3. Potential energy curves of P-O cleavage.

【結果・考察】 真空条件の一本鎖 DNA に 0.2 ~ 8 eV の運動エネルギーをもった OH ラジカルを 1 個接近させたところ、最も多く見られたのは、5'C (Fig. 2) に結合した H が OH

ラジカルに引き抜かれ、直後に P-O 結合が解離する協奏的反應で、熱による鎖切断(Fig. 1)とは異なる機構であった。Fig. 2 に示したように OH ラジカルの水素引き抜きに伴う P-O 解離エネルギーの変化を調べた。水素引き抜きによって P-O 解離のポテンシャル障壁がなくなっており、この切断過程の活性化エネルギーは極めて低いことが分かった(Fig. 3)。5'C からの水素引き抜きの活性化エネルギー(0.03 eV)は、1~4'C の場合に比べて 0.1~0.3 eV 低く、5'C からの水素引き抜きが主要であった要因の一つである。

真空中二本鎖 DNA では 1 個の OH ラジカルが二本鎖切断を引き起こす反応はみられなかった。2 つの OH ラジカルを鎖の両側から接近させるとそれぞれ一本鎖 DNA の場合と同様の機構で二本鎖切断が起きることが確認できた。

水存在下での二本鎖 DNA では、OH ラジカルが水分子の水素を引き抜いて数回 OH ラジカルが移り変わったのち、真空中のときと同様の機構で鎖切断が起きることがわかった。また、OH ラジカルエネルギーが 0.2 eV のときに比べて、2 eV のときの方が OH ラジカル移動が多く、鎖切断などの反応が多い傾向が見られた。これは高エネルギーの OH ラジカルを発生させる 2.2 μm の光が二本鎖切断を引き起こしている実験結果[1]と一致している。

【参考文献】

- [1] A. K. Dharmadhikari et al., Phys. Rev. Lett. **112**, 138105 (2014).
- [2] L. Zhu et al., J. Am. Chem. Soc. **117**, 6048 (1995).
- [3] M. Elstner et al., Phys. Rev. B **58**, 7260 (1998).
- [4] M. Gaus et al., J. Chem. Theory Comput. **7**, 931 (2011).