

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。講習会は下表の通り新規(6回)、外国語(5回)及び継続(4回)に分けてそれぞれ実施された。受講者は新規日本語110名、外国語10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。継続について、今年度は土田、前川が行い、継続者に対して放射線の人体に対する影響及び科学技術庁の通達等を中心に講習した。

4月から室員の橋戸氏が国立精神神経センターへ出向

された。10月から橋戸氏の後任として藤本氏が赴任した。放射能管理室併任に引続き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部の武田室長にお願いした。村山分室管理室業務補佐として引続き菅原氏が在籍した。農工大の山内氏、日大の溝呂木氏が企業関連に進み、日大の小林氏は大学院に進んだ。アリゾナ大のS. Sosnick氏は、BRAVO! Programで短期間滞在した。日大の及川氏、佐藤氏が引続き在籍した。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(健康栄養研も含む)

(単位 kBq)

	前年度繰越量	入庫量	使用量
^3H	1670099	327750	1425549
^{14}C	335865	35368	252922
^{32}P	2222910	5180750	5153410
^{33}P	0	0	0
^{35}S	1054500	712250	1132500
^{51}Cr	74000	222000	259000
^{125}I	271950	11840	201650

保管量合計 1 群換算37786.611kBq

2. 村山分室

(単位 kBq)

	前年度繰越量	入庫量	使用量
^3H	535630	37000	452515
^{14}C	28656	11470	33145
^{32}P	65675	471750	488575
^{33}P	39160	18500	50710
^{35}S	215980	536500	511980
^{51}Cr	0	0	0
^{125}I	0	0	0

保管量合計 1 群換算 30901kBq

. 従事者登録数

1. 戸山庁舎 397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

放射能管理室

日時	受講者数 (内継続)	備考
平成15年 4月 7日	51	新規
5月 7日	145	継続
5月 8日	152	継続
5月13日	72	継続
5月19日	12	継続
6月 3日	17	新規
8月 4日	17	新規
10月 3日	14	新規
12月 3日	6	新規
平成16年 2月 12日	10	新規
合計	496	

(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15年 4月21日	3	新規
6月17日	2	新規
11月10日	3	新規
12月17日	1	新規
平成16年3月18日	1	新規
合計	10	

研究業績

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。

レトロトランスポゾン R2Bm をテストケースとしてゲノムへの組み込み機構を解析しているが、引き続き ORF1、ORF2 両方を持つ非LTR型レトロトランスポゾン R1Bm をすでに開発した系へ導入し解析した。3' 側に比べて効率は落ちるが 5' 側の挿入も CR で確認された。

[藤本、蛭川、松浦 (ウイルス第2部)、橋戸、土田、高田、小林 (東大)、前川]

(2) BMC1 導入ウイルスの構築

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、導入解析が遅れている。

[藤本、蛭川、松浦 (ウイルス2部)、土田、高田、小林 (東大)、前川]

(3) 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線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も追跡に応用できる可能性がある。

[中島(琉球大)、藤本、橋戸、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% も上昇することが明らかになっている。しかし照射線量の設定が 30 Gy、60 Gy、100 Gy と大まかであったのでより細かくこの上昇パターンを得ることを計画した。5~10 Gy 幅で照射を行うことにした。今後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行う予定である。

[佐藤(日大)、藤本、斎藤(原研東海)、渡辺(原研東海)、土田、高田、福原(日大)、岩野(日大)、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 20 kb 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反対するためゲノム 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。配列によっては差を観察されたがより多くのデータが必要である。 [及川 (日大)、藤本、土田、高田、福原(日大)、岩野(日大)、前川]

III. 脂質輸送機構の解析

1. カロチノイド結合たんぱく質 (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、+ Y 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計画中である。

[土田、小林 (日大)、Sosnick (アリゾナ大)、伴野 (九大)、藤井 (九大)、前川、高田、福原 (日大)、岩野 (日大)]

2. CBP遺伝子のRFLP解析

RFLPを利用した新しい解析法により関連群検索をしたところCBP遺伝子とY遺伝子は第2染色体にマップされ、ほぼ同じ位置にあることが分かった。しかし、CBP遺伝子とY遺伝子は異なる遺伝子であるのでY遺

伝子はCBPの発現を制御するものかもしれない。

[土田、原(生資研)、伴野(九大)、小林(日大)、藤井(九大)、前川、高田、福原(日大)、岩野(日大)]

発表業績一覧

誌上発表

1) 欧文

1. Z.Jouni, N.Takada, J.Gazard H.Maekawa, M.A.Wells and K.Tsuchida (2003) Transfer of cholesterol and diacylglycerol from lipophorin to *Bombyx mori* ovarioles *in vitro*: role of the lipid transfer particle. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 33, 145-153.
2. Y.Nakajima, T.Nakamura Y.Banno, H.Fujimoto, K.Hashido, K.Shiino, K.Tsuchida and H.Maekawa (2003) Comparison of *mariner*-like elements among *Bombyx mandarina* individuals inhabiting east Asia in the light of the segregation of *B. mori* and *B. mandarina* genomes. *Journal of Wild Silkworm and Silk*, 8, 57-64.
3. K.Tsuchida, Z.E.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 *Bombyx mori*. *Journal of Insect Physiology*. 50, 363-372.
4. Fujimoto,H., Hirukawa,Y., Tani,H., Matsuura,Y., Hashido,K., Tsuchida,K., Takada,N., Kobayashi,M. and Maekawa,H. (2004) Integration of the 5' end of the retrotransposon, R2Bm, can be complemented by homologous recombination. *Nucleic Acids Res.*, 32, 1555-1565.

学会発表

1) 国際学会

1. H. Maekawa, H.Fujimoto, Y.Hirukawa, H.Tani, Y.Mastuura, K.Hashido, K.Tsuchida, N.Takada, M.Kobayashi, Integration of the 5' and 3' ends of the retrotransposon, R2Bm, can be analyzed by baculovirus, AcNPV, and cultured cells. XIX International Congress of Genetics, Merborne, Aug. 2003.
2. Y.Nakajima, H.Fujimoto, T.Negishi, K.Hashido, T.Shiino, K.Tsuchida, M.Hidaka, N.Takada and H.Maekawa. Possible horizontal transfer of *mariner*-like sequences into invertebrates including Lepidopteran insects a grasshopper and a coral. XIX International Congress of Genetics, Merborne, Aug. 2003.
3. Y. Nakajima, Y.Banno, T.Nakamura, H.Fujimoto, K.Hashido, K.Tsuchida, N.Takada, H.Maekawa. *Mariner*-like sequences and their possessing insertion sequences classified into *Cecropia*-ITR-MLE family in the genome of some invertebrates including lepidopteran insects, grasshopper and a coral inhabiting Asian region, 6th International workshops of the Molecular Biology and Molecular Genetics of Lepidoptera. Kolybari Crete Aug. 2003.

4. Y.Nakajima, T.Nakamura, Y.Banno, H.Fujimoto, 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* and *B. mandarina*. *Sericultural Science and Research for the Utilization of Insect Properties*. Joint meeting of Japanese and Korean Societies of sericultural science and Japnese Society of sericultural science kanto branch. Tsukuba, Nov. 2003.

5. H. Maekawa, E. Yamauchi, H. Fujimoto, R. Watanabe, K.Saito, H. Sato, M. Oikawa, M. Murakami, K. Tsuchida, N.Takada and M. Kobayashi. PCR to genomic DNA irradiated with radical scavenger is useful tool for analysis of highly complicated DNA structure. 2004 Keystone Symposia : Genetic manipulation of insects, Taos, Mar. 2004.
6. K.Tsuchida, W.Hara, S.Sosnick, Y.Kobayashi, N.Takada, H.Maekawa and M.Kobayashi. Y gene encode carotenoid binding protein that transport carotenoid in the midgut epithelium of silkworm, *Bombyx mori*. 2004 Keystone Symposia : Genetic manipulation of insects, Taos, Mar. 2004.

2) 国内学会

1. 中島裕美子、中村隆、伴野豊、藤本浩文、橋戸和夫、土田耕三、高田直子、前川秀彰：与那国島のヨナグニ蚕、日本列島のウスタビガ、クスサン、東アジアに生息するクワコにおける *Cecropia*-ITR-MLE に分類されるマリナー様配列の比較、日本野蚕学会第9回大会、京都、2003年4月。
2. 中島裕美子、中村隆、伴野豊、藤本浩文、橋戸和夫、土田耕三、高田直子、前川秀彰：鱗翅目昆虫ゲノムにおける水平伝播型トランスポゾン *mariner* (ワークショップでの講演)、日本進化学会、福岡2003年8月。
3. 前川秀彰、山内恵美子、藤本浩文、渡辺立子、斎藤公明、橋戸和夫、土田耕三、普後一、高田直子：PCR法を用いた放射線によるプラスミドDNAの切断頻度の検出と高次構造解析への利用。第46回放射線影響学会、2003年10月、京都
4. 中島裕美子、中村隆、伴野豊、藤本浩文、橋戸和夫、土田耕三、高田直子、前川秀彰：*Cecropia*-ITR-MLE比較によるカイコとクワコの分岐に関する考察、第69回関西支部・第59回九州支部合同研究発表会、京都、2003年10月。
5. 山内恵美子、藤本浩文、渡辺立子、斎藤公明、村上正弘、橋戸和夫、土田耕三、高田直子、佐藤紘香、及川美代子：PCR法とシミュレーション計算を利用した放射線照射DNAの切断解析と構造解析。第26回日本分子生物学会2003年、12月、神戸
6. 藤本浩文、ミロスラフピナック、根本俊行、坂本清隆、山田和幸、星芳幸、久米悦雄、前川秀彰：酸化損傷によるDNA分子の構造変化分子動力学シミュレーションによるアプローチ。第26回日本分子生物学会

2003年, 12月, 神戸

7. 及川美代子、佐藤紘香、山内恵美子、藤本浩文、土田耕三、高田直子、福原俊彦、前川秀彰：放射線により切断されたゲノムDNAのPCR法による検出。第74回日本蚕糸学会、2004年3月、盛岡

8. 土田耕三、原和二郎、小林悠、Stephen Sosnick、天竺柱弘子、伴野豊、藤井博、高田直子、前川秀彰。黄血遺伝子Yとカロチノイド結合タンパク遺伝子CBP 派同じか？ 第74回日本蚕糸学会、2004年3月、盛岡

9. 中島裕美子、中村隆、伴野豊、藤本浩文、橋戸和夫、土田耕三、高田直子、前川秀彰：n=27のクワコにおける*Cecropia*-ITR-MLE比較から考察した、日本へのクワコ移入伝播モデル。第74回日本蚕糸学会、2004年3月、盛岡