

先端放射線化学シンポジウム（浜松）
シンクロトロン放射光を用いた放射線生物研究

国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構

藤井 健太郎

1 はじめに

放射線は、細胞致死や突然変異などの生物影響をもたらす。その主要な原因の1つが、遺伝子であるDNAへの様々な損傷の誘発であるといわれている。様々なDNA損傷の中で「DNA鎖切断」は、細胞致死などに関わる重要な損傷形態であり、ほぼ半世紀にわたる研究の歴史がある。DNAの分子鎖が放射線によりどのように切断されて行くのかについては、放射線生物学の長年の課題であるにもかかわらず、OHラジカル等の一部の水の分解生成物による間接的な反応を除けば、そのプロセスの詳細の解明は進んでいない。特に放射線のエネルギーを直接吸収することでDNAにイオン化が生じた時に、DNA鎖上のどの化学結合が切断を受けるのかなど、最も基本的な化学反応についてさえ全く理解が進んでいない。本研究では、シンクロトロン放射光を利用することでこの光源の持つ、他の光源では出せない軟X線以下のエネルギー領域の利用、および単色軟X線による特定元素を狙ったイオン化を可能とする特性を利用し、放射線のエネルギー吸収からDNA鎖切断にいたるプロセスを、物理化学の観点から明らかにした。

2 DNA構成元素の内殻電子のイオン化によって生じるDNA鎖切断の生成過程

DNA分子中の特定元素中の電子の束縛エネルギーを狙ってイオン化することで、DNA分子中のエネルギー吸収部位と化学結合の切断（損傷）の相関を詳細に調べることができる。内殻（K殻）電子の束縛エネ

ルギーに相当する軟X線（10 keV）以下の任意のエネルギーを実用強度で利用できる光源は、現在ではシンクロトロン放射光（以下、放射光）が唯一である。特定元素をイオン化させるために、内殻電子の束縛準位に相当する単色軟X線をDNA薄膜試料に照射しながら、同時に試料から脱離するイオンの観測を行った。その結果、DNA主鎖を構成する糖部位（デオキシリボース）が分子中で最も脆弱で複数の分子断片イオンに分解されることを明らかにした¹⁾。この糖の激しい分解によってDNA鎖の切断が誘導されると考えられるが、切断端の化学構造に関する情報については、脱離イオン観測のみでは得られない。切断端のごく近傍に塩基損傷が付加的に生じた場合、その末端の化学構造に強く依存して、生体修復を受けにくい、いわゆる“クラスターDNA損傷”となることが予測される²⁾。放射線の生物影響を理解する上で、DNA鎖切断

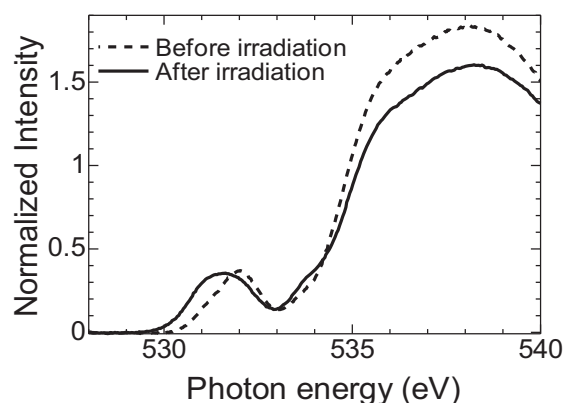


Figure 1. X-ray absorption near edge structure of oxygen K-edge of a DNA film irradiated with 560 eV soft X-rays (solid line) and the spectrum of a non-irradiated DNA film (dashed line).

Radiation Biology utilizing Synchrotron Radiation
Kentaro FUJII (National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology),
〒319-1195 茨城県那珂郡東海村大字白方 2-4
TEL: 070-3943-3415, E-mail: fujii.kentaro@qst.go.jp

の末端構造の解明は極めて重要である。照射後に試料に残った分子の構造を明らかにするために、DNA 薄膜試料に対して軟 X 線の照射実験を行い、照射後の軟 X 線吸収スペクトルの測定を行った³⁾。軟 X 線吸収スペクトル中の吸収端近傍に現れる微細構造は、分子内の化学結合を反映したピーク構造が現れるため、官能基を判別するフィンガープリントとしても利用されている⁴⁾。照射には、酸素の内殻電子をイオン化することのできる 560 eV の単色光を用いた。酸素原子は、DNA の主鎖を構成する糖部位のペントース 5 員環構造の維持に重要な役割を果たしている。実験の結果、照射後に C=O 基を持つ官能基が DNA 分子中に生じることを明らかにした (Fig. 1)³⁾。人工合成したクラスター損傷では、C=O 基が鎖切断端にある場合には、他の末端構造よりも修復効率が下がることが知られている⁵⁾。得られた結果は、酸素の K 殻イオン化により難修復性 DNA 損傷を生成する可能性を持つことを示唆している。

3 内殻電子のイオン化によって生じる DNA 鎖切断の生成に関わる水和水分子の役割

生体中では、水和水が DNA と結合しているため、鎖切断の生成に対して水和水がどのような役割を担うかを明らかにする必要がある。DNA を取り囲む水は、「水和層」と、その周りにランダムに配置している「バルク水」とに分けることができる。水和層は DNA と

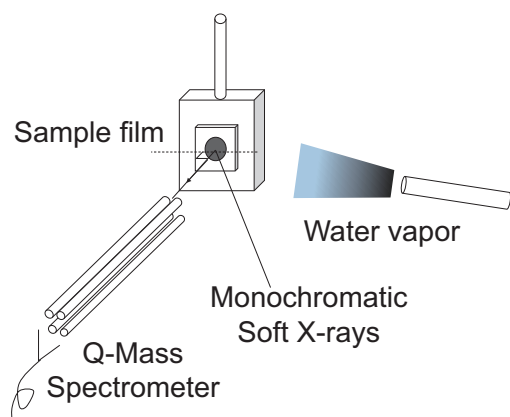


Figure 2. Schematic view of the experimental setup of the measurement of desorbing ions from hydrated sample film irradiated with monochromatic soft X-rays.

水素結合している「第 1 水和層」とその周りの第 2 水和層に分類されているが、これら水和層が DNA 損傷生成に関与する過程は準直接効果とよばれ、その詳細は未だ解明されていない⁶⁾。鎖切断の生成過程に、水和水分子がどのような役割を担うのかを明らかにするために、水和したデオキシリボース分子に対して単色軟 X 線照射を行い、試料表面から脱離するイオンを観測した (Fig. 2)。その結果、脱離する分子断片イオンの量が、試料表面上への僅か 1 層の水分子の吸着により顕著に減少すること、そしてバルク水が無いにも関わらず、水の放射線分解と同様に H_3O^+ が脱離することを明らかにした (Fig. 3)。実験と並行してフランスのピエール・マリキユリー大学のグループと協力し、デオキシリボースの時間依存密度汎関数法を用いた分子動力学シミュレーションを実施した⁷⁾。その結果、デオキシリボースからこれを取り囲む水分子へのプロトン的高速移動が、数 fs 以内に起こること、 H_3O^+ が水の放射線分解を伴わず生じることが見出された。これらのイオンにより、DNA 分子中のプロトン解離型損傷の近傍にさらに新たに酸化的塩基損傷が誘発され

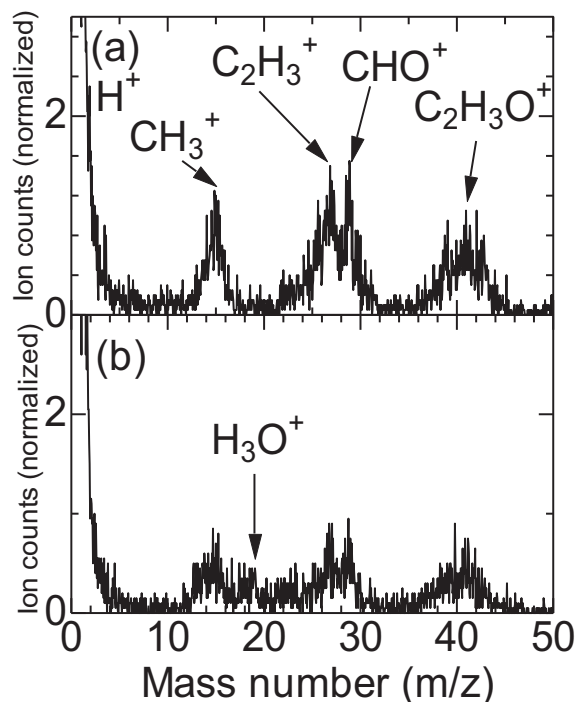


Figure 3. Desorbed positive ion mass spectra of (a) dry dR and that of (b) hydrated dR film obtained during the irradiation with 560 eV soft X-rays.

ることは、容易に推測される。一方、このプロトンの高速移動により、イオン化によりデオキシリボースに生じた電荷が水分子に分配されることで、デオキシリボース自身の分解抑制が起こる。このように、DNAの周囲の水分子は、デオキシリボース(糖部位)の激しい分解を抑制するものの、逆に塩基に対して酸化的な損傷を誘発することで、1回のイオン化によって近接した部位に複数の損傷の誘発に寄与する可能性がある⁸⁾。

4 おわりに

DNAに対する放射線の直接的なエネルギー付与によって起こる鎖切断の生成過程をシンクロトロン放射光を用いた分光学的方法によって明らかにした。最近我々のグループでは、このような鎖切断がどのようにして修復されるか、その初期段階について研究を進めている⁹⁾。DNA二本鎖切断が生成した細胞ではDNAを取り巻くヒストンタンパク質の構造が変化することを、放射光を用いた真空紫外線領域の円偏光二色性スペクトルの測定により明らかにした¹⁰⁾。詳細は解説を参照されたい¹¹⁾。さらに、細胞レベルでの放射光X線照射実験を行うため、顕微鏡視野下で個々の細胞を選別して照射し、その後の細胞の形態を継時的に観測するシステムを利用した実験も開始している¹²⁾。このように、真空紫外線領域から軟X線そしてX線領域にわたり、それぞれの波長領域での放射光の特性を生かし、分子レベルから細胞レベルにわたり、放射線生物

研究を展開している。このような放射光を用いた研究の成果が、放射線の生物影響の解明にブレークスルーを与えることを期待したい。本研究の一部は、JASRI実験課題(2013A3813, 2014B3812)により実施した。

参考文献

- 1) K. Fujii, K. Akamatsu, A. Yokoya, *Radiat. Res.*, 161 (2004) 435.
- 2) D. T. Goodhead, *Int. J. Radiat. Biol.*, 65 (1994) 7.
- 3) K. Fujii, Y. Fukuda, A. Yokoya, *Int. J. Radiat. Biol.*, 88 (2012) 888.
- 4) J. Stöhr, *NEXAFS Spectroscopy* (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1992).
- 5) L. F. Povirk, *Int. Schol. Res. Net. Mol. Biol.*, 2012 (2012) 345805.
- 6) A. Adhikary, D. Becker, M.D. Sevilla, in *Applications of EPR in Radiation Research*, A. Lund, M. Shiotani (Eds.) (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2014), pp. 299–352.
- 7) M. A. Herveé de Penhoat *et al.*, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17 (2015) 32375.
- 8) K. Fujii *et al.*, submitted to *Radiat. Res.*
- 9) Y. Izumi *et al.*, *Radiat. Res.* 184 (2015) 554.
- 10) Y. Izumi *et al.*, submitted to *Biophys. J.*
- 11) 泉雄大他, *放射線生物研究*, 51 (2016) 91.
- 12) A. Narita *et al.*, *Radiat. Prot. Dosim.* 166 (2015) 192.