

## DNA にできた傷跡を目で見る その原理と応用について

SATテクノロジー・ショーケース2018

### ■ はじめに

一部の化学物質や環境要因(紫外線、放射線)は生物のDNAに傷をつけることが知られている。生物はこれらによって生じたDNAの傷を自分自身で修復することができるが、傷の生成量が修復能力を上回ると、DNA中に傷が蓄積され、突然変異を誘発する確率が増加する。

次世代シーケンス技術の発達により、化学物質等による突然変異の検出は従前に比べ、早く・安価に出来るようになったが、この解析により知る事が出来るのは「修復できなかったDNA損傷の結果」のみである。したがって、変異原によるDNAへの影響をより高感度に検出するには、DNA損傷量を直接定量する必要がある。

遺伝子毒性評価ではコメットアッセイによるDNA損傷の定量が利用されているが、この手法は長期毒性評価ではDNA損傷量がDNA修復能力によってマスクされ過小評価されるため、急性毒性評価にしか利用できない。

本発表では福島県内の帰還困難区域において、原発事故に伴う放射線量増加による慢性的なDNAへの影響を調べる目的で、DNA修復の痕跡を簡便かつ高感度に評価する事が出来る植物及びこの植物に由来する培養細胞の開発をおこなった。ここに、その原理と実際の適用例及び想定される応用例について示す。

### ■ 活動内容

#### 1. DNAにできた傷跡の検出原理

放射線等によってDNAにできる傷の種類はいくつかあるが、本研究ではDNAの二本鎖切断を対象にし、その修復跡の検出を試みた。先行研究では二本鎖切断は放射線照射により全DNA損傷の約1%の頻度で生じると考えられている。生物はDNAの二本鎖切断が起きると「相同組換え修復機構」により修復を行う。この修復機構では、塩基配列が良く似た近接したゲノム領域を鋳型にして修復を行う。本研究ではこれを検出するために指標となる人工遺伝子(GU-US)を植物に導入し、培養細胞化した。このGU-USは大腸菌のβ-グルクロニダーゼ(GUS)をコードする遺伝子を中間部分で切断し、600塩基対の重複領域(U-U)を設計してあるが、このままではGUSタンパク活性は持たない。GUS活性の回復は、ある細胞でDNAの二本鎖切断が生じ、相同組換え修復が起きると、導入されたGU-USでも相同組換えが生じ、GUS遺伝子に戻る事で起きる。活性を持ったGUSタンパク質に特定の基質を与えると、青紫色を呈するのでこれを検出に利用した。

#### 2. 福島県帰還困難区域におけるDNAの傷跡検出

作製した培養細胞を用いて、福島県帰還困難区域における放射線によるDNAの傷跡の検出を行った。2016年9～10月にかけて空間線量率の異なる3地点に約30日間培養細胞を静置し、DNAの傷跡の検出を行い以下の結果を得た。

##### ● 検出感度

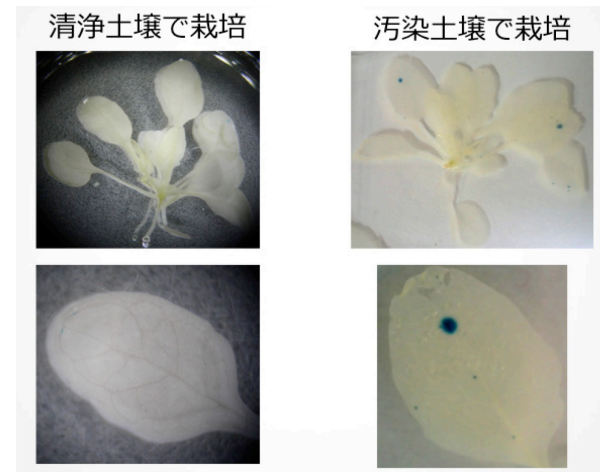
積算線量(0.34, 1.72, 3.47 mGy)と検出されたDNAの傷跡(GUSスポットの数)との間に高い正の相関が見られた( $R^2=0.81$ )。通常100mGy以下の放射線量では、有意な発がん性が検出できない事から本手法は高い検出感度を持つといえる。

##### ● 汎用性

GU-US遺伝子を導入した植物に、高い酸化力を持つ大気汚染ガスであるオゾン(光化学オキシダントの主要成分)200 ppbを含む大気に2週間ばく露した。その結果、オゾンによるGUSスポットの増加を検出する事が出来た。

#### 3. 今後の展望

DNAの傷跡を検出する実験系は、福島県内における放射線によるDNAへの影響を検出するために開発した。しかしながら、培地内に化学物質を添加する事により高感度な変異原性評価が可能になる事、また、植物を用いる事により大気中成分による変異原性も評価できる。



放射性物質を含む汚染土壌で栽培した植物(右)におけるDNAの傷跡の検出

代表発表者 玉置 雅紀(たまおき まさのり)  
所 属 国立研究開発法人国立環境研究所  
福島支部 環境影響評価研究室  
問合せ先 〒963-7700 福島県田村郡三春町深作 10-2  
TEL:0247-61-6561 FAX:0247-61-6562  
mtmaoki@nies.go.jp

■キーワード: (1)DNA 損傷  
(2)放射線  
(3)変異原性化学物質  
■共同研究者: 高橋真哉  
(筑波大学 生命環境系)