

蛍光修飾オリゴヌクレオチドを用いた放射線損傷評価の開発

Development of the new method for estimation of radiation effect

using fluorescent-modified oligonucleotide

*泉 佳伸¹, 川井 良太¹, 松尾 陽一郎¹

¹ 福井大学附属国際原子力工学研究所

抄録

オリゴヌクレオチドを蛍光修飾した試料を用い、放射線による損傷量を蛍光強度の変化から評価する手法を開発している。低線量域での評価に用いるため、塩基配列及び増感剤の最適化について検討した。

キーワード：放射線計測、放射線影響、バイオドシメトリ

1. 緒言

放射線安全管理のためには、汎用の個人被ばく線量計に加えて、放射線による生体の損傷を模擬する生体分子を試料とした線量計を併用することが理想的であり、蛍光修飾したオリゴヌクレオチドを用いた手法を提案する。オリゴヌクレオチドに切断が生じていない状態では、蛍光修飾分子に与えられた光エネルギーがクエンチャー物質へ移動し、失活する。一方、切断などの損傷が生じれば、クエンチャー物質による抑制効果が抑えられて蛍光が増大する。このことから、放射線照射によるオリゴヌクレオチドの切断量は、励起光を照射した場合の蛍光量を介して評価できると考えられる。

2. 実験方法

オリゴヌクレオチドの両端を蛍光物質 6-Carboxyfluorescein (6-FAM) 及び Carboxytetramethylrhodamine (TAMRA) で修飾したものをサンプルとした(濃度:100nM、溶媒 TE 緩衝液)。オリゴヌクレオチドの塩基配列として(i)酵母菌の遺伝子(*URA3*)の一部の配列、(ii)T 及び G 塩基の酸化還元電位の違いから最も高感受性であると予測される T...TGT...T 配列、(iii)A のみの配列の 3 種類を選択した。サンプルに対し 0~100 mGy の γ 線を照射し、蛍光分光光度計(F2700)により蛍光物質 6-FAM の蛍光強度を測定した。また、感度の向上について検討するため、増感剤として期待できるトリプロモ酢酸(TBAA)を候補とし、6-FAM(100 nM)に対し 0~10 mM の TBAA を加えた場合の蛍光強度を測定し、TBAA 添加による蛍光物質への影響を調べた。

3. 結果

図 1 に 3 種類の配列の蛍光修飾オリゴヌクレオチドについての蛍光強度比の変化を示す。100 mGy までの γ 線照射による蛍光強度の上昇が確認された。また塩基配列の違いによって蛍光強度に変化があり、予想されたとおり(ii)の配列について比較的高い感受性を持つ傾向が見られた。図 2 に TBAA 添加濃度による蛍光強度の変化を示す。TBAA を加えた場合、10 μ M 以上の濃度では蛍光強度が低下する結果が示された。これは溶液の pH 変化に起因するものである。今後、配列の最適化及び TBAA 添加による感度の向上を検討していく。

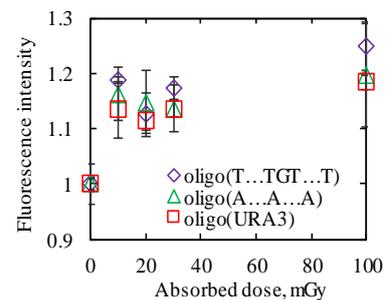


図 1 γ 線を照射した場合の蛍光修飾オリゴヌクレオチドの蛍光強度比

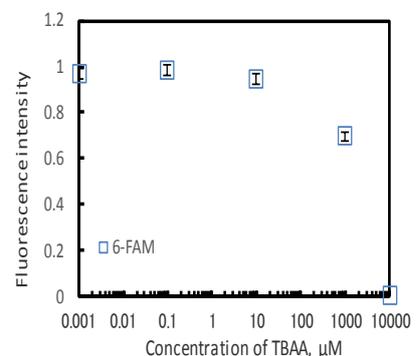


図 2 TBAA 添加に伴う蛍光物質 6-FAM の蛍光強度変化

*Yoshinobu Izumi¹, Ryota Kawai¹ and Youichirou Matuo¹

¹ Research Institute of Nuclear Engineering, University of Fukui