

Title	DNA中のホール移動
Author(s)	真嶋, 哲朗
Citation	大阪大学低温センターだより. 120 P.1-P.4
Issue Date	2002-10
Text Version	publisher
URL	http://hdl.handle.net/11094/3892
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

DNA 中のホール移動

産業科学研究所 真 嶋 哲 朗 (内線 8495)

E-mail: majima@sanken.osaka-u.ac.jp

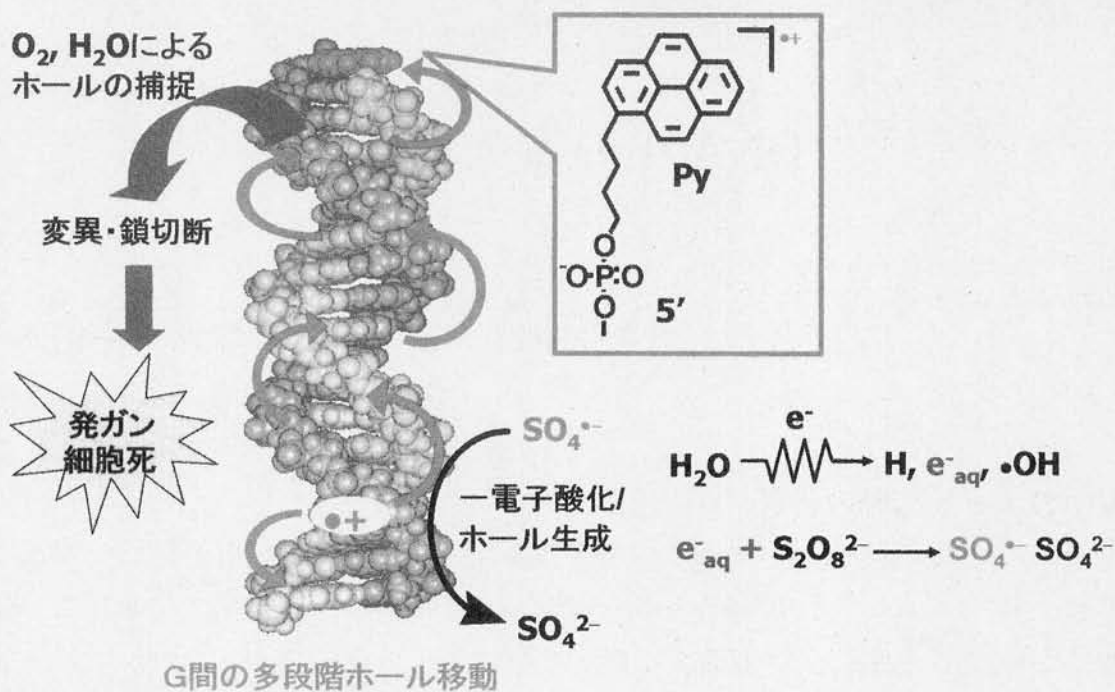
DNA 中のホール移動の背景

幅 2 ナノメートルの糸状の分子である DNA を電線 (ワイヤ) として使用することが提案され、最近特にナノテクノロジーとの関連から幅広い関心を集めている。遺伝情報を司る DNA は 4 つの核酸塩基で構成された秩序だった構造をもつ巨大分子であり、核酸塩基が π スタックした一次元配列の特殊な構造であるため、電子またはホールがキャリアとなって DNA 中の核酸塩基を移動するならば、DNA をワイヤとして応用できるのではないかという提案である。この「DNA ワイヤ」の発端は、DNA の一電子酸化損傷の生成物分析から DNA 中の最も E^{ox} の低い核酸塩基であるグアニン (G) で解裂が起こること、DNA の光増感一電子酸化反応において光増感剤近傍の G から 200 Å (60 塩基対) 以上も離れた G で解裂が起こることが報告されたことにある。すなわち、DNA 中に発生したホールは G に捕捉されて G ラジカルカチオン ($G^{\bullet+}$) となり、G 間でのホール移動が 200 Å (60 塩基対) 以上も起こり、最終的にホールが捕捉された G で解裂が起こると理解された。ホールが長距離を移動することから DNA 中をホールが流れる「DNA ワイヤ」が提案され、ここ 5-6 年の間に多くの研究者がこのテーマに取り組んでいる状況である。

一方、DNA 中のホール移動は、化学的に不活性である DNA が一電子酸化によって容易に分解し (DNA の酸化損傷) 発ガンへと進展することから、多くの研究が行われてきている。このように、DNA 中のホール移動は、DNA ワイヤの可能性や、DNA の一電子酸化損傷による発ガン機構の解明、DNA 中のホール移動の生物学的意義の解明とも関連して、重要な研究課題である。DNA 中のホール移動の研究は、これまで主に生成物分析、蛍光消光測定、電気伝導度測定によって行われてきたが、DNA 中のホール移動を直接観測した例はなかった。そこで我々はパルスラジオリシス法による時間分解過渡吸収測定から、ホールのプローブ分子を結合させた DNA 中にホールを生成させ、そのホール移動をプローブ分子ラジカルカチオンの過渡吸収変化から直接観測することに成功し、DNA 中のホール移動速度に関する知見を得たのでその概略を紹介する。

DNA 中へのホールの生成とホール移動

これまで、分光法などで DNA 中のホールの生成過程とホール移動過程を直接観測した例はなく、それらのダイナミクスはわかっていない。その理由は主に、DNA 中のホールの生成量が少ないこと、ホールが G に捕捉されて生成する $G^{\bullet+}$ の吸収係数が小さいこと、DNA 中の $G^{\bullet+}$ の位置が特



Py 修飾 DNA のホール生成とホール移動

定出来ないことなどのためであった。そこで我々は、ホールの生成量が十分高いパルスラジオリシス法を用い、ホールのプローブ分子として G よりも E^{OX} が低く (1.40 V)、かつ吸光係数が大きく特徴的な吸収を有するピレン (Py) を DNA の特定位置に結合させた Py 修飾 DNA (Fig.1) を使用して、DNA 中のホールの生成と DNA 中を流れるホールの動的挙動を直接観測することに成功した。なお、DNA の一電子酸化によるホールの生成は、水の放射線分解により生成した水和電子が、水溶液中に存在する $S_2O_8^{2-}$ を還元して生成する $SO_4^{\bullet-}$ が DNA の一電子酸化剤として作用することによって起こる (Scheme 1)。

DNA 中に生じたホールは一旦 G に捕捉されて $G^{\bullet+}$ となるが、 E^{OX} の低い Py への発熱的ホール移動が起こる。このホール移動速度の距離依存性を調べるために、Py 部位と G 領域 (5'-GTGTGTG-3') との間の AT 塩基対の数 ($n=1-5$) を変化させた PyODN $_n$ のパルスラジオリシスを行った。電子線パルス照射により Fig.2 に示すように 470 nm に吸収極大を持つ $Py^{\bullet+}$ に帰属される過渡吸収スペクトルが観測された。 $n=1-5$ のすべての PyODN $_n$ において、2 マイクロ秒までの時間領域では $Py^{\bullet+}$ は単一指数関数的に生成した。PyODN と Py が修飾されていない ODN の $SO_4^{\bullet-}$ による一電子酸化速度は、0.05–0.2 mM の濃度領域で濃度に対し直線性を示し、それぞれ $k_{Py-ODN} = 4 \times 10^9 M^{-1}s^{-1}$ 、 $k_{ODN} = 3 \times 10^9 M^{-1}s^{-1}$ と求められた。このことから、Py 部位と DNA 鎖の両部位は競争的に一電子酸化されることがわかった。拡散律速過程の終了後、すなわち PyODN $_n$ の $SO_4^{\bullet-}$ による酸化によって $Py^{\bullet+}$ と $G^{\bullet+}$ が生成した後 (< 2 マイクロ秒)、Py 部位と G 領域との距離が近いほど $Py^{\bullet+}$ の生成量が増加した。この二次的な $Py^{\bullet+}$ の生成は G 領域からの Py 部位へのホール移動に帰属された。 $n=5$ のときに Py へのホール移動が十分遅い、すなわち $Py^{\bullet+}$ が $SO_4^{\bullet-}$ との衝突過程においてのみ生成することから、 $Py^{\bullet+}$ の過渡吸収の時間変化において PyODN $_n$ ($n=2-4$) から PyODN5 を差し引いた成分がホール移動による $Py^{\bullet+}$ 生成の時間挙動を表

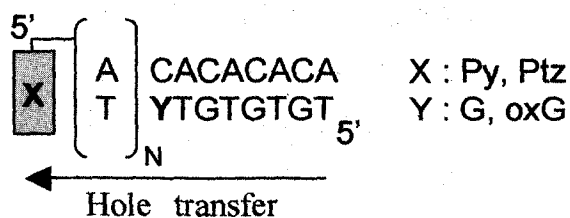
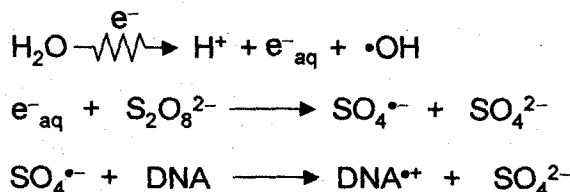


Figure 1. Schematic illustration of hole transfer between probe-site and G-region.



Scheme 1. One-electron oxidation of DNA by pulse radiolysis technique.

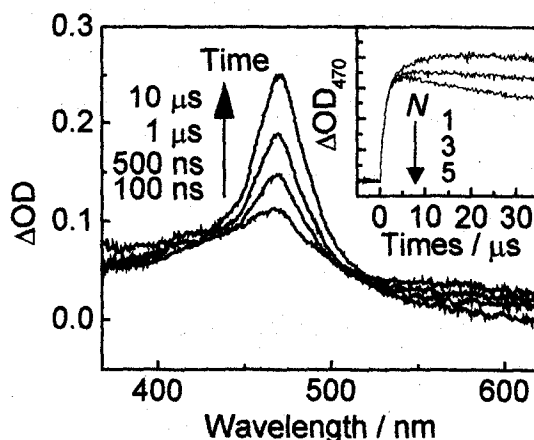


Figure 2. Transient absorption spectra of Py-conjugated ODN ($N=1$) of Ar-purged aqueous solution, observed at several times after the electron pulse. The inset shows time profile of the transient absorption peak of $\text{Py}^{\bullet+}$ at 470 nm for $N=1, 3, 5$, respectively.

すことになる。

ホール移動速度定数 k_{ht} は $10^5 - 10^4 \text{ s}^{-1}$ で、Py 部位と G 領域との間の距離の増加に伴って減少し、100マイクロ秒の時間領域でホール移動が起こることが明らかになった。なお、DNA 中の $\text{G}^{\bullet+}$ から Py へのホール移動は、G 間の多段階ホールホッピング過程を含んでいる。このホール移動速度を G 領域と Py 部位との距離 (Py 部位と最も Py に近接した G との距離) に対しプロットしたところ、このホール移動速度の距離依存性は 0.3 \AA^{-1} と小さく、 k_{ht} が G 間の多段階間ホールホッピング過程に対応することを示す。

DNA を媒体とした長距離ホール移動は、 E^{ox} の低い G ($E^{\text{ox}} = 1.49 \text{ V}$) 間のホッピング機構で説明されてきたが、これを直接観測した例は本研究が最初である。その速度は10-100マイクロ秒の時間領域と遅いことがわかった。

PyODNoxn 中の Py から oxG へのホール移動

G 領域の一つの G を、Py よりも E^{ox} が低い 8-oxo-7, 8-dihydro-guanine (oxG: $E^{\text{ox}} = 0.74 \text{ V}$ /NHE in H_2O) に置き換えた PyODNoxn ($n=1-5$) の場合、oxG は Py よりさらに E^{ox} が低いため、 $\text{Py}^{\bullet+}$ から DNA 鎖中の oxG への一段階のホール移動が起こる。Py と oxG の距離が最も近い $n=1$ の PyODNox1 では $\text{Py}^{\bullet+}$ の生成が観測されず、拡散過程の $\text{SO}_4^{\bullet-}$ による Py の酸化よりも速い速度で、 $\text{Py}^{\bullet+}$ から oxG へのホール移動が起きていると考えられる。 $n=2-4$ については、Py と oxG の距離が近いほど、 $\text{Py}^{\bullet+}$ の生成が抑制され、減衰が加速された。最も離れた $n=5$ の場合では $\text{Py}^{\bullet+}$ の減衰に対してホール移動の寄与は小さくなった。 $\text{Py}^{\bullet+}$ から oxG へのホール移動速度定数は $n=2, 3, 4$ に関してそれぞれ $k_{ht} = 15 \times 10^4, 3 \times 10^4, 0.2 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ と求められ、距離の増加とともに大きく減少した。その β 値は 0.6 \AA^{-1} であり、 $\text{Py}^{\bullet+}$ から oxoG への一段階のホール移動の距離依存性が明ら

かとなった。これまでに DNA 中の光電子移動、すなわち G から励起状態の電子アクセプターへの電子移動速度の β 値として 0.6 \AA^{-1} が報告されている。今回の結果は、ホール移動速度の距離依存性を示した最初の例であり、基底状態の $\text{Py}^{\bullet+}$ から oxG へのホール移動速度の距離依存性が光電子移動系と一致することがわかり、 $\beta = 0.6 \text{ \AA}^{-1}$ という値が DNA 中の電荷移動速度に対して統一的に得られた。

DNA 中のホール移動のまとめ

PyODNn および PyODNoxn 中にホールを発生させた場合、ホール移動が 10–100 マイクロ秒の時間領域で起こることを $\text{Py}^{\bullet+}$ の過渡吸収の時間変化から観測することに成功した。そのホール移動速度が 10–100 マイクロ秒と遅いことは DNA の特徴である。また、ホール移動の距離依存性は、2 つのクロモファー間の連結基としては DNA が他の有機分子と類似の性質であり、DNA は特別な伝導性を示す物質ではないことを意味している。これらの結果は、DNA 中のホール移動に関する重要な知見である。

今後の展開

DNA が良伝導性を示さないとすれば、化学的に種々の有機分子を DNA 中に配列させて、有機分子間のホール移動を起こすことで DNA ワイヤを構築することが可能であると考えられる。また、ホール移動を光化学的に制御することで、DNA 中のホール移動の光スイッチングを行うことが可能であると考えられる。このような観点から、現在、我々は以下のようなホール移動の研究を行っている。1) DNA 中に修飾した 2 分子間のホール移動速度：DNA が足場としてどのように影響するかについて、Py およびフェノチアジン (Ptz) 修飾 DNA (PyPtzODN) 中の、Py から Ptz へのホール移動速度の距離および配列依存性を見出した。2) DNA 中に修飾した 2 分子間のホール移動の光スイッチング：Ptz および oxG を修飾した DNA の電子線・レーザー複合照射において、DNA 中のホールは Ptz に捕捉されて $\text{Ptz}^{\bullet+}$ が生成するが、これを 532 nm レーザー光励起すると、 $\text{Ptz}^{\bullet+}$ の過渡吸収のブリーチングおよび回復と、oxG $^{\bullet+}$ または oxG $^{\bullet}$ の過渡吸収の生成と減衰が観測された。この結果から、Ptz 上のホールが光照射によって oxG へと移動した後、熱的に元に戻ることがわかった。これ以外にも、修飾する分子を様々に変化させて分子間のホール移動を利用することによって、DNA ワイヤを構築することについて検討している。詳細は我々の論文を参照していただきたい。

参考文献

K. kawai, T. Takada, S. Tojo, N. Ichinose, and T. Majima, J. Am. Chem. Soc., 123, 12688(2001). K. Kawai, T. Takada, S. Tojo, and T. Majima, Tetrahedron Lett., 43, 89(2002). その他印刷中の論文。

謝 辞

共同研究者の産研励起分子化学研究分野川井清彦助手、藤乗幸子助手、D2学生高田忠雄君に感謝いたします。