

PCR を用いた放射線による DNA 損傷の定量評価に関する検討

Development of the new radiation monitoring system

using Quantitative Polymerase Chain Reaction

*松尾 陽一郎¹, 泉 佳伸¹, 清水 喜久雄²

¹ 福井大学附属国際原子力工学研究所

² 大阪大学放射線科学基盤機構附属 RI 総合センター

抄録

放射線影響の要因は細胞中の DNA の切断や酸化損傷が主である。DNA 損傷に基づく個人線量計の開発を目標として、高 LET 放射線を照射した場合の DNA 鎖切断収量についてリアルタイム PCR (Real-Time Polymerase Chain Reaction) を用いて評価する新しい方法を検討した。

キーワード: 放射線影響、バイオドシメトリ、PCR

1. 緒言

放射線防護・放射線安全の観点から、個人線量計による被ばく量の管理は重要である。本研究では、異なる LET (線エネルギー付与) の粒子線について、リアルタイム PCR (Real-Time Polymerase Chain Reaction) を用いた DNA 鎖切断収量を指標とした吸収線量の評価法について検討した。リアルタイム PCR は、極めて微量な DNA 溶液から特定の DNA 断片 (数百から数千塩基対) だけを選択的に増幅させ、反応開始時の鋳型 DNA 量を評価するものである。ポリメラーゼ連鎖反応による増幅率は、サンプルの鋳型 DNA の量に比例するため、未損傷の鋳型 DNA の量、すなわち DNA の損傷量を評価することができる。

2. 実験方法

出芽酵母 S288c の URA3 領域 (804 bp) の PCR 産物をサンプルとした。DNA サンプル量は 0.1 ng/1 反応である。サンプルに対し量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所 HIMAC にて炭素イオン (LET : 50 keV/μm) 及びネオンイオン (LET : 29 keV/μm) を照射した。また高崎量子応用研究所の TIARA にて炭素イオン (LET : 107 keV/μm) 及びネオンイオン (LET : 352 keV/μm) を照射した。照射したサンプルの DNA を鋳型としリアルタイム PCR 装置 MJ Mini™ (Bio-Rad) を用いて未損傷の鋳型 DNA 量を評価した。

3. 結果

炭素及びネオンイオンを照射した場合の、未損傷の鋳型 DNA 量を図 1 に示す。炭素、ネオンイオンともに吸収線量の上昇に伴い、未損傷の鋳型 DNA 量が減少することが示された。また LET が 50 keV/μm の炭素イオン (◇) と比較して 107 keV/μm の炭素イオンの場合 (□) は未損傷の鋳型 DNA 量が減少することが示された。一方で LET が 352 keV/μm のネオンイオン (*) と比較して 107 keV/μm の炭素イオンの場合、未損傷の鋳型 DNA 量はほぼ同等であった。これはある LET 以上では局所的な損傷量が飽和する”オーバーキル”の状態にあるためであると考えられる。発表では PCR の対象領域を最適化することによる感度の向上の効果についても述べる。

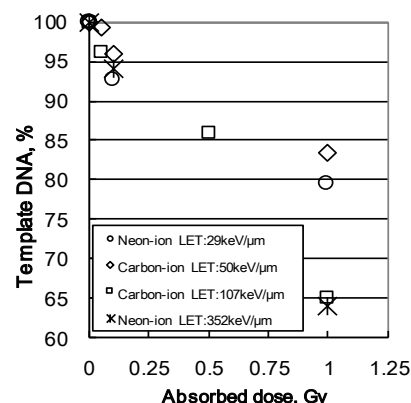


図1 リアルタイム PCR による未損傷の鋳型 DNA の評価

*Youichirou Matuo¹, Yoshinobu Izumi¹ and Kikuo Shimizu²

¹ Research Institute of Nuclear Engineering, University of Fukui

² Institute for Radiation Sciences, Radioisotope Research Center, Osaka University