

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22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。

平成23年3月11日に起きた東日本大地震における被害については、地震発生後放射線管理区域点検の結果、地震発生後、地震発生時管理区域内で実験を行っていた者は速やかに退避を行いその結果負傷した者はなかった。放射能管理室は、地震後施設、放射線測定装置、放射性同位元素等の貯蔵、給水、排水系統、排気系統等を点検した結果、排水系統の一部に漏水を発見した。この漏水の放射性同位元素等の濃度検査を行ったところ、放射性同位元素は検出濃度限度以下であった。他の設備は、すべてが正常であることを確認し特段の異常を認められなかった。このため、地震後も放射線管理区域の立ち入りを制限することはなかった。

放射能管理室の室員は、土田耕三、藤本浩文、作道隆、高田直子である。高田直子は平成22年6月末日で退職し、本田尚子が平成22年10月1日から放射能管理室職員として就任し業務及び研究を開始した。また、戸山庁舎の研究補助として湯浅正志が、村山庁舎の放射線管理業務および研究補助として片桐千代が非常勤職員の業務に就いた。放射線取扱主任者は、戸山が土田耕三・藤本浩文、村山は加藤篤（ウイルス第三部・第三室長、放射能管理室兼任）、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）である。

放射線業務従事者認定に関して、新規者に対する教育訓練（新規者教育訓練）を2カ月おきに年6回、戸山庁舎で行い、継続者に対する教育訓練（継続者教育訓練）を、戸山研究庁舎で4回、村山庁舎で1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教育訓練を2回行った。新規者教育訓練受講者は日本語63名、外国語5名、継続者教育訓練は365名であった。新規者教育訓練受講者は終了後、確認テストを行い、全員合格した。継続者教育訓練は、改正した放射線障害予防規程の説明を行い、放射性同位元素の安全取扱の徹底を図った。この他にも、警備、設備保守等に関わ

り放射線管理区域に立ち入る可能性のある者に対しての教育訓練を開催した。

前年度設置した村山庁舎コバルト-60を線源とするガンマ線照射装置は、平成22年4月1日から使用開始を予定していたが、動作確認等の点検のため使用開始を同年5月24日とし、使用開始前の平成22年5月19日に、ガンマ線照射装置の操作方法についての説明会を5回に分けて行い村山庁舎から23名が参加した。

前年度に行った村山庁舎5号棟放射線使用施設の廃止、放射性同位元素有機液体廃液の廃棄方法の変更や、放射線障害防止法の一部改正に伴い、戸山庁舎、村山庁舎、及びハンセン病研究センターの放射線予防規程の一部を改正し、文部科学大臣に届出を行った。これに伴い、3庁舎の放射性同位元素等取扱規則の変更が必要となり、その準備に入った。

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。

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. 医学への応用を目指した生体内脂質動態の解明
- III. 抗酸菌の休眠機構の解析

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	626297	1970250	656665
¹⁴ C	110702	18537	12354
³² P	490620	592000	770875
³⁵ S	342325	1230000	885784
¹²⁵ I	74296	296	592

保管量下限数量比合計 3211.9

2. 村山

(単位 kBq)

放射能管理室

	前年度繰越量	入庫量	使用量
³ H	140550	27750	20250
¹⁴ C	10750	12987	8650
³² P	9985	46250	33485
³⁵ S	78450	296000	121000

保管量下限数量比合計 231.7

II. 従事者登録数

- 戸山 310 名
(独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む)
- 村山 94 名
- 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22年 4月 9日	21	新規
5月 11日	142	継続
5月 12日	118	継続
5月 13日	16	継続(ハンセン)
5月 14日	68	継続(村山)
6月 4日	14	新規
6月 8日	17	継続
6月 17日	4	継続
8月 3日	7	新規
10月 4日	4	新規
12月 3日	6	新規
平成23年 2月 4日	11	新規
合計	428	

2. 外国語講習会

日時	受講者数	備考
平成22年 8月 24日	1	新規
平成22年12月 1日	4	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、生物機能解析や有用物質の生産等に貢献する研究を行った。

I. 放射線によるDNA損傷とその修復機構の解析

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相末端再結合過程の開始を促すキータンパク質である。Kuを構成するサブユニットであるKu70のN、C両末端側のDNA結合過程における役割を分子動力学シミュレーションによって観察した。これまで特定の構造をとらないと予想されていたKu70のN末端、およびC末端側に存在するドメインと結晶構造で判明している領域とを結ぶリンカー領域にDNAと相互作用する部位があることを新たに見つけた。このことはKu70のN、C両末端領域が、KuとDNAとの結合によってその分子構造を変化させている可能性を示唆している。

[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ポリメラーゼの損傷乗越え修復機構の解析

ヒトの細胞には放射線等によって生じる様々なDNA損傷部位を乗り越えて複製修復を行うDNAポリメラーゼ(pol)が存在する。YファミリーDNAポリメラーゼに分類されるヒトポリメラーゼ κ (Pol κ) はbenzo[a]pyrenediol epoxide-N2-deoxyguanine (BPDE-N2-dG) DNA付加体を乗り越えることができる。このPol κ の損傷乗り越え機構を解析するため、活性部位のアミノ酸を置換し、乗り越え効率がどう変わるかを検証した。ヒトPol κ や同じYファミリーDNAポリメラーゼに属する大腸菌のDinBで保存されており、付加体の近傍に位置するフェニルアラニン (F171) をアラニンに置換すると、BPDE-N2-dGの相補鎖側にdCMPを組み入れる効率が18倍も上がることが判明した。このアミノ酸置換変異体は通常dGの相補鎖側にdCMPを組み入れる場合には、合成効率に影響はみられなかったが、BPDE-N2-dGを含むDNAと反応させると、DNAに対する結合能が上がるということがわかった。F171にはPol κ がBPDE-N2

放射能管理室

-dGを乗越える際にブレーキのような作用があるのではないかと考えられる。

[佐々(東薬大)、能美(国医衛研)、藤本、前川(琉球大)、高田、作道、土田]

II. 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。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も多くの役割を果たしており、生体内における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 遺伝子群は約 500 アミノ酸からなる膜貫通型遺伝子群であり、哺乳類や昆虫に存在している。近年、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いる。しかし、CD36 遺伝子群の分子作用機序については知見が少ない。たとえば、CD36 遺伝子群は、体液リポタンパク質から脂質を選択的に細胞内に取り込む過程に関与する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。カイコの突然変異体を利用して、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 CD36 遺伝子群に属する遺伝子を同定した。一つの突然変異体については CD36 遺伝子群のシス領域に変異が起こっていることが示唆された。選択性を生じさせる分子機構を解明するため、培養細胞を用いてこの二つの遺伝子の機能再構成系の構築を進めた。

[作道、片桐、湯浅(農工大)、永山(日大)、本田、藤本、土田、飯塚(生物研)、瀬筒(生物研)、山本(生物研)、伴野(九大)、普後(農工大)、岩野(日大)、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、本田、藤本、土田、飯塚(生物研)、瀬筒(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

家畜は感染症が伝播する要因の一つとなっていると考えられている。家畜化の過程でゲノム中の脂質輸送に関与する遺伝子のコピー数が1コピーから1~20コピーと大きく多様化するところを見出した。すなわち、進化的時間スケールの中においては比較的短い期間においても、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す場合があることを示した。塩基配列多型の解析を行ったところ、それぞれのコピーが別々の地域の野生種に由来している場合があることが示唆された。

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

III. 抗酸菌の休眠機構の解析

抗酸菌感染症は、日本で年 2 万人、世界で 900 万人が発症する。長期に及ぶ化学療法の後も、休眠状態となって潜伏感染し、免疫力の低下に伴い再活性化する危険を持つ。

潜在感染から再燃にいたる機構を解明するために、迅速発育性の *Mycobacterium smegmatis* およびワクチン株である BCG を用いて、Wayne の低酸素モデルおよび近年報告された複ストレスモデルを参考に *in vitro* において休眠誘導を行った。これらの菌が休眠状態の指標であるリファンピシン非感受性かつメロニダゾール感受性になることを確認した。休眠導入および再活性化に関わる因子の解析を行っている。

[本田、作道、藤本、土田]

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教育訓練を実施した。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、他日常の管理及び被曝管理。

平成 23 年 3 月 1 1 日も東日本大地震による津波等によりおきた福島第一原子力発電所の事故等により、原子核燃料の分裂により発生したと考えられる放射性物質が東京にも降下した。これに伴い、平成 23 年 3 月 1 5 日には、戸山庁舎のヨウ素モニタや環境空間線量率の測定値に警報値を超える放射線を検出した。このため、感染研における内部被曝の評価を行った。この後、毎日アロカ製 PDR-101 ガンマ線測定器によって感染研における環境空間線量を測定しているが、福島第一原子力発電所の爆発前の値よりも数倍高い線量を測定している。

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を調査し、廃棄物等を日本アイソトープ協会に払い出した。
- 4.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) Goto S. G., Ueda H., Ueda C., Katagiri C., Fatty acids of membrane phospholipids in *Drosophila melanogaster* lines showing rapid and slow recovery from chill coma. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **391**, 1251-1254, 2010.
- 2) Sakudoh T., Nakashima T., Kuroki Y., Fujiyama A., Kohara Y., Honda N., Fujimoto H., Shimada T., Nakagaki M., Banno Y., Tsuchida K., "Diversity in copy number and structure of a silkworm morphogenetic gene as a result of domestication", *Genetics*. **187**, 965-76. 2011.
- 3) Sassa A., Niimi N., Fujimoto H., Katafuchi A., Grúz P., Yasui M., Gupta R.C., Johnson F., Ohta T. and Nohmi T., "Phenylalanine 171 is a molecular brake for translesion synthesis across benzo[a]pyrene-guanine adducts by human DNA polymerase kappa", *Mut. Res.*, **718**, 10-17, 2011.
- 4) Goto S. G., Katagiri C., Effects of acclimation temperature on membrane phospholipids in the flesh fly *Sarcophaga similis*. *Entomol. Sci.*, **14**, 224-229, 2011.
- 5) Ikeno T., Katagiri C., Numata H., Goto S. G., Causal involvement of mammalian-type cryptochrome in the circadian cuticle deposition rhythm in the bean bug *Riptortus pedestris*. *Insect Molec. Biol.*, **20**, 409-415, 2011.

2. 和文発表

- 1) 片桐千仞. 昆虫の低温耐性—その仕組みと調べ方—, 積木久明・田中一裕・後藤三千代 編、岡山大学出版会、2010.
- 2) 片桐千仞. 生物学辞典、石川統編、東京化学同人、2010.

II. 学会発表

1. 国際学会等

- 1) Sakudoh T., "Molecular genetic analysis of carotenoid pigmentation in silkworm cocoons", Silkworm Genome "KARAOKE" Meeting, Tsukuba, Japan, Nov., 2010.

2. 国内学会等

- 1) 横山健, 藤本浩文, 作道隆, 高田直子, 濱野国勝, 土田耕三. カイコ Lipid Transfer Particle cDNA 塩基配列の決定, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.

- 2) 金子文俊, 片桐千仞, 伴野豊, 白井孝治. 熱重量分析法を用いた繭の透湿性測定, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
- 3) 白井孝治, 福島壽斗, 片桐千仞, 深本花菜. エビガラスズメ緑色幼虫の体色発現機構; 色素顆粒中の INS 凝集性分 X について, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
- 4) 湯浅正志, 作道隆, 藤本浩文, 高田直子, 伴野豊, 土田耕三. カイコ外層黄繭と内層黄繭を作る分子機構, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
- 5) 作道隆, 中島健陽, 嶋田透, 伴野豊, 中島裕美子, 中垣雅雄, 高田直子, 藤本浩文, 土田耕三. 繭色を支配するカロテノイド結合タンパク質の遺伝子構造は家畜化の過程で大きく多様化した, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
- 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. 日本列島周辺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 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
- 7) 平林哲也, 横山浩平, 上野紀子, 池田和貴, 片桐千仞, 田口良, 村上誠. 皮膚に発現する新規脂質代謝酵素の機能解析, 日本脂質生化学会 52 大会, 渋川, 6 月, 2010.
- 8) 梅村正幸, 岡本祐子, 矢作綾野, 本田尚子, 當眞奈海, 中江進, 岩倉洋一郎, 松崎吾朗. マイコバクテリア感染肺における IL-17A 依存性肉芽腫形成メカニズムの解析, 第 21 回日本生体防御学会学術総会, 仙台, 7 月, 2010.
- 9) 土田耕三. カロテノイドノ選択的輸送を支えるマシナリーの分子遺伝学, 双葉電子記念招待講演, 千葉, 7 月, 2010.
- 10) 北村晃利, 湯浅正志, 作道隆, 藤本浩文, 土田耕三. カイコ絹糸腺のカロテノイド取り込みに見られる選択性とその識別機構, 日本カロテノイド学会, 徳島, 9 月, 2010.
- 11) 梅村正幸, 岡本祐子, 矢作綾野, 本田尚子, 當眞奈海, 松崎吾朗. マイコバクテリア感染肺における IL-17A 依存性肉芽腫形成での CD40/CD40L の関与, 第 63 回日本細菌学会九州支部総会, 宮崎, 9 月, 2010.
- 12) 金子文俊, 片桐千仞, 伴野豊, 白井孝治. 蚕の繭の透湿性の品種による違い, 日本昆虫学会 70 大会, 鶴岡, 9 月, 2010.
- 13) 山田大邦, 片桐千仞, 宮下洋子, 秋元信. トドノネオオワタムシ(ユキムシ)の綿毛微細繊維の形状と発生の仕方, 日本昆虫学会大会, 鶴岡, 9 月, 2010.
- 14) 後藤慎介, 片桐千仞. ナミクバエの低温順化と膜脂質, 日本動物学会 81 大会, 東京, 9 月, 2010.
- 15) 平林哲也, 横山浩平, 島村透, 上野紀子, 池田和貴, 山本圭, 片桐千仞, 田口良, 村上誠. 皮脂腺に特異的に発現する新規脂質代謝酵素の機能解析, BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会), 神戸, 12 月, 2010.
- 16) 湯浅正志, 作道隆, 藤本浩文, 高田直子, 伴野豊, 土

放射能管理室

- 田耕三. カイコ C 遺伝子の発現時期の違いが、黄色呈色部位の異なる繭を作る, **BMB2010**(第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 12 月, 2010.
- 17) 藤本浩文, 樋口真理子, 小池学, Pinak M., Bunta J.K., 根本俊行, 前川秀彰, 作道隆, 高田直子, 土田耕三. 計算化学的手法を用いた Ku タンパク質と DNA の相互作用部位の構造解析, **BMB2010**(第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 12 月, 2010
- 18) Sakudoh T., Tsuchida K. Molecular dissection of carotenoid transport system using silkworm mutants defective in cocoon coloration, **BMB2010**(第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 12 月, 2010.
- 19) 横山洋, 横山健, 藤本浩文, 作道隆, 岩野秀俊, 土田耕三. カイコ脂質転移因子遺伝子の発見と解析, **BMB2010**(第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 12 月, 2010.
- 20) 片渕淳, 佐々彰, 新見直子, Peter G., 山田雅巳, 清水正富, 藤本浩文, 益谷央豪, 花岡文雄, 太田敏博, 能美健彦. ヌクレオチドプールの損傷と Y ファミリー DNA ポリメラーゼ, **BMB2010**(第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 12 月, 2010.
- 21) 屠振力, 川西祐一, 藤本浩文, 山田明德, 及川美代子, 土田耕三, 中島裕美子, 前川秀彰. 放射線による DNA クラスター損傷を解析するためのモデルシステムの構築—リアルタイム PCR と損傷合成オリゴヌクレオチドを組み込んだ pBR322 の利用, **BMB2010**(第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 12 月, 2010.
- 22) 八尾泉, 片桐千帆. 飛ばないアリ共生型アブラムシの飛翔器官に選択はかかっているか?, 応用動物昆虫学会・昆虫学会北海道支部会, 札幌, 1 月, 2011.
- 23) 八尾泉, 片桐千帆. 低移動性を示すアリ共生型アブラムシの脂質分析と飛翔筋について, 日本応用動物昆虫学会, 静岡, 3 月, 2011.
- 24) 作道隆, 生川潤子, 桑崎誠剛, 山本公子, 飯塚哲也, 伴野豊, 本田尚子, 藤本浩文, 土田耕三. 肉色繭遺伝子についての分子生物学的研究, 第 81 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 東京, 3 月, 2011.
- 25) 湯浅正志, 作道隆, 藤本浩文, 本田尚子, 伴野豊, 普後一, 土田耕三. カイコ C 遺伝子の発現時期の違いが、黄色呈色部位の異なる繭を作る, 第 81 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 東京, 3 月, 2011.
- 26) 横山洋, 湯浅正志, 横山健, 藤本浩文, 作道隆, 本田尚子, 岩野秀俊, 土田耕三. カイコ Lipid Transfer Particle の分子実体の解析, 第 81 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 東京, 3 月, 2011.