

共同利用研究
課題研究報告置換トリチウムの β 崩壊に伴う高分子・
DNA 構造変化の分子シミュレーション

提案代表者

藤原 進 京都工芸繊維大学材料化学系 教授

共同研究者

斉藤 真司 分子科学研究所

中村 浩章 核融合科学研究所

波多野 雄治 富山大学

斎藤 誠紀 釧路工業高等専門学校

坂井 亙 京都工芸繊維大学

水口 朋子 京都工芸繊維大学

斎木 敏治 慶應義塾大学

大塚 教雄 理化学研究所

阿蘇 司 富山工業高等専門学校

安永 卓生 九州工業大学

剣持 貴弘 同志社大学

大矢 恭久 静岡大学

和田 拓郎 静岡大学

米谷 佳晃 量子科学技術研究開発機構

宮西 寿典 名古屋大学

李 浩論 京都工芸繊維大学

1. はじめに

福島第一原子力発電所において、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。トリチウムは水素の放射性同位体であり、 β 崩壊により低エネルギー（最大18.6 keV、平均5.7 keV）の β 線と反ニュートリノを放出し、ヘリウム3に壊変する^[1]。高分子材料がトリチウム水にさらされると、高分子中の軽水素とトリチウムの置換反応（同位体交換）が起こることが知られている。また、トリチウム含有化合物が生体内に取り込まれると、化合物中のトリチウムがDNA中の軽水

素と置き換わることが、メダカなどを用いた実験で確かめられている。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。とりわけ、 β 線によるDNA損傷や、置換したトリチウムがヘリウム3へと壊変した場合のDNA損傷などが問題視されている。しかし、その損傷の分子メカニズムは、いまだ完全には明らかになっていない。

そこで本共同研究では、置換トリチウムのヘリウム3への壊変に伴うDNA

損傷の分子メカニズムを明らかにするため、まず、より単純な分子構造の高分子について、高分子を構成する置換トリチウムのヘリウム3への壊変による構造変化を分子動力学（MD）シミュレーションにより調べた^[2-4]。さらに、置換トリチウムのヘリウム3への壊変に伴うDNAの構造変化をMDシミュレーションで調べた^[2,5]。

2. 損傷高分子の構造変化

高分子鎖のモデルとして、2998個のメチレン基（CH₂）の両端にメチル基（CH₃）が1つずつつながった鎖状

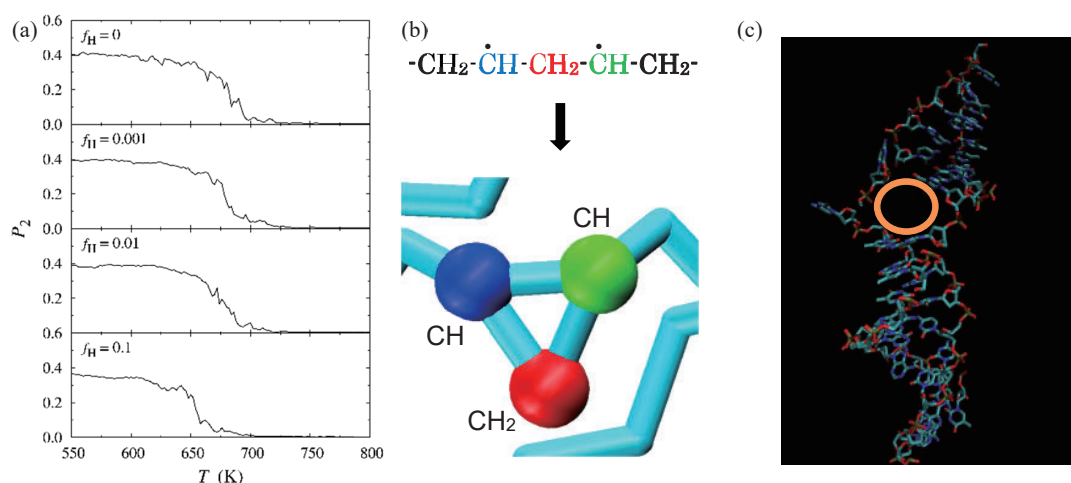


図1 (a) 各 f_H の値に対する損傷高分子の大域的配向秩序パラメータ P_2 の温度依存性。(b) 損傷高分子の化学結合の変化の一例（環状構造の形成）。(c) グアニン中の16個の水素をヘリウム3に置換した損傷DNAの構造変化。二本鎖間の隙間を橙色の丸で示す。

高分子を用い、汎用MDシミュレーションソフトLAMMPSを使ってMDシミュレーションを実行した。一本の高分子鎖を800 Kから300 Kまで冷却し、折り畳まれた配向秩序構造の形成を確認した。この秩序構造から水素をランダムに取り除き（つまり、CH₂をCHに置換し）、損傷高分子の分子モデルとした。CH、CH₂およびCH₃はそれぞれ1つの粒子として扱った。力場にはDREIDING力場^[6]を用い、全炭素数に対する取り除いた水素数の比(f_H)は $f_H = 0, 0.001, 0.01, 0.1$ とした。各 f_H の値に対して、300 Kから800 Kまで50 K/nsの昇温速度でMDシミュレーションを行い、構造変化過程を解析した。その結果、大域的配向秩序パラメータ P_2 の温度依存性（図1(a)）から、 f_H が大きいほど、秩序構造から乱れた構造への転移温度が下がることが明らかになった^[3]。

上記の高分子モデルでは化学結合の生成や開裂などは扱えない。しかし、現実には損傷高分子が化学的な構造変化を起こし得るため、化学反応を扱う反応力場(ReaxFF^[7,8])を用いた反応力場MDシミュレーションを行い、化学結合の変化の様子を調べた^[4]。高分子鎖のモデルとして、一本のポリエチレン鎖C₃₀₀H₆₀₂の全原子モデルを

扱い、100 Kにおいて折り畳まれた配向秩序構造を作成した。この秩序構造から水素をランダムに取り除き、損傷高分子の分子モデルとした。100 Kでのシミュレーションの結果、環状構造の形成や二重結合の生成、共役結合の生成などの化学結合の変化を確認することができた。一例として、環状構造の形成を図1(b)に示す。

3. 損傷DNAの構造変化

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は、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を取り上げ、グアニン中の水素の一部をヘリウム3に置換した。その損傷DNAのMD計算を、MDシミュレーションソフトNAMDを使って行った。力場にはCHARMM36力場^[9]を用い、系の圧力を1気圧、温度を310 Kとした。ヘリウム3に置換した水素の数を変化させてシミュレーションを実行し、DNAの構造変化を解析した結果、置換した水素の数の増大に伴い、DNA二本鎖間の水素結合が弱まり、隙間が生じることが分かった（図1(c)）。このような構造変化は、原子位置の平均二乗偏差

(RMSD)により定量的に解析することができる^[5]。

4. おわりに

損傷DNAのMDシミュレーションにおいて、今回はトリチウムの置換部位（つまり、水素が除去される部位）をグアニンとしたが、どの部位の水素が置換されやすいのかは自明ではない。今後は、トリチウムに置換されやすい部位を特定するため、水分子のアクセスしやすいDNA反応サイトの解析を行う。また、DNAの二本鎖切断現象を解析するため、損傷DNAの反応力場MDシミュレーションも行う予定である。

今後の展望として、MDシミュレーションで得られるトリチウムの置換部位に関するデータを、DNAの部位に依存した反応率の形で、放射線シミュレーションコードGeant4-DNA^[10]に実装するといった展開が挙げられる。

最後に、本研究を遂行するに当たり、分子科学研究所の課題研究の支援を受け、多くの共同研究者と活発な議論を行うことができました。この場をお借りして、厚く御礼申し上げます。



ふじむら・すすむ

1990年3月慶應義塾大学理工学部物理学科卒業、1995年3月慶應義塾大学大学院理工学研究科物理学専攻後期博士課程修了、博士（理学）。1995年4月核融合科学研究所助手。2002年4月京都工芸繊維大学助教授。2007年4月同大学准教授。2014年1月同大学教授、現在に至る。2019年4月～2021年3月核融合科学研究所客員教授。専門はソフトマター物理学、計算物理学。

参考文献

- [1] T. Tanabe (ed.), *Tritium: Fuel of Fusion Reactors* (Springer Japan, Japan, 2017).
- [2] S. Fujiwara et al., *J. Adv. Simul. Sci. Eng.* **6**, 94 (2019).
- [3] H. Li et al., *Plasma Fusion Res.* **14**, 3401106 (2019).
- [4] H. Li et al., *Jpn. J. Appl. Phys.* **60**, SAAB06 (2021).
- [5] H. Nakamura et al., *Jpn. J. Appl. Phys.* **59**, SAAE01 (2020).
- [6] L. Mayo et al., *J. Phys. Chem.*, **94**, 8897 (1990).
- [7] A. C. T. van Duin et al., *J. Phys. Chem. A* **105**, 9396 (2001).
- [8] K. Chenoweth et al., *J. Phys. Chem. A* **112**, 1040 (2008).
- [9] K. Hart et al., *J. Chem. Theory Comput.* **8**, 348 (2012).
- [10] <http://geant4-dna.org/>.

共同利用研究
課題研究報告脂質膜相分離を制御する
金属錯体脂質プローブ開発

提案代表者

大谷 亮 九州大学大学院理学研究院 准教授

共同研究者

木下 祥尚 九州大学

河野 健一 京都大学

加藤 晃一 分子科学研究所

谷中 冴子 分子科学研究所

1. はじめに

細胞表層の膜構造は均一ではなく、シグナル伝達に参与する脂質分子集合体が存在することが明らかにされつつある。こうした分子複合体は、本質的には弱く過渡的な分子間相互作用のうえに成り立っているために、その集積構造はタンパク質複合体などに比べて遥かに不安定であり、しかも構成要素の集合離散を通じてその構造は時々刻々と変化する。このような流動的かつ不安定な脂質膜において、その挙動を人工的に制御することは極めて難しく、その指針を得ることは膜化学の発展に欠かせない課題である。我々は、「金属錯体脂質」を用いてこの課題に取り組んできた。本稿では、最近開発した2つの金属錯体脂質とそれらの成果について紹介する。

2. 配位結合ネットワークによる硬いドメインを生み出す金属錯体脂質 1^[1]

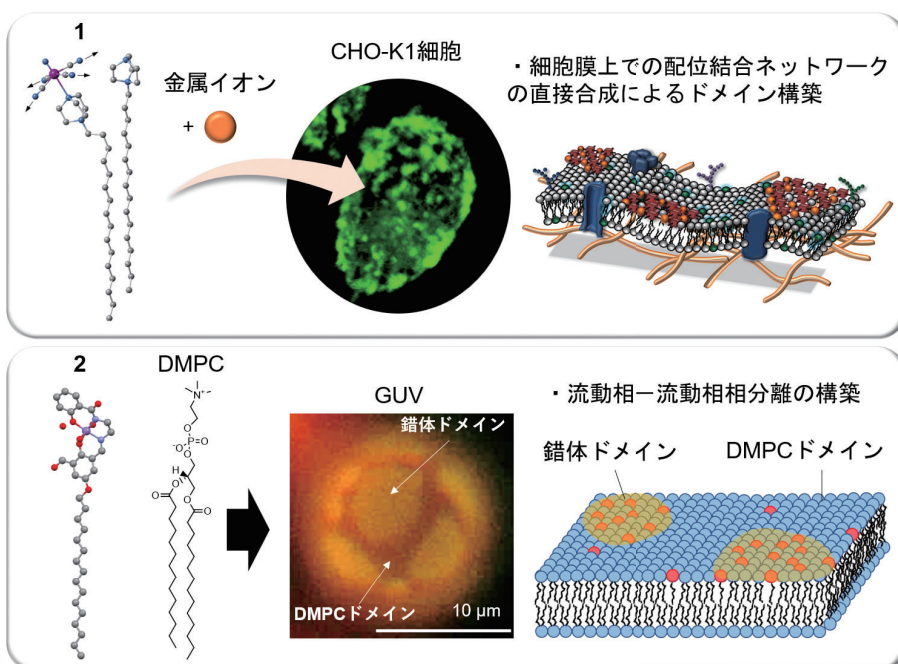
まず、脂質膜上で、配位結合ネットワークによる硬いドメインを形成できる金属錯体脂質 1 を合成し、生細胞上での人工相分離システムの構築と細胞機能制御を行った。1 は、平面方向に4つのシアノ基を有しており、金属イオンを添加することでシアノ基が金属イオン間を架橋した錯体ネットワーク構造体を構築することができる。そこで、CHO-K1 細胞に対し、1 を導入したのち金属イオンを添加することで、

逐次的に生細胞膜上でのドメイン構築を行った。すると、予め添加しておいた蛍光プローブの分布が変化し、相分離が観測された。これは、細胞膜上にドメイン構造体が形成したことを示している。また、得られた相分離構造は、細胞膜のアクチン骨格を壊しても安定に維持されることが分かった。これは、相分離を形成している脂質種の側方拡散運動が配位結合により制限されていることを示唆している。生体システムでは、分子がアクチン骨格により区画化された領域に閉じ込められることでドメインを形成していると考えられている。これに対して、1 による人工ドメインは、ファンデルワールス力よりも強い配位結合を駆動力としており、

人工系ならではの能動的な手法によるドメインシステム構築を達成していると言える。これを利用し、細胞膜環境の調節による膜タンパク質の機能制御についても成功した。

3. 流動相－流動相相分離を生み出す金属錯体脂質 2^[2]

さらに、リン脂質膜の相転移温度よりも高温の流動相において、流動相－流動相相分離を生み出せる金属錯体脂質 2 を合成した。まず、生体リン脂質である DMPC と 2 を複合化した巨大ベシクルを作成し蛍光顕微鏡観察を行った。すると、DMPCの主転移温度である 23℃より高温においても、相分離構造が観測された。これは非常に



珍しい「流動相－流動相相分離」が生じていることを示している。更に、温度上昇に伴う相分離挙動の顕微鏡観察を行うことで、その安定性について検討したところ、37℃付近において相分離が消失し均一相へと変化した。また、冷却することによる相分離の再現についても確かめられた。そこで、膜物性について検討するべく、複合体の示差走査熱量測定と九州シンクロトロン光研究センターでの広角X線散乱測定を行った。得られた結果から、DMPCに対して錯体脂質の割合が多いほど流動性が大きくなることが示された。すなわち2は、DMPCの流動相の中で、「より流動的な領域」を作り出すことで特異な相分離を実現していることが明らかとなった。この流動性の上昇は、2が一本鎖の脂質であることを反映していると考えられる。一方で、赤外分光

測定から、錯体脂質頭部の置換基とリン脂質のリン酸基との分子間相互作用が流動相の安定化に寄与していることが分かった。

4. まとめ

金属錯体脂質は、生体リン脂質から見ると確実に異物である。異物ゆえに、より強力に脂質集合体の性質を制御可能であると考えている。興味深いことは、今回紹介したどちらの例でも、リン脂質を取り込んで複合化したドメインを構築している点である。これは、金属錯体脂質が異物でありながらも高い「適合能力」を有することを示している。加えて、金属錯体脂質は、分子構造やネットワーク機能といった有機分子や生体リン脂質では示しえない特徴を多く有しており、生体膜に対して特殊な機能付与が可能となることが期

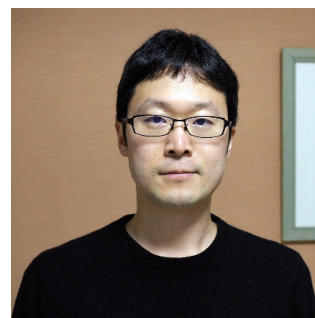
待される。

金属錯体脂質との複合化により通常の脂質膜とは異なる特殊な膜構造を形成すると考えているが、現段階ではその解明には至っていない。今後は、金属錯体脂質のバリエーションを増やし、分子構造レベルで膜特性がどのように変化するかを検討すると同時に、分子シミュレーションなどから膜構造についての議論を深めることが重要であると考えている。

本研究は、新学術領域研究「動的秩序と機能」、分子科学研究所・課題研究の支援により進めてきました。加藤先生（分子研）、谷中先生（分子研）、河野先生（京大）、木下先生（九大）をはじめとする共同研究者の皆様に感謝いたします。

参考文献

- [1] "Pseudo-membrane jackets: Two-dimensional coordination polymers achieving visible phase separation in cell membrane" R. Ohtani, K. Kawano, M. Kinoshita, S. Yanaka, H. Watanabe, K. Hirai, S. Futaki, N. Matsumori, H. Uji-i, M. Ohba, K. Kato, S. Hayami, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, 59, 17931-17937. (Hot Paper)
- [2] "Metal complex lipids for fluid-fluid phase separation in co-assembled phospholipid membranes" R. Ohtani, Y. Anegawa, H. Watanabe, Y. Tajima, M. Kinoshita, N. Matsumori, K. Kawano, S. Yanaka, K. Kato, M. Nakamura, M. Ohba, S. Hayami, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 13603-13608.



おたに・りょう

1985年生まれ。2014年京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻にて博士（工学）取得。熊本大学理学部助教を経て、2019年より現職。専門は金属錯体化学。