

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利用に関する研究と指導を行っている。平成21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、各部等の使用施設責任者及び放射能委員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。施設設備の点検も定期的に行い、フィルター類の交換を行い、また稼働も正常に保たれていることを確認した。

放射線取扱主任者は、戸山が土田耕三・藤本浩文、村山では加藤篤（ウイルス第三部・第三室長）が武田直和（ウイルス第二部・第一室長）から引き継ぎ、ハンセンが中永和枝（生体防御部・主任研究官）と鈴木幸一（生体防御部・第三室長）である。加藤篤は、平成21年4月1日から放射能管理室兼任となった。

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、戸山庁舎で行い、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、村山庁舎で2回とハンセン病研究センターで1回行った。また英語で行う外国人向け新規者講習会を、1回行った。新規者講習会受講者は日本語87名、外国語1名、継続者講習会は368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。

本年度、戸山庁舎及び村山庁舎において設備の更新を行った。戸山庁舎では、排水設備、排水系統の測定装置及び排気系統の測定装置の更新を行った。村山庁舎では、平成21年8月村山庁舎ガンマセル室を廃止し、平成22年3月に新ガンマセルを導入し7号棟ガンマセル室を管理区域に復帰させた。これに伴い、新⁶⁰Coガンマ線照射装置を用いた照射実験を平成22年4月から開始できるようになった。村山庁舎5号棟放射性同位元素使用室を廃止し、一般実験室とし、5号棟放射性同位元素排水系統並びに排気系統を一般実験室系統に切り替えた。また、放射性同位元素有機廃液を日本アイソトープ協会に払い出しできるように変更した。平成21年8月9日と8月11日に東京23区震度4の地震が発生したため、放射能管理室員で戸山庁舎放射線管理区内の点検を行い、文

部科学省に異常がみられず正常に稼働していることを連絡した。

土田、加藤、藤本、作道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。室員は、土田耕三、高田直子、藤本浩文、作道隆、菅原朋子（臨時）、横山健（臨時）、加藤篤（併任）である。

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、また米国ユタ大学、アリゾナ大学、フロリダ国際大学、琉球大学、日本大学、信州大学、北海道大学、九州大学、東京農工大学、東京大学、東京薬科大学、農業生物資源研究所、国立医薬品食品衛生研究所、放射線医学総合研究所、理化学研究所、日本原子力研究開発機構、富士化学工業株式会社と協力して、以下の研究を行った。

- I. 放射線によるDNA損傷とその修復機構の解析
- II. 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
- III. 医学への応用を目指した生体内脂質動態の解明

I. 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）

	前年度繰越量	入庫量	使用量
³ H	707120	38850	91923
¹⁴ C	122626	16687	28606
³² P	1272961	650378	1432719
³⁵ S	147260	675250	342325
¹²⁵ I	74492	37000	37492

保管量下限数量比合計 5078.5

2. 村山

(単位 kBq)

	前年度繰越量	在庫量	使用量
³ H	161722	55500	76672
¹⁴ C	9897	1850	997
³² P	22030	166500	178545
³⁵ S	558290	70300	1182840

保管量下限数量比合計 101.9

II. 従事者登録数

1. 戸山 319名
(独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む)
2. 村山 118名
3. ハンセン 16名

III. 講習会受講者数

1. 通常講習会

日時	受講者数	備考
平成21年 4月 7日	29	新規
5月 14日	152	継続
5月 15日	109	継続
5月 19日	59	継続(村山)
5月 20日	19	継続(ハンセン)
6月 5日	13	新規
6月 8日	1	継続
6月 22日	15	継続
6月 23日	9	継続(村山)
8月 3日	20	新規
8月 14日	4	継続
10月 5日	10	新規
12月 4日	5	新規
平成22年 2月 3日	10	新規
合計	455	

2. 外国語講習会

日時	受講者数	備考
平成21年 6月 3日	1	新規
合計	1	

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以下のような研究を展開した。

I. 放射線によるDNA損傷とその修復機構の解析

放射線が生物へ与える影響のうち、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強力な突然変異原となり、細胞がガン化する一因になると考えられている。当室では、放射線照射されたDNAがどの程度の頻度で損傷を受けるのか、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

昨年度に引き続き、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。本年度は本手法で塩基欠損部位が検出可能かを検証したところ、塩基除去部位でPCR反応が停止することが判明した。このことから、以前から行ってきた放射線照射したプラスミドDNA試料におけるPCR反応停止の原因が脱塩基である可能性が示唆された。また、熱を加えることで脱塩基化された鎖と相補鎖塩基の部位でPCR反応が停止する場合があることも見出された。

[前川(琉球大), 屠(浙江大), 斎藤(原子力機構), 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同末端再結合過程の開始を促すキラータンパク質である。計算化学的手法を用いてKuタンパク質とDNA末端間の結合・解離のプロセスに関与するKuタンパク質の構成アミノ酸の推定をおこなった。Kuタンパク質-DNA複合体の分子モデルを設計し、Kuタンパク質の一部アミノ酸を変異させたタンパク質モデルを用いて野生型と変異型でKu-DNA間の結合力を比較した。その結果、Ku70のリジン残基のうちK338をグルタミンに置換するとKu-DNAの結合力が減少し、既報の実験結果と一致したが、K338をアセチル化しても結合力は野生型と変わらないことが判明した。したがって、K338はアセチル化のターゲットではあるが、実際にはDNAの結合には関与していない可能性がある。

[藤本, 小池(放医研), 斎藤(原子力機構), 前川(琉球大), 高田, 作道, 土田]

(3) YファミリーDNAポリメラーゼの酸化損傷dNTP取り込み活性に関する分子機構

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Yファミリーポリメラーゼは、酸化dN

TPのゲノムDNAへの取込みにも関与している。本研究ではヒトポリメラーゼ κ (hPol κ)及び η (hPol η)の8-oxo-dGTPの取込みに影響を与えるアミノ酸を調査した。hPol κ において、Y112A置換すると、取り込みは影響をうけた。hPol η では、Y112に対応するF18を置換しても取込み特性に影響を与えなかった。しかし、Pol η に特有のアミノ酸部位であるR61を置換すると、取り込み活性は大きく変化した。

[片渕(国立衛研), 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. 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組のどれ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(原子機)、白井(信州大)、木口(信州大)、高田、藤本、土田]

III. 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。脂質は動物細胞の外來細菌認識機構やウイルスの複製機構において多くの役割を果たしており、生体内の脂質動態の解明は感染症の理解と制御において重要である。また、放射線照射によって細胞膜の脂質構成が変化することも報告されており、脂質動態の解明は放射線が生体に与える影響を理解する上でも重要である。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. CD36遺伝子群の機能解析

CD36遺伝子群は、膜貫通部位を2つ持つことが推測される約500アミノ酸からなる遺伝子群であり、哺乳類や昆虫に存在している。近年、網羅的解析によるスクリーニング等によって、CD36遺伝子群が肝炎ウイルスや黄色ブドウ球菌、マイコバクテリウム属細菌、マラリア原虫、エンテロウイルスの感染成立に重要な役割を果たす遺伝子として報告されてきている。しかし、CD36遺伝子群がどのような分子作用機序で機能しているのかについては知見が乏しい。たとえば、CD36遺伝子群は、体液リポタンパク質から脂質のみを選択的に細胞内に取り込むことが知られているが、その選択性を生じさせる分子機構はほとんど明らかでない。カイコの遺伝子資源を利用して、それぞれ異なる脂質を選択的に細胞内に取り込む二つの

遺伝子を同定し、それらが共にCD36遺伝子群に属することを明らかにした。また、この二つの遺伝子が細胞内の脂質輸送因子と協調的に機能することも明らかにした。この二つの遺伝子のキメラを解析することで、CD36遺伝子群の脂質選択性を担う分子機構を解明することが出来るものと期待している。

[作道、高田、藤本、土田、杉山(寄生動物部)、飯塚(生物研)、小林(生物研)、瀬筒(生物研)、田村(生物研)、生川(生物研)、桑崎(生物研)、門野(生物研)、三田(生物研)、山本(生物研)、伴野(九大)、北村(富士化学工業)]

2. apoLTP遺伝子の解析

脂質組成は組織によって異なる。脂質組成の違いは病原体の標的組織を決定する要因となっている可能性がある。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の全長決定を行った。

[横山(日大)、横山(農工大)、湯浅(農工大)、藤本、作道、高田、土田、濱野(農工大)、岩野(日大)]

3. 新規脂質輸送遺伝子の探索

脂質輸送に関わることが表現型から明らかにされているカイコの遺伝子について、その遺伝子がコードする分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進めた。

[作道、高田、藤本、土田、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)]

4. 家畜化におけるゲノム構造の変化の解析

生物の家畜化は人類が歴史上成し遂げた最大の技術革新のひとつであり、その結果生まれた家畜は、歴史的にも、そして現代においても、感染症を伝播させる主要要因となっていると考えられている。家畜化の過程で生物のゲノムにどのような変化が起きたかを知るために、家畜の形質を支配する遺伝子の一部を、定量的PCR法などを用いて複数の野生種と家畜系統で調べた。その結果、ゲノム中の遺伝子のコピー数が1コピーから1~20コピーと家畜化の過程で大幅に多様化し、重複したコピーにトランスポゾンの挿入など大きな構造変化が起きる場合があることを見出した。この結果は、進化的時間スケールの中においては比較的短い家畜化の期間においても、家畜の遺伝子は野生種と比較して大きな構造変化を起こしたことがあることを示している。

[作道、中島(信州大)、高田、藤本、土田、嶋田(東大)、伴野(九大)、中垣(信州大)]

管理業務

I. 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. 放射性同位元素等の在庫管理状況を部等別に調査し、長期保存中の放射性同位元素は廃棄を行った。
3. 放射性同位元素等で汚染した保存廃棄物の調査、廃棄物等を日本アイソトープ協会に払い出した。
4. 文部科学省の通達により、管理下でない放射性同位元素等の一斉調査を行い、また、購入、使用及び廃棄について見直しを行い、将来においても管理下でない放射性同位元素が発生させない管理体制を確立した。
5. 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。

III. 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

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Niimi N., Sassa A., Katafuchi A., Grúz P., Fujimoto H., Bonala R.-R., Johnson F., Ohta T. and Nohmi T., "The Steric Gate Amino Acid Tyrosine 112 Is Required for Efficient Mismatched-Primer Extension by Human DNA Polymerase κ ", *Biochemistry*, **48**, 4239-4246, 2009.
- 2) Bhosale P, Li B, Sharifzadeh M, Gellermann W, Frederick JM, Tsuchida K, Bernstein PS. Purification and partial characterization of a lutein-binding protein from human retina. *Biochemistry*. 48, 4798-807. (2009)
- 3) Wang HB, Sakudoh T, Kawasaki H, Iwanaga M, Araki K, Fujimoto H, Takada N, Iwano H, Tsuchida K. Purification and expression analysis of imaginal disc growth factor in the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Insect Physiology*, **55**, 1065-71. (2009)
- 4) Sakudoh T, Tsuchida K. Transport of carotenoids by a

carotenoid-binding protein in the silkworm. In: Carotenoids: Physical, Chemical, and Biological Functions and Properties. CRC Press, 511-523. (2009)

- 5) Sakudoh T, Iizuka T, Narukawa J, Sezutsu H, Kobayashi I, Kuwazaki S, Banno Y, Kitamura A, Sugiyama H, Takada N, Fujimoto H, Kadono-Okuda K, Mita K, Tamura T, Yamamoto K, Tsuchida K. A CD36-related transmembrane protein is coordinated with an intracellular lipid-binding protein in selective carotenoid transport for cocoon coloration. *Journal of Biological Chemistry*, **285**, 7739-51. (2010)
- 6) Tsuchida K, Yokoyama T, Sakudoh T, Katagiri C, Tsurumaru S, Takada N, Fujimoto H, Ziegler R, Iwano H, Hamano K, Yaginuma T. Apolipoprotein III expression and low density lipoprotein formation during embryonic development of the silkworm, *Bombyx mori*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. **155**, 363-70. (2010).
- 7) Katafuchi A., Sassa A., Niimi N., Grúz P., Fujimoto H., Masutani C., Hanaoka F., Ohta T. and Nohmi T., "Critical amino acids involved in erroneous incorporation of oxidized nucleotides by human DNA polymerases η and κ ", *Nucl. Acids Res.*, **38**, 859-867, 2010.

II. 学会発表

1. 国際学会等

- 1) Niimi N., Sassa A., Katafuchi A., Grúz P., Fujimoto H., Bonala R.-R., Johnson F., Ohta T., Nohmi T., "A crucial role of steric gate amino acid tyrosine 112 for efficient mismatched-primer extension by human DNA polymerase κ ", DNA Repair and Mutagenesis: From Molecular Structure to Human Disease, Whistler, Canada, May, 2009.
- 2) Kawahishi Y., Ajimura H., Fujimoto H., Tu Z., Banno Y., Nho S-K., Mita K., Yamamoto K., Nakajima Y. and Maekawa H., "Evolutionary analysis of rDNA sequence differences among *Bombyx mandarina* inhabiting China, Korea, Taiwan and Japan." International symposium on *Bombyx mori*, Functional genomics and modern silk road, Chongqing, China, Oct., 2009.
- 3) Sakudoh T, Iizuka T, Narukawa J, Sezutsu H, Kuwazaki S, Banno Y, Takada N, Fujimoto H, Kadono-Okuda K, Mita K, Tamura T, Yamamoto K, Tsuchida K : Carotenoid Cocoon Coloration is Controlled by a Combination of a CD36/SR-BI-related Receptor and a Cytosolic START Lipid-binding Protein The 5th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences "Bioactive Lipid Molecules and Transporters", Tokyo, Japan, May, 2009
- 4) Kataoka H, Matsuya T, Sakudoh T, Yamanaka N, Fujimoto Y, Niwa R : Cytochrome P450s involved in biosynthesis of ecdysteroids in insects; Identification and regulation of gene

expression by neuropeptides, 16th International Conference on Cytochrome P450, Okinawa, Japan, Jun, 2009

- 5) Sakudoh T, Iizuka T, Narukawa J, Sezutsu H, Kuwazaki S, Banno Y, Takada N, Fujimoto H, Kadono-Okuda K, Mita K, Tamura T, Yamamoto K, Tsuchida K : Carotenoid Cocoon Coloration is Controlled by a Combination of a CD36/SR-BI-related Transmembrane Receptor and a Cytosolic START Lipid-binding Protein in the Silkworm *Bombyx mori*, The Eighth International Workshop on MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS OF THE LEPIDOPTERA, Crete, Greece, August, 2009.
- 6) Sakudoh T., Kitamura K., Yuasa M, Fujimoto H., Takada N., Banno N., Tsuchida K.: Molecular machinery for the delivery of specific carotenoids to specific tissues. Gordon Research Conference, Ventura, USA, Jan. 2010.

2. 国内学会等

- 1) 作道隆. 黄繭遺伝子 (C) のクローニング. 昆虫ポストゲノム研究会, 札幌, 9月, 2009年
- 2) 作道隆, 中島健陽, 高田直子, 藤本浩文, 土田耕三. カイコとクワコにおけるカロテノイド結合タンパク質 (CBP) の遺伝子構造, 昆虫ワークショップ, 福岡, 10月, 2009年
- 3) 横山健, 藤本浩文, 作道隆, 高田直子, 土田耕三. カイコ Lipid Transfer Particles cDNA 塩基配列の決定, 昆虫ワークショップ, 福岡, 10月, 2009年
- 4) 湯浅正志, 作道隆, 藤本浩文, 高田直子, 土田耕三. CI 系統では, C 系統より Cameo2 の発現時期が遅れている, 昆虫ワークショップ, 福岡, 10月, 2009年
- 5) 片渕淳・佐々彰・Petr Grúz・藤本浩文・益谷央豪・花岡文雄・能美健彦, 「ヒトDNAポリメラーゼ η 及び κ の8-oxo-dGTP取り込み活性に関する分子解析」, 日本放射線影響学会 第52回大会, 2009年 11月
- 6) 川西祐一・伴野豊・藤本浩文・三田和英・味村博・山本公子・屠振力・盧時甲・中島裕美子・前川秀彰, 「南西諸島の地殻変動とリボゾーム DNA の 5.8S-28S 間 ITS 領域の配列比較に基づく日本産クワコの進化解析」第 65 回日本蚕糸学会九州支部大会, 2009年 11月.
- 7) Fujimoto H., Higuchi M., Koike M., Pinak M., Bunta J.K., Nemoto T., Sakudoh T., Takada N., Maekawa H., Saito K., Tsuchida K., "Structural analysis of the interaction between the Ku protein and DNA", 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009年 12月
- 8) Kawanishi Y., Ajimura H., Banno Y., Fujimoto H., Tu Z., Kamauchi Y., Nho S.K., Mita K., Yamamoto K., Nakajima Y., Maekawa H., "Geographical analysis on South-west islands for evolution of *Bombyx mandarina* (Japan) using rDNA sequence.", 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009年 12月
- 9) Tu Z., Oikawa M., Fujimoto H., Saito K., Tsuchida K., Nakajima Y., Maekawa H., "Application of plasmid DNA

inserted modified synthesized oligomers for analysis of cluster damages by radiation.", 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009年 12月.

- 10) Sakudoh T, Iizuka T, Narukawa J, Sezutsu H, Kuwazaki S, Banno Y, Takada N, Fujimoto H, Kadono-Okuda K, Mita K, Tamura T, Yamamoto K, Tsuchida K. A CD36-related transmembrane protein facilitates selective uptake of carotenoid pigment and cocoon coloration in coordination with an intracellular START lipid binding protein, 第 32 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月, 2009年