

超音波照射に伴う DNA の損傷の定量的評価

Quantitative evaluation of damage on genomic DNA caused by ultrasound radiation

同志社大生命医科¹, 立命館大総合理工² ◯香川 幸大¹, 小川 直輝¹, 吉田 憲司¹, 渡辺 好章¹,
 剣持 貴弘¹, 吉川 祐子², 吉川 研一²

Doshisha Univ.¹, Ritsumeikan Univ.² ◯Yukihiro Kagawa¹, Naoki Ogawa¹, Kenji Yoshida¹,
 Yoshiaki Watanabe¹, Takahiro Kenmotsu¹, Yuko Yoshikawa¹, Ken-ichi Yoshikawa²

E-mail: dmn1009@mail4.doshisha.ac.jp

1. はじめに

超音波の医療応用という観点から, 超音波照射による DNA の損傷を調査することは重要である. このうち DNA 二重鎖切断は重大な損傷であるが, 長鎖分子のゲノム DNA における二重鎖切断の定量的評価はほとんど行われていない. そこで本報告では, 蛍光顕微鏡を用いた DNA の一分子観測^[1]によって, 超音波照射に伴うゲノム DNA 二重鎖切断の定量的な評価を行うとともに, 切断要因の一つと考えられるキャビテーション現象との関連性について検討を行う.

2. 実験方法

2.1. 超音波照射及び二重鎖切断の観測手法

長さが既知の T4-DNA (165 kpb, 56µm) 溶液を入れたマイクロチューブを定在波音場中 (周波数 30 kHz) の音圧の腹の位置に設置する (Fig. 1). 超音波の照射時間は 1 分間である. 音圧の振幅を 6 kPa から 75 kPa まで変化させた.

超音波照射後, DNA 分子を蛍光標識し, 顕微鏡を用いて DNA 分子の長さを測定する. 超音波を照射していない場合 (Control) の DNA 分子の平均長 $\langle L_0 \rangle$ と超音波照射時の DNA 分子の平均長 $\langle L \rangle$ を基に, 二重鎖切断回数 n は下式により導出できる.

$$n = \frac{L_0 - L}{L} \quad (1)$$

2.2. キャビテーション評価手法

キャビテーション気泡から音波が放射されることは良く知られており, その周波数スペクトルの特徴としては高調波, 分調波成分の生成やノイズレベルの上昇が挙げられる. 本報告では, PVDF センサを用いてその放射音波を観測し, 周波数解析することによりキャビテーションの発生を評価した.

キャビテーション発生の評価指標として, 次式のように定義した CNP (Cavitation Noise Power) ^[2]を用いた.

$$CNP = \int_0^{f_d - \Delta f} A df + \int_{f_d + \Delta f}^{2f_d - \Delta f} A df + \dots + \int_{(n-1)f_d + \Delta f}^{f_s/2} A df \quad (2)$$

A は受波信号のパワースペクトル, f_s はサンプリング周波数, f_d は照射周波数を示している. キャビテーションノイズによる CNP の上昇を評価するため, スペクトルに含まれる線スペク

トル部分近傍 (照射音波の周波数とその高調波成分) の周波数範囲 Δf を積分範囲から除去した.

3. 結果及び検討

Fig.2 は照射音圧に対する DNA 二重鎖切断回数及び CNP の変化を示している. 二重鎖切断は約 15 kPa 以上の音圧で発生しており, 閾値の存在が認められた. 一方 CNP に関しても, 約 15 kPa 以上の音圧で急激な増加がみられ, この音圧がキャビテーション現象の発生閾値を示していると考えられる. 二重鎖切断が発生する閾値音圧とキャビテーション現象が発生する閾値音圧を比較するとおおよそ一致していることが確認できた. 以上の結果は, キャビテーション現象が超音波照射時に生じる DNA の二重鎖切断の主要因であることを示唆している.

参考文献

- [1] Y. Yoshikawa, T. Mori, N. Magome, K. Hibino, K. Yoshikawa, Chem. Phys. Lett.456 (2008) 80.
- [2] J. Frohly, S. Labouret, C. Bruneel, I. Looten-Baquet, and R. Torguet, J. Acoust. Soc. Am. Vol. 108, No. 5, Pt. 1(2000)

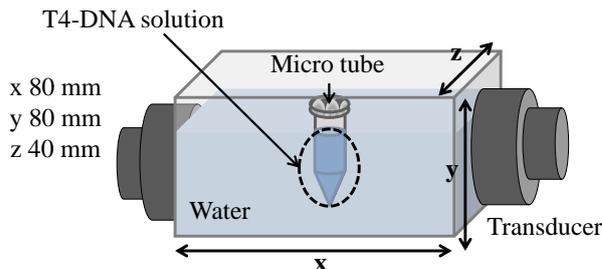


Fig. 1. 超音波照射用セル

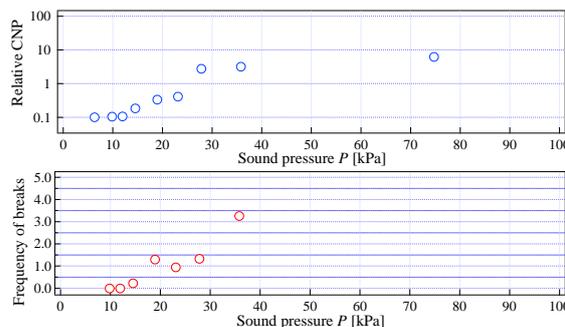


Fig. 2. CNP 及び DNA 二重鎖切断回数