

## 10 eV 이하 전자선에 의한 DNA 손상과 철 이온의 영향

박연수 · 노형아 · 조 혁  
충남대학교 물리학과  
E-mail: yspark@cnu.ac.kr

중심어 (keyword) : DNA 손상, 헤리성 전자 흡착, 헤리성 전자 전달, 동결건조, 전기영동.

### 서 론

많은 생체분자들 중 방사선에 가장 민감하고 중요한 생체분자는 유전정보를 담고 있는 DNA 분자이다. DNA 분자는 방사선 혹은 방사선에 의해 생성된 2차 종과 상호작용하여 직접 혹은 간접적인 손상을 받는다. 이러한 손상 중 최근 관심을 갖는 것은 생체분자의 이온화 에너지 보다 낮은 에너지를 갖는 전자선(주로 10 eV이하)에 의한 간접적 손상이다[1]. 지금까지 많은 그룹들이 DNA를 구성하는 당, 염기, 인산기 각각의 분자에 대한 낮은 에너지 전자선 조사 실험으로 그 간접손상을 확인하고 손상 과정을 설명하고 있다[2]. 그러나 DNA 분자가 포함된 생체환경을 고려하면, DNA 분자 주변에 존재하는 다른 생체분자들에 의한 영향을 고려해야 정확한 DNA 간접손상과정을 이해할 수 있을 것이고, 이러한 노력의 일환으로 DNA-단백질 복합체 또는 DNA-금속이온 복합체를 이용하여 DNA 간접손상에서 첨가물이 미치는 영향에 관심을 갖기 시작했다. 본 연구에서는 낮은 에너지 전자선(10 eV이하) 조사에 의한 DNA 간접손상에서  $Fe^{2+}$ (ferrous ion),  $Fe^{3+}$ (ferric ion) 이온이 첨가된 경우 그 영향을 살펴보고자 한다.

### 재료 및 방법

pBR322 plasmid DNA(4,361 bp)는 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM EDTA 용액에 보관된 상태로 New England BioLabs에서 구매하였다.  $Fe^{2+}$ ,

$Fe^{3+}$  용액을 만들기 위한 Iron(II) Chloride( $FeCl_2$ ), Iron(III) Chloride( $FeCl_3$ )는 Sigma-Aldrich에서 구매하였다. DNA 박막은 동결건조(lyophilization) 방법을 이용하여 단일층 박막으로 제조하였다. 제조된 DNA 박막을 전자선 조사장치에 넣고, 내부 진공도가  $2 \times 10^{-9}$  torr에 도달하면 낮은 에너지 전자선(10 eV이하)을 조사한다. 전자선 조사가 완료되면 DNA 박막을 전자선 조사장치에서 회수하여 젤 전기영동(gel electrophoresis) 분석법을 이용하여 분석한다.

### 결과 및 고찰

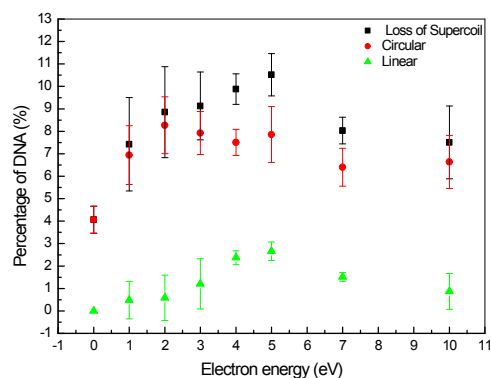
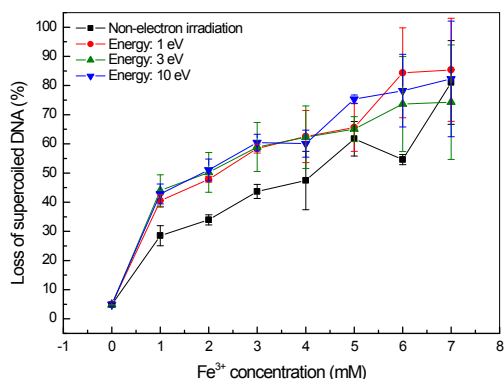


Figure 1. DNA damage by electron impact between 0 eV and 10 eV.

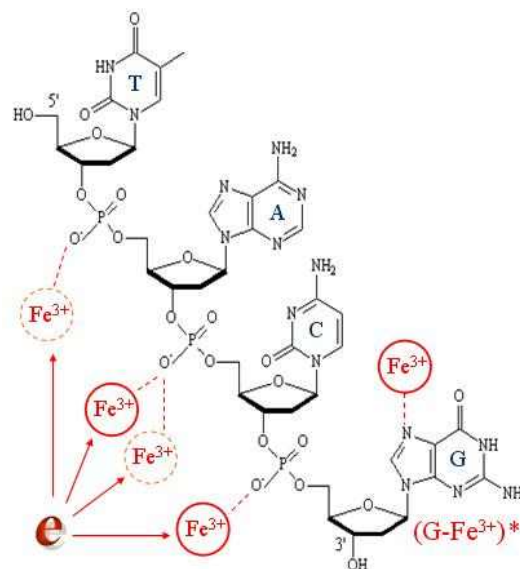
그림 1은 Fe 이온이 첨가되지 않은 DNA 박막에 낮은 에너지 전자선을 조사한 결과이다. 각 데이터점은 독립적인 실험을 세 번 수행한 평균과 표준편차를 나타낸다. 그림 1의 결과에서 전자선 에너지가 증가할수록 외가닥 절단(single strand break: SSB), 양가닥



**Figure 2.** Loss of supercoiled DNA as a function of Fe<sup>3+</sup> concentration from 0 mM to 7 mM.

절단(double strand break: DSB)과 같은 DNA 손상이 증가하는 것을 관찰할 수 있다. 그러나 전자선 에너지 증가에 따라 DNA 손상은 선형으로 증가하는 것이 아니라 4~5 eV 부근에서 최대값을 갖는다. 이것은 특정 에너지 전자가 DNA 가닥 절단에 우세한 영향을 미친다고 생각할 수 있고, 이와 같은 결과는 DNA 분자에 대한 에너지 공명현상인 해리성 전자 흡착(dissociative electron attachment: DEA)에 기인한다. 그림 2는 Fe<sup>3+</sup> 이온을 DNA 용액에 농도별로 첨가하여 제조한 DNA-Fe<sup>3+</sup> 박막에 대한 낮은 에너지 전자선 조사결과이다. 그림 2의 사각형은 전자선 조사를 하지 않은 결과이고, 원형, 삼각형, 역삼각형은 각각 1 eV, 3 eV, 10 eV 전자선을 조사한 결과이다. 낮은 에너지 전자선을 조사한 박막은 전자선을 조사하지 않은 박막에 비해 대략 20% 정도 더 손상을 받았다. 그림 2의 전자선을 조사하지 않은 박막은 Fe<sup>3+</sup> 이온과 DNA 사이의 자발산화(autoxidation) 반응에 의한 DNA 손상이고, 전자선을 조사한 박막은 Fe<sup>3+</sup>가 결합된 DNA 부분에서 낮은 에너지 전자에 의한 에너지 공명현상으로 생성된 DNA 손상이다. 여기에는 결과를 나타내지 않았지만 Fe<sup>2+</sup> 이온이 첨가된 DNA 박막에 낮은 에너지 전자선을 조사 결과도 DNA 손상이 10~30% 증가하였다.

본 연구 결과를 토대로 다른 그룹의 연구결과와 연계하여 Fe 이온에 의해 증가된 DNA 손상과정을 설명할 수 있는 하나의 가설을 제시한다. 그림 3과 같이 Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> 이온은 DNA 인산기, 염기 등의 특정 부분



**Figure 3.** Interaction of Fe<sup>3+</sup> with DNA sub-molecules(Fe<sup>2+</sup> is not shown here).

과 결합이 가능하다[3]. 결합된 부분은 다른 부분에 비해 DEA, 해리성 전자 전달(dissociative electron transfer: DET)을 유발할 가능성이 증가된다. 이러한 DEA, DET 과정을 겪은 DNA는 가닥을 구성하는 당과 인산기의 C-O 결합이 끊어지게 되고, SSB, DSB와 같은 손상이 증가하는 것으로 해석하고 있다.

## 결론

낮은 에너지 전자선은 DEA 과정을 통해 DNA 가닥 절단을 일으킬 수 있다. DNA-Fe ion 복합체에 낮은 에너지 전자선을 조사한 결과, 첨가된 철이온의 농도에 따라 DNA 가닥절단이 10~30% 증가되었다. 이러한 현상은 DNA 가닥 절단을 설명하기 위해 하나의 가설로 제시한 낮은 에너지 전자의 DEA, DET 과정으로 설명이 가능하다.

## 참고문헌

1. L. Sanche *et al*, Science, Vol. 287, 1658-1660 (2000).
2. S. Ptasinska *et al*, J. Chem. Phys. Vol. 120, 8505-8511 (2004).
3. A. A. Ouameur *et al*, DNA and Cell Biology Vol. 24, 394-401 (2005).