

軟X線照射によってDNA核酸塩基中に生じる不対電子のESR測定

¹東北大高教機構, ²東北大院理, ³量研機構

○岡 壽崇^{1,2}, 横谷明德³, 藤井健太郎³, 木野康志², 関根 勉^{1,2}

ESR study of unpaired electron induced in DNA-base by monochromatic soft X-ray irradiation

○Toshitaka Oka^{1,2}, Akinari Yokoya³, Kentaro Fujii³, Yasushi Kino², Tsutomu Sekine^{1,2}

¹ *Institute for Excellence in Higher Education, Tohoku University, Japan*

² *Graduate School of Science, Tohoku University, Japan*

³ *National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology (QST), Japan*

【Abstract】 Soft X-ray irradiation of DNA and DNA-base have been extensively studied because it is possible to partially selectively excite/ionise inner shell electrons of DNA constituent atoms. Unpaired electron generated by ionising irradiation is the most important intermediate between the irradiation and the DNA modification, and has been studied by using an electron spin resonance (ESR) technique. In order to clarify the physico-chemical mechanism of DNA damage, we have developed X-band ESR spectrometer system at a synchrotron soft X-ray beamline BL23SU in SPring-8 (Hyogo, Japan), and measured the ESR in-situ signal during the high intense monochromatic soft X-ray irradiation. In this work, we investigated the substituent effect on the yield of the unpaired electrons of pyrimidine DNA-bases.

【序】放射線による生物影響の主要な要因の1つとされるDNA損傷の生成プロセスの解明は、原発事故による環境放射能の影響や放射線医療の最適化など、さまざまな分野において重要な知見を与える。放射線によるDNA損傷は、照射によって直接誘起されるだけでなく、生体内の水やDNA水和水などから発生する活性酸素によって、あるいはDNA上に生成したホールの移動などによって形成される。しかし、このようなさまざまな損傷プロセスは同時並行的に進行するため、個々のプロセスを抽出することが困難であり、DNA損傷プロセスの全貌の解明は未だ行われていない。

軟X線は、照射エネルギーを選ぶと(単色化すると)、DNA構成元素である炭素、窒素、酸素、リンなどを選択的に励起・イオン化できるため、DNAやDNA関連分子に対する照射効果の研究に利用されてきた。我々は、不対電子を有する反応中間体がDNA損傷の前駆体であることに注目し、SPring-8の高輝度軟X線照射によって生成した不対電子をその場測定できるESR装置を開発した[1]。そして、このESR装置を用いてDNA構成分子の内殻電子励起およびイオン化が突然変異の誘発の原因となるDNA損傷生成にどのように寄与するかを調べている[2]。本発表では、DNAの遺伝情報を担うピリミジン塩基上に誘起される不対電子の収量が、ピリミジン環の構造によって変化することを見いだしたので報告する。

【方法 (実験・理論)】ウラシルおよびその誘導体である5-ブロモウラシルを、真空蒸着器(～10⁻⁴ Pa)で金メッキした無酸素銅のロッドに蒸着した。その後、ロッドをX-band ESR装置(日本電子製, JES-TE300)のキャビティーに導入し、軟X線を照射しながらESR測定を行った。蒸着膜の膜厚は～3 μm, ESRキャビティー内の真空度

は $\sim 10^{-7}$ Pa, 測定は室温で行った。窒素および酸素の X 線吸収微細構造 (X-ray absorption near edge structure, XANES) 領域で, 照射する軟 X 線のエネルギーを変化させながら ESR 測定を繰り返し, 得られた singlet な ESR シグナルの 2 回積分の値を不對電子収量とし, 不對電子収量のエネルギー依存性を得た。また, 試料の XANES スペクトルを全電子収量法から測定した。

【結果・考察】 得られた ESR スペクトルは, 同じピリミジン塩基のチミンやシトシンの ESR スペクトル同様, エネルギーによらず singlet であり, 軟 X 線照射を中断するとただちに完全に消失した [3]。この短寿命の ESR シグナルの g 値は 2.000 であり, 自由電子 (g 値 2.0023) とは異なることがわかった。

ウラシルの不對電子収量のエネルギー依存性は, 窒素 (Fig. 1) と酸素のどちらの領域においても XANES 強度のエネルギー依存性の半分程度であった。また, チミンの不對電子収量は窒素と酸素のどちらの領域においても XANES 強度とほぼ同程度であったが, シトシンは窒素と酸素のどちらの領域においても不對電子収量が XANES 強度の約 2 倍に増感した [3]。これらとの比較より, ESR 測定で得られた不對電子収量のエネルギー依存性はピリミジン環の置換基によって変化することが予想された。

5-ブロモウラシルで同様の測定をしたところ, 不對電子収量のエネルギー依存性には π^* や σ^* といった微細構造はごくわずかに観測されるものの, イオン化閾値以上のエネルギー領域で XANES のそれを大きく下回り, ほとんど増えなかった。このことから, ピリミジン塩基中に存在する置換基が, 照射中にのみ塩基上に誘起される不對電子の生成もしくは消滅に深く関係していることがわかった。そこで, ピリミジン塩基上の置換基と不對電子収量の関係を調べたところ, ベンゼン環に対するハロゲンの電子求引性やアミノ基・アルキル基の電子供与性と同じような性質が, ピリミジン塩基でも見られることがわかった。これらの求引性や供与性の違いが, 塩基損傷による突然変異やハロゲンによる細胞致死増感などの原因になっているのではないかと考えられる。

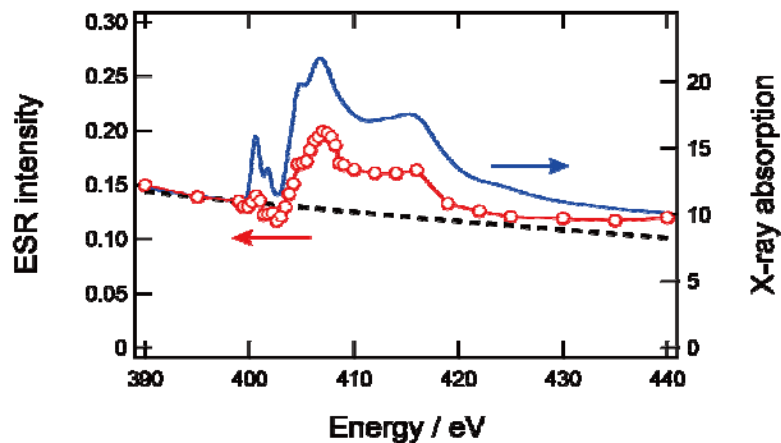


Fig. 1. The soft X-ray energy dependence of the double integrated ESR intensity of the uracil films around the nitrogen K-edge. The right-hand axis shows the X-ray absorption spectrum of the film. The dotted line represents the baseline of the spectrum.

【参考文献】

- [1] A. Yokoya *et al.*, Radiat. Phys. Chem., **78**, 1211 (2009).
- [2] T. Oka *et al.*, Phys. Rev. Lett., **109**, 213001 (2012).
- [3] T. Oka *et al.*, App. Phys. Lett., **98**, 103701 (2011).