

放射線の飛跡構造シミュレーションと DNA 損傷研究

日本原子力研究所
保健物理部 放射線リスク研究室

渡邊 立子

ritsuko@riskest.tokai.jaeri.go.jp

概 要

放射線生物影響は、DNA に生じる損傷が主要因であると考えられている。また、生物影響の程度は、放射線の種類やエネルギーによって異なり、深刻な生物影響をもたらす修復不能な DNA 損傷の多くが、高 LET 放射線や飛程末端の低エネルギー電子により生成すると考えられる。これは、エネルギー付与の微細構造が、修復不能な損傷生成と密接に関係しているためである。従って、エネルギー付与の構造と DNA 損傷の種類や生成効率との関係を明らかにすることにより、修復不能な DNA 損傷の実体解明や異なる条件下での放射線影響の推測が可能となる。しかし、DNA レベルの微小領域のエネルギー分布や DNA 損傷分布を実験的に観測することは現状では十分行えるとは言い難い。以上の背景から、我々はモンテカルロ飛跡構造計算によって得られる微小領域でのエネルギー付与の分布に関する知見をもとに、放射線によるエネルギー付与と DNA 損傷について研究を進めてきた。これまでに、DNA 損傷の特徴とメカニズムを解析するため、実験と直接比較可能なプラスミド DNA 水溶液系における放射線による直接作用及び間接作用をモデル化し、シミュレートした結果から、放射線 DNA 損傷について様々な条件下の実験結果を合理的に説明できる可能性が示された。

1. はじめに

DNA 損傷と生物影響

地球上の生命体は、宇宙線や地上の放射性同位元素の崩壊に伴って放出される放射線など、その誕生時から絶えず環境からの放射線を浴びている。このため、細胞中の DNA

も常に放射線のエネルギーを受けて、何らかの変化を生じている。生体を構成する無数の生体分子の中でも、特に DNA は生物影響における重要な標的と考えられているが、これは、DNA が遺伝情報を担う生命にとって最も重要といえる役割を持ち、代替の役割を果たす分子が存在しないことにその原因のひとつがある。しかし、これだけ重要な分子だからこそ、我々の細胞は、DNA に生じた様々なタイプの損傷を適切な経路をもって大部分を修復することができる機能を備えてもいる。しかし、損傷の中には、修復不可能な、あるいは修復ミスに結びつくような損傷があり、これが原因で細胞の致死や突然変異といった生物学的な影響が引き起こされると推測される。そこで、放射線によって生じるどのような損傷が修復されないのか、そのような修復不可能な損傷はどのような条件下でどの程度の量生じるのかを知ることが、放射線生物影響のメカニズムの理解と影響の程度の評価を行う上で重要な鍵となる。

放射線生物作用の初期過程

DNA は、糖、リン酸、塩基という 3 つの構成要素から成る。DNA の二重らせんを形成する鎖の骨格は、糖とリン酸とが交互に結合したものから成り、遺伝情報を担う 4 種類の塩基が対をなした塩基対の配列によって遺伝情報が決定する。電離放射線は、DNA に、DNA を構成する二本の鎖のうちの片方のみが切断される一本鎖切断 (single strand break; SSB)、両方が切断される二本鎖切断 (double strand break; DSB)、塩基が欠落したり酸化などの化学的変化を受ける塩基損傷、DNA-タンパク質間の架橋などの分子変化をもたらすことが知られている。図 1 には、代表的な DNA 損傷の種類を模式的にあらわした。

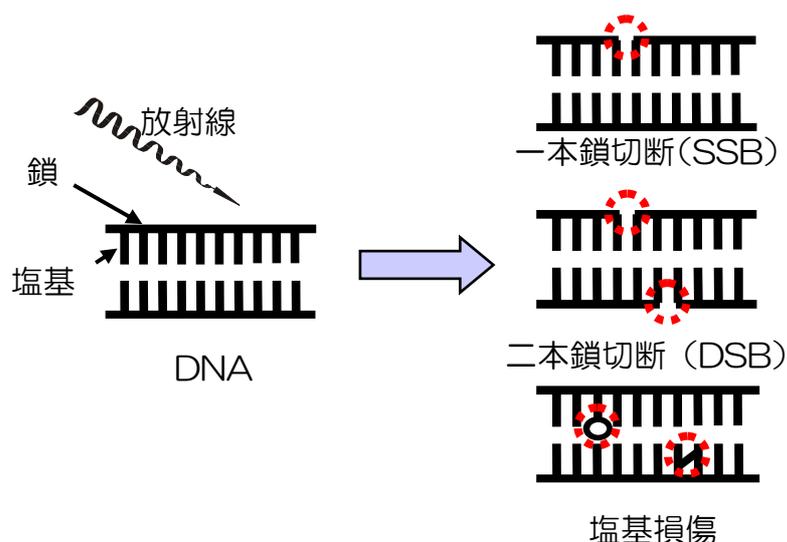


図1 放射線によりできる代表的なDNA損傷の種類

DNA への作用は、直接作用と、間接作用とに分けることができ、それぞれが DNA 損傷の生成に重要な役割を果たしている。放射線が直接、標的となる分子の電離・励起を引き起こし、その分子の変化につながるとき、これを直接作用と呼ぶ。ほとんどのタイプの放射線の場合、そのエネルギーのほとんどが二次電子として与えられるため、厳密には放射線が直接標的分子と相互作用した結果生じた二次電子と、相互作用の結果生じた二次電子が直接、標的分子の電離・励起を引き起こすという二つの経路が含まれる。一方、標的以外の分子が電離・励起された後、ラジカルが生成され、そのラジカルが標的分子と反応する場合を間接作用という。ここで考慮する、生物学的影響にとっての標的分子とは DNA 分子であり、間接作用を担うのは、生体を構成する主成分である水分子である。

放射線生物作用の特徴

放射線は熱や位置エネルギーなど他のエネルギー源と比較して少ないエネルギーでも高い効率で生物に影響を及ぼすことが知られている。この理由は、放射線のエネルギー付与が極めて不均一であり、局所的にみれば非常に大きいエネルギーを与えるためである。このエネルギー付与の不均一性が放射線の作用の大きな特徴である。しかし、DNA 損傷の主なものは、電離放射線以外の要因によっても生じることが知られており、電離放射線でしか引き起こされないタイプの損傷は、現段階では明らかにされていない。そこで、1990 年前後から、放射線の DNA 損傷の特徴は、微小領域に複数の損傷が集中して生じた部位を形成することにあるという説が提唱されている[1][2]。損傷の種類や数は同じでも、それらが分散しているより、居所的に集中している方が、細胞への影響が大きいのではないかということである。DNA 鎖切断のうち、相補鎖が無傷な SSB の場合は、大部分が数分以内に修復されるので重篤な生物影響には至らないとされる。しかし、DNA 鎖の両方が切断される DSB の場合には、修復に時間がかかる上に、修復不能な DSB が観測されており、それが細胞死と密接に関係することを示す報告が多くある。しかも、このような修復不能な DSB は、 γ 線や硬 X 線と比べて、高い密度でエネルギーを付与する α 粒子や重イオン等の高 LET 放射線によって生じやすいことが報告されている。このような観測事実は、エネルギー付与の微細構造が、修復不能な損傷生成と密接に関係することを示している。従って、エネルギー付与の構造を厳密に模擬し、DNA 損傷の種類や生成効率との関係を明らかにすることは、生物影響上重要な DNA 損傷を特定し、異なる条件での放射線影響を推測する上で、重要である。通常 DNA が細胞中でとっている構造を、B-DNA というが、直径約 2 nm、10 塩基対から成る二重らせんが一回転する繰り返し間隔は 3.4nm しかない。したがって、DNA 損傷、さらには生物影響を論じる上で、ナノメートルオーダーのエネルギー付与構造に関する知見が重要になってくる。しかし、ナノメートルオーダーの微小領域のエネルギー分布や DNA 損傷の詳細分布を実験的に直接観測す

るのは非常に困難である。そこで、モンテカルロ法による放射線の飛跡構造シミュレーションが、確率事象である放射線エネルギー付与と生体分子との相互作用を知るための有効な手段となる。

以上の背景から、我々はモンテカルロ飛跡構造計算によって得られる微小領域でのエネルギー付与の分布に関する知見をもとに、放射線によるエネルギー付与を出発点として、放射線による DNA 損傷生成のメカニズム及び放射線のエネルギー付与構造と DNA 損傷の関連性について研究を進めてきた。

2. モンテカルロ飛跡構造計算に基づいた DNA 損傷誘発過程のシミュレーション

生体の組成の大部分は水である。また、その他の生体分子も、主要構成元素は比較的軽いものである。すなわち、生体を構成する多量元素は、重量比の順に、酸素 (61.43%)、炭素 (22.86%)、水素 (10%)、窒素 (2.57%)、カルシウム (1.43%)、リン (1.11%) だけで、全構成元素の 99.5% を占める[3]。DNA も、この中に含まれる軽元素 (水素、炭素、窒素、炭素、リン) から構成される。そこで、生体におけるエネルギー付与の微視的空間分布に関する知見は、近似的に生体の半分以上を占める水における粒子輸送のモンテカルロ飛跡構造の計算に基づいて行われるのが一般的である。

放射線照射から DNA 損傷にいたる一連の過程は、物理的過程、物理化学的過程、化学的過程、生物学的過程という段階に分けて考えることができ、段階ごとにシミュレーションを行う。物理的過程は、媒質に対して電離放射線が照射された際の最初の過程 ($\sim 10^{-15}$ 秒) であり、放射線の飛跡に沿って媒質中で電離あるいは励起によりエネルギーを付与する過程である。この過程は、液相の水の反応断面積を考慮した電子線飛跡構造シミュレーションにより計算し、出力として放射線と水分子との相互作用が起こるすべての位置と電離あるいは励起のタイプごとのエネルギー量を与える。DNA への直接作用は、この段階で水分子を DNA 分子に置き換えることで近似的にシミュレートする。次に水分子の電離あるいは励起により OH ラジカルなどの反応性の高い化学種が生成される物理化学的過程 ($10^{-15} \sim 10^{-12}$ 秒) が続き、さらに、これらの化学種が水中で拡散する化学的過程 ($10^{-12} \sim 10^{-6}$ 秒) へと続く。DNA への間接作用は、この化学的過程の段階で生じたラジカルと DNA の反応を時間経過とともにスコアすることによってシミュレートする。ここでは、シミュレーションコードの詳細な説明は省略するが、これまでに構築・使用されている、生物影響研究を目的とした数多くのモンテカルロ飛跡構造計算コードは、いずれも水を媒質としている点で共通している[4]。また、物理化学的過程及び化学過程のシミュレーションにおけるモデル化の方法も、化学過程において考慮する化学種の種類の数などに違いはあるが、基本となる計算アルゴリズムはほぼ共通である[5]。

シミュレーションにおいて、ターゲットである DNA の構造は、放射線の飛跡構造と同様に、ナノメートルオーダーで記述されていることが望ましい。従来、DNA 断片を近似

的にモデル化した円筒形モデル[e.g.6]などを用いてエネルギー付与構造に関する知見が蓄積されてきたが、水溶液中、乾燥状態などにおける DNA の構造は、X 線結晶構造解析によって決定されており、最近では、原子レベルで記述された細胞中の DNA 構造モデルを考慮した研究も行われている[e.g.7]。

我々は、一連の放射線作用過程のモデルの妥当性を確認し、かつ DNA 損傷に関する新しい知見を得るために、組成、DNA の形状等に不確定要素が多い細胞中の DNA をターゲットとする前に、長さ数千塩基対のむき出しの円環状の DNA であるプラスミド DNA の水溶液をターゲットとした初期 DNA 損傷の研究を中心に行ってきた。プラスミド DNA は、大腸菌等から抽出して用いられ、DNA 鎖切断の収率を形状の違いとして簡便に測定できる系として、放射線照射実験対象によく用いられる試料である。構造が単純で溶液組成の調整も簡単で明らかであるため、モデル化がし易く、実験とシミュレーションの直接比較に適切な系である。本稿では、この系について行った研究から、電子と軟 X 線による DNA 損傷についての知見について紹介する。この紹介の中で、DNA 損傷の直接作用、間接作用のモデルについてもあわせて述べる。一連のシミュレーション計算は、電子による一連の放射線作用過程をモデル化した DBREAK[8,9]、これをベースにして直接作用及び X 線による作用過程を考慮したシミュレーションコード[10,11]を用いて行った。図 2 は、この DBREAK を用いた間接作用による DNA 損傷生成過程のシミュレーションの例を示したものである。

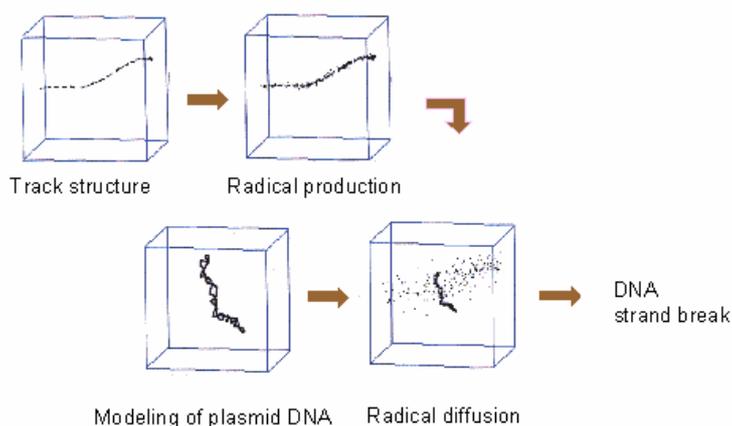


図2 プラスミドDNA水溶液に対する電子線照射によって生じるDNA損傷シミュレーションの流れ

3. 電子線のエネルギーと間接作用による DNA 損傷収率の関係

放射線の線質やエネルギーの違いは生物学的効果に影響するが、 γ 線などを照射した場合にも、深刻な生物影響をもたらすと考えられる修復不可能な DNA 損傷の多くが、飛跡末端で生じる低エネルギー電子 ($< \sim 5$ keV) により生成すると考えられる。すなわち、低エネルギー電子の影響は、生物影響にとって最も本質的な役割を果たしているといえる。そこで、電子のエネルギーによる影響の違いを調べるために、100 eV \sim 1 MeV の範囲のエネルギーの単色電子による DNA 損傷のシミュレーションを行い、DNA 鎖切断収率がどのようにエネルギー付与の構造の違いを反映するかを明らかにしようと試みた。電子による直接作用に関しては、飛跡構造計算によるエネルギー付与の分布と DNA 損傷の収率との関係が解析されており、SSB については、電子のエネルギーは大きくは収率に影響しないが、電子のエネルギーが低くなるにつれて収率が低くなる傾向があるのに対し、DSB の場合には、エネルギーの影響がより顕著で、100 eV から 1 keV のエネルギーで、もっとも効率よく DSB を生成するという計算結果が報告されている[7,12]。しかし、上記のように細胞中でも大半が水を占め、DNA 鎖切断研究の基礎となっているプラスミド DNA の実験系は主に希薄水溶液系である。間接作用は、ランダムに拡散するラジカルを介して作用する過程であるため、エネルギー付与の構造をあまり反映しないと考えられがちであるが、我々は、これに疑問を持ち、間接作用による DNA 損傷の詳細についての解析を行った。

まず、水溶液系での DNA 鎖切断に重要な役割を果たすラジカルの挙動を時間を追ってシミュレーションし、電子のエネルギーが収率に与える影響を調べた[13]。この結果を図 3 に示す。水ラジカルの収率は、拡散の過程で電子のエネルギーの違いによる影響を大きく受け、生物にとって重要だと考えられる OH ラジカルの収率は、初期状態 (10^{-12} 秒) では、ほとんどエネルギーに依存しなかったのに対し、定常状態 (10^{-6} 秒) では 1 keV で最

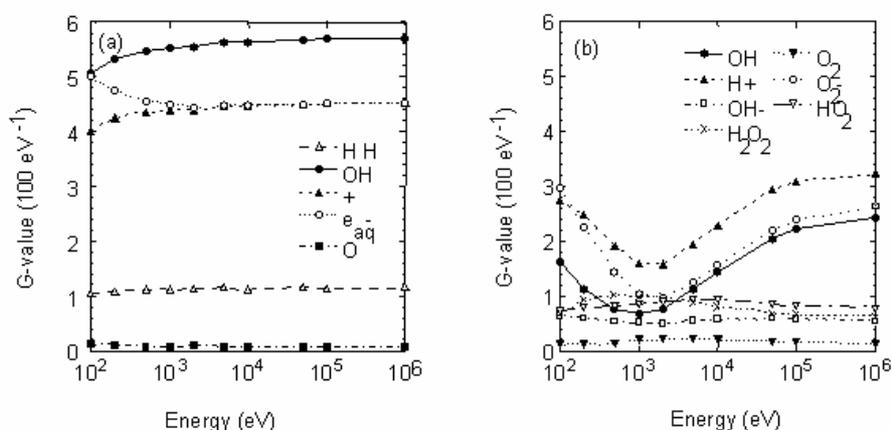


図 3 電子線によって生じた水ラジカルの初期状態 (10^{-12} 秒) と定常状態 (10^{-6} 秒) における収率の電子線エネルギー依存性

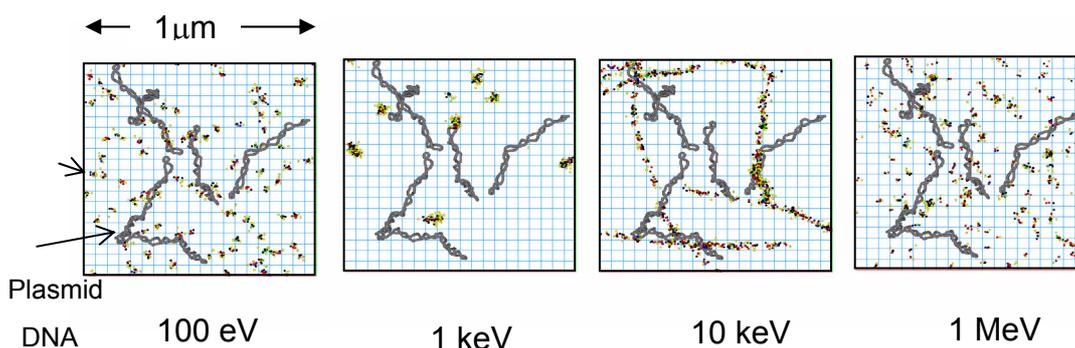


図4 プラスミドDNA水溶液に対する1Gyの電子線照射によって生じる拡散途中 (10^{-9} 秒) のラジカルの分布

小値を示し、フリッケ線量計の G 値で得られている実験結果[14]の傾向を再現した。これは、1 keV 付近のエネルギーを持つ電子の照射によりラジカルが高密度で生成し、再結合も含むラジカル同士の反応が効率よく起こるためであると解釈できる。

次に、これらの水のラジカルが DNA と反応して生じる DNA 損傷が照射電子線のエネルギーに対してどのように変化するかをシミュレーションにより明らかにした[15]。ここでは、DNA 損傷は、単純な損傷の指標として SSB、複雑な損傷の指標として DSB を対象とした。pBR322 プラスミド DNA (4362 塩基対) 20 $\mu\text{g/ml}$ 濃度、OH ラジカルスカベンジャーとしての働きを持つ Tris の濃度 10mM という条件の水溶液試料に、エネルギーの異なる電子線を照射する条件でシミュレーションを行い、OH ラジカルによる DNA 鎖切断収率の線量依存性を得た。図 4 には、4 種類の異なるエネルギーの電子がそれぞれ 1 Gy 照射された場合に生じたラジカルの分布の違いを示している。OH ラジカルによる SSB は、OH ラジカルと DNA との反応速度定数を考慮し、DNA に OH ラジカルが反応した場合に一定の確率 (0.13) で生じると仮定した。DSB については、相補鎖上の 10 塩基対以内に 2 つの SSB が生じた場合に生じると仮定した。この結果、SSB は定常状態での OH ラジカル収率と同様に 1 keV で最小、DSB は 1 keV で最大となった(図 5)。このような収率のエネルギー依存性は、 γ

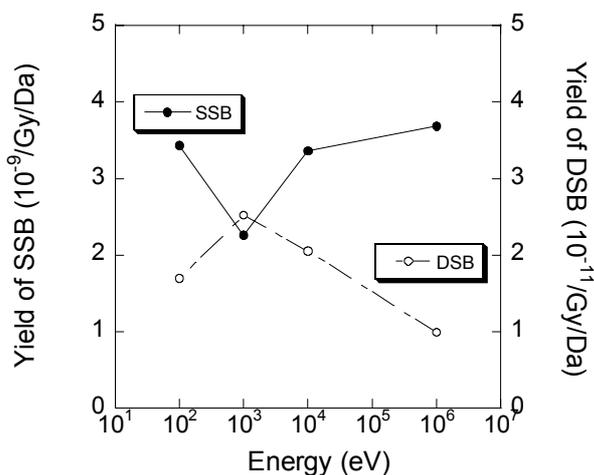


図5 水溶液中プラスミド DNA に電子線を照射したときに生じた SSB 及び DSB の収率の電子線エネルギー依存性

線と低エネルギーのX線照射によって得られたDNA鎖切断収率の実験結果[16,17]と傾向、絶対値ともに良い一致を示した。これにより、間接作用によるDNA損傷が、放射線の飛跡構造を反映することを示すとともに、広範囲のエネルギーの電子に対して、水溶液中での一連のDNA鎖切断機構のモデルを検証することができたと考える。さらに、エネルギー付与及びラジカル分布とDNA鎖切断収率との関係から、DNA鎖切断における間接効果には、数10 nm程度の領域でのエネルギー付与の密度が重要であるとの結論を得た。先行研究の結果ともあわせると、生物学的に重要だと考えられるDSBは、直接、間接作用双方によって1 keV付近のエネルギーを持つ電子によって効率よく生成される可能性が示された。生体に γ 線などの照射の場合にも、二次電子の中で、この程度のエネルギーの電子として付与される量を見積もることにより、影響評価の指標とすることができる可能性もある。今後、DSBだけではなく、より広範囲でのDNA鎖切断分布など、異なるサイズのターゲットに対する電子のエネルギーの影響も検討していく必要があると考えている。

4. X線誘発オージェ電子とDNA損傷

前項では、OHラジカルによる間接効果の作用についてモデル化・シミュレーションの妥当性を検討した。しかし、修復が困難と考えられるDNA損傷には、やはり放射線による直接のエネルギー付与の結果である直接効果の寄与が、重要だと考えられる。そこで、次に、直接効果に着目して行った研究を紹介する。

軟X線照射によって生じるDNAを構成する比較的軽い原子による内殻光吸収に引き続いて起こるオージェ効果は、低エネルギーのオージェ電子の放出により、DNA上の光吸収部位のごく近傍に高密度でエネルギーを付与すると考えられる。この結果、生物学的に重要な修復されにくい重篤なDNA損傷が生成しやすいと推測される。実際に、DNA主鎖を構成する重要な原子であるリンに効率よく吸収が起こった場合には、高い細胞致死効率や突然変異発生率、DNA修復効率の極端な減少などが観測されている[e.g. 18,19]。

我々は上記のような現象に注目し、DNA構成原子の内殻光吸収によるDNA損傷の生成過程のモデル化を行い、シミュレーションによって、DNA構成原子である、リン、酸素、炭素、窒素のK殻に光吸収が起こった場合のDNA損傷の特徴についての検討を行った。直接作用によってDNA鎖切断をもたらす条件は、DNA主鎖を構成する原子のファンデルワールス半径以内に閾値(10 eV)以上のエネルギーが付与された場合と仮定した。この閾値は、実験データに基づくもの[20,21]だが、便宜的なもので、実際には、5 eV以下の低エネルギーの電子もある確率では鎖切断を起こすことが示されているように[22]、必ずしも、鎖切断を起こすためにこれ以上のエネルギーが必要だというものではない。

シミュレーションの結果、光電効果を吸収過程とするリン、酸素、炭素、窒素のK殻吸収端付近の低エネルギーX線(200eV~3keV)は、 γ 線や硬X線に比べてDNA鎖切断

を生成しやすいことが示された。この原因のひとつとして、DNA に対する光作用吸収断面積が大きいために DNA に対する直接効果が大きいことがあげられる。DNA に光吸収が起こった場合の DNA 損傷生成効率は、条件によっては DNA の周囲の水に光吸収が起こった場合の数十から数千倍効率が高い。そこで、線量あたりの効果を見ると、周囲の水に比べ相対的に吸収断面積の大きくなる酸素と炭素の K 殻吸収端の間のエネルギー (288 eV~538 eV) の X 線が、特に高い効率で鎖切断を導くという結果が得られた。

また、低エネルギーのオージェ電子の影響については、DNA 構成原子の中で、唯一 K 殻吸収に続いて複数のオージェ電子を放出するリンの K 殻に注目して詳細を解析した結果を示す。放射光を用いてリン殻吸収端付近で測定された DNA 薄膜の吸収スペクトル (X-ray absorption near edge structure; XANES) には、2153eV に共鳴吸収 (1s→2t) ピークが観測される[18]。このエネルギーでは DNA に起こる吸収のうちリン K 殻に吸収が起こる確率は 0.7 なのに対し、わずかに高エネルギー側の 2160eV では 0.4、K 殻には吸収が起きない低エネルギー側の 2146eV での L と M 殻のみの吸収確率は 0.04 と見積もることができる。そこで、共鳴吸収ピークあるいは高エネルギー側の X 線を照射した場合には、リン K 殻に吸収が起きない場合に比べ、120 eV 程度の LMM オージェ電子の発生効率が顕著に高くなる。このため、DNA への高い直接のエネルギー付与をもたらす (図 6)、このような直接作用を通して局所的に集中した損傷 (DSB や DSB の極近傍にさらに鎖切断を伴うものとして定義される complex DSB) も生成しやすいことが示唆された (図 7)。これは、共鳴吸収ピークの照射によってプラスミド DNA 水溶液で報告されている DSB 生成収率の増加[23]や細胞レベルの実験で観測されている修復効率の低下[19]といった現象を、エネルギー付与の構造から解釈することができることを示す結果であると考えている。また、電子による間接効果の研究とあわせると、低エネルギー電子は大きな生物影響を生じやすい。これはナノメートルオーダーでの高い密度のエネルギー付与構造による。間接・直接効果両方がエネルギー付与構造の影響を受けるが直接効果に対する影響がより顕著である、という結論を得ることができた。

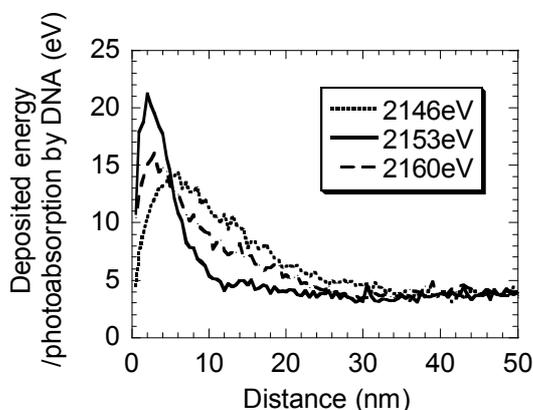


図 6 リン K 殻吸収端付近の単色 X 線を照射したときに、DNA を構成する原子が光吸収を起こした場合に放出される二次電子のエネルギー付与量を、光吸収位置からの距離に対してプロットした。照射 X 線エネルギーは、2146eV (リンの K 殻吸収端の低エネルギー側)、2153eV (リンの K 殻共鳴吸収ピーク: オージェ電子の放出効率が最大) 及び 2160eV (リンの K 殻吸収端の高エネルギー側) について示した。

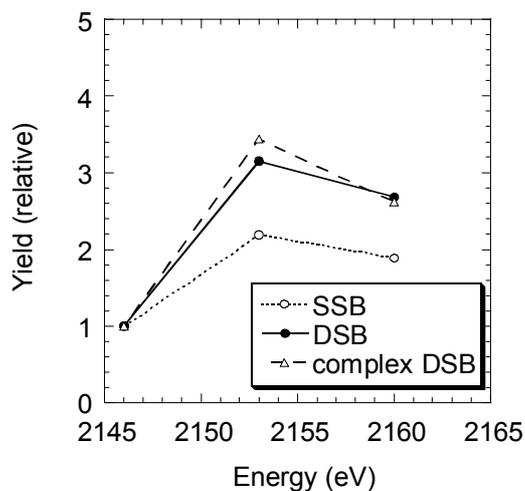


図7 リンK殻吸収端付近の単色X線を照射したときに、二次電子による直接エネルギーの付与によって生じるDNA鎖切断の収率を、2146eV（リンのK殻吸収端の低エネルギー側）で規格化した相対値で示した。図中のcomplex DSBは、DSBのごく近傍（10塩基対）以内に、さらに余分な鎖切断を伴う、複雑なタイプの損傷を意味する。

5. まとめと今後の展望

DNA 損傷の特徴とメカニズムを解析するため、実験と直接比較可能なプラスミド DNA 水溶液系における放射線による直接効果及び間接効果をモデル化し、シミュレートした結果から、放射線 DNA 損傷について様々な条件下の実験結果を合理的に説明できる可能性が示された。飛跡構造計算に基づいたシミュレーションは、実験では計測が困難な、 γ 線・X線などの放射線のシングルトラックの影響評価を可能とする。DNA 損傷と細胞レベルの影響との間にはまだ大きなギャップがあるが、これは、低線量放射線のリスクのモデル化・評価、さらに放射線の医学利用においても、厳密な線量評価・治療効果に貢献するものと考えられる。

ここで紹介した研究は、放射線物理、放射線化学、構造生物学、分子生物学、など多岐にわたる分野で得られた研究の成果の蓄積の上に成り立っている。水の放射線化学と水溶液中での DNA 構造モデルについては、かなり完成度が高い知識が蓄積されてきているということができると思われる。しかし、細胞の環境下のような複数の高濃度の溶質からなる系において、希薄水溶液中で得られた反応速度定数、拡散定数といった知見を、どこまで適用できるのか、といった問題について、まだ検討する必要があると考える。

また、放射線物理、特に飛跡構造の計算に用いる反応断面積には、まだ改良すべき点が残されていると考えられる。特に、飛跡構造の詳細な分布、飛程の計算結果に大きく関わる弾性散乱断面積と振動励起断面積は、液相のデータはなく、気相の水のデータをもとにせざるを得ない。これまでに、数多くの飛跡構造計算コードが構築されてきているが、すべてのコードに共通の根本的な問題である。生体を対象とする以上、対象は凝集系であるため、今後の凝集系でのデータの獲得・蓄積に期待するところは大きい。

また、現在、我々は、水の反応断面積ですべてを近似するという方法をとっているが、直接作用を考える上で、DNA と電子の反応断面積を考慮することは、より現実の系に近

いモデルを構築するためには避けられないところである。細胞、特にヒトの細胞のような真核細胞では、核内では DNA が非常に高密度で凝集している。とはいえ、DNA だけの凝集状態ではなく、水をはじめ、タンパク質やイオンなどさまざまな物質からなる不均一な系である。このような複雑な系の中での、飛跡構造シミュレーションには、多分に研究の余地があり、今後発展させていかなければならないところであると考ええる。

参考文献

- [1] D. T. Goodhead, *Int. J. Radiat. Biol.*, 65, 7 (1994)
- [2] J. F. Ward, *Prog. Nucl. Acids and Mole. Biol.*, 35, 95 (1988)
- [3] ICRP 1975 Reference Man ICRP publication 23, Oxford: Pergamon (1975)
- [4] H. Nikjoo et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 65, 7 (1994)
- [5] F. Ballarini et al., *Radiat. Environ. Biophys.*, 65, 7 (2000)
- [6] D. E. Charlton et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 56, 1 (1989)
- [7] W. Friedland et al., *Radiat. Res.*, 56, 1 (1989)
- [8] H. Tomita et al., *Radiat. Environ. Biophys.*, 36, 105 (1997)
- [9] H. Tomita et al., *Radiat. Environ. Biophys.*, 36, 235 (1998)
- [10] R. Watanabe et al., 10th IRPA Proceedings (2000)
- [11] R. Watanabe et al., *Int. J. Radiat. Biol.* (in press)
- [12] R. N. Hamm and T.E. Turner, In: *Biophysical modeling of radiation effects*. Adam Hilger, p53 (1991)
- [13] R. Watanabe et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 68, 113 (1995)
- [14] R. Watanabe and K. Saito, *Radiat. Phys. Chem.*, 62, 217 (2001)
- [15] R. Watanabe and K. Saito, *Radiat. Environ. Biophys.*, 41, 207 (2002)
- [16] M. Tomita et al., *Radiat. Res.*, 148, 36 (1997)
- [17] J. Fulford et al., *J. Phys. Chem. A*, 103, 11345 (1999)
- [18] K. Kobayashi et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 59, 643 (1991)
- [19] H. Maezawa et al., *Photon Factory Activ. Rep.*, 14, 420 (1996)
- [20] K. Hieda, *Int. J. Radiat. Biol.*, 59, 643 (1991)
- [21] K. M. Prise et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 70, 881 (2000)
- [22] L. Sanche, *Mass Spectrom. Rev.*, 21, 349 (2002)
- [23] K. Takakura et al., In: *Synchrotron radiation in the biosciences*, 756 (1994)