

16.放射能管理室

室長 土田 耕三

概要

当室は、放射性同位元素等の安全取り扱いの徹底を図り、また放射性同位元素の研究利用に関する研究と指導を行なっている。平成19年度の放射性同位元素の保管、使用、廃棄に関しては、放射線業務従事者によつて的確におこなわれ、また排気や排水中の放射能濃度、環境の空間線量率等は定められている基準値よりもはるかに少ないものであった。設備の稼働も正常に保たれている。

国立感染症研究所・独立行政法人国立健康・栄養研究所 戸山研究庁舎(戸山)、放射性同位元素等取扱規則(規則)、国立感染症研究所村山庁舎(村山) 放射性同位元素等取扱規則(規則)を平成19年5月に改正した。また国立感染症研究所ハンセン病研究センター(ハンセン) 放射性同位元素等管理取扱細則(細則)を同年同月に新たに定めた。これによつて3施設の放射性同位元素の取り扱いに関して、放射線障害予防規程とともに統一された定めが出来上がった。また、昨年、放射性同位元素等による放射線障害の防止に関する法律(法)の改正があり、下限数量以下の放射性同位元素は、RI管理区域外で使用できるようになったが、国立感染症研究所では、従来通りすべての放射性同位元素は管理区域内で使用するとし、改正した規則及び細則に、RI管理区域外での使用を認めないことを明記した。

放射線取扱主任者は、戸山が土田耕三・藤本浩文、村山が武田直和(ウイルス第二部・第一室長)、ハンセンは中永和枝(生体防御部・主任研究官)と鈴木幸一(生体防御部・第三室長)が任命されている。また、新たに第1種放射線取扱主任者試験に合格し、文部科学省講習会登録資格講習会を終了したものが、戸山2名、村山3名あった。

放射線業務従事者登録に関して、新規に登録する者に対する講習会(新規者講習会)を2カ月おきに年6回、継続して登録する者に対する講習会(継続者講習会)を、戸山研究庁舎で5回、村山庁舎とハンセン病研究センターでそれぞれ1回行った。また英語で行う外国人向け新規者講習会を、3回行った。新規者講習会受講者は日本語89名、外国語5名、継続者講習会は362名であった。新規者講習会受講者は講習終了後、確認テストを行い、全員合格した。継続者講習会は、改正した規則の説明を行い、放射性同位元素の安全取扱の徹底を図った。

土田、武田、藤本、鈴木は法の定めに従って、放射線取扱主任者定期講習に参加し、また、土田、武田、高田、藤本、菅原は主任者部会年次大会、放射線安全管理研修会及び講習会に参加し、放射線安全管理に対する新たな

知識の習得を行った。

放射性同位元素の有効使用を図るべく、戸山RI管理区域の縮小に関するアンケートを実施し、各部の意見を集約した。この結果は放射能委員会を通して公表し、今後の放射性同位元素の使用に関して参考となる資料を提供した。

人事異動では作道隆が、東京大学新領域創成研究科から研究員として着任した。

本年度も経常研究費、文部科学省、日本学術振興会や財団からの研究費によって、以下の研究を行った。

- ・放射線によるDNA損傷とその修復機構の解析
- II. 各生物種ゲノム構造から明らかにする転移因子の水平伝播についての考察
- III. 放射線による生物学的影響を可視化するための生物試料の探索
- VI. 医学への応用を目指した生体内脂質動態の解明

・放射性同位元素使用状況

1. 戸山

(独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む)

(単位 kBq)

	前年度線越量	入庫量	使用量
³ H	866120	260850	403450
¹⁴ C	135423	34813	43574
³² P	1207875	1581750	1400490
³³ P	0	0	0
³⁵ S	402398	242750	346898
⁵¹ Cr	0	0	0
¹²⁵ I	74444	269	444

保管量下限数量比合計 13987.0

2. 村山

(単位 kBq)

	前年度線越量	入庫量	使用量

³ H	173572	83250	66850
¹⁴ C	8347	12950	13300
³² P	41500	240500	249940
³³ P	0	37000	37000
³⁵ S	75290	945350	935850
⁵¹ Cr	0	0	0
¹²⁵ I	0	0	0

保管量下限数量比合計 322.4

・従事者登録数

1. 戸山 326名
(独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む)
2. 村山 113名
3. ハンセン 16名

・講習会受講者数

1. 通常講習会

日時	受講者数	備考
平成19年 4月 6日	30	新規
5月 8日	142	継続
5月 9日	125	継続
5月11日	65	継続(村山)
5月16日	14	継続(ハンセン)
6月 4日	23	新規
6月 6日	10	継続
6月26日	5	継続
7月 3日	1	継続
8月 3日	10	新規
10月 3日	16	新規
12月 3日	5	新規
平成20年 2月 4日	5	新規
合計	451	

2. 外国語講習会

日時	受講者数	備考
平成19年 4月 9日	3	新規
平成20年 1月 9日	1	新規
2月18日	1	新規
合計	5	

業 績

調査・研究

生物学研究における放射性同位元素の利用を図るために、生化学、遺伝学、分子生物学に応用可能な放射性同位元素を用いた研究を展開し、以下の研究を行った。本年度日本蚕糸学会賞を土田耕三、進歩賞を高田直子・藤本浩文・土田耕三が受賞した。

・放射線によるDNA損傷とその修復機構の解析

生物に与える放射線の影響のうち、最も影響が大きいと考えられるのがDNAの損傷である。これらの損傷は修復されなければ突然変異源となり、細胞がガン化する一因となると考えられている。当室では、放射線照射によるDNA損傷の頻度、また、損傷を受けたDNAはどのように修復されているのかに注目して研究を行っている。

(1) PCR法を利用した放射線によるDNA損傷頻度検出法の開発

昨年に引き続き、プラスミドDNAをモデルとし、リアルタイムPCRを利用したDNA損傷頻度測定手法の開発を行っている。閉環状構造を持つプラスミドに対する放射線照射後のPCRによる増幅度は、事前の熱処理の条件によって約10倍も変化することが明らかになった。この現象を利用することで、本手法を用いて放射線照射によって生じる切断に至らないDNA損傷も検出できる可能性が示唆された。

[斎藤(原子力機構), 前川(琉球大), 藤本, 高田, 作道, 土田]

(2) Kuタンパク質によるDNA二重鎖切断の認識・結合機構の解明

放射線に起因するDNA損傷のうち、DNA二本鎖切断は最も重篤な損傷の一つである。Kuタンパク質は最初にこの二本鎖切断を認識・結合し、二本鎖切断修復経路の一つである非相同末端再結合過程を開始するキータンパク質である。DNA末端間の結合に関与していると予想されるKuタンパク質のアミノ酸部位に注目し、その部位を変異させたタンパク質を用いて両者の結合力がどのように変化するかを計算化学的手法によって検証した。損傷DNAを包み込むKuタンパク質のリングに位置するリジン残基は、アセチル化されるとDNA結合能力に影響を与えられられている。そこで、候補となりうるリジン残基を選定し、その一部もしくは全部をグルタミン(アセチル化モデル)およびアルギニン(非アセチル化モデル)にそれぞれ置換した変異体モデルを作成し、DNA分子を加えてMDシミュレーションを行った。計算結果を基にDNA-Kuタンパク質間の結合力を推定した結果、非アセチル化モデル > 野生型モデル > アセチル化モデルの順で両分子の結合力は下がることを明らかにした。

[斎藤(原子力機構), 小池(放医研), 藤本, 前川]

(琉球大), 高田, 作道, 土田]

(3) Yファミリー-DNAポリメラーゼのDNA合成時におけるミスマッチ伸張反応

生物が持つ様々なDNA合成酵素のうち、Yファミリーに属するポリメラーゼは、放射線等によって生じるDNA損傷部位を乗り越えてDNA合成を行える能力を持つ。このうちヒトのYファミリー-DNAポリメラーゼの一つpol γ は鋳型鎖とプライマー鎖3'末端がミスマッチ塩基対を形成した状態からでもプライマー伸張を行う事ができるという特徴をもつ。計算化学的手法を用いて解析した結果、通常DNA合成時にリボ体とデオキシリボ体を選別するのに利用されているsteric gateと呼ばれるアミノ酸残基がpol γ の伸張反応時にミスマッチとなっているプライマー末端の塩基を支える役目を果たしている可能性が示唆された。[佐々(東京薬科大), 能美(国立衛研), 藤本, 前川(琉球大), 高田, 作道, 土田]

II. 各生物種ゲノム構造から明らかにする転移因子の水平伝播についての考察

*Drosophila mauritiana*で同定されたDNA型のトランスポゾン*marinar*は、多くの生物種のゲノム中で相同配列(MLEs)が見つかり、種を超えて水平伝播するトランスポゾンの有望なモデルである。MLEsは、その宿主ゲノムへの侵入時期に応じて多くのサブファミリーを持つが、そのうちの1つに注目し系統解析を行う事で、同一種における地理的移動を詳細に追跡できるのではないかと考えた。中国から韓国・日本にかけて広く分布する鱗翅目昆虫クワコから単離したMLEsの1サブファミリーの配列を比較解析した結果、同一種に見えるクワコが本州を中心とする日本型と中国・韓国・九州・北海道を含む大陸型に分類できることが判明した。このことは特定のMLEsの配列が、クワコゲノムへのMLEsの挿入時期とクワコの地理的移動を知る指標となりうることを示している。[川西, 中島, 前川(琉球大), 伴野(九大), 藤本, 高田, 作道, 土田]

III. 放射線による生物学的影響を可視化するための生物試料の探索

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。重イオンビームを利用して原基の前後2組のどちらかあるいはその一部を照射することで羽全体に影響が出るかどうかを検証した。ガンマ線照射後原基発生を観察することで、ガンマ線照射線量によって現れる影響を可視化、定量できる方法を確立した。これによりバイスタンダー効果を解析できる系の確立を図ることとした。[前川(琉球大), 小林(原子力機構), 白井(信州大), 木口(信州大), 高田, 藤本, 土田]

VI. 医学への応用を目指した生体内脂質動態の解明

脂質は細胞膜構成成分や栄養分、また生理活性メディエーターとして生体に必須の成分である。脂質は動物体内での細菌認識機構やウイルスの複製にも重要な役割を果たしていることが近年報告されており、生体内の脂質動態の解明は感染症研究を含む医学分野への応用性を持つ研究課題である。また、放射線の照射が細胞膜の脂質構成に影響することも知られている。水が豊富な生体内において水に溶けない脂質を輸送するには何らかの装置が必要であり、その装置となる遺伝子の同定と機能の解明を行っている。

1. CBP遺伝子の機能解析

カロテノイドは細菌から動植物に至るまで生物種を問わず存在する脂質であり、その抗酸化作用から臨床医学的にも重要な脂質である。例えば院内感染症の主要原因細菌MRSAはカロテノイドを産生することで好中球が作る活性酸素種に抵抗性を有している。また、視覚の維持に重要であるヒト網膜黄斑にはカロテノイドが蓄積しており、高齢者失明の第一原因である加齢黄斑変性症はカロテノイドの経口投与で予防される。しかしながらカロテノイドの生体内輸送機構はほとんど未解明である。カイコのカロテノイド輸送を支配する遺伝子座の一つ黄血(Y)についてゲノム配列の解析を行い、Yが細胞内カロテノイド結合蛋白質(CBP)をコードすることを明らかにした。Yの劣性対立遺伝子白血(+ Y)を持つ個体にCBPを強制発現させたところ、Yへの表現型への復帰が観察され、YがCBPをコードすることを機能的に実証した。CBPはカロテノイド輸送を担う細胞内蛋白質の初めての報告である。カイコの近縁種からCBPの相同遺伝子を同定し、CBPの配列保存部位について検討した。

[作道, 中島(信州大), 藤本, 瀬筒(生物研), 小林(生物研), 内野(生物研), 田村(生物研), 岩野(日大), 中垣(信州大), 片岡(東大), 嶋田(東大), 伴野(九大), Bernstein P. (Univ. Utah), 土田]

2. apoLp遺伝子の解析

リポタンパク質は動物体液における脂質循環を担うタンパク質である。カイコの体液リポタンパク質アポリポホリン-III(apoLp-III)について、発生初期での発現を調べたところ、産卵直後の胚には発現が見られなかったが、産卵後24時間後から胚子において一過性の発現が見られた。これは、体液が形成されない発生初期においてリポタンパク質が胚子自身によって合成されていることを示している。この体液形成以前のリポタンパク質の役割について解析を進めている。

[横山(日大), 中島(信州大), 作道, 高田, 藤本, 岩野(日大), 中垣(信州大), 土田]

3. apoLTP遺伝子の解析

脂質組成は組織によって異なる。この脂質組成の違いを生む機構として、体液内の脂質転移因子(apoLTP)の関与が考えられるが、その分子生物学的な解明は進んで

いない。昆虫体液のapoLTPを精製し、その精製した蛋白質をコードする遺伝子配列を同定した。

[横山(日大)、作道、高田、藤本、岩野(日大)、中垣(信州大)、土田]

4. 新規脂質輸送遺伝子の探索

脂質輸送に関わるカイコの遺伝子座の一つについて、その遺伝子座がコードする遺伝子を同定することを目的としてポジショナルクローニングを行った。遺伝子が座位するゲノム上の範囲を狭め、候補となる遺伝子を得た。その遺伝子は哺乳類の細菌認識に関わる遺伝子と相同性を有していた。現在その遺伝子の機能の詳細を調べている。

[作道、藤本、飯塚(生物研)、瀬筒(生物研)、田村(生物研)、生川(生物研)、山本(生物研)、三田(生物研)、伴野(九大)、土田]

管理業務

・講習会

新規放射線取扱業務従事者、継続者、新規外国人放射線取扱業務従事者、R I を使用しない管理区域立入者に対する講習会を実施した。実施詳細は、最初の表を参照。

II. 日常管理業務

1. 通常の日常管理業務を行った。放射性同位元素の購入、入荷登録、管理、放射性同位元素の廃棄物の集荷と払い出し、施設点検、汚染検査、排気、排水の放射性同位元素量の測定、施設日常点検、定期点検、自主点検、放射線取扱業務従事者の被ばく管理、放射線取扱業務従事者出入り管理、一時立ち入り者の出入り管理と講習、他日常の管理。

2. 例年通り管理状況報告書を文部科学省に6月に提出した。

・その他

1. 放射能委員会、R I 3 施設協議会等の開催

2. 放射線取扱主任者講習会等へ出席し研修した。

3. 法改正および部署名変更に伴い戸山研究庁舎、村山庁舎およびハンセン病研究センターの放射線障害予防規程に基づく取扱規則の改定をおこなった。

発表業績一覧

・誌上発表

1. 欧文発表

1) Fujimoto H., Pinak M., Nemoto T., Bunta J.K.,

(2007) Structural analysis of base mispairing in DNA containing oxidative guanine lesion, *CEJP*, **5**, 49-61.

2) Sakudoh T., Sezutsu H., Nakashima T., Kobayashi I., Fujimoto H., Uchino K., Banno Y., Iwano H., Maekawa H., Tamura T., Kataoka H., Tsuchida K. (2007) Carotenoid silk coloration is controlled by a carotenoid-binding protein, a product of the Yellow blood gene, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 8941-8946.

3) Sakudoh T., Takada N., Fujimoto H., Tsuchida K. (2007) Mechanism of tissue specificity of carotenoids delivery in the silkworm, *Carotenoid Science*, **11**, 1-5.

4) Hara W., Sosnicki S., Banno Y., Fujimoto H., Takada N., Maekawa H., Fujii H., Wells M.A., Tsuchida K. (2007) Linkage analysis of carotenoid-binding protein of *Bombyx mori* by restriction fragment length polymorphism, *J. Insect Biotech. Seric.*, **76**, 149-154.

5) Kawanishi Y., Takaishi R., Banno Y., Fujimoto H., Nho S. K., Maekawa H., Nakajima Y., (2007) Sequence comparison of mariner-like elements among the populations of *Bombyx mandarina* inhabiting China, Korea and Japan, *J. Insect Biotech. Seric.*, **76**, 79-87.

6) Yamauchi E., Watanabe R., Oikawa M., Fujimoto H., Yamada A., Saito K., Murakami M., Hashido K., Tsuchida K., Takada N., Fugo H., Tu Z., Maekawa H. (2007) Application of real time PCR for the quantitative detection of radiation-induced genomic DNA strand breaks, *J. Insect Biotech. Seric.*, **77**, 17-24.

2. 邦文発表

1) 土田耕三・作道隆・中島健陽・藤本浩文・高田直子・片岡宏誌・瀬筒秀樹・田村俊樹 (2007) カイコが黄色の繭を作るメカニズム カロチノイド選択的輸送の解明, *ブレインテクノニュース*, **123**, 26-30.

2) 土田耕三(2007) 目で見るバイオ、バイオプラザ 21, **6**, 3.

3) 川西祐一・伴野豊・藤本浩文・中島裕美子・前川秀彰 (2008) カイコとクワコの進化的繋がり = 転移因子研究との関わりを含めて =, *Entomotech*, **32**, 79-86.

4) 作道隆, 土田耕三(2008) 体色色素カロチノイドの選択的輸送を担う蛋白質. 蛋白質 核酸 酵素, **53**, 125-131.

5) 土田耕三, 作道隆, 伴野豊 (2008) 黄は白にまさるカイコの繭の色から. 生物の科学 遺伝, **62**, 15-20.

・学会発表

放射能管理室

1. 国際学会

- 1) Fujimoto H., Pinak M., Bunta J.K., Nemoto T., Takada N., Maekawa H., Tsuchida K. Molecular dynamics (MD) simulation of Ku heterodimer with double strand DNA molecule, The 13th International Congress of Radiation Research (ICRR2008), July, 2007, San Francisco USA.
- 2) Fujimoto H., Pinak M., Bunta J.K., Nemoto T., Takada N., Maekawa H., Tsuchida K. Structural analysis of the interaction between the Ku protein and DNA by using a molecular dynamic simulation technique, New Nuclear Research Symposium Biological Response to Low Dose Radiation, Nov. 2007, Tokyo, Japan.

招待講演

- 3) Tsuchida K. Intercellular carotenoid transport by Y gene. Gordon Research Conference, Ventura, USA, 2007.

2. 国内学会

- 1) 中島健陽・藤本浩文・高田直子・前川秀彰・中垣雅雄・土田耕三・クワコにもカロテノイド結合タンパク質が存在する。蚕糸・昆虫機能利用学術講演会,つくば, 2007年4月。
- 2) 作道隆, 瀬筒秀樹, 小林功, 内野恵郎, 片岡宏誌, 田村俊樹, 土田耕三. カロテノイド結合タンパク質遺伝子の導入による白血白朧系統からの黄血黄朧の発現. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, つくば, 2007年4月。
- 3) 作道隆. 朧の色を支配する黄血遺伝子の同定. 昆虫遺伝学研究会, つくば, 2007年4月。
- 4) 藤本 浩文, Miroslav Pinak, Juraj Kotulic Bunta, 根本 俊行, 前川 秀彰, 作道 隆, 高田 直子, 土田 耕三, 「Ku タンパク質による DNA 二本鎖切断末端認識機構の分子動力的解析」, 第 21 回分子シミュレーション討論会, 金沢, 2007 年 11 月。
- 5) 藤本 浩文, Miroslav Pinak, Juraj Kotulic Bunta, 根本 俊行, 前川 秀彰, 作道 隆, 高田 直子, 土田 耕三, 「分子動力的シミュレーションを用いた Ku タン

パク質と DNA 分子の結合能に関わるアミノ酸残基の検索」第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2007), 横浜, 2007 年 12 月。

- 6) 中島健陽, 作道隆, 藤本浩文, 高田直子, 中垣雅雄, 土田耕三. カイコとクワコのカロテノイド結合タンパク質遺伝子の比較. 日本分子生物学会年会・日本生化学会大会 合同大会, 横浜, 2007 年 12 月。
- 7) 土田耕三, 横山健, 中島健陽, 作道隆, 高田直子, 藤本浩文, 岩野秀俊. カイコ胚発生期におけるアポリポホリン-III 発現の経時観察. 日本分子生物学会年会・日本生化学会大会 合同大会, 横浜, 2007 年 12 月。
- 8) 作道隆, 中島健陽, 藤本浩文, 高田直子, 土田耕三. カイコを色づける黄血遺伝子の構造. 昆虫ゲノム研究会, 東京, 2008 年 3 月。
- 9) 中島健陽, 作道隆, 藤本浩文, 高田直子, 中垣雅雄, 嶋田透, 土田耕三. クワコカロテノイド結合タンパク質遺伝子の解析. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 名古屋, 2008 年 3 月。
- 10) 横山健, 作道隆, 中島健陽, 藤本浩文, 高田直子, 岩野秀俊, 土田耕三. カイコ apo Lipid Transfer Particle-III の DNA 塩基配列の決定. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 名古屋, 2008 年 3 月。
- 11) 土田耕三. カイコ Y 遺伝子とその対立遺伝子の分子機構の解明. 蚕糸学賞受賞者記念講演, 名古屋, 2008 年 3 月。

招待講演

土田耕三 カロテノイドの吸収と体内輸送系の解明、岩手大学農学部 2007 年。

研究内容新聞等紹介

毎日新聞 2007 年 5 月 8 日、日経バイオ電子版 2007 年 5 月 8 日、朝日新聞 2007 年 5 月 21 日、高知新聞 2007 年 5 月 28 日、中部経済新聞 2007 年 6 月 1 日、北海道新聞 2007 年 6 月 7 日、静岡新聞 2007 年 6 月 10 日、大分合同新聞 2007 年 6 月 11 日、岩手日報、2007 年 7 月 3 日、その他