

## 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)臨時(1回)、外国語(6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 115名、外国語10名、継続 394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、今年度は前川、土田が行い、継続者に対して廃棄物の処理及び科学技術庁の通達等を中心に講習した。

戸山庁舎主任者は前川室長と放射能管理室併任に引

続きなつた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。保健医療科学院花田部長が新たに併任となった。農工大の時田氏、江尻氏が企業に進み、天竺桂氏は博士課程に進学した。農工大山内氏、日大の小林氏、溝呂木氏が在籍した。東大の藤本氏は後半感染研特別研究員として在籍した。アリゾナ大のJennifer Gardettoは、BR AVO! Programで短期間滞在した。日大の及川氏、佐藤氏が3月に入所した。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(健康栄養研分も含む)

(単位 kBq)

	前年度繰越量	入庫量	使用量
$^3\text{H}$	1484350	490250	304501
$^{14}\text{C}$	289346	91760	45241
$^{32}\text{P}$	1512910	5248450	4538450
$^{33}\text{P}$	0	0	0
$^{35}\text{S}$	1811500	3515000	4272000
$^{51}\text{Cr}$	259000	666000	851000
$^{125}\text{I}$	501535	70300	299885

保管量合計 1 群換算42,049.064kBq

## 2. 村山分室

(単位 kBq)

	前年度繰越量	入庫量	使用量
$^3\text{H}$	542390	148000	154760
$^{14}\text{C}$	2016	31450	4810
$^{32}\text{P}$	11240	434750	380315
$^{33}\text{P}$	0	64750	25590
$^{35}\text{S}$	40000	903000	727020
$^{51}\text{Cr}$	27750	0	27750
$^{125}\text{I}$	0	0	0

保管量合計 1 群換算 3772.436kBq

## . 従事者登録数

1. 戸山庁舎 396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

土田、高田、小林（東大）、前川 ]

日時	受講者数 (内継続)	備考
平成13年 4月 8日	53	新規
5月 8日	152	継続
5月 9日	140	継続
5月13日	69	継続
6月 7日	16(5)	新規
6月14日	16	継続
7月 8日	1	臨時
8月 1日	18(4)	新規
10月 1日	8(7)	新規
12月 2日	12(1)	新規
平成14年 2月 3日	7	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13年 5月10日	2	新規
6月11日	2	新規
9月19日	1	新規
10月25日	1	新規
12月18日	2	新規
3月10日	2	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 R 2 Bm 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、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 端は部位特異的に挿入していることが確かめられた。しかし、R1Bm の場合はそれ以外の部位にも挿入が見られておりその場合は3 端から欠失が見られた。

[ 藤本(東大)、蛭川、松浦(ウイルス第2部)、橋戸、

(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。R2Bm で構築した解析形に導入しベクターとしての有用性を検証する。

[ 藤本(東大)、蛭川、松浦(ウイルス2部)、橋戸、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は、近年水平伝播したと考えられる結果を得ていたが、データベースのコンセンサス配列と比較することにより鱗翅目においていくつものマリナーのグループが存在することが判った。何が水平伝播にかかわっているか明らかにすることは、無害な導入ベクター開発につながると期待できる。

[ 中島(琉球大)、藤本(東大)、橋戸、高田、土田、前川 ]

・染色体の構造と機能に関する研究

1. サブテロメリック領域の構造解析

(1) GCリッチ縦列反復配列の塩基配列の決定と解析

Not I で消化して得られた約2kbの縦列重複配列 T R E S T 1 関連配列を、従来の方法とは異なる、機械的な切断方法によってゲノムDNAを切断し、プラスミドに組み込むという方法で作成した染色体末端を主に含むゲノムライブラリーから単離し、解析した。サブテロメリック領域を構成すると考えられるクローンを得、分類したところ、TRASファミリーやSARTファミリー以外にTRES T1あるいはSTERT1に属するものがサブテロメリック領域に存在することが明らかになった。更に物理的切断による断片を平滑末端にし組み込むことで新たなサブテロメリック領域のクローンを単離し解析を進めている。

[ 橋戸、高田、前川 ]

(2) 鱗翅目以外のサブテロメリック領域の解析

ショウジョウバエではテロメリック領域はカイコで知られているTTAGGの繰返し配列が存在せず。HeT-A やTARTなどのレトロトランスポゾンが存在し末端保護を行っていると考えられている。哺乳類では、良く知られているTTAGGGの配列を持つテロメリック・リピートが存在する。しかし、それ以外の配列についてはあまりよく判っていない。そこでサブテロメリック領域をカイコで行ったと同様の方法で単離し、その構造解析を昨年に取り続き進めている。

[ 橋戸、高田、前川 ]

## 放射能管理室

めと考えている。[溝呂木(日大)、山内(農工大)、藤本(東大)、橋戸、土田、高田、福原(日大)、岩野(日大)、前川]

### ・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

PCR法によるDNA二本鎖切断検出法が明らかにDNAの二本鎖切断を検出していることをプラスミドpBR322をモデルにして証明した。既に報告されているpBR322を使用して放射線照射により閉環状と開環状の変異度合いを電気泳動法の結果とあうことも確認した。シミュレーション法と比較した結果閉環状条件での $p = 0.2$ のときに直鎖状のDNAに対するPCR法の結果が一致した。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。[山内(農工大)、藤本(東大)、橋戸、斎藤(原研東海)、渡辺(原研東海)、土田、高田、普後(農工大)、前川]

#### 2. 放射線照射DNAのPCR法による解析はDNAの高次構造の解析に利用できる

プラスミドpBR322を使用した放射線照射切断の解析は、閉環状DNAに対して行われるとその構造に依存してPCR増幅の程度が変化する。この方法を利用して高次構造解析が可能であることが確認された。閉環状DNAはPCR反応が進みにくい構造であると考え、シミュレーションのパターンとあうことから、この考えが妥当であると判断している。[山内(農工大)、藤本(東大)、斎藤(原研東海)、渡辺(原研東海)、橋戸、土田、高田、普後(農工大)、前川]

#### 3. 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法を応用することを試みた。ゲノムDNAに対する放射線切断の検出は、直鎖状プラスミドと同様に可能であった。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

### ・脂質輸送機構の解析

#### 1. カロチノイド結合たんぱく質(CBP)遺伝子の発現解析

CBP遺伝子のcDNAクローンをプローブにY遺伝子Y遺伝子関連突然変異系統の絹糸腺から抽出したRNAに対してノーザンブロット解析を行った。この結果CBP遺伝子はY遺伝子とリンクしていることが明らかとなった。CBPが発現していない白い繭を作る系統ではCBP mRNAの発現量が10分の1くらいに落ちていることが観察された。[小林(日大)、藤井(九大)、前川、橋戸、高田、福原(日大)、岩野(日大)、土田]

#### 2. CBP遺伝子の解析

サザンブロット法を利用してY遺伝子Y遺伝子関連突然変異系統のゲノムDNAの解析を行った。個体内、系統間においてかなりの多型が認められた。しかし、遺伝子そのものが欠失している系統は無かった。それぞれの突然変異系統の絹糸腺から抽出したRNAにたいしてRT-PCR法によりcDNAを合成し塩基配列を決定したところ、ORF領域には系統間で差がなかった。

[小林(日大)、藤井(九大)、前川、橋戸、高田、福原(日大)、岩野(日大)、土田]

#### 3. CBPタンパク質の組織内分布についての解析

免疫ブロット法によりY遺伝子関連突然変異体の中腸内の分布を調べた。優性Y遺伝子を持つ系統の中腸上皮細胞の縦糸内に局在することが確認されたので、このY遺伝子がCBP遺伝子に関連していることが強く示唆された。

[J.Gardetto(アリゾナ大)、小林(日大)、杉山(寄生動物)、藤井(九大)、前川、橋戸、高田、土田]

*mori* larvae. J. Biol. Chem., 277, 32133-32140 (2002)

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 some invertebrates including lepidopteran insects, a grasshopper and a coral. J. Insect Biotech. Sericol., 71, 109-121 (2002)

### ・学会発表

## 発表業績一覧

### ・誌上発表

#### 1) 欧文

1. H. Tabunoki, H. Sugiyama, Y. Tanaka, H. Fujii, Y. Banno, Z. E. Jouni, M. Kobayashi, R. Sato, H. Maekawa and K. Tsuchida: Isolation, characterization, and cDNA sequence of a carotenoid binding protein from the silk gland of *Bombyx*

## 放射能管理室

### 1) 国際学会

1. H.Fujimoto, Y.Hirukawa, H.Tani, Y.Matsuura, K.Hashido, K.,Tsuchida, N.Takada, M.Kobayashi and H.,Maekawa: Enhanced TPRT activity by 3' end modification of retrotransposon, R2Bm. Fourth International symposium on Molecular Insect Science, May Tucson, 2002.
2. Z.E.Jouni, N.Takada, J.Gazard, H. Maekawa, M.A.Wells and K.Tsuchida: Transfer of cholesterol and diacylglycerol from lipophorin to *Bombyx mori* ovarioles:role of the lipid transfer particle. Fourth International symposium on Molecular Insect Science, May Tucson, 2002.
3. K.Tsuchida, C.Katagiri, Y.Tanaka, Z.Jouni, M.Kobayashi and H.Maekawa: Lipids transport in the *Bombyx mori* mutants of impaired carotenoid transport. Fourth International symposium on Molecular Insect Science, May Tucson, 2002.
- 4 . K.Tsuchida, J.Gardetto, Y.Kobayashi, Z.E.Jouni and H.Maekawa: Carotenoid binding protein in the midgut of *Bombyx mori* may be involved in absorption of carotenoid. The 50th annual meeting of the entomological society of America. Nov. 2002, Florida USA.
5. K.Tsuchida, H.Tabunoki, H.Sugiyama, Z.E.Jouni, C.Katagiri, Y.Tanaka, M.Kobayashi and H.Maekawa: Carotenoid binding protein is a new member of the START protein family with unique features of binding carotenoid. 43<sup>rd</sup> International conference on the bioscience of lipids. Sep. 2002, Graz Austria.
6. H. Maekawa, Y. Ejiri, J.Nobata, K. Mita, H.Fujimoto, E. Yamauchi, M. Mizorogi, K. Hashido, K. Tsuchida, M. Kobayashi and N. Takada: Ribosomal DNA Gene Cluster and Retrotransposon in *Bombyx mori*. The 1<sup>st</sup> International workshop of lepidoptera genomics. Sep. 2002, Tsukuba Japan.
7. 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 some invertebrates including lepidopteran insects, a grasshopper and a coral inhabiting Japan islands. The 1<sup>st</sup> International workshop of lepidoptera genomics. Sep. 2002, Tsukuba Japan.
8. H. Maekawa, Y. Ejiri, J.Nobata, K. Mita, H.Fujimoto, E. Yamauchi, M. Mizorogi, K. Hashido, K. Tsuchida, and N. Takada: Ribosomal RNA Cluster in *Bombyx mori*. Joint

meetings of Korean and Japanese Societies of Sericultural Science, Nov. 2002, Swon Korea.

9. Y. Nakajima, H.Fujimoto, T.Negishi, K.Hashido, T.Shiino, K.Tsuchida, M.Hidaka, N.Takada, M.Kobayashi and H.Maekawa: One mariner-like sequence classified to cecropia subfamily might be horizontally transferred very recently into invertebrates including lepidopteran insects inhabiting Japan islands. "Transposition and other genome rearrangements" Keystone symposia, Feb. 2003, Santa Fe USA.

10. E.Yamauchi, M.Mizoroki, H.Fujimoto, R.Watanabe, K.Saito, M.Murakami, K.Hashido, K.Tsuchida, N.Takada, H.Fugo and H.Maekawa: Comparative analysis of DNA aberrated by irradiation using PCR and simulation methods. International Symposium on Innovative Technology for Radiation Risk Study 2003. March, 2003, Tokyo Japan.

### 2) 国内学会

1. 山内恵美子、藤本浩文、江尻由希、渡辺立子、斎藤公明、橋戸和夫、土田耕三、高田直子、普後一、前川秀彰：PCR法を用いた放射線によるプラスミド及びゲノムDNA切断頻度の検出と感受性部位の探索。第45回放射線影響学会シンポジウム、2002年9月、仙台
2. 橋戸和夫、前川秀彰：カイコ染色体と人染色体におけるサブテロメア領域の構造解析と比較。第25回日本分子生物学会、2002年12月、横浜
3. 中島裕美子、藤本浩文、中村隆、伴野豊、橋戸和夫、土田耕三、高田直子、前川秀彰：Cecropia-ITR-MLEに分類されるマリナー様配列の比較によるカイコとクワコの分岐についての考察。第25回日本分子生物学会、2002年12月、横浜
4. 藤本浩文、山内恵美子、蛭川由紀子、橋戸和夫、高田直子、土田耕三、小林正彦、前川秀彰：ウイルスベクターを用いた転移因子様配列の宿主細胞ゲノムへの挿入機構の解析。第25回日本分子生物学会、2002年12月、横浜
5. 山内恵美子、溝呂木舞、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、普後一、前川秀彰：放射線照射プラスミドの切断解析。第25回日本分子生物学会、2002年12月、横浜
6. 溝呂木舞、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、前川秀彰：PCR法を利用した放射線照射ゲノムDNAの切断解析。第25回日本分子生物学会、2002年12月、横浜
7. 土田耕三、J.Gardetto(アリゾナ大)、小林悠(日大)、天竺桂弘子(農工大)、東政明(鳥取大)、杉山弘(寄生動物)、J. Zeina(アリゾナ大)、前川秀彰、岩野秀俊(日大)、藤井博(九大)、伴野豊(九大)：中腸と絹糸腺におけるカロチノイド結合タンパク質(CBP)の組織内分布。第73回日本蚕糸学会、2003年3月、東京
8. 山内恵美子、溝呂木舞、藤本浩文、橋戸和夫、土田耕

三、高田直子、前川秀彰：高線量 線照射カイコの影響  
評価。第73回日本蚕糸学会、2003年3月、東京

9. 中島裕美子、藤本浩文、中村隆、伴野豊、橋戸和夫、  
土田耕三、高田直子、前川秀彰：*Cecropia*-ITR-MLE に分  
類されるマリナー様配列の比較によるカイコとクワコの  
分岐についての考察。第73回日本蚕糸学会、2003年3  
月、東京

10. 溝呂木舞、山内恵美子、藤本浩文、橋戸和夫、土田  
耕三、高田直子、岩野秀俊、前川秀彰：PCR 法による放  
射線照射ゲノム DNA の切断頻度の検出。第73回日本蚕糸  
学会、2003年3月、東京

11. 山内恵美子、溝呂木舞、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、普後  
一、前川秀彰：DNA 構造解析への利用を目的とした、リ  
アルタイム PCR による DNA 切断頻度の検出。第73回日本  
蚕糸学会、2003年3月、東京