

ゲノム DNA のリン酸骨格上をアト秒で移動する 伝導電子を直接観測—内殻正孔時計法を応用—

池浦広美 産業技術総合研究所 計測フロンティア研究部門

〒305-8568 茨城県つくば市梅園 1-1-1 つくば中央 2-5

関口哲弘 日本原子力研究開発機構 量子ビーム応用研究部門

〒319-1195 茨城県那珂郡東海村白方白根 2-4

要旨 DNA の伝導性は分子ワイヤーの実現のみならず、癌化や老化の要因となる DNA 損傷の検出や修復のメカニズムに関与しているといわれている。共鳴オージェ電子分光法と X 線吸収分光法を組み合わせることにより DNA の伝導電子の動きを直接観測する手法を構築した。その結果、ゲノム DNA では絶縁性の糖と結合しているにもかかわらず、リン酸骨格の伝導帯中を超高速で動く電子の観測に成功した。一方、チオリン酸基を導入した非周期性のリン酸骨格をもつアンチセンス DNA ではこのような電子は観測できなかった。内殻正孔時計法を利用すると、wet DNA の伝導帯電子の非局在化に要する時間は約740アト秒と求められ、このような速い電子移動はカーボンナノチューブのフェルミ速度にも匹敵する。

1. はじめに

1953年にワトソンとクリックによって、DNA がリン酸と糖からなる骨格（主鎖、赤色と青色で表示）に囲まれて塩基（黄色で表示）が配列した Fig. 1(a) に示すような二重らせん構造であることが明らかにされて以来¹⁾、塩基の重なった構造が層状化合物のグラファイトに似ていることから、電気伝導性があるのではないかと考えられてきた。DNA では、Fig. 1(b) に示すような四種類の塩基（アデニン・グアニン・シトシン・チミン）が水素結合で相補的な対（アデニンとチミン、グアニンとシトシン）をつくって、二重らせん軸の方向に沿って配列している。1962年頃、Eley と Spivey は DNA やヌクレオチドなどの電気特性の実験結果から DNA の伝導性を示唆するとともに、塩基対のもつ π 電子が主鎖に沿って一次元的な相互作用（ π スタッキング）を有し、塩基対の重なりに沿って電子が移動するというモデルを提唱した²⁾（Fig. 1(a) 緑色矢印参照）。これが今日の主流のモデルとなっている。同時期に Brillouin は彼の理論を基礎として DNA のリン酸基の周期性からリン酸骨格上に伝導性があることを提唱した³⁾（Fig. 1(a) 赤色と青色矢印参照）。しかしながら、リン酸基が絶縁性である糖に結合していることや、たとえ伝導帯をもっていたとしてもバンドギャップが大きいことが予想されるため、リン酸骨格の伝導性については最近の筆者らの報告^{4,5)} まで40年間ほとんど取り上げられることはなかった。

DNA の伝導性、言い換えると、電荷輸送特性は、生体

内の細胞の癌化や老化の要因である DNA 損傷の検出や修復のメカニズムに関与しているといわれている⁶⁾。細胞内では、タンパク質からなる酵素によって損傷を修復したり、細胞死を引き起こしたりすることによって生体活動が維持されている。そのためにはまず、できるだけ速く損傷部位を見つけることが必要であるが、酵素と DNA の構造のもつ「鍵と鍵穴」だけの関係では巨大ゲノム中の損傷部位を即座に探し出すのは難しいからである。例えば、同じ形をした鍵穴の材質の違いを見分けるようなもっと別な機能が関係していると考えられている。その候補の一つが、DNA の電荷輸送特性である。つまり、修復酵素が DNA の表面を走査して30億もの塩基対の中から損傷部位を探しだすときに、電荷輸送を利用して走査を補助することで修復酵素が即座に損傷部位を見つけ出すのを助けるというものである。今日では DNA の塩基の重なりを通して長距離でホールが移動することが明らかになりつつある⁷⁾。ここで電荷移動とはホール（正電荷）移動および電子移動を総称している。また、染色体末端にあり老化にその長さに関係するといわれているテロメアは、自身が電荷移動により酸化されることで染色体を守っているというモデルも提唱されている⁸⁾。これらの例からもわかるように、DNA の伝導性と生物機能とは強いかわりがあり、バンドギャップの大きさよりもその輸送機構を調べるのが重要となっている。

それならば、リン酸骨格に沿った電荷輸送においても塩基の場合と同様に損傷部位の探査に関係しているとは考えられないだろうか。例えば、DNA 複製で生じたミスマッ

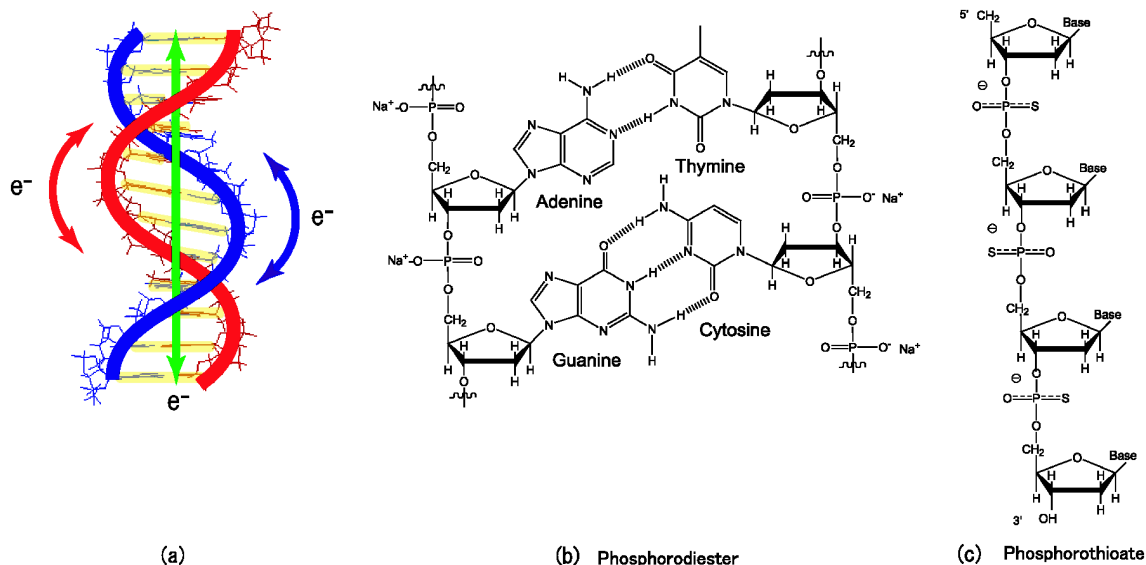


Fig. 1 (a) A double helical structure of B-DNA (Deoxyribonucleic acid). (b) Schematic representation of phosphodiester linkage. The four bases are adenine (A), thymine (T), guanine (G) and cytosine (C). (c) Schematic representation of phosphorothioate linkage.

チ (誤った塩基対合) の塩基除去修復機構にリン酸骨格の切れ目 (ニック) が重要な役割をもち、酵素がニックをもつ一本鎖 DNA を選択的に切断して塩基を除去することが報告されている⁹⁾。このようにニックのある方の鎖を識別したりニックを修復したりするのに、酵素はリン酸骨格に沿った電荷輸送を利用しているのではないだろうか。いずれにしても、まずリン酸骨格の電荷輸送特性について知らなければならない。

そこで、筆者らはリン酸骨格の電子伝導性を調べることが目的として、これまで吸着種から基板への電子移動時間の測定に用いられてきた内殻正孔時計法¹⁰⁾ (内殻正孔寿命を内部時計として利用する方法) を一次元分子鎖に適用し、伝導帯の電子移動時間の計測法に発展させた。ここでは共鳴オージェ電子分光法 (Resonant Auger Spectroscopy, RAS) を利用し、内殻から伝導帯へ励起された電子が内殻正孔寿命よりも長く励起サイトの周りに局在化する場合 (スペクテーターオージェ電子放出) と伝導帯を通過して速い電子移動により非局在化する場合 (ノーマルオージェ電子放出) のオージェ電子収量分布から伝導帯の電子移動時間を求めている。内殻正孔の寿命はフェムト秒 (10^{-15} s) からアト秒 (10^{-18} s) 領域にあるため¹¹⁾、超短パルス光源によるポンププローブ法¹²⁾で困難な時間領域の電子移動を計測できるという特色がある。そのため、アト秒で伝導帯中を電子が移動するような電子移動度の高い (金属的な) 伝導性について調べることができる。内殻励起を利用した場合、複雑な分子の特定部位を選択的に励起できるという特徴があり、DNA ではリン酸骨格のつくる伝導帯へ直接電子を入れることができる。そのため、バンドギャップの大きさにかかわらず伝導帯の電子の動きを観

測することができる。

本稿では、周期性のリン酸骨格をもつ DNA と非周期性のリン酸骨格をもつアンチセンス DNA の実例を通して、新たに構築した手法とその注意点について説明するとともに、DNA の伝導性や生物機能との関わりについても紹介したい。

2. DNA の伝導性

2.1 癌化や老化のメカニズム解明への期待

DNA は生命の基本設計図 (遺伝情報) が刻み込まれた直径約 2 ナノメートルの細長い紐状の物質で、ヒトの体細胞では約 2 メートルもあり、直径約 10 マイクロメートルの細胞核に複雑に折りたたまれて収納されている。細胞核をテニスボールに例えると、20 キロメートルほどの長さの極細糸が入っているのと同じになるという。驚くべきことに、この長い DNA は、特殊なタンパク質に結合して折り畳まれ、コイルとループの重なりとなって決してもつれないという。非常にうまく詰め込まれているため、タンパク質が近づき転写や複製、修復を行うことができる¹³⁾。このような染色体 DNA に発生した損傷を速やかに修復する能力を生物は備えており、例えば染色体 DNA が切断された場合、1 分以内に修復が行われるという。ここで、ある生物のもつ全ての遺伝情報をゲノムと呼ぶ。ゲノム (genom) は遺伝子 (gene) と染色体 (chromosome) から合成された言葉であり、筆者らの実験では魚精子から抽出したゲノム DNA を用いている。ゲノムの不安定性は、発癌、老化、神経疾患などの疾病を引き起こすことが知られている。

さて、DNA の修復を行うためには損傷部位を検出しなければならないが、このような巨大なゲノム DNA の損傷を生きた細胞はどのように効率よく検出しているのだろうか。そこで登場してくるのが電荷輸送機構である。もし DNA が金属のような導線であったら、我々はどんなに長い線でもテスターをあてて抵抗を測ることで断線の場所を知ることができる。カリフォルニア工科大学の Barton 教授は、DNA の塩基にくっついた二つの離れた場所にある酵素の間で酸化還元によって電荷のやり取りを行うことで塩基の損傷部位を探すというモデルを提唱している⁶⁾。ホールあるいは電子の波動関数が非局在化して重なった塩基全体に広がり DNA が導体のように振舞うと考えている。二つの離れた場所にくっついた酵素はテスターの端子のようなもので、酵素が DNA 表面にくっついて端から端まで走査する必要がないため短時間に損傷部位を見つけることができるという。また、電荷移動が塩基の配列に非常に敏感なことが明らかになっており⁶⁾、塩基配列のミスマッチや部分的な突然変異のメカニズムにも関係しているといわれている。しかしながら、不明な点も多く、生物機能の観点から DNA の電荷輸送現象の解明は非常に重要となっている。

ここで、上記1項で述べたミスマッチ修復機構におけるニックをもつ鎖の識別や、放射線損傷などによって生じたニックの部位の探索において、リン酸骨格自身が電荷輸送特性を持ち酵素による探査を補助しているとは考えられないだろうか。また、先に述べた Barton 教授のモデルでは離れた場所から探査するためには波動関数が DNA 全体に広がっていることが有効であるが、ゲノム DNA の周期性のない塩基配列では酸化還元電位によって塩基間で電荷移動が起こるとしても、波動関数が塩基の重なりを通して染色体全体に広がっているというのは難しい気もする。そういう意味においても、リン酸骨格の電荷輸送特性が塩基の損傷や修復のメカニズムなどの全貌を解明するためには欠かせない役割を持っているのではないだろうか。

2.2 分子ワイヤーへの期待

ゲノム DNA はダイヤモンド半導体のようにバンドギャップが大きく伝導帯に電子をもたないことは凝集系の物性データからは既に明らかであった。しかしながら、一分子を電極間につないだ場合、金属電極との接合部から結合を介して電荷の注入が可能のため、凝集系とは異なる特性を示すかもしれない。実際、1990年代になって、合成技術やナノテクノロジーの発展により一分子計測が可能になると、 λ -DNA のロープに金属に特有なオーミックの性質があること¹⁴⁾や近接効果による超伝導性があること¹⁵⁾などが報告され、ゲノム DNA の伝導性は物性分野でも一躍注目を集めるようになった^{16,17)}。というのも、DNA に電気伝導性があるならば、直径2ナノメートルの紐状の DNA を導線(構築ブロック)として複雑なパターンを作成でき、サブミクロンの集積回路が実現可能であるからである。

その後、絶縁性を示す実験結果も数多く報告され、一分子を取り出したとしてもそのままでは分子ワイヤーとして使えないという意見が近年優勢となっている。そのため、配列を制御して周期性をもたせた合成 DNA の伝導性の研究や金属でドーブした DNA の研究が盛んになっている。一方、DNA の伝導性を示す実験結果も数多く報告され、40年を経て今なお明確な答えは得られてはいない。つい最近になってこれまでの論争に決着をつけるような報告¹⁸⁾があった。カーボンナノチューブに DNA をつないだ実験で、塩基のミスマッチがないときはグラファイトと同様の電気抵抗を示し、ミスマッチがあるときはその300倍の抵抗を示すというものである。つまり、DNA の伝導性はその構造に非常に敏感でそのままでは分子ワイヤーには使えないというものである。DNA がグラファイトと同じ伝導特性をもつという点においては筆者らの結果とも一致している。今後の展開が気になるところである。

3. アンチセンス DNA とは

標的遺伝子に対してアンチセンス核酸(アンチセンス DNA, アンチセンス RNA, それらの類似体)を結合させて特定の遺伝情報の発現を制御する手法をアンチセンス法と呼び、21世紀の医療として注目されている。DNA の二重らせん構造における一方の鎖状の分子をセンス、他方をアンチセンスと呼び、DNA のアンチセンス鎖を鋳型としてセンスメッセンジャー RNA (mRNA) が合成され、それが翻訳されてタンパク質合成が行われる。すなわち、正常な細胞内では、DNA→mRNA→タンパク質という流れで遺伝情報が伝達されている。そこで、アンチセンス核酸を加え、mRNA と二重鎖を形成させることによって遺伝情報の流れを阻害しタンパク質合成を抑制しようという方法である。mRNA の塩基配列がわかっているとアンチセンス核酸(短い一本鎖)の合成が可能となる。例えば、ウイルスやガン細胞の持つ遺伝子に結合するアンチセンス核酸を合成し投与して治療を行うことができる。つまり、アンチセンス核酸は遺伝子の働きを阻害する物質であり、アンチセンス法は薬物治療法の一つである。

現在、アンチセンス核酸としてホスホロチオエート型オリゴヌクレオチド(PS-オリゴ)の有効性が確かめられ広く用いられている。PS-オリゴは、リン酸基の四つの酸素原子の中で糖とエステル結合をつくらない二つの酸素原子の一つが硫黄原子と置き換わったもので、チオリン酸基になっている。そのため、リン酸エステル結合 n 個に対して n 個の不斉原子をもち 2^n 乗のジアステレオマーを生じる。その一例を Fig. 1(c) に示す。ここでは交互に S 原子が並んでいる。ジアステレオマー同士は化学的、物理的に異なった性質をもつ。そのため、二重鎖形成能力が低いものや加水分解され易いものなどが含まれてしまい、実際に標的 mRNA を不活性化できるものが少ないという問題点

がある。このような PS-オリゴの電子物性を調べることも筆者らの目的の一つである。ここでは DNA の電子輸送特性を調べることが目的であり、チオリン酸基を導入した非周期性のリン酸骨格をもつ10個のグアニン (G) が結合した PS-オリゴを用いて DNA との比較実験を行った。

4. 伝導電子の動きを直接観測する方法

4.1 原理

これまで、有機物質の内殻共鳴励起では、イオン化連続準位よりも低いエネルギーで励起した場合、励起した元素の周りで局在化すると解釈されて内殻励起の選択性を利用した研究が行われてきた。一方、金属の内殻共鳴励起では、フェルミ準位 (E_F) 近傍の伝導帯中の元素選択的な非占有軌道の状態密度 (partial density of state, PDOS) の情報が得られるとして研究が行われてきた。 E_F 近傍の電子状態が物性に大きな影響を与えるからである。通常、PDOS は全電子収量を用いて測定した X 線吸収微細構造 (X-ray absorption fine structure, XAFS) スペクトルで表現される。しかしながら、後述するノーマルオージェ電子収量を用いた場合、内殻寿命の影響によるピークの広がりを抑えたスペクトルが得られ PDOS をより明瞭に示すという報告がある^{19,20}。それでは伝導帯をもつ半導体や絶縁体の場合はどうだろうか。

ここで、オージェ過程とは内殻励起後の緩和過程の一つで軽元素において支配的な過程である。X 線照射により生じた内殻正孔は外殻からの電子によって埋められ、外殻電子が放出される。通常のオージェ過程では内殻電子がイオン化されるため、外殻に 2 つの正孔が空いた終状態をとり、ノーマルオージェ過程と呼んでいる。一方、内殻電子が非占有軌道へ励起 (共鳴励起) された場合に起こるオージェ過程を共鳴オージェ過程と呼び、共鳴電子がオージェ過程に参与しない場合をスペクテーターオージェ過程、参与する場合をパティシパントオージェ過程と呼んで区別している。ここではスペクテーターオージェ過程を利用している。

バンドギャップが大きい場合でも共鳴励起により非占有軌道である伝導帯へ電子を入れることができるため、非局在性が強い (入った電子が自由に動き回れる) 伝導帯をもつ場合は、通常のイオン化閾値よりも前で共鳴電子が非局在化してノーマルオージェ過程が起こり、ノーマルオージェ電子の収量が E_F 近傍の伝導帯の形状を反映すると考えられる。この場合、良導体とは異なり、共鳴励起した電子が局在化と非局在化との競争過程にあり、孤立系のような局在化した電子状態 (内殻エキシトン状態) と金属のような非局在化した電子状態 (伝導帯) を示すことになる。伝導帯が非占有軌道であっても超高速で動く電子が観測できれば、電子伝導性をもつことがわかる。このような伝導帯中を動く電子はアト秒領域の時間で隣接原子へ移動するの

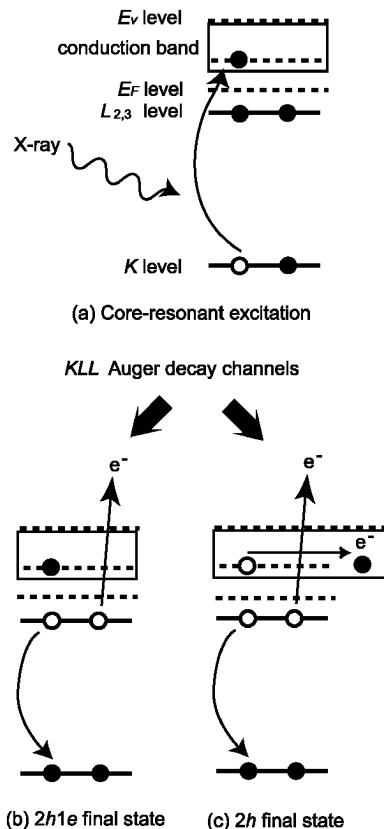


Fig. 2 (a) A phosphorus 1s core electron is excited into an unoccupied state in the conduction band. (b) Spectator Auger final state ($2h1e$) caused by localization of the electron to the core-hole site. (c) Normal Auger final state ($2h$) caused by delocalization of the electron to the conduction band coupling to the continuum. The figure was adapted from Ref. 4.

で、通常のパルス測定で観測するのは困難である。しかしながら、非常に短い内殻正孔寿命を内部時計として利用することで電子の速さも見積もることができる。次に、DNA の場合の具体例を示して説明する。

DNA のリンの内殻 1s 電子をリン酸骨格のつくる非占有軌道 (伝導帯) に共鳴励起し、内殻正孔寿命 (1.25フェムト秒¹¹) の時計を利用すると、伝導帯中の電子の動きをアト秒領域で観測することができる。つまり、リン酸基がつくる非占有軌道へ励起された電子 (Fig. 2(a)) が内殻正孔寿命よりも長く励起サイトの周りに局在化している場合、スペクテーターオージェ過程を経て緩和し 2 正孔 1 電子 ($2h1e$) の終状態を生じる (Fig. 2(b))。一方、励起された電子が内殻正孔寿命よりも速く伝導帯中を移動して非局在化する場合、ノーマルオージェ過程を経て緩和し 2 正孔 ($2h$) の終状態を生じる (Fig. 2(c))。この 2 つの状態は放出されるオージェ電子のエネルギーが異なるため識別できる。前者は非占有軌道の局在性 (共有結合性)、後者は非局在性 (導電性) を表すと解釈できる。例えば、孤立系²¹) ではスペクテーターオージェ電子のみが、良導体

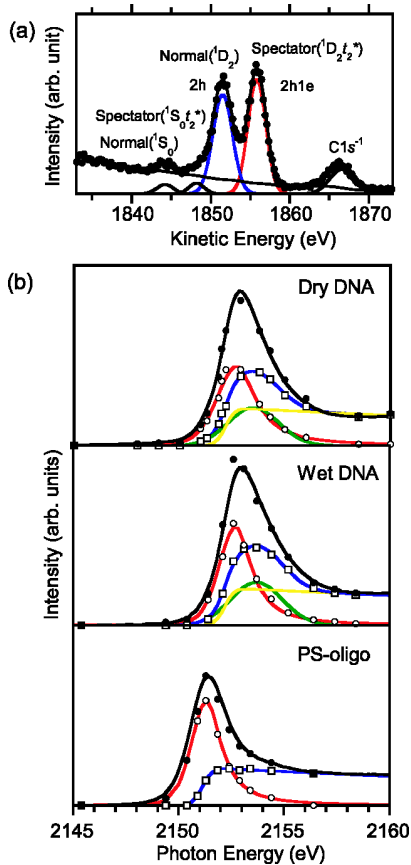


Fig. 3 (a) A typical P $KL_{2,3}L_{2,3}$ resonant Auger spectrum of dry DNA at 2152.9 eV. Spectator Auger (red line) and normal Auger (blue line) features are visible. The dots and the solid lines, respectively, represent the experimental data and a least-squares fit. A C1s photoemission peak is also visible. (b) Integrated intensities of spectator (open circle) and normal (open square) Auger components near the P K -edge. Results of curve fitting for $2h1e$ and $2h$ spectra are shown, respectively, as red and blue lines. For dry and wet DNA, the $2h$ cross sections were decomposed into a Gaussian function (green line) for the conduction band and a Gaussian error function (yellow line) for the continuum. In PS-oligo, the $2h$ cross section was fitted by a Gaussian error function (blue line). The sum of $2h1e$ and $2h$ cross sections is shown as closed circles, which is similar to P1s XAS (black line). The figure was adapted from Ref. 4.

金属 $Ag^{19)}$ ではノーマルオージェ電子のみが、金属 $Pd^{20)}$ 、半導体 $InP^{22)}$ では両方のオージェ電子が観測されている。ただし、伝導帯のどの軌道に電子を入れるかによって結果が異なる可能性はある。

4.2 DNA の共鳴オージェ電子分光

Fig. 3 (a) に一例として $P1s \rightarrow t_2^*$ 遷移²³⁾ における dry DNA の P $KL_{2,3}L_{2,3}$ RAS スペクトルを示す。スペクテーターオージェピーク [$(^1D_2) t_2^*$ と $(^1S_0) t_2^*$] とノーマルオージェピーク [$(^1D_2)$ と $(^1S_0)$] がはっきりと識別できる。オージェピークの帰属はイオン化閾値よりも高いエネルギーで測定されたノーマルオージェスペクトルと文献²²⁾

との比較により行った。通常、スペクテーターオージェピークは共鳴電子 (スペクテーター電子) が内殻ポテンシャルを遮蔽するためノーマルオージェピークに比べ高エネルギー側にシフト (スペクテーターシフト) する。 $(^1D_2) t_2^*$ と $(^1S_0) t_2^*$ でこのシフトが観測されたことから、オージェ緩和過程の間、電子が局在化した t_2^* 軌道に捕獲されていることが分かる。もし、内殻正孔が外殻電子によって埋められるまでに t_2^* 電子が伝導帯中を移動して非局在化するならば、終状態の電子構造はイオン化連続準位への遷移で起こるノーマルオージェ過程と同じ $(^1D_2)$ と $(^1S_0)$ になる。ここでは、主ピークである $(^1D_2)$ と $(^1D_2) t_2^*$ の面積から求めたオージェ終状態 $2h$ と $2h1e$ の収量スペクトルを **Fig. 3 (b)** に XAFS スペクトルとともに示す。観測した $KL_{2,3}L_{2,3}$ オージェ緩和過程以外にも、共鳴電子が内殻正孔を埋めるパティシバントオージェなどの緩和過程が存在するが、 $(^1D_2)$ と $(^1D_2) t_2^*$ の面積の総和が XAFS スペクトルとよく一致していることから、ここでは $KL_{2,3}L_{2,3}$ オージェ過程が支配的であるといえる。

4.3 DNA の共鳴オージェ電子収量の励起エネルギー依存性

Fig. 3 (b) に dry DNA, wet DNA, PS-オリゴのオージェ終状態 $2h1e$ の励起エネルギー依存性を赤線で示してある。全ての試料で非対称的なピーク形状を示した。これは、分光器の分解能 (低エネルギー側でのガウス関数の形状) と内殻励起状態の寿命 (高エネルギー側でのローレンツ関数の形状) を反映していると考えられる。ここで $2h1e$ 収量スペクトルは E_F 近傍における局在化した t_2^* の PDOS に対応する。一方、青線で示したオージェ終状態 $2h$ の励起エネルギー依存性では、周期性のリン酸骨格をもつ DNA のみに興味深いピーク状の構造が観測された。ここで $2h$ 収量スペクトルは E_F 近傍における非局在化した t_2^* の PDOS に対応する。イオン化連続準位より低エネルギー側で非局在化したピークが観測されたということは、 t_2^* 軌道がリン酸骨格の方向に広がって伝導帯をつくっているためと解釈できる。また、局在化した PDOS のピークエネルギーの位置は dry DNA と wet DNA で一致しており、リン酸基に局在化した内殻エキシトン状態を反映していると考えられる。ただし、その幅は隣接分子との相互作用が大きい dry DNA においてより広がっていた。一方、非局在化した PDOS の構造は若干異なっており、dry DNA と wet DNA の伝導帯の電子構造が同じではないことを示している。

興味深いことに、各リン酸基は絶縁性のある糖と共有結合をつくっているにもかかわらず、リン酸骨格が伝導帯を形成するのを阻害していない。これは、糖がリン酸骨格と塩基の間に位置し、隣接するリン酸基の間に立体的に入り込んでいないことから理解できる。実際に、DNA のリン酸骨格を扱ったバンド計算²⁴⁾ でもリン酸骨格が電子伝導

性を持つことが報告されている。また、アモルファス構造をもつ wet DNA でも非局在化した PDOS が観測されていることから、結晶性ではなく、単一分子鎖としての一次元の周期性が軌道の非局在化に重要な役割を担っていることが明らかとなった。

非周期性のリン酸骨格をもつ PS-オリゴの $2h$ 収量スペクトル (Fig. 3(b) 青線参照) は、孤立系²¹⁾のイオン化連続準位に特徴的なステップ形状を示し、リン酸基の O 原子を S 原子で置換することでリン酸骨格の周期性が失われた事実と一致した。このことから、PS-オリゴでは σ^* 軌道が各リン酸基に局在化していることが分かる。しかしながら、内殻励起を利用しているため、基底状態において PS-オリゴが主鎖上に広がった軌道 (伝導帯) をもたないことを結論することはできない (4.5項参照)。

半導体 InP²²⁾ と比較すると、DNA はスペクテーターオージェ電子収量の割合が大きく、InP と比べてより局在化した (電子移動度の小さい) 伝導帯をもつことが分かる。また、InP のスペクテーターシフトは DNA に比べて非常に小さい。これは、InP が基底状態で伝導帯に電子をもつため、その伝導電子がスペクテーター電子と占有軌道に生じた 2 正孔の相互作用を弱めることで説明できる。一般に、スペクテーター電子が占有軌道に生じた 2 正孔と弱くカップリングしているほどスペクテーターシフトは小さい²⁵⁾。DNA のもつ大きなスペクテーターシフトは、基底状態で伝導帯に電子をもたない (ワイドバンドギャップ) ことに一致している。このように、バンドギャップの大きさに関係なく非局在化した伝導帯をもつ場合は、イオン化閾値よりも前で状態密度を反映してノーマルオージェ過程が起こるため、この方法は絶縁体から金属まで広く伝導帯の性質を知るのに用いることができる。

4.4 イオン化連続準位への遷移によるノーマルオージェ過程との識別

孤立系 (伝導帯をもたない場合) においても、イオン化閾値より上ではノーマルオージェ過程が起こるため、検出されたノーマルオージェ電子が伝導帯中の電子移動によるものか、イオン化連続準位への遷移によるものかを識別する必要がある。一般に、XAFS スペクトルではイオン化連続準位への遷移は PS-オリゴの $2h$ 収量スペクトル (Fig. 3(b) 青線参照) のようにステップで表されるため²⁶⁾、 $2h$ 収量のエネルギー依存性を測定することで見分けることができる。非局在化した伝導帯をもつ場合は E_F 近傍の状態密度を反映し、dry DNA と wet DNA のように伝導帯の電子構造 (緑線) とイオン化連続準位のステップ (黄線) で表すことができる。

最近、内殻正孔時計法を水の中を移動する電子のホッピング時間を求めるのに応用した例²⁷⁾があるが、3 点でスペクテーターオージェ電子収量とノーマルオージェ電子収量を比較しているだけでエネルギー依存性の測定をしていな

いため、イオン化連続準位への遷移の影響がはっきりしない。適用する系によってはノーマルオージェ電子の検出がイオン化連続準位への遷移を反映しているに過ぎないという場合もあるので注意が必要である。

4.5 基底状態の電子状態との違い

内殻ポテンシャルは共鳴励起した電子に影響を与え局在化させる働きがあるため、基底状態とは異なる電子状態を見ている可能性がある。例えば、基底状態で、フェニルオリゴマー²⁸⁾やチオフェンオリゴマー²⁹⁾の最低非占有軌道 (Lowest Unoccupied Molecular Orbital, LUMO) は単量体とは異なり π^* 軌道が集まってバンドを作っているにもかかわらず、X 線吸収スペクトルでは単量体と同じ微細構造を示した。筆者らも導電性高分子の一つであるポリチオフェンの RAS³⁰⁾測定を行ったが、伝導帯中を超高速で移動する電子は観測できなかった。これは、共役系の高分子の伝導帯では非局在性が小さいために、内殻ポテンシャルにより局在化が起ってしまうと説明できる。言い換えると、単量体間の共役結合が作る相互作用が強くないために、隣接する単量体間の電子移動の速度が遅く観測できないともいえる。実際に、チオフェン類似の高分子³¹⁾で測定された隣接する単量体間のホッピング時間は約 250 フェムト秒と大変遅く、内殻正孔時計法では観測できない時間領域である。一般に、内殻正孔時計法の適応範囲³²⁾は内殻正孔寿命を τ とすると 0.1τ から 10τ である。ここで重要なのは、内殻励起が局所的でかつ速い電子移動だけを観測するため、必ずしも基底状態における電子状態を反映しないということである。近年、内殻励起を利用しているにもかかわらず、基底状態の電子構造をそのまま議論するケースがあるが、1990年初頭のオリゴマーの研究結果^{28,29)}からも明らかのように、有機物質の基底状態の局在性を議論する場合は十分な注意が必要である。実際、DNA の共鳴オージェ電子スペクトル³³⁻³⁵⁾の解析において、内殻正孔時計法での解析、つまり電子の局在化と非局在化の競争過程を考慮しない場合は局在性という結論が導かれている。有機物質で非局在性の伝導帯 (高い電子移動度) をもつものは稀であるため不自然な解釈ではないが、果たして真実を反映しているのだろうか。

4.6 内殻正孔時計法の解析¹⁰⁾

4.3項で記述したように σ^* 電子の局在化と非局在化の競争過程が存在すると解釈することで、この系に内殻正孔時計法¹⁰⁾が適用できると考えた。ここでは、内殻正孔寿命 (τ) について指数関数的にオージェ緩和過程が起こること、時間 (τ_{ED}) で指数関数的に伝導帯電子の非局在化が起こることを仮定すると、非局在化した状態から生じるノーマルオージェ過程の確率は、 $(1 + \tau_{ED}/\tau)^{-1}$ となる。これより、伝導帯の非局在化の時間 (τ_{ED}) と $2h$ と $2h1e$ の終状態の相対強度比の関係は、 $\tau_{ED} = \tau \times (I_{2h1e}/I_{2h})$ で記

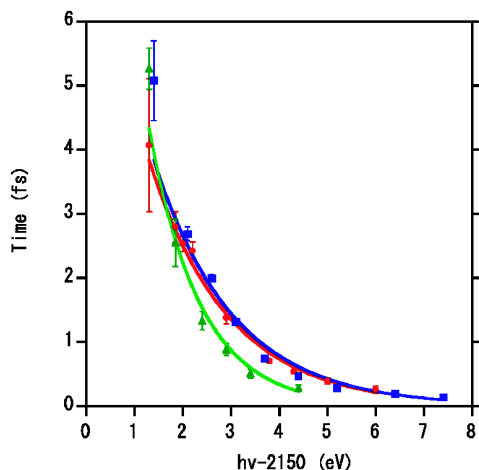


Fig. 4 Excitation energy dependence of electron-delocalization time for dry (circles) and wet (squares) DNA. The ionization time for PS-oligo is shown as a green triangle. Error bars show $\pm 1\sigma$. Each solid line is obtained by an exponential fit. The figure was adapted from Ref. 4.

述される。 τ は内殻正孔寿命、 I_{2h1e} と I_{2h} は、スペクテーターオージェ電子収量とノーマルオージェ電子収量である。P 1sの寿命¹¹⁾は1.25フェムト秒で0.53 eVの寿命幅に対応する。内殻正孔時計法の式の詳細は文献^{10,36)}を参照されたい。

得られたDNAの電子の非局在化時間 τ_{ED} の励起エネルギー依存性の結果をFig. 4に示す。実線は各データを指数関数でフィッティングしたものである。 τ_{ED} は励起エネルギーが高くなるにつれて短くなっていることがわかる。吸着系での電子移動のエネルギー依存性を扱った文献³²⁾を考慮すると、この系でのエネルギー依存性はトンネル障壁と伝導帯の電子状態密度に起因していると推察される。非周期性のPS-オリゴで得られた時間は励起された電子がイオン化連続準位へトンネル移動するのに要する時間と考えられる。実際に、最近報告³⁷⁾された実時間測定による原子のトンネルイオン化時間に近い値が得られている。また、wet DNAでは伝導帯のピーク近傍の励起エネルギー(2153.7 eV)において電子の非局在化が約 740 ± 30 ($\pm \sigma$)アト秒で起こっており、これは吸着種が基板へ起こす電荷移動の時間にも匹敵するほど速い値である^{38,39)}。イオン化連続準位よりも高いエネルギーで励起した場合、周期性のDNAと非周期性のPS-オリゴで得られた非局在化時間が近づいてくる。これは連続イオン化準位より高いエネルギーへの遷移によって引き起こされる自動イオン化過程が両者で同じことを示している。しかしながら、曲線の傾きは各々の試料で異なっており、ステップの立ち上がりの幅や伝導帯の形状などに関係していると推察される。例えば、緩やかな曲線カーブはより広がった伝導帯の幅に対応すると考えられる。エネルギー依存性の詳細については理論的なアプローチも含めて今後の課題である。

補足として、内殻正孔時計法には2種類の解析法があり、本稿で述べたのはスペクテーターオージェ電子を利用した手法であるが他にパティシバントオージェ電子を利用した手法³⁵⁾もある。しかしながら、後者の手法は孤立系との比較が必要になるため解析はより複雑になる。

5. DNAの伝導帯電子の非局在化時間の評価

観測された非局在化時間を評価するために、伝導帯中を電子が非局在化するのに約0.3 nmの距離(P-P間の半分の距離⁴⁰⁾)を移動すると仮定した。それによって、wet DNAでは、伝導電子の速さが約 $4 \times 10^5 \text{ ms}^{-1}$ と見積もられた。ここで求めた値は電場をかけていない状態の自由電子の速さ、すなわちフェルミ速度のようなものと仮定すると、カーボンナノチューブの電子のフェルミ速度⁴¹⁾にも匹敵し、典型的な金属電子のフェルミ速度にもかなり近い値といえる。DNAの塩基の π -スタックを移動する電子の速度⁴²⁾と比較すると約1000倍速い値であった。

6. 実験条件

実験は高エネルギー加速器研究機構の放射光実験施設BL-27AのInSb(111)二結晶分光器からの単色光(2~3 keV)を光源として、超高真空チャンバー中で行なった。RAS測定は電子分析器(CLASS-100: Vacuum Science Workshop (VSW))を用い、パスエネルギー44 eVで行った。その際、DNAはバンドギャップが大きくチャージアップを起こすために中和銃を用いた。XAFS測定は試料電流法を用いて行い、入射光強度が波長に大きく依存するため入射路の途中に置いたCuメッシュからの光電流をモニターし、全ての信号をこの量で規格化した。試料には、魚精子由来のDNANa塩(dry DNA, M.W. 50,000~100,000 Da)とホスホロチオエート型オリゴスクレオチド(PS-オリゴ, アンチセンスDNA, $d(G)_{10}$)の粉末をIn基板上に圧着したものをを用いた。また、分子間の相互作用を小さくするために、dry DNA上に水を滴下して混合し、透明なアモルファスフィルム状のDNA(wet DNA)の作成を行った。DNAは水を含むと分子間の距離が大きくなることが知られている⁴⁰⁾。

7. おわりに

はじめてDNAのP1sのXAFSとRASのデータを発表(BSR2004)したときには、化学状態マッピングの基礎データ取得を目的としており、電子移動に関する方向に研究が進むとは全く予期していなかった。塩基マッピングや異なる塩基配列のDNAをXAFSから識別できるかどうかについてスペクトルを測定して調べていた。その際に

XAFS スペクトルの $P1s \rightarrow \sigma^*$ 遷移のピーク形状が非対称で従来用いていたカーブフィッティング (イオン化連続準位をステップで表現) では再現できないということに気がついた。これについては非周期性のリン酸骨格をもつ DNA との比較実験を行うことで、ようやく従来の概念にとらわれない新たな解釈、すなわち XAFS に内殻正孔時計法を適用し局在化と非局在化した PDOS の帰属を与えることで、スペクトルが再現できることを見出した。今後どのような系に適用できるか実験的にも理論的にも調べていく必要がある。しかしながら、その原理から一次元分子鎖に限定せず広く凝集系に適用でき伝導電子の動く速さを直接調べることができるため、高移動度をもつ有機電子材料探索などに寄与することが期待される。

このように新たな概念を導入することで、電子分光法を用いて電子状態だけではなく電子移動についての動的な情報が得られることが明らかとなり、DNA の電子輸送が塩基に沿った軸上だけではなくリン酸基に沿ったらせん軸状にも可能であるという新しい知見を得ることができた。今後は得られた主鎖の電子伝導性が酵素によるニックの有無の識別や損傷の修復などの生物機能とどう関わっているかについて探っていきたい。特に、リン酸骨格について調べるには放射光はなくてはならない存在である。また、産総研においてレーザーコンプトンを利用した X 線パルス光源の利用⁴³⁾ が行われつつあり、一次元鎖の電子移動の実時間測定に応用できればと考えている。

謝辞

本稿で紹介した放射光測定は、高エネルギー加速器研究機構、物質構造科学研究所、BL-27A および日本原子力研究開発機構のエンドステーションを利用して放射光利用課題 (課題番号 2005G294) のもとで実施しました。スタッフの方々に深く感謝いたします。本研究の一部は、原子力委員会の評価に基づき、文部科学省原子力試験研究費により実施されたものである。

参考文献

- 1) J. D. Watson and F. H. C. Crick: *Nature* **171**, 737 (1953).
- 2) D. D. Eley and D. Spivey: *Trans. Faraday Soc.* **58**, 411 (1962).
- 3) L. Brillouin: in *Horizons in Biochemistry*, edited by M. Kash and B. Pullman, p. 295 (Academic, New York, 1962).
- 4) H. Ikeura-Sekiguchi and T. Sekiguchi: *Phys. Rev. Lett.* **99**, 228102 (2007).
- 5) Headline news, *PhysicsWorld* 誌 (WEB 版) (英国物理学協会 IOP, 2007/12/17).
- 6) S. R. Rajski, B. A. Jackson and J. K. Barton: *Mutation Res.* **447**, 49 (2000).
- 7) 高田忠雄, 真嶋哲朗: 生産と技術 **30**, 55 (2008).
- 8) A. Heller: *Faraday Discuss* **116**, 1 (2000).
- 9) F. A. Kadyrov *et al.*: *Cell* **126**, 297 (2006).
- 10) P. A. Brühwiler, O. Karis and N. Mårtensson: *Rev. Mod. Phys.* **74**, 703 (2002).
- 11) M. O. Krause and J. H. Oliver: *Journal of Physical and Chemical Reference Data* **8**, 329 (1979).
- 12) U. Keller: *Nature* **424**, 831 (2003).
- 13) B. Alberts 他: *Essential 細胞生物学* (南江堂, 2006) p. 246.
- 14) H.-W. Fink and C. Schenkenberger: *Nature* **398**, 407 (1999).
- 15) A. Y. Kasumov *et al.*: *Science* **284**, 1508 (1999).
- 16) R. G. Endres, D. L. Cox and R. R. P. Singh: *Rev. Mod. Phys.* **76**, 195 (2004).
- 17) M. Taniguchi and T. Kawai: *Phys. Rev. E* **70**, 011913 (2004).
- 18) X. Guo *et al.*: *Nature Nanotechnology* **3**, 163 (2007).
- 19) W. Drube, R. Treusch and G. Materlik: *Phys. Rev. Lett.* **74**, 42 (1995).
- 20) W. Drube, A. Lessmann and G. Materlik: in *Resonant Anomalous X-ray Scattering Theory and Applications*, G. Materlik, C. J. Sparks and K. Fischer, Eds. (Elsevier, 1994), p. 473-420.
- 21) T. LeBrun *et al.*: *Phys. Rev. A* **60**, 4667 (1999).
- 22) H. Wang *et al.*: *Phys. Rev. A* **50**, 1359 (1994).
- 23) R. Franke and J. Hormes: *Physica B* **216**, 85 (1995).
- 24) S. Suhai: *Biopolymers* **13**, 1739 (1974).
- 25) W. Eberhardt: in *Applications of Synchrotron Radiation*, edited by W. Eberhardt, (Springer-Verlag, 1995), p. 203.
- 26) J. Stöhr: *NEXAFS Spectroscopy* (Springer-Verlag, Berlin, 1991), p. 228-229.
- 27) D. Nordlund *et al.*: *Phys. Rev. Lett.* **99**, 217406 (2007).
- 28) T. Yokoyama *et al.*: *Phys. Scr.* **41**, 189 (1990).
- 29) M. G. Ramsey *et al.*: *J. Chem. Phys.* **97**, 4489 (1992).
- 30) H. Ikeura-Sekiguchi and T. Sekiguchi: *Surf. Interface Anal.* **40**, 673 (2008).
- 31) D. Harris, R. Dorsinville and T. Mukai: *Appl. Phys. Lett.* **70**, 1216 (1997).
- 32) W. Wurth and D. Menzel: *Chem. Phys.* **251**, 141 (2000).
- 33) H. S. Kato *et al.*: *Phys. Rev. Lett.* **93**, 086403 (2004).
- 34) L. Wang *et al.*: *Appl. Phys. Lett.* **89**, 013902 (2006).
- 35) Y. Baba *et al.*: *Phys. Rev.* **B74**, 205433 (2006).
- 36) O. Björneholm *et al.*: *Phys. Rev. Lett.* **68**, 1892 (1992).
- 37) M. Uiberacker *et al.*: *Nature* **446**, 627 (2007).
- 38) J. Schnadt *et al.*: *Nature* **418**, 620 (2002).
- 39) A. Föhlisch *et al.*: *Nature* **436**, 373 (2005).
- 40) W. Saenger: in *Principles of Nucleic Acid Structure* (Springer-Verlag, New York, 1984).
- 41) S. J. Tans *et al.*: *Nature* **386**, 474 (1997).
- 42) C. Wan *et al.*: *PNAS* **96**, 6014 (1999).
- 43) H. Ikeura-Sekiguchi *et al.*: *Appl. Phys. Lett.* **92**, 131107 (2008).

● 著者紹介 ●



池浦広美

産業技術総合研究所 計測フロンティア
研究部門 主任研究員

E-mail: ikeura-sekiguchi@aist.go.jp

専門：物理化学，放射光科学，イメージ
ング

【略歴】

1995年東京大学大学院理学系研究科博士課程修了，理学博士。同年工業技術院電子技術総合研究所量子放射部研究官，1999年同部主任研究官，2000年McMaster大学客員研究員（科技厅原子力在外研究員），2001年4月組織改編により，産業技術総合研究所光技術研究部門主任研究員，2002年経済産業省技術評価調査課産業技術調査官，2004年7月より現所属。



関口哲弘

日本原子力研究開発機構量子ビーム応用
研究部門 研究副主幹

E-mail: sekiguchi.tetsuhiro@jaea.go.jp

専門：物理化学，表面科学

【略歴】

1994年3月東京工業大学大学院理学研究課博士課程修了，同年4月日本原子力研究所大型放射光施設開発室研究員，1995年7月学位取得（理学博士）。組織改編後2003年4月より現職。

Direct observation of attosecond conduction electron through the phosphate backbone of genomic DNA —Application of “core-hole clock” method—

Hiromi IKEURA-SEKIGUCHI National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 1-1-1 Umezono, Tsukuba, Ibaraki 305-8568, Japan

Tetsuhiro SEKIGUCHI Japan Atomic Energy Agency (JAEA), Tokai, Naka, Ibaraki 319-1195, Japan

Abstract Conductivity of DNA is key function for future molecular wires and understanding the mechanism of detection and repair of damaged DNA related to the process of cancer and aging. Delocalization of conduction electron in the empty band through the phosphate backbone in DNA was directly probed by combination of resonant Auger spectroscopy and X-ray absorption spectroscopy. Results show that ultrafast electron delocalization was observed in genomic DNA with periodic backbones despite separation of each phosphate group by an insulating sugar group. In antisense phosphorotioate DNA with an aperiodic backbone, such delocalization was not observed. Remarkably rapid electron delocalization occurs at ca. 740 attoseconds for wet DNA, as estimated using the core-hole clock method. Such delocalization is comparable to the Fermi velocity of carbon nanotubes.