

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K04991

研究課題名(和文) DNAの放射線効果を利用した線量測定及びその高感度化

研究課題名(英文) Study on novel dosimetry using DNA and its improvement

研究代表者

泉 佳伸 (IZUMI, Yoshinobu)

福井大学・附属国際原子力工学研究所・教授

研究者番号：60252582

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：DNA等の生体分子を用いて線量評価をするためには、現状では感度が圧倒的に不足している。そこで、放射線化学反応の増感剤を添加して放射線化学収率の向上を目指した。放射線増感剤としては、研究開始当初はトリプロモ酢酸を選んだ。しかし、当初の予測通りの良好な増感効果は得られなかったため、防かび剤、防腐剤として民生用、産業用に用いられるプロクリンについて増感効果を検討した。その結果、僅かながら増感効果を確認した。今後は、更に良好な増感剤の探索が望まれる。また、蛍光修飾オリゴヌクレオチドを用いて蛍光分光分析に基づく評価手法についても検討した。その結果、塩基配列によって感度を制御できることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体分子の放射線化学反応においてもリソグラフィーの分野で行われているほどではないが感度の制御が可能であることが分かった。これは、線量測定の為の基本的理解としては重要であり、また、放射線治療や放射線影響、放射線防護の分野においても影響の低減(放射線防護の目的)や感度の向上(治療線量の低線量化)へと波及していく可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：Dosimetry using biomaterials is a challenging theme. However, its sensitivity is not enough good. Therefore in this study, radiation promotion effects by the presence of some additives have been studied.

As the results, sensitivities of our system can be controlled by controlling the kind of additive, concentration of additive, and sequence of bio-molecules.

研究分野：放射線化学

キーワード：線量測定 生体分子 DNA 増感効果

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、これまでに DNA などの生体分子を用いて放射線の線量評価を行う事や、生体分子の劣化の評価を行う研究を進めてきた。評価のための手段としては、マイクロ波誘電吸収法や蛍光分光分析、PCR 法等を検討してきた。これらの手法をさらに高度化するために、放射線化学反応における増感剤を反応系に適用し、線量測定之感度を向上させることを目指し、そのために、トリプロモ酢酸(TBAA)をはじめとする放射線増感剤の共存下で水溶液中の DNA などの放射線化学反応について検討するべきであるとの考えに至った。メカニズムについても検討し、そのメカニズムに沿って、精度、感度共に優れた線量測定システムを目指し、放射線化学反応の収率を向上させつつ、増感剤を添加した事による測定への影響(シグナルの劣化や妨害、精度の低下)を低く抑える条件を見出す計画を立案した。これらの背景から、線量計測手法の選択の幅を拡げ、個人被ばく線量評価や放射線プロセシングでの線量計測の発展に資する事を目指す。

2. 研究の目的

DNA などの生体分子を用いた新規線量計測手法の提案を行ってきたが、OSL 線量計やガラスバッチなどの物理過程、物理測定に基づく従来法と比較すると、感度の点では劣っている。そこで、放射線化学反応における増感剤を反応系に適用し、線量測定之感度を向上させ、精度、感度共に優れた線量測定システムを目指し、線量計測手段の選択の幅を拡げ、個人被ばく線量評価や放射線プロセシングでの線量計測の発展に資する事を目的として、複数のアプローチから検討した。

3. 研究の方法

(1)トリプロモ酢酸(TBAA)の添加効果の基礎的検討：増感剤として TBAA を添加した場合の放射線(X線・線)照射による変化について、まずは DNA ではなく適切なモデル高分子(水溶性高分子、汎用高分子シート等)で検討した。具体的には、紫外・可視吸収分光や FT-IR などによる化学構造分析、生成物分析から、吸収線量の影響(反応の効率)、TBAA 濃度、pH の影響を調べ、それらの結果から反応メカニズムを考察し、マイクロ波誘電吸収や蛍光測定に適用した場合の効果を予測に活かそうとした。

(2)マイクロ波技術の高感度化の基礎的検討：上記と同一の系で、既設のマイクロ波誘電吸収測定システムを用いて共振周波数 f (複素誘電率の実数成分に対応)のシフトや Q 値(誘電損失の逆数で吸収スペクトルの線幅に関係する)の変化量として測定した。具体的には、TBAA の濃度、マイクロ波誘電吸収測定之最適な測定条件・プログラム(装置への試料挿入位置、挿入量、マイクロ波装置のチューニング条件等)を検討した。試料として複数のモデル高分子(PVA 等)を用いた。

(3)蛍光修飾法を用いた手法の高感度化の基礎的検討：オリゴヌクレオチドの両端を蛍光物質およびクエンチング物質で蛍光修飾した生体分子を用いる評価手法について、増感剤として TBAA を添加した場合の、放射線(X線・線)照射前後の変化を分析した。本手法は、オリゴヌクレオチドに切断が生じた場合に分子内エネルギー移動による安定化が減少する事によって蛍光の増大が観測できるという原理であり、損傷量を蛍光分光光度法にて評価でき、既に放射線による影響評価の可能性を実証してきた。具体的な内容としては、TBAA の濃度、蛍光測定之最適な測定条件(波長、測定時間)を検討した。

(4)低線量放射線影響の評価法としての課題の抽出：上記(i)~(iii)の研究により最適化されたマイクロ波技術および蛍光修飾法を用いた手法について、比較的低線量の放射線(X線・線)照射に伴う変化を測定した。マイクロ波技術について、試料としては生体分子を用いた。あわせてゲル電気泳動法も行い、マイクロ波技術および蛍光修飾法の結果と比較し、課題を抽出した。

(5)その後の検討：研究の過程で、当初予定していたトリプロモ酢酸(TBAA)では予想していた増感効果が優位には現れなかった。

そこで、プロクリン(防かび剤、防腐剤として産業界では利用されている)を次候補として検討するとともに、蛍光修飾オリゴヌクレオチドを用いた系では、オリゴヌクレオチド鎖の塩基配列を制御して、複数の配列で感受性、感度を比較検討した。

4. 研究成果

トリプロモ酢酸(TBAA)添加実験の結果、TBAA 添加によって pH が低下し、DNA 等が分解或いは

変性し、増感剤としては不向きであることが分かった。これに対して、緩衝溶液の種類を変えて試行したが、良い結果は得られなかった。なお、極低濃度での添加ではサンプル溶液に悪影響を与えなかったが、有意な増感効果は見られなかった。そこで、俗にプロクリンと呼ばれている防腐剤、防かび剤を添加剤として試した。その結果、僅かではあったが放射線増感効果がみられた。(図1)

プロクリンは2種の化合物の混合物であるが、一方の塩素化分子に対する放射線効果で生成した塩素原子が水素引き抜き反応を起こし、増感効果に寄与するものと考えているが、その直接的な証拠を得るには至っていない。

蛍光修飾オリゴヌクレオチドを用いた実験では、1本鎖オリゴヌクレオチドの他、2本鎖オリゴヌクレオチドを用いた。これは、2本鎖にすることによる分子内エネルギー移動効率の上昇を狙えるほか、2本鎖の分子では1本鎖切断と2本鎖切断が生じ、それに伴うエネルギー移動効率の低下に影響を与え、その結果、測定感度に影響を及ぼすと予想したからである。結果として、1本鎖の分子と2本鎖の分子では感度に違いがみられることを見出した。(図2)また、オリゴヌクレオチド鎖の塩基配列を数種類変えて用意し、塩基配列によって主鎖切断の収率が変化することを利用して感度の制御を試みた。その結果、塩基配列を制御することによって感度に影響を与えるという基礎的理解を得た。(図3)

以上より、生体分子の放射線化学反応においてもリソグラフィーの分野で行われているほどではないが感度の制御が可能であることが分かった。これは、線量測定のための基本的理解としては重要であり、また、放射線治療や放射線影響、放射線防護の分野においても影響の低減(放射線防護の目的)や感度の向上(治療線量の低線量化)へと波及していく可能性を秘めている。

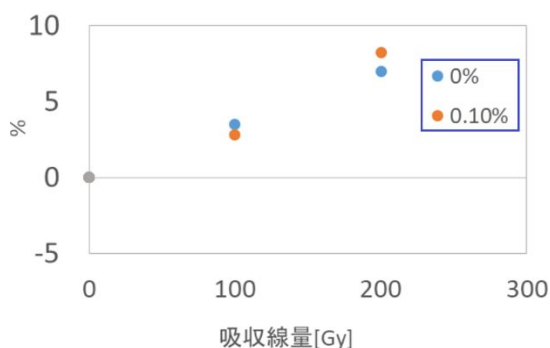


図1 プロクリン未添加と0.1%添加の際の線照射に伴う2本鎖切断生成物の収量(全DNAに対する2本鎖切断DNAの割合)の変化。(DNAはプラスミドDNAを使用。)

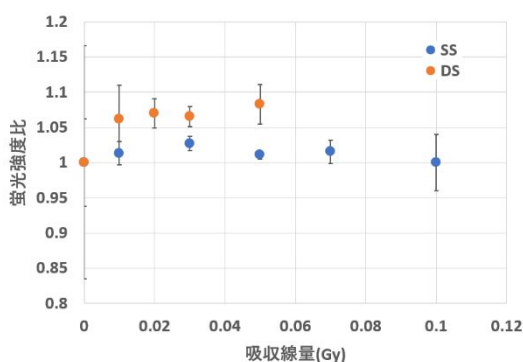


図2 一本鎖(SS)・二本鎖(DS)蛍光修飾オリゴヌクレオチドにガンマ線照射した時の蛍光強度比の比較(サンプル数=5)

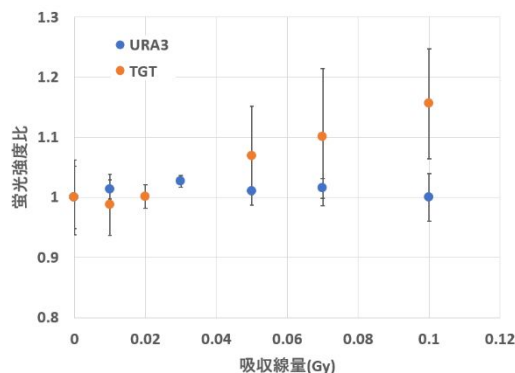


図3 URA3・TGT配列の一本鎖蛍光修飾オリゴヌクレオチドにガンマ線照射した時の蛍光強度比(サンプル数=5)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 松尾陽一郎、平山誠、川井良太、砂川武義、清水喜久雄、泉佳伸	4. 巻 53
2. 論文標題 放射線照射によるDNA損傷の新評価手法の検討	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 放射線生物研究	6. 最初と最後の頁 223-240
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松尾 陽一郎 (MATUO Youichirou) (90568883)	福井大学・学術研究院工学系部門・准教授 (13401)	
研究分担者	砂川 武義 (SUNAGAWA Takeyoshi) (60329456)	福井工業大学・工学部・教授 (33401)	
研究分担者	小嶋 崇夫 (KOJIMA Takao) (70360047)	大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・助教 (24403)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------