

(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 (II)

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

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[1-3]。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、水和水による軟 X 線吸収スペクトルの変化を観測できるかどうかを明らかにするため、DNA を構成する元素である炭素、窒素および酸素 K 殻吸収端領域の全蛍光および全電子収量法による吸収スペクトルの測定を行った。

3. 実験内容 (試料、実験方法の説明)

DNA 薄膜および繊維 DNA に対する軟 X 線吸収スペクトル測定

DNA 薄膜に対して、形状の異なる試料における軟 X 線吸収スペクトルの違いを観測するため、薄膜上と繊維状の DNA に対して、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。実験に用いた試料の条件は表 1 にまとめた。

表 1

試料	仔牛胸腺 DNA	仔牛胸腺 DNA
形状	薄膜	繊維
製造元	Sigma (D-1501)	Sigma (D-1501)
作成方法	1mg/mL 水溶液を 20 μ L 基板上に滴下後大気中で自然乾燥	繊維を炭素テープ上に貼り付け
基板	Si(100) (10mm x 10mm)	ステンレスホルダー
面密度	$\sim 2 \times 10^{-4}$ kg/m ²	-
膜厚	130~170nm	-

4. 実験結果と考察

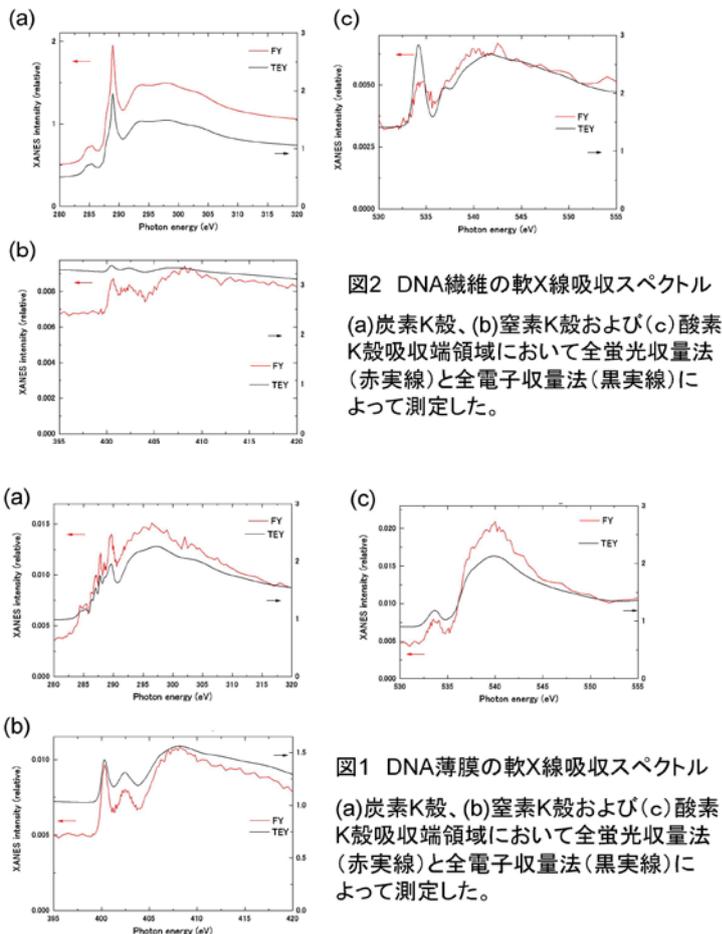


図2 DNA繊維の軟X線吸収スペクトル (a)炭素K殻、(b)窒素K殻および(c)酸素K殻吸収端領域において全蛍光収量法(赤実線)と全電子収量法(黒実線)によって測定した。

図1 DNA薄膜の軟X線吸収スペクトル (a)炭素K殻、(b)窒素K殻および(c)酸素K殻吸収端領域において全蛍光収量法(赤実線)と全電子収量法(黒実線)によって測定した。

図 1 および図 2 に DNA 薄膜 (図 1) と DNA 繊維 (図 2) の炭素、窒素および酸素 K 殻吸収端近傍の軟 X 線吸収スペクトルを示す。得られたスペクトルは、炭素、窒素および酸素 K 殻近傍において、既報のスペクトルと良い一致を示した。上記の DNA 薄膜は、水溶液を乾燥させて作成したため、測定のため真空中に保持したとしても、DNA 分子に強固に結合した水和水分子の影響は無視できないと考えられる。そこで、今期のビームタイムでは、乾燥した繊維状の DNA を基板上に貼り付けた導電性のカーボンテープの上に乗せて吸収スペクトルを測定し、薄膜との違いを比較した。その結果、炭素および酸素 K 殻吸収端領域において、薄膜とは形状の異なるスペクトルを得た。特に、酸素 K 殻吸収端 NEXAFS スペクトルにおいて、第一ピークの形状及びイオン化に対す

る強度比が DNA 繊維と薄膜では大きくことなることから、スペクトルに DNA に吸着した水由来のものが含まれていると考えられる。カーボンテープのピークは 5 3 1 eV 付近に観測されることから、観測された第一ピークのカーボンテープの寄与は少ないと予想される。今後、ペレット上の試料を作製し、カーボンテープの寄与が少ない状態で測定する必要がある。

5. 今後の課題：

DNA 繊維のスペクトル中に下地のカーボンの成分が含まれたため、下地が表面に露出しないように、ペレット状の試料を作成し軟 X 線吸収スペクトルの測定を行う。

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.

[2] 藤井健太郎、放射線化学、90 17-22 (2010).

[3] Yokoya, A., Fujii, K., Shikazono, N., and Ukai, M., Spectroscopic study of radiation-induced DNA lesions and their susceptibility to enzymatic repair. *Charged Particle and Photon Interactions with Matter - Recent Advances, Applications, and Interfaces*, ed. by Y. Hatano, Y. Katsumura, A. Mozumder, Taylor & Francis, Boca Raton **Chapter 20** 543-574 (2010).

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。