

## 18.放射能管理室

室長 前川秀彰

## 概要

放射性同位元素等の安全取り扱いに常々取り組んでおり、今年度も特に問題はなかった。職員各位の一層の注意を望む。来年度の法改正に向けて開催される講習会に参加し対応策を検討している。10月に文科省の立入検査があった。指摘事項はあったがおおむね良好との判定であった。講習会は下表の通り新規(6回)、外国語(3回)及び継続(5回)に分けてそれぞれ実施された。受講者は新規日本語123名、外国語3名、継続386名であった。新規受講者に対する試験は全員1回で合格した。継続者について、今年度は低線量放射線の影響について土田、文科省の通達・通知を元に安全行政の動向、事故、安全取り扱いについて前川が講習した。放射能管理室併任に引き続き独国立健康栄養研江崎部長がなり、村山分室の主任者は、ウイルス第2部の武田室長をお願いした。村山分室管理室業務補佐として引き続き菅原氏が在籍した。日大の及川氏、佐藤氏が退所し、信州大大学院に進学した及川氏が引き続き在籍した。新たに日大の中島氏が年度末から在籍した。前川が放射線安全功労者として文部科学大臣より表彰された。昨年に引き続きそれぞれの研究が進められ以下の成果が得られた。

## ・放射性同位元素使用状況

## 1. 戸山研究庁舎

(健康栄養研・保健医療科学院分も含む)

(単位 kBq)

	前年度繰越量	入庫量	使用量
<sup>3</sup> H	572300	982200	934500
<sup>14</sup> C	118311	108957	98620
<sup>32</sup> P	2250250	3524250	4444350
<sup>33</sup> P	0	0	0
<sup>35</sup> S	634250	1517000	1698750
<sup>51</sup> Cr	37000	296000	314500
<sup>125</sup> I	82140	85470	12210

保管量合計1群換算 34133.648kBq

## 2. 村山分室

(単位 kBq)

	前年度繰越量	入庫量	使用量
<sup>3</sup> H	120115	64750	107077
<sup>14</sup> C	6981	11100	14014
<sup>32</sup> P	48850	397750	401090
<sup>33</sup> P	6950	55500	53200
<sup>35</sup> S	240500	2077500	2225500
<sup>51</sup> Cr	0	0	0
<sup>125</sup> I	0	0	0

保管量合計1群換算 1554kBq

## ・従事者登録数

## 1. 戸山庁舎 381名

(健康栄養研、保健医療科学院分も含む)

## 2. 村山分室 106名

## ・講習会受講者数

## 1. 通常講習会

日時	受講者数	備考
平成16年 4月 7日	46	新規
5月11日	} 289	継続
5月12日		継続
5月14日		継続(村山)
6月 4日	11	継続
6月 4日	24	新規
6月 8日	5	継続(村山)
8月 3日	19	新規
10月 4日	11	新規
12月 3日	9	新規
平成17年 2月 4日	14	新規
合計	509	

(健康栄養研、保健医療科学院を含む)

## 2. 外国語講習会

日時	受講者数	備考
平成16年 4月2日	1	新規
12月2日	1	新規
平成17年 3月1日	1	新規
合計	3	

## 業績

## 調査・研究

## 放射性同位元素等を使用した生物学利用の研究

## . 新たな導入ベクターに関する研究

## 1. 遺伝子導入系の開発

新たな遺伝子治療ベクターに利用できることを前提にレトロトランスポゾン及びレトロポゾンを使った導入系を開発し解析している。

## (1) RNA 介在型転位因子様配列の挿入機構の解析。

非LTR型レトロトランスポゾン BMC1 の ORF1、および ORF2 を持ったクローンを作成したが、再度パキユロウイルスとの組換えウイルスを作成中である。

[ 藤本、松浦(阪大微研)、武田(ウイルス2部)、土田、高田、前川 ]

## (2) 転移因子マリナー様配列の水平伝播についての考察

沖縄を含む日本の昆虫(鱗翅目、鞘翅目)、珊瑚などに存在するマリナー様配列の中で同じ逆位繰変えし配列を持つグループを比較することで地理的移動を解析できることが示唆できた。この方法を使えば媒介昆虫の移動の追跡に応用できる可能性がある。

[ 中島(琉球大)、藤本、高田、土田、前川 ]

## II. 放射線感受性部位の高次構造の解析

## 1. 放射線によるDNA二本鎖切断検出のためのPCR法の利用

プラスミド pBR322 をモデルにして PCR 法による DNA 二本鎖切断検出法を開発した。閉環状構造を持つプラスミドは照射により PCR による増幅度が 200 ~ 300% も上昇することが明らかになっている。照射線量の設定を細かく 5 ~ 10Gy 幅で照射を行った。フィットポイント法とセカンドデリバティブ法のどちらが適切か検討した結果、セカンドデリバティブ法の方が適切である

と判断した。シミュレーション計算のパラメーターと実験結果のすり合わせを一部行っている。[ 及川(信大)、藤本、斎藤(原研東海)、渡辺(原研東海)、土田、高田、中垣(信大)、前川 ]

## 2. 放射線照射ゲノム DNA への PCR 法の応用

電気泳動法が利用できないゲノム DNA に対してこの PCR 法を応用することができる。閉環状構造のプラスミドで見られた PCR 反応の未照射 DNA に対して 20 ~ 50% の増幅現象は観察されなかった。この理由としては、用いた DNA の長さが約 20kb と短いためと考えている。そのため、rDNA、R1Bm、R2m 各単位内で高次構造をとっていないかを判定するためゲノム DNA を制限酵素 EcoRI で消化したものに放射線を照射し PCR 増幅のパターンを解析した。一部差が検出されたが全てにおいてパターンとしては似ていた。Bac クローンを使用することが必要であろう。[ 及川(信大)、藤本、土田、高田、松浦(阪大微研)、武田(ウイルス2部)、中垣(信大)、前川 ]

## III. 放射線損傷 DNA のシミュレーション計算による解析

分子動力学を用いたシミュレーション計算により損傷ヌクレオチドによる二本鎖 DNA の高次構造の変化を解析している。

[ 藤本、ピナック(原研東海)、斎藤(原研東海)、土田、高田、前川 ]

## IV. 放射線照射による損傷指標としての翅原基の利用

ガンマ線をカイコ幼虫に照射すると翅が小さくなる現象が知られている。カイコ N4 系統 5 齢幼虫にセシウム 137 のガンマ線を照射し蛹の翅の長さに対する全長の比を照射線量に対してプロットすると線量に依存して蛹の翅の長さが短くなることが明らかとなった。そこで他の系統(n02、P22、P20、w16、N4)に対して同様のことをコバルト 60 線源を使って行くとそれぞれ線量に依存して蛹の翅が短くなっていった。それぞれのパターンから放射線抵抗性感受性を調べることが出来ることが分かった。

[ 高田、藤本、伴野(九大)、藤井(九大)、西川(九大)、西

坂(九大)、田村(九大)、土田、前川]

## V. 脂質輸送機構の解析

脂質は細胞膜構成成分や栄養分、また生理活性脂質性メディエーターの材料として必須の成分である。脂質は水に溶けないので生体内を輸送するためには何らかの装置が必要である。脂質の一つであるカロチノイド特異結合タンパク質 (CBP) を発見し、哺乳類のステロイドホルモン合成にとって必須の細胞内因子 Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) ファミリーに属することを明らかにしてきた。このタンパク質はヒトとマウスから 15 種類同定されているが、その生理機能や脂質リガンドも未知のままである。この StAR がカロチノイドを結合するという新たな生理機能を持つことを明らかにする過程でファミリーの機能を総括的に明らかにしたい。

またヒトの目のルテイン集積機構の解明に合わせて貢献したい。

### 1. CBP 遺伝子の解析

カロチノイドの取込機構は未だ明確ではない。カロチノイド輸送に関連した突然変異体の解析から CBP 遺伝子と Y 遺伝子の関係を調べた。突然変異体 Y、+<sup>Y</sup>から単離された CBP cDNA の ORF の塩基配列には差が認められなかったが、mRNA の大きさに差があった。そのため何故 + Y が CBP を作れないのかを明らかにするためにゲノム遺伝子の解析を行った。

[土田、作道(東大)、藤本、前川、伴野(九大)、藤井(九大)、高田、片岡(東大)]

### 2. CBP 遺伝子アイソフォームの同定

4 つの予想膜貫通領域をコードするクローンが得られ哺乳類の StAR 相同分子でステロイドホルモン合成への関与が示唆されている metastatic lymph node 64(MLN64)と同じ特徴であった。このクローン 40kb の中に CBP の 3 側配列ばかりか 5 側も存在したため得られたクローンは CBP のアイソフォームと考えられた。それらの発現を突然変異体を使って解析を行っている。

[作道(東大)、土田、藤本、前川、高田、片岡(東大)]

## 管理業務

### . 講習会

ほぼ例年通り実施された。最初の表参照:

## II. 日常業務

1. 通常の管理業務を行った。
2. 10月12日に実施された文科省による立入検査でおおむね良好であったが指摘事項が2項あった。それぞれに適切に対処した。
3. 2月に文科省より通知があり管理区域、非管理区域において放射性同位元素等が無い点検するよう指示があった。総務部も含めた各部の協力の基点検を行ったが特に問題なかったので通常の管理状況報告書とともに平成17年度に提出の予定。

## 発表業績一覧

### . 誌上発表

- 1) 欧文発表
  1. K.Tsuchida, Z.Jouni, J.Gardetto, Y.Kobayashi, H.Tabunoki, M.Azuma, H.Sugiyama, N.Takada, H.Maekawa, Y.Banno, H.Fujii, H.Iwano and M.A.Wells (2004) Characterization of the carotenoid-binding protein of the Y-gene dominant mutants of *Bombix mori*. *J. Insect Physiology*, 50, 363-372.
  2. H.Fujimoto, Y.Hirukawa, H.Tani, Y.Matsuura, K.Hashido, K.Tsuchida, N.Takada, M.Kobayashi and H.Maekawa (2004) Integration of the 5' end of the retrotransposon, R2Bm, can be complemented by homologous recombination. *Nucleic Acids Res.*, 32, 1555-1565.
  3. H.Fujimoto, M.Pinak, T.Nemoto, P.O'Neill, E.Kume, K.Saito and H.Maekawa (2005) Molecular dynamics simulation of clustered DNA damage sites containing 8-oxoguanine and a basic site. *J. Comput. Chem.* 26, 788-798.

### . 学会発表

- 1) 国際学会
  1. H. Maekawa, E.Yamauchi, H.Fujimoto, R.Watanabe, K.Saito, M.Oikawa, M.Murakami, K.Tsuchida, N.Takada, Detection of DNA strand breaks using real time PCR

amplification for irradiated pBR322 plasmid DNA with scavenger and application for the simulation model. International workshop on biological responses to low dose radiation. Sendai, Aug. 2004.

2. H.Maekawa, M.Oikawa, E.Yamauchi, H.Fujimoto, R.Watanabe, K.Saito, K.Tsuchida, N.Takada, M.Nakagaki, M.Kobayashi, Y.Nakajima. PCR detection for strand breaks of irradiated plasmid DNA is applied for structural analysis of rDNA cluster including retrotransposons. XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Aug. 2004.

3. K.Tsuchida, W.Hara, S.Sosnicki, N.Takada, H.Maekawa, M.Kobayashi. Carotenoid binding protein is encoded by Y gene which transport carotenoid into hemolymph of *Bombyx mori*. XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Aug. 2004.

4. N.Nakajima, T.Nakamura, Y.Banno, H.Fujimoto, K.Sahara, K.Hashido, T.Shiino, K.Tsuchida, N.Takada and H.Maekawa. Comparison of mariner-like elements among *Bombyx mandarina* individuals inhabiting east Asia in the light of the segregation of *B.mori* & *B.mandarina*. XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Aug. 2004.

5. N.Nakajima, T.Nakamura, Y.Banno, H.Fujimoto, Kusakabe, K.Hashido, T.Shiino, K.Tsuchida, N.Takada and H.Maekawa. Possible horizontal transfer of mariner-like sequences into some invertebrates including lepidopteron insects, grasshopper & a coral among Japan islands. XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Aug. 2004.

6. Y.Nakajima, H.Fujimoto, T.Nakamura, Y.Banno, K.Sahara, T.Kusakabe, K.Hashido, T.Shiino, K.Tsuchida, N.Takada and H.Maekawa. Studies on segregation & divergent events of some insects inhabiting east Asian region by use of mariner-like sequences classified into the *Cecropia*-ITR-MLE as the indicator. XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Aug. 2004.

7. Y.Nakajima, H.Fujimoto, T.Nakamura, Y.Banno, K.Sahara, T.Kusakabe, K.Hashido, T.Shiino, K.Tsuchida, N.Takada and H.Maekawa. Studies on the segregation and divergent events of some wild silk moth inhabiting in Japan islands and *B. mandarina* distributing East Asian region by comparing the mariner-like elements (MLEs) classified into the

*Cecropia*-ITR-MLE. The International Workshop on Wild Silkmoths and Silks "Current Advances and Development in Wild Silkmoths and Tropical *Bombyx* Silks", October, 2004, Khonkaen, Thailand.

8. Y. Kawanishi, R. Takaishi, H. Fujimoto, Y. Banno, K. Sahara, T. Kusakabe, Y. Yasukochi, K. Tsuchida, H. Maekawa and Y. Nakajima. Studies on the segregation and divergent events of some insects, invertebrates and vertebrates inhabiting east Asian region by use of mariner-like-elements(MLES) classified into the *Cecropia*-ITR-MLE. International Workshop on Encoding Information in DNA Sequences, 2004.Feb. 21-27. Okinawa,Japan.

## 2) 国内学会

1. 土田耕三：新規カロチノイド結合タンパク質の生理機能とカロチノイドと食い輸送系。ワークショップ「昆虫の体色多形成発現および斑紋形成に潜む分子メカニズム解明への挑戦」2004年10月、上田

2. 及川美代子、高田直子、山内美恵子、藤本浩文、屠振力、渡辺立子、斎藤公明、土田耕三、中垣雅雄、前川秀彰：昆虫病理学の立場からカイコの放射線抵抗性を解析する点の方法論を考察する。第6回昆虫病理研究会シンポジウム、富士吉田、2004年10月

3. 前川秀彰、及川美代子、藤本浩文、渡辺立子、斎藤公明、山内美恵子、土田耕三、中垣雅雄、高田直子：PCR法を用いた放射線によるゲノムDNAの切断頻度の検出。第47回放射線影響学会大会、2004年11月、長崎

4. 中島裕美子、高石礼子、伴野豊、中村隆、佐原健、安河内祐二、日下部宜宏、椎野禎一郎、藤本浩文、橋戸和夫、土田耕三、高田直子、前川秀彰：東アジアに生息する昆虫を含む生物における *Cecropia*-ITR-MLE を指標とした生物地理学的考察。第27回日本分子生物学会大会、2004年12月、神戸。

5. 藤本浩文、ミロスラフ・ピナク、根本俊行、ピーター・オニール、久米悦雄、斎藤公明、土田耕三、高田直子、前川秀彰：クラスター損傷をもつDNA分子のMDシミュレーション。第27回日本分子生物学会大会、2004年12月、神戸。

6. 及川美代子、藤本浩文、渡辺立子、斎藤公明、屠振

#### 放射能管理室

力、土田耕三、中垣雅雄、高田直子、前川秀彰：リアルタイムPCR法による放射線照射ゲノムDNAの損傷検出とその構造解析への利用。第27回日本分子生物学会大会、2004年12月、神戸。