

(様式第4号)

## 実施課題名※軟 X 線光電子分光法及び吸収分光法による DNA 分子 薄膜の研究 (I)

### Study for DNA thin film by photoelectron spectroscopy and X-ray absorption spectroscopy (I)

藤井 健太郎  
Kentaro Fujii

日本原子力研究開発機構  
Japan Atomic Energy Agency

※長期利用課題は、実施課題名の末尾に期を表す (I)、(II)、(III) を追記すること。

#### 1. 概要

DNA 構成元素のイオン化領域において、軟 X 線照射後の DNA 分子の光電子スペクトルを測定し、生化学実験の結果との比較により、DNA 損傷の生成メカニズムを明らかにする。

#### (English)

To reveal the mechanism of DNA molecular lesions (damage) by the ionization of the component atoms of DNA molecule, we observed the photoelectron spectrum induced by soft X-rays. By comparison with the results of the biochemical experiment using the enzymes with that of the soft X-ray spectroscopy, we have discussed the detail reaction mechanisms.

#### 2. 背景と研究目的：

これまでに我々は単色軟 X 線の照射によって DNA 中に生成する DNA 主鎖切断や塩基損傷といった各種分子の変化について研究を行ってきた。その結果、窒素および酸素 K 殻イオン化によって遺伝子である塩基部位や DNA 主鎖の切断が顕著に増加すること、さらに塩基の種類によって誘発頻度が照射エネルギーによって変化することを明らかにした[1]。これらの損傷のメカニズムには、各元素の内殻励起後に生じる Auger 電子などの二次電子および、分子内に生成した正孔が分子内で移動する電荷移動や DNA 分子に強固に結合した水和水分子のイオン化が深く関わっていると推測されている。しかしながら、その損傷生成過程がどのようなメカニズムで起きているか詳細には明らかになっていない。その解明には、内殻イオン化後に生じる DNA 分子の電子状態、化学結合状態の変化や水和水 DNA と未水和水 DNA との電子状態、化学結合状態の違いに関する知見が必要である。そこで、本課題では軟 X 線照射前後の DNA 分子の光電子及びオージェ電子スペクトルを測定し、生化学実験の結果との比較より DNA の損傷生成過程のメカニズムを明らかにする。また、水和水 DNA に関して軟 X 線吸収スペクトル測定を行い、生化学実験の結果との比較より DNA 損傷の誘発に水和水分子がどのように寄与しているかを明らかにする。

今回は、各元素のイオン化によって誘発される各種 DNA 損傷の生成がどのようにして起こるかを明らかにするために、DNA を構成する元素である炭素、窒素および酸素 K 殻イオン化後に生じる電

子スペクトルの変化を測定し、議論する。

### 3. 実験内容 (試料、実験方法の説明)

#### DNA 薄膜に対する電子分光実験

最初に試料の状態及び電子分光実験において励起光のエネルギーを最適にするため、炭素、窒素および酸素 K 殻吸収端領域において、軟 X 線吸収スペクトルの測定を行った。

電子分光実験においては、励起光エネルギーはこれまで我々が DNA 損傷収量の変化を観測した、軟 X 線エネルギー(270, 380, 435, 560 および 760eV)を選択した。これらはそれぞれ、炭素 K 殻吸収端直下、窒素 K 殻吸収端直下、窒素 K 殻吸収端直上、酸素 K 殻吸収端直上、そしてリン K 殻吸収端以下のエネルギーに相当する。測定した電子の運動エネルギーは主に、0eV から励起光のエネルギー付近までのワイドスキャンである。また、各構成元素の内殻の光電子ピーク付近、および Auger 電子ピーク付近を高分解能で測定した。

実験に用いた試料の条件は表 1 にまとめた。

表 1

試料	子牛胸腺 DNA
製造元	Sigma (D-1501)
作成方法	1mg/mL 水溶液を 20 $\mu$ L 基板上に滴下後大気中で自然乾燥
基板	Si(100) (10mm x 10mm)
面密度	$\sim 2 \times 10^{-4}$ kg/m <sup>2</sup>
膜厚	130~170nm

### 4. 実験結果と考察

図 1 および図 2 に 380eV および 760eV の軟 X 線照射により DNA 薄膜試料から生じた電子スペクトルを示す。DNA 分子は、水素、炭素、窒素、酸素およびリンで構成されている。それらの光電子やオージェ電子が予測されたエネルギー位置に観測された。

図の縦軸は入射光強度と試料の光吸収断面積で規格化した値であるが、励起光エネルギーの違いによる光電子強度の変化は概ね一致している。しかし、光電子の運動エネルギー分布は励起光のエネルギーに依存して顕著に変化したスペクトルを得た。これらの結果から、単色軟 X 線光子の吸収後に生成する光電子の運動エネルギー分布についての定量的な知見を得ることができた。

また、一般に、有機分子薄膜などの光電子スペクトルの測定は、光照射による試料の帯電により、光電子ピークのシフトが問題となるが、今回の実験に用いた薄膜試料では、帯電によるものと思われるピークシフトは観測されなかった。DNA 分子は電気伝導性を有する高分子である。そして、分子内を塩基対の重なりに沿って電子が移動するモデルが提唱されている。この電気伝導性により、照射による帯電が起こらなかったものと推測される。

また、軟 X 線照射による DNA 損傷のメカニズムについては、これまで鎖切断収量を求める実験が行われているが、突然変異や発ガンの主要な原因のひとつとされる塩基損傷については、あまり報告がないのが現状である。最近、モンテカルロシミュレーションを用いた研究によって、軟 X 線照射後の鎖切断や塩基損傷の収量を求める研究が報告されている。しかし、その計算の元となる、二次電子スペクトルの分布は各電子状態間の遷移確率のデータテーブルから求めた、理論値であるため、非

弾性散乱電子のエネルギー分布などを含めた実効的な値とは異なると予想される。

今後、本実験で得られた実験値を用いてシミュレーションを行うことで、より精度の高い軟 X 線照射後の鎖切断や塩基損傷の収量を求めることができる。それらの結果から、高い生物効果を示すとされる、軟 X 線の生物影響の解析が進むものと期待される。

今期の実験では、単色軟 X 線光子の吸収後に生成する光電子の運動エネルギー分布の詳細なデータを得ることに成功した。これらの結果は、これまでに我々が行った、生化学実験の結果に対する二次電子の効果を定量的に評価するための重要な知見である。

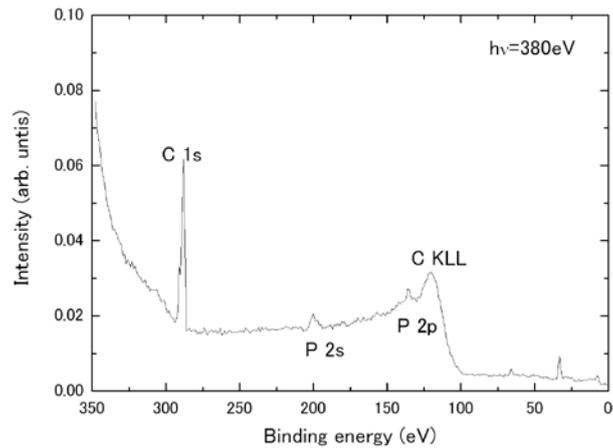


図 1 DNA 薄膜の光電子スペクトル ( $h\nu=380\text{eV}$ )

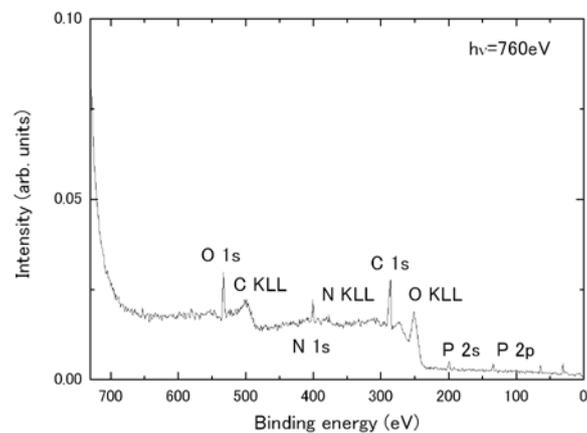


図 2 DNA 薄膜の光電子スペクトル ( $h\nu=760\text{eV}$ )

## 5. 今後の課題：

内殻励起後に生じる電子および生成した正孔がどのように分子内で移動するかを解明するために内殻共鳴励起による光電子スペクトルの測定を行う。

軟 X 線スペクトルの形状が、既報のスペクトルと比較すると、ピークの強度比が異なっていた。これは、試料を作成後、郵送したために、劣化したものに由来すると考えられる。次回の実験からは、

試料を可能な限り低温に保存し、実験試料の作製を実験の直前に行う。

## 6. 論文発表状況・特許状況

未定。

## 7. 参考文献

[1] K. Fujii, N. Shikazono, and A. Yokoya, J. Phys. Chem. B **113** (2009) 16007-16015.

## 8. キーワード（試料及び実験方法を特定する用語を2～3）

・軟 X 線吸収スペクトル（X 線吸収端近傍微細構造（XANES）スペクトル）

X 線の吸収が起こるとき、一部が物質に吸収される。入射 X 線のエネルギーを変化させて、X 線の吸収率を測定すると、あるエネルギーで吸収率が急激に変化する部分がある。この部分を吸収端と呼び、吸収端近傍の吸収スペクトルを XANES（X-ray Absorption Near Edge Structure）と呼び、この部分の解析から、物質中の特定元素の電子構造に関する情報が得られる。

・内殻共鳴励起

物質に対して内殻軌道（炭素、窒素および酸素の場合は K 殻に相当する。）と空軌道とのエネルギー差に相当する光が入射することにより、内殻電子が基底状態では空軌道であった離散的準位に遷移する過程。