

大阪府立大学産学官連携機構  
放射線研究センター

平成 21 年度  
放射線施設共同利用報告書

平成 22 年 10 月

*Radiation Research Center  
Organization of  
University-Industry-Government Cooperation  
Osaka Prefecture University*

## 1. はじめに

産学官連携機構・放射線研究センター長 奥田修一

この報告書は、大阪府立大学産学官連携機構・放射線研究センターの放射線施設における平成 21 年度共同利用の成果を、関連する情報と共にとりまとめたものです。内容は、物理、化学、生物、医学など様々な分野にわたり、学際領域の新しい研究の進展が期待されます。

当センターには、コバルト60ガンマ線源や電子線加速器による放射線照射利用施設、種々の非密封放射性同位元素が取り扱える放射化学実験施設、実験動物施設などがあります。これらは、学内外の研究者や技術者、また民間企業などにも広く利用されています。また関係機関と連携して、特徴ある放射線知識普及活動も行っています。このような施設や活動の継承は、放射線科学研究の応用分野の広がりとともに重要視され、原子力・放射線分野における人材育成も社会から求められています。われわれの社会に果たすべき役割がますます大きくなってきているといえます。

大阪府立大学には昨年度から大きな改革の動きがあり、それに伴って、当センターも改編に向けての計画を策定しています。今後より一層大学や社会に貢献できるように、努力を重ねる所存です。

皆様には、この報告書を是非ご覧いただきますとともに、当センターの活動の継続にたいして、今後ともご理解、ご支援いただきますようお願い申し上げます。

平成22年9月

# 目 次

ページ

## 1. はじめに

放射線研究センター長 奥田修一

## 2. 平成21年度共同利用研究報告

- 1) ライナックおよびコッククロフト・ウォルトン電子加速器の現状・・・・・・・・・・ 1  
(府大産学官)谷口良一、小嶋崇夫、岡喬、奥田修一
- 2) 線源棟照射施設の保守管理・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 2  
(府大産学官)小嶋崇夫、岡喬、谷口良一、奥田修一  
(大阪ニュークリアサイエンス協会)森秀信
- 3) 冷却型 CCD 画像素子の放射線損傷・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 3  
(府大産学官)谷口良一、佐々木遼也、奥田修一 (京大炉)岡本賢一  
(近畿大)小川喜弘 (電子研)辻本忠
- 4) 微弱電子線の直接照射による重金属の2次元分析法・・・・・・・・・・・・・・・・ 4  
(府大産学官)佐々木遼也、谷口良一、小嶋崇夫、奥田修一
- 5) 水トリー発生に伴う残留放射線の計測・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 5  
(府大産学官)谷口良一 (中部電力(株)エネルギー応用研究所)熊澤孝夫
- 6) 高強度 THz コヒーレント放射による過渡現象の研究・・・・・・・・・・・・・・・・ 6  
(府大産学官)奥田修一、小松大悟、谷口良一、小嶋崇夫 (Kangwon Univ.) S.Nam
- 7) アスベストおよび各種材料中の自然放射線の測定・・・・・・・・・・・・・・・・ 8  
(府大産学官)谷口良一、佐々木遼也、小嶋崇夫、奥田修一
- 8) Positron annihilation study of the hardening behavior in Al-Cu based alloy by  
electron and heavy ion irradiation・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9  
(Dep. of Mater. Sci. & Eng., Osaka Pref. Univ.)F.Hori, I.Kobayashi, A.Iwase  
(Japanese Atomic Energy Research Agency )Y.Saito, N.Ishikawa, T.Oshima
- 9)  $\gamma$  線照射還元法により生成した Au/Pd 二元系金属微粒子の線量率依存性・・・・・・・・ 11  
(府大院工)山本正明、田口昇、岩瀬彰宏、秋田知樹、田中真悟、堀史説
- 10) ZrCuAl バルク金属ガラス内の自由体積の合金組成依存性・・・・・・・・・・・・ 12  
(府大院工)石井頭人、峯野慎也、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説
- 11) Thermal vacancy formation in Co-based Heusler-type alloys  $\text{Co}_2\text{MnZ}$  ( $Z = \text{Si, Ge, Sn}$ )・・ 14  
(Dep. of Mater. Sci. & Eng., Osaka Pref. Univ.) F. Hori  
(Dep. of Phys. Sci., Osaka Pref. Univ.) S.Kikuchi, T.Fujiwara, M.Kogachi
- 12)  $\text{Zr}_{60}\text{Cu}_{30}\text{Al}_{10}$  バルク金属ガラスにおける自由体積緩和過程・・・・・・・・・・・・ 15  
(府大院工)峯野慎也、石井頭人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説

13)	Behavior of free volume in ZrCuAl bulk metallic glass after irradiation . . . . .	16
	(Dep. of Mater. Sci. & Eng., Osaka Pref. Univ.) Y.Fukumoto, A. Ishii, A. Iwase, F.Hori (Japanese Atomic Energy Research Agency) T.Oshima, N. Ishikawa (Institute for Materials Research, Tohoku Univ.) Y.Yokoyama	
14)	IP の長時間露光法の検討 . . . . .	18
	(府大産学官)谷口良一、小嶋崇夫、奥田修一	
15)	アスコルビン酸グルコシドによる DNA の高次構造変化と放射線感受性への影響 . . . . .	19
	(府大産学官)森利明 (京大院理)鈴木麻里、吉川研一 (立命大総合理工)吉川祐子、今中忠行 (名大院環境)陳寧、A. Zinchenko、村田静昭 (明大院医)神戸俊夫 (JST・ICORP)時空間秩序プロジェクト	
16)	CYP1A1、1B1 の誘導的発現とベンゾ[a]ピレン付加体形成 . . . . .	20
	(府大産学官)椎崎一宏、川西優喜、八木孝司	
17)	部位特異的 3-Nitrobenzanthrone 付加体を持つプラスミドの作製とヒト由来の細胞での TLS/変異アッセイ . . . . .	21
	(府大産学官)藤川芳宏、川西優喜、八木孝司 (神奈川工大)高村岳樹	
18)	塩酸セレギリンならびに関連物質の MAO 阻害活性 . . . . .	22
	(エフピー株式会社)ト部和則、国村直、西村哲也、石橋恵利子 (府大産学官)川西優喜、八木孝司	
19)	<sup>32</sup> P ポストラベル法による 3-ニトロベンズアントロン DNA 付加体の解析 . . . . .	23
	(府大産学官)川西優喜、萩尾宗一郎、八木孝司 (神奈川工大)高村岳樹	
20)	マウス出血性水頭症原因遺伝子 <i>hhy</i> の解析 . . . . .	24
	(府大院理)森展子 (府大院生命)平野隆爾、桑村充	
21)	放射線誘発染色体不安定性と染色体内再構成との関係 . . . . .	25
	(府大学産学官)田辺正輝、白石一乗、児玉靖司 (京大炉)縄田寿克 (鳥取大院医)押村光雄	
22)	マウス神経幹細胞における放射線損傷応答の解析 . . . . .	26
	(府大産学官)寺本敬志、白石一乗、児玉靖司 (府大院理)原正之	
23)	シュワン細胞とマウス神経幹細胞/前細胞共培養条件下での分化誘導に関する研究 . . . . .	27
	(府大院理)石橋暢浩、森英樹、原正之	
24)	マウス神経幹細胞/前駆細胞のニューロスフェア形成過程の解析 . . . . .	28
	(府大院理)吉元菜々江、森英樹、原正之	
25)	弾性率の異なる足場材料上におけるマウス神経幹細胞に由来するアストロサイトの 形態変化 . . . . .	29
	(府大院理)森英樹、原正之	
26)	リンパ腫誘発感受性を支配するマウス 4 番染色体上の 2 つの遺伝子座 . . . . .	30
	(府大院理)森展子	

27)	香辛料の汚染細菌の放射線抵抗性と食肉類中での増殖回復挙動について	31
	(府大院理)古田雅一、向原岳、石川悦子、小池佳都子	
28)	$\alpha$ -エラスチンの粒子形成とガンマ線架橋による安定化	33
	(府大院理)藤本真理、古田雅一 (九工大院生命体工学)岡元孝二	
29)	<i>Bacillus</i> 属細菌芽胞の増殖挙動・発芽過程に及ぼす放射線効果	35
	(府大院理)向原岳、古田雅一、石川悦子、小池佳都子 (シスメックス株)小田康雅、坂田孝	
30)	イメージングプレートを用いた照射食品の自然放射能の分布の可視化と食品照射の 広聴活動への応用	36
	(府大院理)古田雅一 (府大産学官)伊藤憲男	
31)	糖代謝を指標とした <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 放射線ストレス応答機構の解析	37
	(府大院理)渡邊健、古田雅一 (府大院生命)松井文彦、宮西順子、岸田正夫 (シスメックス株)小田康雅、坂田孝	
32)	乾燥ストレスが <i>Enterobacter sakazakii</i> の放射線感受性に与える影響	40
	(府大院理)藤井夏日、古田雅一	
33)	アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの崩壊と細胞脱離	41
	(府大院理)福田一馬、上田英二	
34)	オーキシン極性移動制御物質の探索-生物検定系の開発-	42
	(府大院理)上田純一 (府大総合教育研究機構)宮本健助	
35)	植物の青色光受容体 phototropin の光感受性制御機構の解明	43
	(府大院理)岡島公司、嘉祥寺谷幸子、桂ひとみ、福岡翠、徳富哲	
3.	平成 21 年度共同利用報告会プログラム	44
4.	特別講演	
	石英系光ファイバとイメージガイドの $\gamma$ 線等、高エネルギー照射による劣化挙動の研究進 展経緯	46
	(三菱電線工業株)速水弘之	
5.	大阪府立大学 21 世紀科学研究所「量子ビーム誘起反応科学研究所」活動報告	57
	(府大産学官)奥田修一	
6.	公立大学法人大阪府立大学	
	産学官連携機構・放射線研究センターにおける放射線施設の利用	59

### 3. 平成 21 年度共同利用報告会プログラム

主催： 大阪府立大学産学官連携機構・放射線研究センター

大阪府立大学 21 世紀科学研究機構・量子ビーム誘起反応科学研究所

日時：平成 22 年 7 月 12 日（月）10:25－18:00

場所：大阪府立大学学術情報センター視聴覚室

10:25-10:30 開会の挨拶 放射線研究センター長 奥田修一

10:30-12:00 [活動報告、一般講演] 座長：伊藤憲男（阪府大産学官）

1. ライナックおよびコッククロフト・ウォルトン電子線加速器の現状  
谷口良一、岡喬、小嶋崇夫、奥田修一（阪府大産学官）
2. コバルト 60 照射施設の現状  
小嶋崇夫（阪府大産学官）
3. 香辛料の汚染細菌の放射線抵抗性と食肉類中での増殖回復挙動について  
古田雅一、向原岳、石川悦子、小池佳都子（阪府大理）
4. Bacillus 属細菌芽胞の増殖挙動・発芽過程に及ぼす放射線効果  
向原岳、古田雅一、石川悦子、小池佳都子（阪府大理）、小田康雅、坂田孝（シスメックス）
5. 乾燥ストレスが Enterobacter sakazakii の放射線感受性に与える影響  
藤井夏日、古田雅一（阪府大理）
6. 水トリ一発生に伴う残留放射線の計測  
谷口良一（阪府大産学官）、熊澤孝夫（中部電力）

12:00-13:15 昼食休憩および放射線研究センター施設見学

13:15-14:15 [特別講演] 座長：谷口良一（阪府大産学官）

7. 石英系光ファイバとイメージガイドの  $\gamma$  線等高エネルギー照射による劣化挙動の研究進展経緯 速水弘之（三菱電線）

14:15-14:25 休憩

14:25-15:10 [一般講演] 座長：宮丸広幸（阪府大産学官）

8.  $\gamma$  線照射還元法により生成した Au/Pd 二元系金属微粒子の線量率依存性  
山本正明、田口昇、岩瀬彰宏、秋田知樹、田中真悟、堀史説（阪府大工）
9. ZrCuAl バルク金属ガラス内の自由体積の合金組成依存性  
石井顕人、峯野慎也、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説（阪府大工）
10. Zr60Cu30Al10 バルク金属ガラスにおける自由体積緩和過程  
峯野慎也、石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説（阪府大工）

15:10-16:10 [一般講演] 座長：古田雅一（阪府大産学官）

11. アスコルビン酸グルコシドによる DNA の高次構造変化と放射線感受性への影響  
森利明（阪府大産学官）、鈴木麻里、吉川研一（京大院理）、吉川祐子、  
今中忠行（立命館大）、陳寧、Anatoly Zinchenko、村田静昭、  
神戸俊夫（名大院）
12. CYP1A1、1B1 の誘導的発現とベンゾ[a]ピレン付加体形成  
椎崎一宏、川西優喜、八木孝司（阪府大産学官）
13. 部位特異的 3-Nitrobenzanthrone 付加体を持つプラスミドの作製とヒト由来の  
細胞での TLS/変異アッセイ  
藤川芳宏、川西優喜、八木孝司（阪府大産学官）、高村岳樹（神奈川工大）
14. 植物の青色光受容体 phototropin の光感受性制御機構の解明  
岡島公司、嘉祥寺谷幸子、桂ひとみ、福岡翠、徳富哲（阪府大理）

16:10-16:25 休憩

16:25-17:55 [一般講演] 座長：川西優喜（阪府大産学官）

15. シュワン細胞とマウス神経幹細胞/前駆細胞共培養条件下での分化誘導に  
関する研究  
石橋暢造、森英樹、原正之（阪府大理）
16. マウス神経幹細胞/前駆細胞のニューロスフェア形成過程の解析  
吉元菜々江、森英樹、原正之（阪府大理）
17. 弾性率の異なる足場材料上におけるマウス神経幹細胞に由来するアストロ  
サイトの形態変化  
森英樹、原正之（阪府大理）
18. 放射線誘発染色体不安定性と染色体内再構成との関係  
田辺正輝、白石一乗、児玉靖司（阪府大産学官）、縄田寿克（京大炉）、  
押村光雄（鳥取大）
19. マウス神経幹細胞における放射線損傷応答の解析  
寺本敬志、白石一乗、児玉靖司（阪府大産学官）、原正之（阪府大理）
20. マウス出血性水頭症原因遺伝子 hhy の解析  
森展子（阪府大理）、平野隆爾、桑村充（阪府大生命）

17:55-18:00 閉会の挨拶

（発表者下線、一般講演各 15 分、含質疑応答）

## ライナックおよびコッククロフト・ウオルトン電子加速器の現状

大阪府立大産学官連携機構 谷口良一\*、小嶋崇夫、岡喬、奥田修一

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4293、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

### [現状]

18MeV 電子ライナックの 2009 年の運転時間は 211 時間であった。前年の 224 時間と、ほぼ同程度であるが、長期的な減少傾向は続いている。図 1 に年間運転時間の、この 25 年間の推移を示す。2009 年の修理時間は 35 時間であった。一方、600keV コッククロフト・ウオルトン電子線加速器の運転時間は 309 時間であった。これは前年の 254 時間よりも増加しており、順調に稼動していると言える。

### [メンテナンス]

1)ベンダーラインの改修：地下室の照射ラインは、昨年までの改造で、約 3 年間停止状態にあった。これは、真空ラインの改修の結果、加速器の真空部分の大半がステンレス製に置き換わったのに対して、地下室に導入する部分、特に照射コーンがアルミニウム製にとどまったことが原因である。この部分は、重量の関係でステンレス製に改造することが困難であった。このため、フランジ部分で、ステンレスとアルミニウムという異種金属の接合が必要となったが、ビームの直射を受ける部分でもあり、バイトン等のガスカートでは、短期間で劣化することが予想された。今回アルミニウムとステンレスを爆着接合した特殊なフランジを導入し、地下室ビームラインを再開することができた。

2)ビームスキャナーの改修：前述の改修に並行して、地下室ビームを走査するマグネット、電源、発振器等を設置し、これらを用いて電子ビームの走査を行った。ビームの走査状態は、ビーム画像モニタで確認され、地下室の 2 次元照射ラインは再開された。

### [研究テーマ]

表 1 に 2009 年にライナック等を利用した主要なテーマを示す。主な研究題目は、微弱電子ビームの測定法の研究、ウラン等の高感度分析、高エネルギー X 線の遮へいの研究、医療用照射の線量率制御の研究、衛星用太陽電池の耐放射線性の研究などであった。

### [本研究に関する研究発表]

1)「大阪府立大学電子加速器と利用研究の現状」、奥田修一、谷口良一、小嶋崇夫、岡喬、岩瀬彰宏、第 6 回日本加速器学会年会・第 34 回リニアック技術研究会 (2009.8.5-7、東海村)。

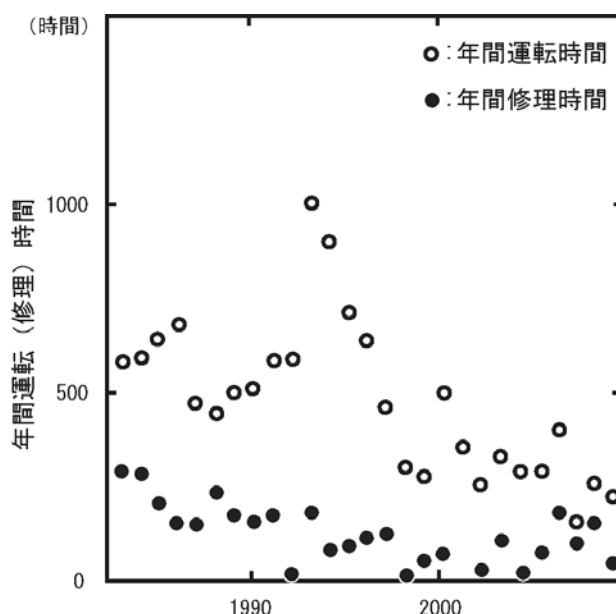


図 1 年間運転時間の推移

表 1 2009 年の主な実験テーマ

ラジオグラフィ
微弱電子ビームの取り出しと利用
金属材料、半導体の照射
ウラン・トリウムの高感度分析
強磁場下の X 線線量分布測定
医療用 X 線遮へいの研究
人工衛星搭載太陽電池の照射試験



## 線源棟照射施設の保守管理

阪府大産学官 小嶋崇夫\*、岡喬、谷口良一、奥田修一

大阪ニュークリアサイエンス協会 森秀信

(\*本報告に関する連絡先：電話（内線）4213、メール kojima@riast.osakafu-u.ac.jp)

平成 21 年度に実施した線源棟照射施設の保守管理に伴う主要な工事・作業の概要を以下に示す。

### 1) 照射プールライニングの溶接部検査

照射プールライニング溶接部の健全性確認のため、浸透探傷および真空法による非破壊検査を平成 21 年 6 月に実施した。要した日数は(1)線源格納、排水および清掃、(2)検査等、(3)復旧に各 6 日の計 18 日間であった。

### 2) コバルト第 1 照射室～第 2 照射室間しゃへい扉駆動機構の修理

自主点検(平成 21 年 9 月実施)の際にコバルト第 1 照射室～第 2 照射室間しゃへい扉の作動状態を確認したところ、負荷の増加が確認された。所内で不具合箇所の調査を行い、ギヤ機構の分解・持ち帰り修理を依頼し復旧した。

### 3) ライナック第 1 照射室内分電盤の整備

電気設備点検結果に基づき、ライナック第 1 照射室内の分電盤への給電経路を地下室コンベア設備に沿った経路に変更した。

### 4) 照射プール用照明更新の検討

照射プール用照明の更新について検討を開始した。現在の器具と同等のものは特注品となるため、既製品で仕様を満たすものを購入し試験運用を実施した。今後、使用中の機器を更新していく予定である。

### 5) 照射プール純水装置樹脂再生用試薬移送治具の改良

照射プール純水装置樹脂再生用の試薬を受け入れて貯蔵タンクに移送するための治具を製作した。屋内への揮発した試薬の拡散を抑制することができ、作業時の安全性が向上した。

### 6) 線源棟クレーンの定期点検および性能検査の受検

平成 21 年 5 月に線源棟に設置されているクレーン 9 台の定期点検を実施し、検査対象となる 6 台のクレーンについて性能検査を受検した。

### 7) 放射線監視装置の分解点検・修理

平成 22 年 3 月、コバルト第 1～第 3 照射室とコバルト第 4 照射室・照射プールの各系統の放射線監視装置(照射設備制御装置を含む)の点検を実施した。交換部品の入手が難しくなっているものがあり、数年単位での装置維持・改修・更新の計画が必要である。

## 謝辞

御協力頂いた大阪府立大学産学官連携機構管理運営グループ、事務局施設課および作業従事者の方々に深く感謝致します。

## 冷却型 CCD 画像素子の放射線損傷

大阪府立大産学官連携機構 谷口良一\*、佐々木遼也、奥田修一  
京都大学原子炉実験所 岡本賢一  
近畿大学 小川喜弘  
電子科学研究所 辻本 忠

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4293、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

**[はじめに]** 冷却型 CCD 素子は高感度かつ定量性がすぐれ、放射線画像素子として広く用いられている。ただし冷却型 CCD 画像には特徴的な白点ノイズが出現し、これが実用上の問題となっていた。また、このノイズには、外見は同じでも常に同じ位置に出現する、固定パターンノイズ(FPN)と、ランダムに出現するランダムノイズに分かれており、それぞれ放射線に対する応答が異なっている。

**[固定パターンノイズ]** 冷却型 CCD の白点ノイズは、1 画素の大きさを持ち、周囲の画像とはかけ離れた輝度をもつという特徴がある。図 1 に中性子透過画像中に現れた白点ノイズの外観を示す。バックグラウンド状態では、これらのノイズの大半は FPN であった。放射線を照射すると、白点ノイズは、これに比例して増大するが、増大したノイズの大半はランダムノイズであった。このランダムノイズは、放射線照射を終了した時点で消失する。γ線の照射では FPN の増大は認められなかった。一方、中性子の照射を行った場合、僅かな増加が認められた。図 2 は、近大原子炉で照射した結果である。照射量は、最大（1 W 時）で、 $1 \times 10^4 \text{ n/cm}^2$  で 30 分の照射であった。図の点線は、同じ条件で LiF フィルターを挿入し、中性子成分をカットしたものである。FPN の生成に中性子が大きな寄与をしていることは確実である。

### [本研究に関する研究発表]

- 1) 「冷却型 CCD の放射線損傷」、谷口良一、佐々木遼也、奥田修一、小川喜弘、岡本賢一、辻本忠、非破壊検査協会第 7 回放射線による非破壊評価シンポジウム講演論文集（2010 年 3 月 4-5 日、東京）pp93-98
- 2) 「冷却型 CCD の放射線損傷とノイズ特性の変化」、谷口良一、奥田修一、佐々木遼也、岡本賢一、小川喜弘、辻本忠、非破壊検査協会春季大会（2009 年 5 月 19 日、東京）
- 3) 「冷却型 CCD カメラの放射線損傷とノイズ特性の変化」、谷口良一、佐々木遼也、奥田修一、岡本賢一、小川喜弘、辻本忠、非破壊検査に関する研究発表会（2009 年 8 月 10 日、大阪）
- 4) 「冷却型 CCD の照射損傷とノイズ特性の変化」、谷口良一、非破壊検査、Vol.59, No.3(2010)pp119-124
- 5) “Noise Characteristic of Neutron Images Obtained by Cooled CCD Device”, R.Taniguchi, R.Sasaki, S.Okuda, K.Okamoto, Y.Ogawa, T.Tsujimoto, Nucl.Instr.Meth.,A605(2009)pp85-90

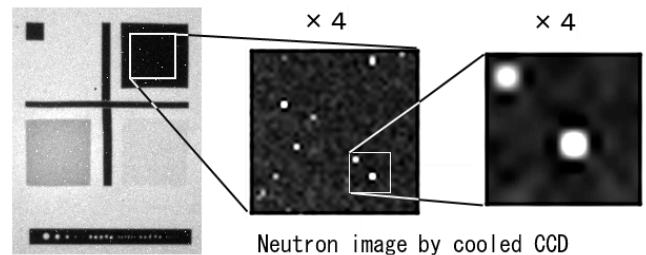


図 1 冷却型 CCD の白点ノイズ

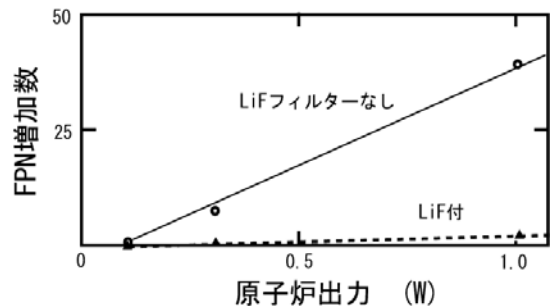


図 2 中性子照射による FPN の増加

## 微弱電子線の直接照射による重金属の2次元分析法

大阪府立大産学官連携機構 佐々木遼也、谷口良一\*、小嶋崇夫、奥田修一  
(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4230、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

[はじめに] 本研究では、電子線形加速器から発生する微弱電子線を試料に直接入射し、電子の準弾性散乱による核反応に伴って発生する中性子を検出するとともに、試料の2次元元素分析を行った。

[実験] 図1のように、試料を2次元の移動ステージに載せ、11MeVのエネルギーの電子線を照射した。ターゲットから約2m離れた位置にBF<sub>3</sub>中性子検出器を設置し、発生した中性子を計測した。試料は図2に示すように、厚さ1mmのアルミニウム板の上に、厚さ1mmの鉛板で十字を形成したものである。実験では、試料をX-Z移動ステージに載せ、2次元的に移動させながら中性子の測定を行った。各測定点における中性子計数を輝度変調して表示したものが図3である。図のように、試料の十字パターンが確認でき、本分析法によって鉛の2次元分布の測定が可能であることを示している。

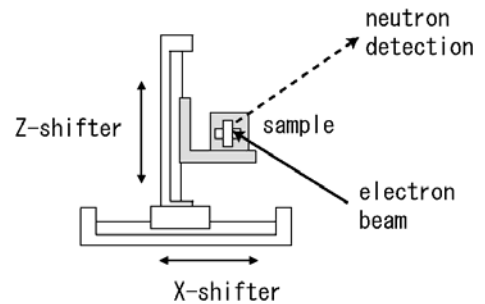


図1 試料の2次元走査測定体系

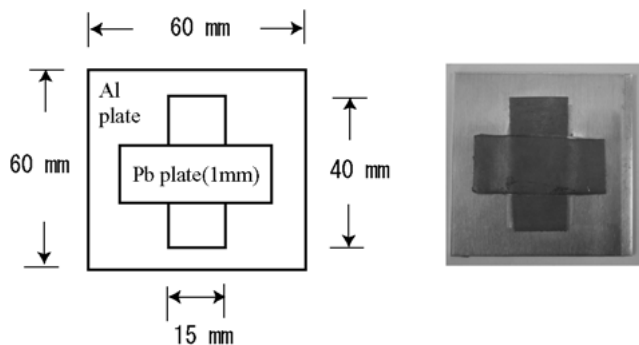


図2 用いた鉛標準試料

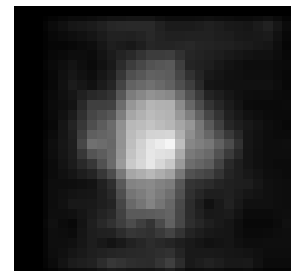


図3 試料の2次元走査による中性子画像

### [本研究に関する研究発表]

- 1) 「超微弱電子線直接照射法のウラン検出感度の評価」、佐々木遼也、谷口良一、小嶋崇夫、奥田修一、非破壊検査協会放射線分科会資料 No.10426 (2009年7月) p.1
- 2) 「微弱電子線の直接照射によるウラン・トリウムの高感度非破壊分析法」、佐々木遼也、谷口良一、小嶋崇夫、奥田修一、第7回放射線による非破壊評価シンポジウム講演論文集 (2010年3月) p.71-76
- 3) 「微弱電子線の直接照射によるU、Thの高感度検出」、佐々木遼也、岩瀬彰宏、谷口良一、小嶋崇夫、奥田修一、日本原子力学会 2009年年会 (2009年3月24日、東京)
- 4) 「超微弱電子線直接照射法のウラン検出感度の評価」、谷口良一、奥田修一、佐々木遼也、小嶋崇夫、日本加速器学会年会 (2009年8月5日、東海)

## 水トリー発生に伴う残留放射線の計測

大阪府立大産学官連携機構 谷口良一\*

中部電力(株)エネルギー応用研究所 熊澤孝夫

(\*本研究に関する連絡先: 電話 (内線) 4293、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

### [はじめに]

我々は、電力ケーブルの主要な劣化形態である水トリーの発生に伴う放射線の発生を捕らえることを試みている。実験では、模擬試料を用いて水中での課電を繰り返した。昨年、課電終了後の電極試料から、バックグラウンドと大幅に異なる $\gamma$ 線スペクトルが短期間観測された。そのスペクトルを精密に解析した結果を報告したい。

### [実験]

半導電性電極の周囲を架橋ポリエチレンで覆った電極試料を水道水に浸漬し、この電極と接地電極（金線）との間に交流電圧（ $\sim 2.7\text{kV}/2\text{kHz}$ ）を印加し、水トリーを発生させた。課電は1実験当たり約1000時間続いた。課電終了後、約1週間電極試料を上記水道水中に放置した後に取り出し、その約1時間後に低バックグラウンド環境下でGe測定した。

図1に昨年度観測されたスペクトルを示す。縦軸はリニア表示で、バックグラウンドを差し引いた値を示している。一方、図2はRa226標準線源を測定した例である。図のように、両者のスペクトルは類似しているが、Pb214の強度が図1では、かなり弱いことが注目される。Bi214はPb214の子孫核種であり、Ra226標準線源中では、系列の放射性元素がほぼ放射平衡にあることが予想されるが、観測されたスペクトルでは、Pb214のピーク面積が、図2よりも約半分になっており、ウラン系列の放射平衡から大きくずれていることが分かる。残留放射線がPb214を起点とする放射平衡にあるならば、この値は3分の1以下になると予想されるが、測定値はこの中間に位置している。異常残留放射線の原因はPb214の異常な出現と言い換えることができそうであるが、原因を含め未知の要因は多い。

### [本研究に関する研究発表]

- 1) 「水トリー発生に伴う放射線の計測：(9)残留放射線現象の再現性」、熊澤孝夫、谷口良一、日本原子力学会 2009年秋の大会予稿集（2009年9月16-18日、仙台）I15
- 2) 「水トリー発生に伴う放射線の計測：(10)残留放射線スペクトルの解析」、谷口良一、熊澤孝夫、日本原子力学会 2009年秋の大会予稿集（2009年9月16-18日、仙台）I16

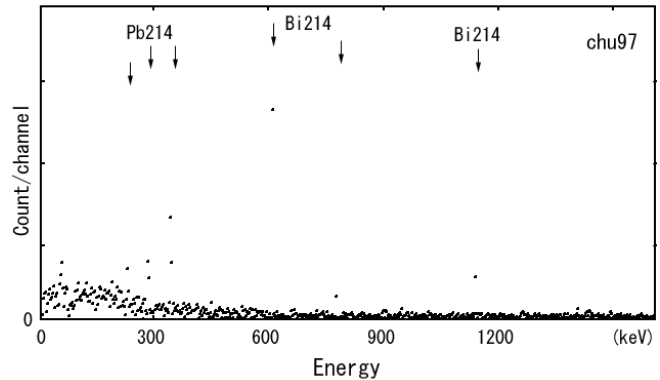


図1 昨年度観測された残留放射線スペクトル

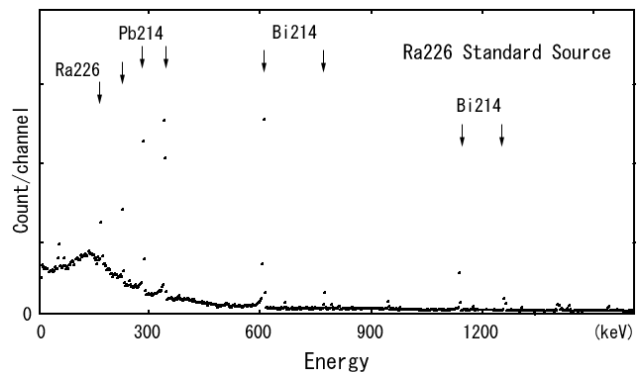


図2 Ra226標準線源の測定例

# 高強度 THz コヒーレント放射による過渡現象の研究

阪府大 奥田修一\*、小松大悟、谷口良一、小嶋崇夫

Kangwon Univ. S. Nam

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4227、メール okuda@riast.osakafu-u.ac.jp)

高エネルギー電子バンチからのコヒーレント放射は、極めて高い強度のパルス光で、光源としての利用が期待されている。ここで半サイクル光による、新しい励起現象の研究が注目される。これまで京大原子炉の電子ライナックによるコヒーレント遷移放射光源[1]を用いて、波数  $4\text{--}13\text{ cm}^{-1}$  で吸収分光を行った結果、 $\text{SiO}_2$  ナノ粒子などで光強度の違いによる光透過率のわずかな変化が観測された。しかしこの現象については、明らかにされていない。本研究ではこの機構解明を目的として、ポンプ・プローブ実験系を構築し、光源特性を調べた。

大阪府立大学 (OPU) 18 MeV S バンド電子ライナックからの、エネルギー10 MeV、バンチ当りの電荷量 0.3 nC のビームを用いる。加速管の位相条件を変えてバンチ圧縮し、光源にまっすぐに輸送する。最初の計画においては、シンクロトロン放射に比べて高い強度で、光源配置が比較的簡単なコヒーレント遷移放射を選択した。放射パルス電場の方向をそろえるために、放射の一部を除く。真空容器内に遠隔で挿入できるアルミニウムフォイルを光源とし、電子ビームを集束する。後方の遷移放射を石英窓を通して取り出す。以後の光輸送系は空气中に設置した。

本実験系は、パルスコヒーレント光照射によって物質に誘起される過渡現象について明らかにするために構築された。実験系は、現状のパルスラジオリシス系を基本にした。計測系の概念図を図1に示す。ポンプ光として、遷移放射をアルミニウムコート凹面鏡で試料に集光する。波長 1 mm における強度として、 $2 \times 10^8\text{ J/1\%B.W.}$  が推定されている。プローブ光は、一部をスプリッターで分割し、平行光束にした後、遅延回路を設けてタイミングを調整する。基本的な光特性の測定を行いながら、光源系の最適化を続けている。今後、シンクロトロン放射の利用、電子ビームによるポンプ実験を行う。

本研究の一部は、平成20-22年度のKEK大学等連携支援事業および平成20-22年度の科研費(課題番号:20360421)によった。

## 参考文献

[1] S. Okuda and T. Takahashi, *Infrared Phys. Technol.* 51 (2008) 410.

## 本研究に関する研究発表 (原著論文、その他報文、学会等報告)

- 1) 大阪府立大学の電子加速器と多目的利用の現状、奥田修一、谷口良一、小嶋崇夫、岡喬、第6回日本加速器学会年会 (2009. 8. 5-7, 東海) .
- 2) コヒーレント放射ポンプ・プローブ実験系の光源特性、奥田修一、坂本泰一、小嶋崇夫、谷口良一、高橋俊晴、日本原子力学会秋の大会 (2009. 9. 16-18, 仙台) I53.
- 3) コヒーレント THz 放射光源による吸収分光実験、奥田修一、小松大悟、高橋俊晴、谷口良一、小嶋崇夫、第16回 FEL と High-Power Radiation 研究会 (2010. 3. 4-5, 佐用郡) .
- 4) Experimental Study for the Behaviors of Water Molecules by Using Coherent THz Radiation Light Sources, S. Okuda, D. Komatsu, R. Taniguchi, T. Kojima and T. Takahashi, 5th Int. Symp. on Material Cycling Engineering (2010. 3. 10-11, Sakai) PS-56.

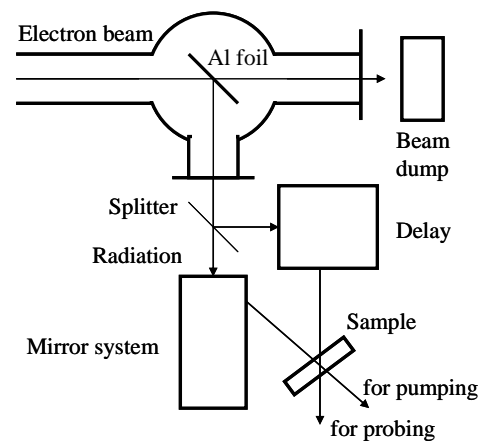


図1 ポンプ・プローブ実験系概念図

- 5) Characteristics of the Electron Linac Based Coherent Radiation Light Source at OPU, S. Okuda, T. Kojima, R. Taniguchi , 1st Int. Particle Accelerator Conf. (2010. 5. 23-28, Kyoto) MOPEA033.
- 6) 量子ビームの開発研究と誘起される反応の研究 (第4章)、“大阪府立大学における分野横断型研究の展開 -21世紀科学研究所の挑戦-”、大阪府立大学 21世紀科学研究機構編 (分担執筆、総ページ数 231)、大阪公立大学共同出版会 2010年 (2010, ISBN978-4-901409-72-8 C3000) .

## アスベストおよび各種材料中の自然放射線の測定

大阪府立大産学官連携機構 谷口良一\*、佐々木遼也、小嶋崇夫、奥田修一

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4293、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

[はじめに] 自然放射線を測定することで、アスベストを非破壊で検知する方法の開発を行っている。アスベスト中の自然放射線が多いことを利用すれば、非破壊かつ遠隔でアスベストの検知が可能である。しかし、その感度はアスベストだけでなく各種材料中の自然放射線の大小に依存する。本研究では様々な材料中の自然放射線の強度と成分の測定を行った。

[自然放射線測定] 表1に、測定を行った材料、鉱物を示す。その中の主なものを、カリウムおよびU+Thの2つの成分で2次元表示したものが図1である。図中の黒丸でアスベスト試料のデータを示している。アスベストは、かんらん石、角閃石等の造岩鉱物が熱水変成をうけて含水の繊維状鉱物になったものである。各種の鉱物のいくつかは、アスベストと同様に図1の右上に分布する傾向にある。一方、石膏を代表とする一群の建築材料は、放射線が少なく、図1の左下に分布することが明らかとなった。これらの材料では、アスベスト検知の可能性が高いことが明らかとなった。

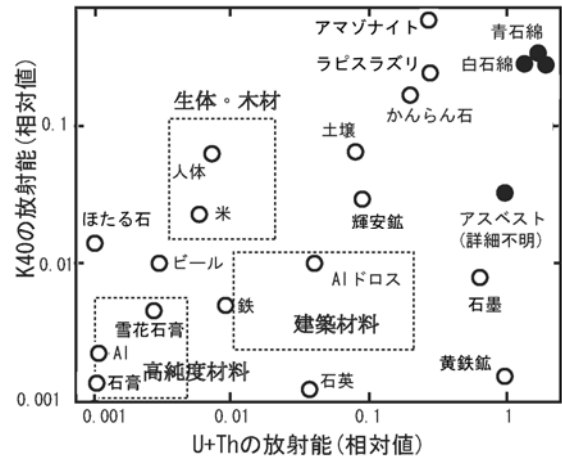


図1 各種鉱物、材料中の自然放射線

表1 自然放射線測定を行った鉱物の詳細

鉱物	組成	成因	鉱物	組成	成因
白石綿	$Mg_3SiO_5(OH)_4$	熱水鉱床	かんらん石	$(Mg, Fe)_2SiO_4$	変成岩
青石綿	$Na_2Fe_2Si_8O_{22}(OH)_2$	熱水鉱床	方鉛鉱	PbS	熱水鉱床
茶石綿	$(Mg, Fe)_7Si_{10}O_{22}(OH)_2$	熱水鉱床	ほたる石	$CaF_2$	変成・堆積
石英	$SiO_2$	pegmatite	ばら輝石	$(Mn, Ca)_5Si_5O_{15}$	熱水、変成
アマゾナイト	$KAl_2Si_8O_{18}$	pegmatite	黄鉄鉱	$FeS_2$	熱水、変成
輝安鉱	$Sb_2S_3$	熱水鉱床	緑柱石	$Be_3Al_2Si_6O_{18}$	変成
トパーズ	$Al_2SiO_4$	pegmatite	雪花石膏	$CaSO_4$	堆積・変成
岩塩	NaCl	堆積他	含クロム白雲母	$K(Al, Cr)_2(AlSi_3)O_{10}$	変成・熱水
クロム鉄鉱	$FeCr_2O_4$	変成	石膏	$CaSO_4$	堆積・変成
石墨	C	堆積・変成	ラピスラズリ	$Na_3Ca(Al_3Si_3O_{12})S$	変成
珪灰石	$Ca_3Si_3O_9$	変成	滑石	$Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$	変成
磁鉄鉱	$Fe^{2+}Fe^{3+}_2O_4$	変成・堆積	重晶石	BaSO4	変成・堆積

### [本研究に関する研究発表]

- 「アスベストの非破壊検知法」、谷口良一、佐々木遼也、小嶋崇夫、奥田修一、放射線と産業、125号 (2010) pp26-30
- 「自然放射線測定による非破壊アスベスト検知装置の開発」、谷口良一、佐々木遼也、小嶋崇夫、奥田修一、非破壊検査協会放射線分科会資料 No. 10427 (2009年7月) p. 5

# Positron annihilation study of the hardening behavior in Al-Cu based alloy by electron and heavy ion irradiation

Fuminobu Hori\*, Ippei Kobayashi, Yuichi Saito<sup>a</sup>, Norito Ishikawa<sup>a</sup>, Takeshi Oshima<sup>a</sup>,  
Akihiro Iwase

(\*corresponding author: 072-254-9812(5658), e-mail; horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

Dep. of Mater. Sci.& Eng., Osaka Pref. Univ.

<sup>a</sup>Japanese Atomic Energy Research Agency

## 1. Introduction

Radiation enhanced segregation is one of the important phenomena. In the present study, we have tried to irradiate of high energetic particles to Al-Cu based alloy system, which is called Duralmin, in order to control and improve the mechanical properties. Moreover, we have studied the process of some clusters formation in this alloy under electron and swift heavy ion irradiation by using positron annihilation and other techniques. In this paper, therefore, we report the results of the micro Vicker's hardness, positron annihilation Doppler broadening and three-dimensional atom probe measurements for Al-Cu based alloys aged or irradiated with electron and heavy ion, such as Xenon and Iodine.

## 2. Experimental

Al-Cu based alloy (Duralumin-JIS2017) was prepared by arc melt method. 10 mm x 10 mm x 1mm size samples were cut for micro Vickers and positron annihilation measurements. They were annealed at 793 K for 1 hour in air and quenched into ice water. I-ion and Xe-ion irradiations with an energy of 10 MeV and 200 MeV into Al-Cu based alloys were performed at room temperature by using a tandem type accelerator at the Japanese Atomic Energy Research Agency (JAEA) Takasaki, JAPAN. 3 MeV electrons irradiation have been performed for Al-Cu based alloy at room temperature by using tandem accelerator at JAEA Tokai. The maximum damage depth for 10 MeV Iodine and 200 MeV Xenon into Al-Cu based alloy was calculated to be approximately 4 and 20  $\mu\text{m}$ , respectively. After irradiation isothermal annealing at 423 and 453 K and isochronal annealing were performed. Coincidence Doppler broadening (CDB) measurement for each annealed and irradiated sample was performed. CDB spectra were derived with total counts of about more than  $10^8$ . Micro Vickers hardness was also measured by conventional equipment. The measuring temperature was room temperature and the applied load were 25 and 100 gf with holding time of 10 s. Applied load of these value is optimized for estimated damage peak for each ion irradiation. Atom probe analyses were performed for as prepared, aged at 423 K and I-ion irradiated samples using a three-dimensional atom probe (3DAP) equipment [8]. Needle-like atom probe specimens were prepared with a diameter of 100 nm by the micro-polishing technique.

## 3. Results

We have found that the electron irradiation does not affect the hardness but the change in hardness due to Xe and I-ion irradiation was measured. The change in hardness with annealing at 423 K observed in Al-Cu based alloy irradiated with I ions is remarkably larger than that for age hardened Al-Cu based alloy without irradiation. From the results of positron annihilation CDB and 3DAP measurements, it was found that low density of large size precipitates are formed in aged sample without irradiation, and large amounts of small size clusters are formed in ion irradiated sample, respectively. These facts suggest that these clusters affect the mechanical properties especially the hardness and their effects strongly depend on the size and density of clusters. The present experimental results show that swift heavy ion irradiation can be used for the modification of hardness and its hardness can be improved near surface than in age hardenable Al-Cu based alloy.

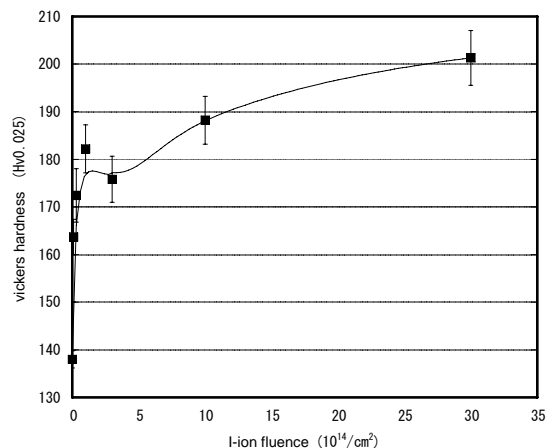


Figure Change in micro Vickers hardness for Al-Cu based alloy as a function of 10 MeV I-ion irradiation dose.



## **Research activities**

### **Presentations**

1. “Positron annihilation study of the hardening behavior in Al-Cu alloy by the irradiation”, Fuminobu Hori, Ippei Kobayashi, Akihiro Iwase, Advanced Science Research Symposium 2009(ASR2009) [Positron, Muon and other exotic particle beams for materials and atomic/molecular sciences], 2009, Tokai, Japan
2. 軽金属関西支部 若手研究者・院生による研究発表会 (2009年1月7日、大阪)  
高エネルギー粒子線照射によるアルミ合金の硬度制御  
小林一平、岩瀬彰宏、堀史説、金野泰幸、千星聡、石川法人、齊藤勇一

### **Publications**

1. “Positron annihilation study of the hardening behavior in Al-Cu alloy by the irradiation”, Fuminobu Hori, Ippei Kobayashi, Akihiro Iwase, Journal of Physics Conf. series (to be published)

## γ線照射還元法により生成した Au/Pd 二元系金属微粒子の線量率依存性

阪府大院工マテリアル工学分野 山本正明、田口昇、岩瀬彰宏、堀史説\*

産総研ユビキタス 秋田知樹、田中真悟

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）5658、メール horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

【緒言】超音波やγ線のような照射場を用いて金属イオン水溶液中のイオンの還元反応を制御する事によって貴金属ナノ微粒子の作成が可能である。

これまでにγ線照射還元法においてポリエチレングリコールモノステアレート(PEG-MS)を界面活性剤に用いることでコア(Au)-シェル(Pd)構造を持ち粒径が単分散で均一な微粒子の合成が可能であると報告してきた。微粒子の構造制御という点で添加する界面活性剤やエネルギーの付与率が重要なパラメータであると考えられる。今回は線量率をパラメータにとりγ線照射により微粒子を合成し Au-Pd 二元系微粒子の構造や粒径のエネルギー付与率依存性の検討を行った。

【実験】照射溶液は Au<sup>3+</sup>、Pd<sup>2+</sup>イオン水溶液(1:1)に界面活性剤として PEG-MS 0.4 mM を添加したものをを用いた。照射には <sup>60</sup>Co 線源からの放射γ線をそれぞれ 1.5、3.0、5.0、7.45、17.7 kGy/h の線量率で全線量が 10 kGy となるように大気中で照射した。γ線照射後の各試料について吸光度測定(UV/vis)、電顕(TEM、STEM、EDS)観察を行った。

【結果】Uv/vis測定の結果を図に示す。

7.45、17.7 kGy/hではAuのプラズモンピーク(520 nm)の消滅が見られることからコア(Au)-シェル(Pd)構造を有する微粒子の生成が示唆された。また、線量率の減少に従ってこのプラズモンピークが顕著に現れ、線量率により生成する微粒子のコアシェル構造の層厚や粒径制御が可能であると考えられる。

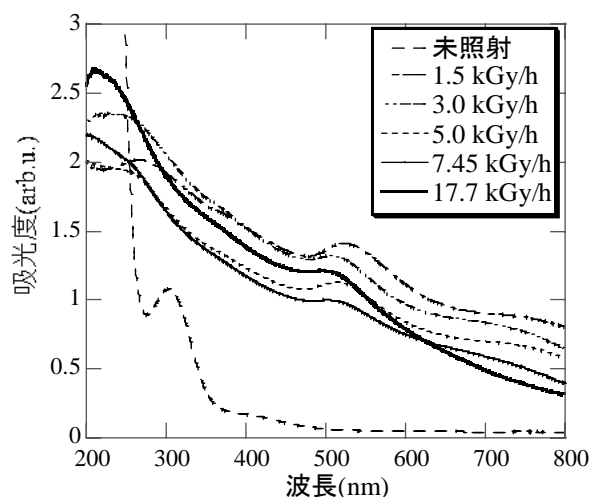


図1 UV/visによる吸光度測定の結果

### 本研究に関する研究発表

- 1) 日本金属学会 2009年3月春季大会(東工大) 山本正明、田口昇、岩瀬彰宏、秋田知樹、田中真悟、堀史説
- 2) 日本金属学会 2009年9月秋季大会(京都大) 山本正明、田口昇、岩瀬彰宏、秋田知樹、田中真悟、堀史説
- 3) N. Taguchi, A. Iwase, N. Maeda, T. Kojima, R. Taniguchi, S. Okuda, T. Akita, T. Abe, T. Kambara, H. Ryuto, F. Hori, Radiat. Phys. Chem. 78 pp.1049-1053 (2009)

## ZrCuAl バルク金属ガラス内の自由体積の合金組成依存性

阪府大院工 石井顕人、峯野慎也、岩瀬彰宏、堀史説\*  
東北大金研 横山嘉彦、今野豊彦

(\*本研究に関する連絡先: 電話 (内線) 072-254-9812(5658)、E-mail; horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

**【研究背景】** 近年、Zr 系の金属ガラスにおいて亜共晶組成での耐構造緩和脆化が報告されているが、その特性の内部構造からの詳細な説明は成されていない。我々はこれまで金属ガラスの物性に影響する因子として考えられている自由体積を陽電子消滅法により評価し、共晶系において自由体積周囲に Zr 原子は合金組成よりも多い割合で存在する事等を示してきた。本件ではこれまでの手法を亜共晶系に適用する事で自由体積および局所微細構造の合金組成依存性を考察した。

**【研究内容】** 傾角鋳造法により 3 種類の  $Zr_xCu_{90-x}Al_{10}$  ( $x=50$ (共晶)、55、60(亜共晶))バルク金属ガラス ( $\phi 8 \times 50$  mm) を作製し、X 線回折(XRD)、密度測定、陽電子消滅寿命測定、同時計数ドップラー拡がり(CDB)測定及び EXAFS 測定を行った。EXAFS 測定は高エネルギー加速器研究機構(KEK)BL-27 において Zr の K 吸収端を利用して行った。

**【結果】** 3 種類の  $Zr_xCu_{90-x}Al_{10}$  ( $x=50$ (共晶)、55、60(亜共晶))バルク金属ガラスにおける自由体積周囲の電子密度分布を示す CDB 比率曲線は図のように組成に依存し、いずれの組成においても Zr の比率が合金組成よりも多い事が分かった。しかし、自由体積サイズに依存した値を示す陽電子寿命値はいずれの組成でも殆ど違いは見られなかった。これらの結果より、自由体積の空隙サイズは組成に依存せず、その周囲の元素分布の違いのみが合金組成依存性として反映される事が分かった。さらに、Zr K 吸収端における EXAFS 測定により得られた Zr 原子周囲の局所構造を示すスペクトルにも明確な合金組成依存性が見られたが、Cu K 吸収端からの測定には顕著な依存性は見出されなかった。これは殆どの Zr が自由体積周辺に存在する事を示唆している。これらの事から、Zr-Cu-Al バルク金属ガラスの自由体積サイズは組成によらずほぼ一定であるが、周囲に存在する元素比率は合金組成を示し且つ、Zr が偏って存在している事は合金組成によらず共通している事などが分かった。

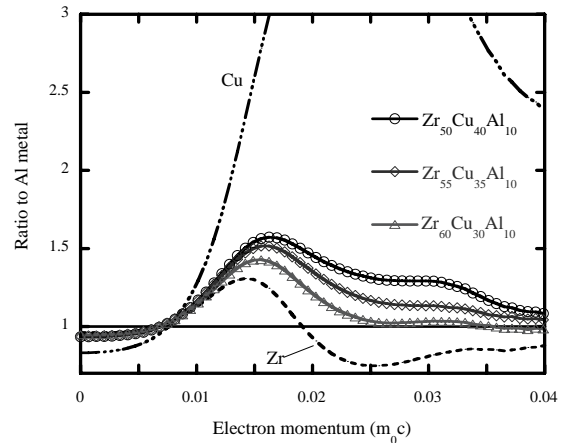


図.  $Zr_xCu_{90-x}Al_{10}$  ( $x=50, 55, 60$ )バルク金属ガラスの Al に対する CDB 比率曲線

### 本研究に関する研究発表

学会発表  
国内学会

- 1) 日本金属学会 2009 年秋期大会、(京都大学吉田キャンパス 9 月 15 日-17 日) 石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説、「Zr50Cu40Al10 金属ガラスの熱的緩和挙動の焼鈍温度依存性」
- 2) 格子欠陥制御工学研究会(女川 2009 年 11 月 20-22 日) 石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説「バルク金属ガラス中の自由体積と局所構造の熱的挙動」
- 3) 京都大学原子炉実験所専門研究会「陽電子科学とその理工学への応用」(京都大学原子炉実験所、2009 年 11 月 20-21 日) 石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説「等温焼鈍による ZrCuAl バルク金属ガラスの局所構造変化」 [Positron annihilation study of ZrCuAl bulk metallic glass during isothermal annealing]
- 4) 日本物理学会 2010 年春季大会、(岡山大学 3 月 20-23 日) 石井顕人、峯野慎也、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説「Zr 基 3 元系バルク非晶質金属中の自由体積構造の組成依存性」
- 5) 日本金属学会 2010 年春期大会、(筑波大学 3 月 27-30 日) 石井顕人、峯野慎也、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説「Zr-Cu-Al バルク金属ガラス中の自由体積の組成依存性」

#### 国際会議

1. “Effect of annealing on the local structure in ZrCuAl bulk metallic glass”, A. Ishii, A. Iwase, Y. Yokoyama, T.J. Konno and F. Hori 16th International Symposium on Metastable, Amorphous and Nanostructured Materials (ISMANAM 2009) July 5-9, 2009 Beijing, China
2. “Free volume in Zr-based bulk glassy alloys studied by positron annihilation techniques” A Ishii, A Iwase, Y Yokoyama, T J Konno, Y Kawasuso, A Yabu-uchi, M Maekawa, and F Hori, Advanced Science Research Symposium 2009(ASR2009) [Positron, Muon and other exotic particle beams for materials and atomic/molecular sciences], November 10-12, 2009, Tokai, Japan
3. “Behavior of free volume in bulk ZrCuAl metallic glass after irradiation” Yuka Fukumoto, Akito Ishii, Akihiro Iwase, Yoshihiko Yokoyama, Fuminobu Hori Advanced Science Research Symposium 2009(ASR2009) [Positron, Muon and other exotic particle beams for materials and atomic/molecular sciences], November 10-12, 2009, Tokai, Japan

#### 発表論文

1. Effect of thermal annealing on the local structure in ZrCuAl bulk metallic glass, A Ishii, A Iwase, Yuka Fukumoto, Y Yokoyama, T J Konno and F Hori, Journal of Alloys and Compounds (Article in Press)
2. Free volume in Zr-based bulk glassy alloys studied by positron annihilation techniques, A Ishii, A Iwase, Y Yokoyama, T J Konno, Y Kawasuso, A Yabu-uchi, M Maekawa, and F Hori Journal of Physics: Conference Series, (to be published)

# Thermal vacancy formation in Co-based Heusler-type alloys $\text{Co}_2\text{MnZ}$ ( $Z = \text{Si, Ge, Sn}$ )

\*F. Hori, S. Kikuchi<sup>a</sup>, T. Fujiwara<sup>a</sup>, M. Kogachi<sup>a</sup>

(\*corresponding author: 072-254-9812(5658), e-mail; horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

Department of Materials Science, Osaka Pref. University

<sup>a</sup> Department of Physical Science, Osaka Pref. University

## 1. Introduction

Co-based Heusler-type ferromagnetic alloys  $\text{Co}_2\text{YZ}$  (e.g.,  $Y = \text{Cr}$  and  $\text{Mn}$  and  $Z = \text{Si, Ge, Sn}$  and  $\text{Al}$ ) are prospective candidates for application in the spin electronics devices because these are theoretically predicted to be half-metal ferromagnets with 100% spin polarization due to a gap at the Fermi level in the minority-spin band. Despite the theoretical prediction, it is difficult to demonstrate the half-metallicity for these compounds. Some factors such as atomic disorder, nonstoichiometry and oxidation in the bulk and interface are thought to lead to degradation of the halfmetallicity. The Heusler (L21)-type structure with a chemical formula of  $\text{X}_2\text{YZ}$  consists of four fcc sublattices (symmetry group  $\text{Fm}\bar{3}\text{m}$ ), it can be also regarded as the structure consisting of eight bcc unit cells in which eight cube corner positions, X-sites, are occupied by X atoms, while eight body centered positions are occupied alternately by Y atoms (Y-site) and Z atoms (Z-site). Atomic disorder occurs by deviating the composition from the stoichiometry or by elevating temperature from 0 K. Effect of this atomic disorder on the magnetic properties as well as the half-metallicity in the Co-based Heusler alloys  $\text{Co}_2\text{YZ}$  ( $X = \text{Co}$ ) was recently examined from theoretical viewpoint

## 2. Experimental

$\text{Co}_2\text{MnZ}$  ( $Z = \text{Si, Ge}$  and  $\text{Sn}$ ) alloys were prepared by arc melting Co and Mn (purity of 99.99%) and Si, Ge and Sn (99.999%). Weight losses were less than 0.5%. Each ingot was homogenized at 1273K for 50 h in a sealed silica tube filled with argon. The plate samples with a size of about 10mmx5mmx1mm and 5mmx5mmx1mm were prepared for density and positron annihilation measurements. As reference samples, plate samples of pure Co, Mn, Si, Ge and Sn were also prepared for the positron annihilation measurement. They were annealed at 1173K for 2 h in silica tubes filled with argon, followed by cooling to room temperature at a rate of 2 K/min. Individual samples were again annealed at various temperatures from 773K to 1273K and then water-quenched (in quenching from temperatures above 973K, the silica tubes were immediately crushed in water). Quenching temperature  $TQ$  and holding time are, 773K (25–50 d), 873K (14–21 d), 973K (5–7 d), 1073K (24 h), 1173K (5 h) and 1273K (1 h). The plate samples (about 1mm $\times$ 1mm $\times$ 15mm) for the electrical resistivity measurement were prepared for  $\text{Co}_2\text{MnGe}$  and  $\text{Co}_2\text{MnSn}$ . It was performed by a standard DC four-terminal method in a similar way as in. The positron lifetime and coincidence Doppler broadening measurements were performed for identify the kind of vacancies and their surrounding elemental configuration.

## 3. Results

- (1) The vacancy concentration determined from the density and lattice constant measurements increased with increase in quenching temperature up to 1073K or 1273 K. Particularly in  $\text{Co}_2\text{MnGe}$  and  $\text{Co}_2\text{MnSn}$ , a high vacancy concentration exceeding 2% was observed at high quenching temperatures. Further, a distinct linear relation was found between the vacancy concentration and the lattice constant.
- (2) Change in the electrical resistivity due to ageing at various temperatures of 773–873K showed a relaxation behavior in  $\text{Co}_2\text{MnGe}$  and  $\text{Co}_2\text{MnSn}$ . This is due to annealing-out of the excess vacancies retained during furnace-cooling from 1173 K.
- (3) The vacancy formation and migration energies were evaluated from the above measurements. These values are comparable with those for B2-type FeAl and CoGa alloys generating a high concentration of thermal vacancies.
- (4) The vacancy type and the vacancy site were examined for the quenched alloys from 773K by the positron lifetime and coincidence Doppler broadening measurements. As a result, it was suggested that the mono-vacancies are randomly distributed over the lattice sites.

## Publications

1. "Thermal vacancy formation in Co-based Heusler-type alloys  $\text{Co}_2\text{MnZ}$  ( $Z = \text{Si, Ge, Sn}$ )", M.Kogachi, S.Kikuchi, T.Fujiwara, F.Hori, Journal of Alloys and Compounds 480 (2009) 462–468

## Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> バルク金属ガラスにおける自由体積緩和過程

大阪府大院工学研究科 峯野慎也、石井顕人、岩瀬彰宏、堀史説\*

東北大金研 横山嘉彦、今野豊彦

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）072-254-9812(5658)、E-mail; horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

**【研究背景】** 亜共晶系である Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> バルク金属ガラスは構造緩和において共晶系である Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> バルク金属ガラスと異なり、脆化しにくいという報告がある。しかし組成に依存した脆化機構の違いの要因と考えられている内部構造の詳細な評価はされていない。そこで、局所構造を有し、金属ガラスの種々の特性との関連があると考えられている自由体積の構造緩和過程での変化を陽電子消滅法により測定し、構造緩和過程における Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> バルク金属ガラスの局所構造変化について考察した。

**【研究内容】** 傾角鋳造法で作製したロッド状の Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> バルク金属ガラス(直径約 0.8 mm, 長さ約 5 cm)を厚さ約 0.4mm に切り出し、真空中にてガラス転移点 ( $T_g=656$  K) 以下の 600 K で 100~18000 s の等温焼鈍を行ない、各温度について X 線回折(XRD)、陽電子寿命測定、同時計数ドップラー拡がり(CDB)測定を行なった。これらの結果を共晶系の同様の実験結果と比較してみた。

**【結果】** 未焼鈍の Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> と Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> を比べると陽電子寿命値はほぼ同じであった。このことから自由体積のサイズは同じであると考えられる。しかし、密度は Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> が 6.640g/cm<sup>3</sup>、Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> が 6.825g/cm<sup>3</sup> であり、密度を考慮すると Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> の方が空隙は多いはずである。これらの結果から、

Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> と Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> の自由体積サイズ分布は同じで、その密度が亜共晶系の方が高いのではないかと考えられる。

図に Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> の構造緩和における陽電子寿命値変化を示す。18000 s までの構造緩和過程においては Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> の自由体積緩和量は Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> に比べ小さかった。Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> は陽電子寿命変化と密度変化に良い相関があるが、Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> では相関は見られなかった。この結果より組成の違いにより自由体積緩和の過程にも違いが生じると考えられ、このことが機械的特性の違いに影響している可能性が考えられる。

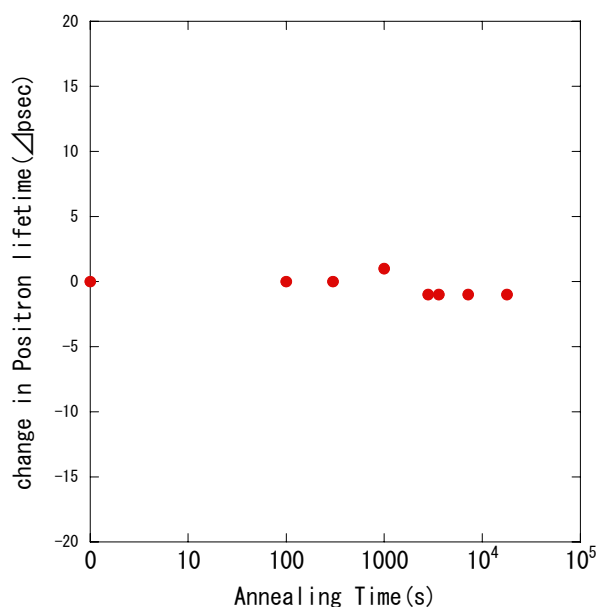


図 Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> の構造緩和における陽電子寿命値変化

# Behavior of free volume in ZrCuAl bulk metallic glass after irradiation

Yuka Fukumoto, Akito Ishii, Akihiro Iwase, Takeshi Oshima<sup>a</sup>, Norito Ishikawa<sup>a</sup>,  
Yoshihiko Yokoyama<sup>b</sup>, Fuminobu Hori\*

(\*corresponding author: 072-254-9812(5658)、 e-mail; horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

Department of Materials Science & Engineering, Osaka Pref. University

<sup>a</sup>Japanese Atomic Energy Research Agency

<sup>b</sup>Institute for Materials Research, Tohoku University

## 1. Introduction

The bulk metallic glasses (BMGs) are expected to be useful for various applications due to their superior mechanical properties, hardness, strength, corrosion resistance and micro-formability. We suggest that the properties of BMGs are further improved by irradiation. So far, thin film of metallic glass with electron and ion irradiation has been extensively studied. Thin film metallic glasses are crystallized due to both electron and ion irradiation. However, we suspect that the BMGs to irradiations are different from that observed in thin film metallic glasses because of influence of thickness. In this study, we investigated the effects of electron and ion irradiation on the free volumes and mechanical properties of ZrCuAl BMGs.

## 2. Experimental

Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> bulk metallic glass samples were fabricated by the tilt casting method in an arc furnace and cut into the size of  $\phi$  8 mm x 60 mm disc. These were irradiated by 200 MeV Xe ions with a total dose of about  $1.0 \times 10^{14}$  ions/cm<sup>2</sup> or 2 MeV electrons with a dose of about  $1.4 \times 10^{18}$  e<sup>-</sup>/cm<sup>2</sup> at room temperature. Positron annihilation lifetime and coincidence Doppler broadening (CDB) measurements were carried out using a <sup>22</sup>NaCl source deposited on thin Kapton foils with an activity of 172 kBq at room temperature. All the positron lifetime spectra were analyzed by RESOLUTION program. To confirm crystallinities of the samples due to irradiation, X-ray diffraction (XRD) measurements were performed using Rigaku Ultima IV. Furthermore, micro-Vickers hardness test was performed for before and after irradiated samples by using a Shimadzu HMV-2 with applied load of 200 and 1000 g imposed for 10 s.

## 3. Results

In this study, the structural changes of Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> BMG after electron and swift heavy ion irradiation were studied by employing the positron annihilation spectroscopy, the XRD and the hardness measurements. No crystallization after electron and Xe ion irradiation was observed, while the different structural changes were induced by electron and Xe ion irradiation. That is, free volume size in BMG increases after electron irradiation and decreases after Xe ion irradiation without compositional changes. These features are compatible to the changes of hardness upon irradiation. Our results suggest that swift heavy ion irradiation results in more important structural modifications to the “bulk” metallic glass as compared to the electron irradiation.

The absence of crystallization upon irradiation is contradictory to the previous reports concerning the crystallization of thin film metallic glasses by irradiation. We suppose that the radiation effect for metallic glass strongly depends on the thickness and also incident ion energy. For instance, crystallization of Zr<sub>55</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub>Ni<sub>5</sub> BMG by 10 keV Ar ion irradiation with total dose of  $2.7 \times 10^{17}$  ions has been reported. The further studies are still needed to elucidate the influence of sample thickness and irradiation condition on the modification of metallic glasses.

## Research activities

### Presentations

1. “Behavior of free volume in bulk ZrCuAl metallic glass after irradiation”, Yuka Fukumoto, Akito Ishii, Akihiro Iwase, Yoshihiko Yokoyama, Fuminobu Hori, Advanced Science Research Symposium 2009(ASR2009) [Positron, Muon and other exotic particle beams for materials and atomic/molecular sciences], 2009, Tokai, Japan
2. 京都大学原子炉実験所専門研究会『陽電子科学とその理工学への応用』（2009年3月、大阪）  
粒子線照射した ZrCuAl バルク金属ガラスの陽電子消滅測定  
堀史説、福本由佳、石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦

- 3.日本材料学会 第9回金属ガラス部門委員会 (2009年7月、大阪)  
陽電子消滅測定法を用いたZr基金属ガラスの構造緩和の研究  
堀史説
- 4.日本金属学会 2009年秋季大会 (2009年9月、京都)  
粒子線照射によるバルク ZrCuAl 金属ガラスの照射効果  
福本由佳、石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、堀史説
- 5.材料物性工学談話会 平成21年度第4回研究会 (2009年12月18日、大阪)  
粒子線照射によるバルク金属ガラスの自由体積と機械的特性の変化  
福本由佳、石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、堀史説
- 6.日本物理学会年次大会 (2010年3月、岡山)  
ZrCuAl バルク金属ガラスに対する粒子線照射効果」  
堀史説、福本由佳、石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦

### **Publications**

1. “Behavior of free volume in bulk ZrCuAl metallic glass after irradiation”, Yuka Fukumoto, Akito Ishii, Akihiro Iwase, Yoshihiko Yokoyama, Fuminobu Hori, Journal of Physics Conf. series (to be published)



# IP の長時間露光法の検討

大阪府立大産学官連携機構 谷口良一\*、小嶋崇夫、奥田修一

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4293、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

## [はじめに]

IP（イメージングプレート）は、高感度で広いダイナミックレンジをもつデジタルイメージング法であり、様々な分野でフィルムの代替手段として利用されつつある。我々のグループも微弱中性子画像の撮像手段として以前から検討を行ってきた。

微弱な放射線画像の測定を対象とした場合、しばしば長時間露光が必要となる。IP には、特別な画像蓄積装置なしでも手軽に長時間露光が可能であるという実用的な長所があるが、現実には、高感度写真フィルムに見られる「相反則不軌」に相当するような現象などがあり、ある程度以上の長さの長時間露光は有効ではなかった。

## [実験]

微弱な放射線場で IP（イメージングプレート）を長時間露光して使用する場合、放射線照射によって IP 中に生成された情報が時間の経過とともに、ある割合で消失して行く、フェーディング（潜像退行）という現象が問題となる。また、長時間、環境中に放置すれば、自然界に存在する環境放射線によって、IP が感光するという現象も起こる。フェーディングは強い温度依存性を持つことが知られている。そこで以下のような実験を行った。

(1) IP を図 4 の装置で一定時間（30 分）照射する。

(2) 一定時間、IP を保存し、その後、読み出す。

その際、IP を常温（約 20℃）で保存したものと、低温

（1℃）で保存したものを用意し比較した。図 1 に結果を示す。図の横軸は保存時間、縦軸は画像の中央部分の輝度を示している。輝度は規格化している。図中の白丸は IP を低温保存したものであり、三角は常温保存したものの輝度を示している。図のように、2 日程度の保存によって、常温で 4 割、低温でも 2 割程度、輝度は低下していることが分かる。

同時に、微弱な放射線場で IP（イメージングプレート）を長時間露光して使用する場合、IP の温度を低温にする

ことが極めて有効であることが明らかとなった。ただし、本稿で最初に指摘した自然放射線によるカブリの増加という現象に関しては、今のところ明確な結論は得られていない。さらに長時間の照射の結果を待ちたい。

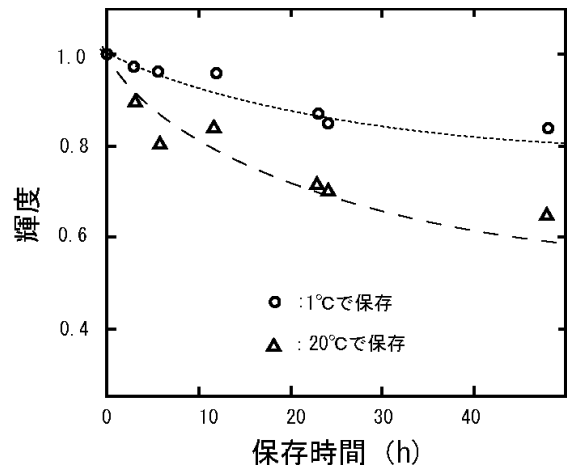


図 1 IP のフェーディング特性と温度との関係

## [本研究に関する研究発表]

1) 「IP の長時間露光特性の検討」、谷口良一、佐々木遼也、小嶋崇夫、奥田修一、非破壊検査協会第 7 回放射線による非破壊評価シンポジウム講演論文集（2010 年 3 月 4-5 日、東京）pp23-28

## アスコルビン酸グルコシドによる DNA の高次構造変化と放射線感受性への影響

大阪府立大産学官連携機構 森利明\*

京大院・理・物理 鈴木麻里<sup>1</sup>、吉川研一

立命館大・総合理工 吉川祐子、今中忠行

名大院・環境 陳寧、Anatoly Zinchenko、村田静昭

名大院・医 神戸俊夫

<sup>1</sup>JST・ICORP 時空間秩序プロジェクト

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4221、メール：morit@riast.osakafu-u.ac.jp)

【目的】我々の研究グループはこれまでに 100kbp を超える長鎖 DNA の高次構造について蛍光顕微鏡を用いて研究してきた。今回は、アスコルビン酸(AsA)の誘導体であるアスコルビン酸グルコシド(AA-2G)に注目し、AA-2G を作用させたときの DNA の高次構造変化と、ガンマ線による二重鎖切断に対する保護作用との関係を定量的に解析した。AsA は抗酸化作用を有するビタミン C であり、食品の酸化防止剤として広く使用されている。一方、AA-2G は AsA に比べて安定性が高く、食品や医薬品および化粧品等への利用が期待されている。

【方法】長鎖 DNA (166 キロ塩基対、全長 57 ミクロンの T4 フェージ DNA) を用いて、AA-2G を含む DNA 溶液にコバルト 60 によるガンマ線照射を行った。照射後、蛍光顕微鏡を用いた単一分子観察により、個々の DNA 分子の全長を測定し、DNA の高次構造変化とガンマ線による DNA 損傷との関連性を調べた。

【結果と考察】蛍光顕微鏡を用いた単一分子観察により、AA-2G が、長鎖 DNA に対して ON/OFF 型の特異的な高次構造変化を引き起こすことが明らかとなった。さらに AA-2G によって凝縮した DNA 分子では、放射線による二重鎖切断が著しく抑制されていることが示された。

### 参考文献

- 1) 吉川祐子「DNA 二重鎖切断反応の可視化：ビタミン C による抑制効果の定量的計測」ビタミン、81,297 (2007).
- 2) Y. Yoshikawa, T. Mori, N. Magome, K. Hibino, K. Yoshikawa, Chem. Phys. Lett., 456, 80 (2008).
- 3) M. Suzuki, C. Crozatier, K. Yoshikawa, T. Mori, Y. Yoshikawa, Chem. Phys. Lett, 480, 113 (2009).

### 本研究に関する研究発表

- 1) 日本ビタミン学会第 62 回大会、2010 年 6 月 11~12 日 盛岡市
- 2) T. Mori and Y. Yoshikawa, 11<sup>th</sup> International Workshop on Radiation Damage to DNA, May 15-19, 2010, Atlanta, Georgia, USA

## CYP1A1、1B1 の誘導的発現とベンゾ[a]ピレン付加体形成

阪府大産学官 椎崎一宏\*、川西優喜、八木孝司

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9830 (内) 4224 shiizaki@riast.osakafu-u.ac.jp)

タバコ煙等に含まれる発がん物質、ベンゾ[a]ピレン (BaP) は体内に取り込まれた後に代謝活性化を受けてゲノム DNA と付加体を形成し変異を引き起こす。BaP はアリール炭化水素受容体 (AhR) を介して、自らの代謝酵素である CYP1A1 および CYP1B1 を誘導することが知られている。BaP の代謝活性化を引き起こすこれらの薬物代謝酵素は、これまで BaP の変異原性の増悪因子と考えられてきた。ところが、ヒト肝ガン由来細胞 HepG2 に CYP1A1 を強力に誘導するダイオキシン (TCDD) を前処理すると BaP 曝露後の付加体形成が減少することを我々は見出した。この TCDD による保護効果は BaP の代謝活性体である BPDE 曝露時において、より顕著であった。BaP 付加体形成に対する CYP1A1 の役割を明確化するため、マウス Hepa-1c1c 細胞およびその CYP1A1 欠損株、c37 細胞を用いて BPDE 曝露後の付加体形成ならびに TCDD による抑制作用を検討した。結果として Hepa-1c1c 細胞では HepG2 細胞同様に TCDD による付加体形成の抑制効果が認められたが、c37 株では抑制作用は全く認められなかった。また、Tet-on システムを用いて、TCDD 非依存的に CYP1A1 を誘導したところ、BPDE 曝露後の付加体形成は顕著に減少した。これらの結果から TCDD による付加体形成抑制は CYP1A1 の誘導的発現に起因し、CYP1A1 が BaP を BPDE に代謝活性化するだけでなく、BPDE を安定代謝物に変換していることが原因であると考えられた。

一方、AhR を介して誘導される薬物代謝酵素は CYP1A1 以外にも 1A2、1B1 が知られている。特に肝臓以外の多くの組織・細胞で発現している CYP1B1 は CYP1A1 同様に BaP を代謝活性化するが、本研究で用いてきた HepG2 や Hepa-1c1c では CYP1B1 を発現していない。我々は次に CYP1B1 の AhR を介した誘導的な発現と BaP 付加体形成について検討を行った。まず CYP1A1 および CYP1B1 の発現量が異なる細胞を同定するため、肺胞上皮細胞株 A549、ヒト乳がん細胞 MCF-7 における CYP1A1、1B1 の構成的発現ならびに TCDD 処理による誘導的発現を検討した。MCF-7 細胞では CYP1A1 および 1B1 の誘導が、A549 では CYP1B1 のみが誘導された。これらの細胞で TCDD 処理による BaP 付加体形成への影響を検討したところ、どちらの細胞でも TCDD 前処理は BaP 付加体形成に対して増強的に働いた。一方、BPDE の曝露では MCF-7 では HepG2 と同様に TCDD による保護作用が見られたが、A549 に対しては変化がなかった。

これらの結果から、CYP1B1 は CYP1A1 と異なり BPDE を不活性化できず、その誘導的発現は BaP 付加体形成を増悪させる可能性が示唆された。BaP の毒性発現には、各組織でのこれらの酵素の発現量ならびに発現比が重要だと考えられる。

### 本研究に関する研究発表

1) 2009 年 11 月 日本環境変異原学会第 38 回大会「ベンゾ[a]ピレンの DNA 付加体形成に対する TCDD 曝露の影響」

## CYP1A1、1B1 の誘導的発現とベンゾ[a]ピレン付加体形成

阪府大産学官 椎崎一宏\*、川西優喜、八木孝司

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9830 (内) 4224 shiizaki@riast.osakafu-u.ac.jp)

タバコ煙等に含まれる発がん物質、ベンゾ[a]ピレン (BaP) は体内に取り込まれた後に代謝活性化を受けてゲノム DNA と付加体を形成し変異を引き起こす。BaP はアリール炭化水素受容体 (AhR) を介して、自らの代謝酵素である CYP1A1 および CYP1B1 を誘導することが知られている。BaP の代謝活性化を引き起こすこれらの薬物代謝酵素は、これまで BaP の変異原性の増悪因子と考えられてきた。ところが、ヒト肝ガン由来細胞 HepG2 に CYP1A1 を強力に誘導するダイオキシン (TCDD) を前処理すると BaP 曝露後の付加体形成が減少することを我々は見出した。この TCDD による保護効果は BaP の代謝活性体である BPDE 曝露時において、より顕著であった。BaP 付加体形成に対する CYP1A1 の役割を明確化するため、マウス Hepa-1c1c 細胞およびその CYP1A1 欠損株、c37 細胞を用いて BPDE 曝露後の付加体形成ならびに TCDD による抑制作用を検討した。結果として Hepa-1c1c 細胞では HepG2 細胞同様に TCDD による付加体形成の抑制効果が認められたが、c37 株では抑制作用は全く認められなかった。また、Tet-on システムを用いて、TCDD 非依存的に CYP1A1 を誘導したところ、BPDE 曝露後の付加体形成は顕著に減少した。これらの結果から TCDD による付加体形成抑制は CYP1A1 の誘導的発現に起因し、CYP1A1 が BaP を BPDE に代謝活性化するだけでなく、BPDE を安定代謝物に変換していることが原因であると考えられた。

一方、AhR を介して誘導される薬物代謝酵素は CYP1A1 以外にも 1A2、1B1 が知られている。特に肝臓以外の多くの組織・細胞で発現している CYP1B1 は CYP1A1 同様に BaP を代謝活性化するが、本研究で用いてきた HepG2 や Hepa-1c1c では CYP1B1 を発現していない。我々は次に CYP1B1 の AhR を介した誘導的な発現と BaP 付加体形成について検討を行った。まず CYP1A1 および CYP1B1 の発現量が異なる細胞を同定するため、肺胞上皮細胞株 A549、ヒト乳がん細胞 MCF-7 における CYP1A1、1B1 の構成的発現ならびに TCDD 処理による誘導的発現を検討した。MCF-7 細胞では CYP1A1 および 1B1 の誘導が、A549 では CYP1B1 のみが誘導された。これらの細胞で TCDD 処理による BaP 付加体形成への影響を検討したところ、どちらの細胞でも TCDD 前処理は BaP 付加体形成に対して増強的に働いた。一方、BPDE の曝露では MCF-7 では HepG2 と同様に TCDD による保護作用が見られたが、A549 に対しては変化がなかった。

これらの結果から、CYP1B1 は CYP1A1 と異なり BPDE を不活性化できず、その誘導的発現は BaP 付加体形成を増悪させる可能性が示唆された。BaP の毒性発現には、各組織でのこれらの酵素の発現量ならびに発現比が重要だと考えられる。

### 本研究に関する研究発表

1) 2009 年 11 月 日本環境変異原学会第 38 回大会「ベンゾ[a]ピレンの DNA 付加体形成に対する TCDD 曝露の影響」

## 部位特異的 3-Nitrobenzanthrone 付加体を持つプラスミドの作製と ヒト由来の細胞での TLS/変異アッセイ

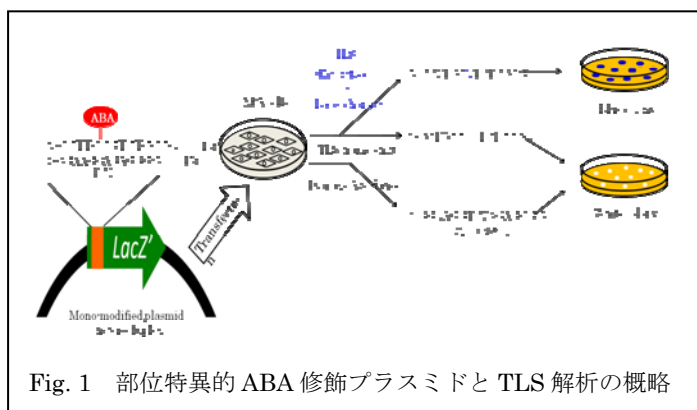
府大産学官 藤川芳宏、川西優喜\*、八木孝司  
神奈川工大 高村岳樹

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9830 (内) 4224、kawanisi@riast.osakafu-u.ac.jp)

【緒言】3-Nitrobenzanthrone(3-NBA)は大気浮遊物質粒子状物質およびディーゼル排気中に存在する大気汚染物質である。NBA は微生物を用いた変異原性試験の Ames 試験において非常に強い変異原性を示す。NBA は、いくつかの種類の Aminobenzanthrone-DNA 付加体(ABA 付加体)を形成する(1)。DNA 付加体は通常 DNA 修復機構によって取り除かれる。しかし、修復前に複製フォークが損傷個所にさしかかると DNA 合成は阻害される。近年、DNA 損傷を乗り越えて起こる DNA 合成(Translesion DNA synthesis:TLS)機構が発見された(2)。TLS は突然変異誘発や発がんにおいて重要な役割を果たしている。

本研究の目的は、様々な構造の ABA 付加体を部位特異的にもつプラスミドを作製することと、これをヒト細胞株内で TLS させ、損傷個所で誘発される突然変異の特徴を明らかにすることである。

【実験】部位特異的 ABA 修飾プラスミドと TLS 解析の概略を Fig. 1 に示す。付加体修飾鎖を鋳型に複製した娘プラスミド



だけが機能する LacZ' を発現する。従って、大腸菌コロニーは X-gal/IPTG プレート上で青色を呈する。青・白コロニーの比率と、娘プラスミドの塩基配列解析から、TLS の起こりやすさと突然変異の種類を明らかにする。

【結果と考察】陰性対照として付加体のないプラスミドを作製した。これを、ヒト細胞株内で複製させ、娘プラスミドを抽出、大腸菌に導入した。青色と白色のコロニー比はほぼ 1 : 2 であった。また、4 種類の ABA 付加体を部位特異的にもつプラスミドをそれぞれ作製中である。これらをヒト細胞株内で複製させ、付加体の化学構造の違いが TLS・突然誘発にどのような影響を与えるか調べる予定である。

### 引用文献

1. Volker M. Arlt *et al.* (2005) *Cancer Res.*, 65, 2644-2652
2. Lauren S. Waters *et al.* (2009) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 73, 134-154

## 塩酸セレギリンならびに関連物質の MAO 阻害活性

エフピー株式会社 ト部和則、国村直、西村哲也、石橋恵利子

大阪府立大学産学官連携機構 川西優喜、八木孝司\*

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）072-254-9862(4210)、メール yagi-t@riast.osakafu-u.ac.jp)

パーキンソン病 (PD)では、振戦、筋固縮、無動、姿勢反射障害といった特徴的な運動症状を呈し、病理学的に黒質線条体ドパミン神経系の進行性の変性が認められる。現在、PDでの薬物治療は、黒質線条体ドパミン神経系でのドパミンの不足を補う対症療法が主であり、ドパミンの前駆体 L-DOPA（ドーパ脱炭酸酵素阻害薬含有）やドパミン受容体アゴニスト等が用いられている。さらに、ドパミンの代謝に関わる B 型モノアミン酸化酵素 (MAO-B) の阻害薬である塩酸セレギリンは、内因性および L-DOPA 製剤由来のドパミンの代謝を抑制することにより症状の改善を示す。最近、MAO-B は、加齢のみでなく PD においてその活性が亢進することや、MAO-B 高発現マウスにおいて PD 様の病理学および行動学的所見が認められたことなどから、PD の病因への関与の可能性が示唆されている [1]。

一方、非選択的 MAO 阻害は末梢でのチラミンの代謝を抑制し、チラミンによる神経終末部からのノルアドレナリンの放出を促進するため高血圧を引き起こす。したがって、本研究では、脳および末梢組織（肝臓、回腸）より得たミトコンドリア画分を用いて塩酸セレギリンならびに関連物質処置時の MAO 阻害活性を測定し、MAO-B/MAO-A の選択性を比較することで薬効および安全性の評価を行うことを目的としている。

MAO 活性の測定は、ラット脳、肝臓、回腸より得たミトコンドリア画分を、MAO-A 基質 [<sup>14</sup>C] Serotonin および MAO-B 基質 [<sup>14</sup>C] Phenylethylamine と反応させる。クエン酸添加により反応を停止させた後、それぞれ酢酸エチル、オクタンで代謝物を抽出し、液体シンチレーションカウンターで測定する。現在、条件検討により決定した反応条件を用い、既知の MAO-A および MAO-B 阻害薬の *in vitro* および *ex vivo* での阻害活性を測定している。

### 参考文献

- [1] Mallajosyula JK et al. (2008) MAO-B elevation in mouse brain astrocytes results in Parkinson's pathology. PLoS One;3(2):e1616.

## <sup>32</sup>P ポストラベル法による 3-ニトロベンズアントロン DNA 付加体の解析

阪府大産学官 川西優喜\*、萩尾宗一郎、八木孝司

神奈川工大 高村岳樹

(\*本研究に関する連絡先: 電話(内線)072-254-9830(4224)、メール kawanisi@riast.osakafu-u.ac.jp)

3-ニトロベンズアントロン(3-NBA)は、ディーゼル排ガス由来の変異原性大気汚染物質である。3-NBA は細胞内に DNA 付加体を形成する。本研究では、<sup>32</sup>P ポストラベル-ポリアクリルアミド電気泳動法を用いて、3-NBA に曝露したヒト培養細胞中に生じる DNA 付加体を調べた。その結果、最も多く生成した付加体は dA3'p-N<sup>6</sup>-C2-ABA であり、次いで dG3'p-N<sup>2</sup>-C2-ABA の生成量が多かった。これらの DNA 付加体は、3-NBA の処理濃度に依存して増加する傾向にあり、処理時間 6 時間までは時間に依存した DNA 付加体量の増加が見られた。

次に各 DNA 付加体の修復効率を調べた。細胞を 3-NBA に曝露後、一定時間培養し DNA 修復を行わせた後 DNA を回収し、各付加体の減少量を測定した。その結果、dA3'p-N<sup>6</sup>-C2-ABA、dG3'p-N<sup>2</sup>-C2-ABA の減少を認めた。また dA3'p-N<sup>6</sup>-C2-ABA は dG3'p-N<sup>2</sup>-C2-ABA と比べて減少量が多く、修復されやすい付加体と考えられた。この傾向は、これまでに当研究室で行われた *supF* シャトルベクター系を用いた実験<sup>1)</sup>とも一致した。dA3'p-N<sup>6</sup>-C2-ABA は、生成量が多いが、修復されやすい付加体でもあると示唆された。

### 参考文献

- 1) H. Nishida, M. Kawanishi, T. Takamura, T. Yagi, (2008) Mutagenic specificity of N-acetoxy-3-aminobenzanthrone, a major metabolically activated form of 3-nitrobenzanthrone, in shuttle vector plasmids propagated in human cells, *Mutation Research*, 654(1):82-87

### 本研究に関する研究発表 (原著論文、その他報文、学会等報告)

- a) Formation, DNA Repair, and TLS of 3-Nitrobenzanthrone-derived DNA Adducts, M Kawanishi, H Nishida, H Ishii, T Kanno, T Takamura, T Matsuda, T Yagi, 10th International Conference on Environmental Mutagens, Firenze, Italy, 2009 年 8 月
- b) Efficiencies of formation and repair of 3-NBA-induced DNA-adducts, Soichiro Hagio, Masanobu Kawanishi, Takeji Takamura, Tomonari Matsuda, Takashi Yagi, 日本環境変異原学会第 38 回大会, 静岡, 2009 年 11 月

## マウス出血性水頭症原因遺伝子 *hhy* の解析

阪府大院理学系生物科学 森展子\*

阪府大院生命環境獣医病理学 平野隆爾、桑村充

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9837 (内線) 3593、メール morin@b.s.osakafu-u.ac.jp)

hemorrhagic hydrocephalus (*hhy*) 突然変異は、本学動物実験施設において遺伝子医学研究室が維持している、BALB/c マウスのバックグラウンドに生じた自然突然変異で、常染色体劣性遺伝性である。*hhy* ホモ接合体は、生後まもなく、ほぼ 100% の浸透率で水頭症を発症する。多くの症例で脳内に出血が認められるため、出血性水頭症と命名した。また、*hhy* ホモ接合体の大脳皮質下には必ず、異所性灰白質が見られ、この突然変異の水頭症の病因は、大脳皮質形成と密接に関係すると推測された。この突然変異は 12 番染色体上にあり、水頭症原因遺伝子として新規である(1)。この突然変異を、MSM に戻し交配し、*hhy*/+ヘテロ接合体として維持しながら、詳細マッピングを進め、これまでに、候補領域を 1Mb に絞った。この領域内に含まれる遺伝子の一つが、ゲノムに散在するレトロトランスポゾン様繰り返し配列との組換えによって破壊されていた (GenBank 登録済み)。この遺伝子がコードするたんぱくの細胞生物学的機能は、全くわかっていない。

私達は、HHY タンパクを大腸菌で発現させ、精製たんぱくを抗原として抗 HHY 抗体を作製した。これを用いて、正常マウス脳における HHY たんぱくの局在を調べた。その結果、HHY たんぱくは、胎仔期、新生仔期脳の第 3 脳室および側脳室表面にあり、生後数日のうちに消失した。脳内の他の部位にはなかった。胎仔の脳室面に存在する細胞は、ラジアルグリア細胞である。この細胞は、脳室側に短い突起をのびし、その頂端部で相互に結合し脳室表面を形成している。また、脳表面に向かって、ラジアルファイバーと呼ばれる放射状の長い突起を伸ばし、脳軟膜 (基底膜) に接着している。ラジアルグリア細胞は、不等分裂を繰り返しながらニューロン前駆細胞を産生する幹細胞であり、同時に、新生ニューロンの所定の位置への移動をガイドする皮質構築の支持細胞でもある。ラジアルグリア細胞は、皮質形成期には、幹細胞および支持細胞としてその形態と性質を維持しているが、生後急速に消失し、脳室面を覆う上皮細胞とアストログリアとに姿を変える。*hhy* 変異マウスでは、HHY たんぱくは検出されなかった。現在、HHY たんぱくの欠損とラジアルグリアの異常、水頭症との関係を、さまざまな角度から調べている。

### 本研究に関する研究発表 (原著論文、その他報文、学会等報告)

- 1) Kuwamura, M., Kinoshita, A., Okumoto, M., Yamate, J., Mori, N. Hemorrhagic hydrocephalus (*hhy*): a novel mutation on mouse chromosome 12, *Brain Res. Dev. Brain Res.* **152**, 69-72 (2004)
- 2) 森展子, 外岡武士, 永木恵美, 伊吹将人, 森田健治, 平野隆爾, 名部美琴, 桑村充, 山手丈至「出血性水頭症突然変異マウスの遺伝・病態解析」日本分子生物学会年会 2009 年 12 月 (横浜)



## 放射線誘発染色体不安定性と染色体内再構成との関係

大阪府立大学産学官連携機構 田辺正輝、白石一乗、児玉靖司\*

京都大学原子炉実験所 縄田寿克

鳥取大学大学院医学系研究科 押村光雄

(\*本研究に関する連絡先:電話(内線)4240、kodama@riast.osakafu-u.ac.jp)

### 【緒言】

放射線被ばくした生存細胞の子孫に遅延性染色体異常が誘発されることはよく知られている。そこで我々は、被ばくした1本のヒト染色体を被ばくしていないマウス受容細胞に移入する手法を用いて、被ばく染色体が遅延性染色体異常誘発にどのような役割を果たすのかを解析した。特に本研究では、放射線被ばくによる染色体不安定化に染色体内再構成がどのように関わるのかを明らかにするために、サブテロメア領域の不安定化との関連性について調べた。

### 【材料と方法】

遅延性染色体異常誘発に被ばく染色体が果たす役割を知るために、4Gyの軟X線を照射したヒト8番染色体をマウス不死化線維芽細胞に微小核融合法を用いて移入した。その後、微小核融合細胞における移入ヒト染色体の安定性を、ヒト染色体に特異的な蛍光DNAプローブを用いたFISH法により解析した。さらに染色体不安定化と染色体内再構成との関連性を調べるために、サブテロメアFISH法を用いてサブテロメア領域の不安定性について解析した。

### 【結果と考察】

被ばくしていないヒト8番染色体を移入した微小核融合細胞では、染色体移入後のヒト染色体の構造異常は見られなかった。このことは染色体移入過程で染色体構造が不安定化することはないことを示している。4Gy被ばくヒト8番染色体を移入した19種の微小核融合細胞について移入染色体の安定性を調べたところ、3種類以上の染色体異常が高い(88~98%)割合で生じている細胞が3種(16%)存在した。サブテロメアFISH法によって染色体内再構成を解析した結果、このうち1種で、8番染色体長腕による同腕染色体(i8q)が高頻度でみられた。以上の結果は、放射線による遅延性染色体異常の誘導と染色体内再構成との間には強い関連性が無いことを示唆している。

## マウス神経幹細胞における放射線損傷応答の解析

大阪府立大学産学官連携機構 寺本敬志、白石一乗、児玉靖司\*

大阪府立大学大学院理学系研究科生物科学専攻 原正之

(\*本研究に関する連絡先:電話(内線)4240、メール kodama@riast.osakafu-u.ac.jp)

### 【背景と目的】

難治性腫瘍の代表である神経膠芽細胞腫は放射線抵抗性である。その原因は腫瘍細胞中に存在するがん幹細胞が高い DNA 修復能と DNA 損傷応答能を持つことにあることが示唆されている。脳腫瘍幹細胞と神経幹細胞はともによく似た未分化細胞の特徴を有しているが、正常神経幹細胞の放射線損傷応答能はこれまでに調べられていない。そこで本研究では、マウス神経幹細胞の放射線損傷応答の特徴を明らかにするために、マウス神経幹細胞を CD133 陽性細胞と CD133 陰性細胞に分け、放射線によって誘発される DNA2 重鎖切断の修復動態について、リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) フォーカスを指標にして解析した。

### 【材料と方法】

ICR マウス胎児から線維芽細胞、また、胎児脳から神経幹細胞を含むニューロスフェア (NS) 形成細胞を分離して培養系に移した。神経幹細胞を濃縮するために、フィコエリトリン (PE) コンジュゲート抗 CD133 抗体を結合させ、さらに磁性体粒子結合抗 PE 抗体を用いて CD133 陽性細胞を磁性体化した。この磁性体化細胞を磁気カラムを用いて分取して神経幹細胞を濃縮した。得られた CD133 陽性、及び CD133 陰性 NS 形成細胞に 1 Gy の軟 X 線を照射し、照射直後(0 時間)から 12 時間後まで継時的に細胞をサンプリングした。その後、サイトスピンによってスライドガラス上に細胞を固定し、 $\gamma$ -H2AX フォーカスを可視化して定量した。対照として、マウス線維芽細胞を用いた。

### 【結果と考察】

1 Gy 照射直後の細胞当たりの DNA 2 重鎖切断数を  $\gamma$ -H2AX フォーカス数を指標にして比べたところ、線維芽細胞では細胞当たり平均 31 個なのに対し、NS 形成細胞では平均 23 個であり、有意な差がみられた。しかし、CD133 陽性細胞と陰性細胞との間には差がみられなかった。線維芽細胞と NS 形成細胞の細胞当たりの  $\gamma$ -H2AX フォーカス数の違いは X 線照射 1 時間後までみられ、NS 形成細胞で有意に低下していた。その後、両者の差は次第に小さくなり、12 時間後にはともにフォーカス数が細胞当たり 6 個程度になって差がなくなった。以上の結果は、マウス神経幹細胞と線維芽細胞では DNA 2 重鎖切断修復能に差があることを示唆している。このことはまた、がん幹細胞にみられる高い DNA 修復能が幹細胞の特徴に由来する可能性を示唆する。

## マウス神経幹細胞/前駆細胞のニューロスフェア形成過程の解析

阪府大院理 細胞組織工学研究 G 吉元菜々江、森英樹、原正之\*

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9842 (内線) 3602 メール hara@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【目的】 神経幹細胞/前駆細胞は未分化な状態を維持しながら増殖し続ける自己複製能と、ニューロン・アストロサイト・オリゴデンドロサイトという中枢神経系を構成する細胞への多分化能を併せ持つ、未分化な細胞として定義される。増殖因子を添加した無血清培養下では単一の細胞から分裂を繰り返し、ニューロスフェアという細胞集塊を形成しながら増殖・培養維持することができる<sup>[1]</sup>。しかし、ニューロスフェア形成が細胞の未分化状態の維持に影響することは報告されているものの、詳しいメカニズムについてはよく分かっていない<sup>[2]</sup>。そこで、本研究では神経幹細胞/前駆細胞の培養経過に伴うニューロスフェアの形態的特徴と、神経幹細胞の分化能の変化を解析した。

【方法】 ICR マウス (E14.5) 胎仔脳由来の神経幹細胞/前駆細胞を用い、無血清培地中で増殖させた。トリプシン処理により単一細胞化した後、細胞を再び無血清培地下に播種した。培養 0 日目から 5 日目までの計 6 日間、培養中の細胞を撮影し、それらの画像を基に培養経過に伴うニューロスフェアの大きさ及び数の変化を解析した。また、培養ディッシュから毎日細胞をサンプリングし、poly-L-ornithin (PLO) でコートしたガラス上にて、1%ウシ胎仔血清を含む培地でそれぞれ 7 日間分化誘導した。各条件において分化誘導した細胞を抗 tublin $\beta$ III (Tuj1) 抗体、抗 glial fibrillary acidic protein (GFAP) 抗体を用いて免疫染色した。染色した細胞を蛍光顕微鏡で観察した。

【結果と考察】 培養 2 日目から直径 70 $\mu$ m 以上の比較的大きなニューロスフェアが形成され始めたが、一視野あたりのニューロスフェアの個数を比較してみると、その密度は徐々に減少した。免疫染色した細胞を観察すると、単一細胞が多い 0 日目や 1 日目は GFAP 陽性細胞の伸展はあまり見られなかったが、3 日目以降は良く伸展している箇所が比較的多く観察された。また、Tuj1 陽性細胞も 10%程度観察されたが、形態的な違いが見られた。

以上のことから、ニューロスフェアは他のニューロスフェアや単一細胞と結合してより大きなニューロスフェアとなったため、大きさの分布は培養経過に伴い大きくなるが、密度は減少したと考えられる。また、単一細胞のみでは分化誘導してもあまり伸展せず、比較的大きなスフェアを多く含んでいた方が細胞の伸展が良いと考えられる。

### 参考文献

- 1) B. A.Reynolds, S. Weiss : Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the mammalian central nervous system : Science, 255, 1707-1710 (1992)
- 2) H.Mori.et al : Effect of neurosphere size on the growth rate of human neural stem/progenitor cells : Journal of Neuroscience Research, 8, 1682-1691 (2006)

# 弾性率の異なる足場材料上におけるマウス神経幹細胞に由来する アストロサイトの形態変化

阪府大院理 細胞組織工学研究 G 森英樹\*、原正之

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9842 (内線) 3618 メール morihide@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【目的】 生体組織は各々の組織を構成している細胞密度やそれらの細胞外のマトリクス成分や構造によって、組織部位の硬さは異なっている。近年、足場材料弾性率の変化に応じて組織幹細胞の分化傾向および形態が変化することが次々と報告されている<sup>(1,2)</sup>。この事は、培養基質の硬さが幹細胞の分化や形態変化を引き起こす物理的因子であることを示している。そこで、本研究では硬さの異なる培養基質が神経幹細胞/前駆細胞 (NSPC) の分化に伴う形態変化に対してどのような影響を与えるか解析した。

【方法】 E14.5 ICR マウス終脳由来の NSPC を実験に用い、弾性率の異なる化学架橋コラーゲンゲルやポリアクリルアミドゲル上で分化誘導を行った。分化誘導後のサンプルを免疫染色し、NSPC から分化したアストロサイトの細胞形態を画像解析した。画像解析には形状認識プログラム IMAQ Vision を用い、glial fibrillary acidic protein 陽性のアストロサイトが展開した面積もとに比較した。さらに、各々の足場条件における分化細胞の細胞骨格制御因子である Rho ファミリー遺伝子の発現解析も行った。

【結果と考察】 化学架橋コラーゲンゲルでは、足場弾性率の変化に伴い分化したアストロサイトの移動に違いがみられ、貯蔵弾性率が高いゲルほど移動範囲は広がった。また、貯蔵弾性率が高いゲルほど Rho ファミリー遺伝子の発現も高くなっていた。コラーゲン修飾ポリアクリルアミドゲルでも同様の傾向が得られた。これらの結果から、ゲルの硬さによる機械的刺激が NSPC から分化した細胞の Rho ファミリー遺伝子の発現を活性化し、アストロサイトの移動・展開を促進したと考えられる。

## 参考文献

1. Adam J.Engler, Shamik Sen, H.Lee Sweeney, and Dennis E.Discher : Matix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification : Cell 126,677-689 (2006)
2. Dennis E.Discher,Dacid J.Mooney,Peter W.Zandstra : Growth Factors,Matrices,and Force Combine and Control Stem Cells : Science 324,1673-1677 (2009)

## リンパ腫誘発感受性を支配するマウス4番染色体上の2つの遺伝子座

阪府大院理学系生物科学 森展子\*

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9837 (内線) 3593、メール morin@b.s.osakafu-u.ac.jp)

放射線照射による発がん効果（がんの種類、頻度、発生時期）は、使用するマウスの系統によって大きく変化する。これは、遺伝的多型によるものであり、マウスを用いた放射線発がん実験によって得られた結果をヒトに外挿しようとするとき、大きな問題となる。本研究では、放射線のがん誘発効果におけるマウス系統差の原因である発がん感受性遺伝子（群）を明らかにし、放射線のヒト健康に及ぼす影響評価の標準化の一助とすることを目的とする。

これまでに、放射線によるリンパ腫誘発に高感受性の BALB/c 系統と抵抗性の STS 系統を組み合わせた遺伝交配系実験によって、放射線誘発リンパ腫感受性遺伝子を4番染色体上に位置づけた。また、BALB/c マウスの4番染色体の一部を STS マウスのそれで置き換えた、コンジェニック系統を複数作製し、4番染色体中央部からテロメア付近までの広い範囲を、リンパ腫感受性遺伝子領域から除外した。遺伝解析とコンジェニックマウスの解析とから、リンパ腫感受性遺伝子領域として限定された、4番染色体中央部からセントロメア近傍に広がる領域には、有意の関連性を示す二つの小領域が認められたことから、この領域には、リンパ腫感受性を支配する遺伝子が少なくとも2箇所があると推定された。このことを確かめるため、この小領域の一方に STS 由来部分を含むがもう一方の小領域には含まないコンジェニック系統を3系統作製し、コンジェニック系統またはそれと BALB/c との F2 交雑を放射線照射、それぞれの小領域に放射線リンパ腫感受性遺伝子が含まれるかをテストした。その結果、二つの小領域にそれぞれ、発がん感受性遺伝子が存在すると判明した。4番染色体中央部約 7Mb 領域には、発がんに関与を示す遺伝子が存在した。この領域よりセントロメア側約 11.4 Mb の範囲には、弱い関連を示す新規発がん感受性遺伝子座があった。候補遺伝子は、現在のところ不明である。一方、強い関連を示したもう一つの発がん感受性遺伝子領域には、細胞周期制御因子の一つで、ヒト T 細胞リンパ腫でホモ欠損が高頻度で見つかるがん抑制遺伝子 p16 があり、BALB/c マウスはこの遺伝子に機能微弱型変異があることが知られている(1)。これら2つの発がん感受性遺伝子座の同定を論文発表し(2)、今後、p16 を候補遺伝子として検討することとした。

### 本研究に関する研究発表（原著論文、その他報文、学会等報告）

- 1) 森展子「*Cdkn2a* と異なるマウス4番染色体新規発がん感受性遺伝子座」第68回日本癌学会総会、2009年10月（横浜）
- 2) Mori, N. Two loci controlling susceptibility to radiation-induced lymphomagenesis on mouse chromosome 4: *Cdkn2a*, a candidate for one locus, and a novel locus distinct from *Cdkn2a*, *Radiat. Res.* **173**, 158-164 (2010)

## 香辛料の汚染細菌の放射線抵抗性と食肉類中での増殖回復挙動について

阪府大院・理・生物科学 古田雅一\*、向原岳、石川悦子、小池佳都子

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール [mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp](mailto:mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp))

### 【緒言】

生残菌を含む香辛料を生菌数が少ない殺菌済み加工食品に添加した場合の生残微生物の増殖挙動を検討することは、食品加工における効果的な微生物制御には必要不可欠であると考えられる。そこで本研究においては殺菌された香辛料に生存する微生物群が加工食品の中でどのような増殖パターンを示すか、放射線と過熱水蒸気について比較した。

### 【実験方法】

わが国で流通している香辛料の中から代表的なものとして市販の未殺菌及び過熱水蒸気殺菌済みの黒コショウ、パプリカ、セージをそれぞれ購入し、未殺菌の香辛料は大阪府立大学産学官連携機構放射線研究センターの<sup>60</sup>Coガンマ線照射施設において10 kGyまでの異なる線量を均質に照射した。

未殺菌、過熱水蒸気殺菌、放射線殺菌済みの試料25 gと回収液(0.05%Tween80, 0.1%ペプトン水)250 mLをフィルター付ストマッカー用袋に入れ、ストマッカー(サンプル容量400 mL、200ストローク/分)により2分間ブレンディングした。得られた試料中の一般生菌数、大腸菌群、真菌類の菌数を食品衛生検査指針に従って求めた。

さらに上記の香辛料試料をコーヒーマイルにより粉碎し(4 g)、市販のフードプロセッサーで20~30秒すりつぶした加工ソーセージ(17 g)に添加してサンプル瓶に入れ、良く混合させて30°Cで培養した。経日的に一瓶ずつ回収し、前述の方法により一般生菌数、大腸菌群、真菌類に属する微生物コロニーの変化を測定した。

### 【結果と考察】

<sup>60</sup>Coガンマ線照射後の殺菌効果は、10 kGy照射で十分加工食品に使用可能なレベル(1000個/g未満)まで殺菌できることを確認した。同時に生残菌の多くが芽胞を形成するBacillus属の細菌であることを顕微鏡観察およびBBLクリスタル簡易同定キットにより明らかにした。これらの試料を生菌数が少ないソーセージに添加し、生残菌の増殖パターンを計測したところ、放射線照射、加熱共にはほぼ類似の増殖挙動を示すことが示唆された。

今回用いた市販のソーセージからは一般生菌、酵母・カビ類、大腸菌群はいずれも検出されなかったが、経日的にサンプリングして菌数を評価したところ、培養と共に一般生菌数、酵母・カビ類の菌数は急激に増加し、培養2日後には試料1 g当り10<sup>8</sup>CFU以上に達した。一方、大腸菌群に関しては培養3日後も菌が検出されず、フードプロセッサーによる試料調製時においてソーセージには大腸菌群は存在しないことが示された。

以上の結果から過熱水蒸気殺菌、放射線殺菌いずれの処理を受けた黒コショウ、パプリカ、セージの生残菌はソーセージ中で未処理の菌の増殖レベルを超える増殖は示さないことが確認された。

#### **本研究に関する研究発表**

1) *Bacillus* 属細菌の放射線抵抗性と香辛料における増殖挙動について

○古田雅一<sup>1</sup>、浅野哲也<sup>1</sup>、富井恵奈美<sup>1</sup>、石川悦子<sup>1</sup>、保科美幸<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 阪府大院・理 <sup>2</sup> 阪府大院・生命環境)、2009 年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会、2009 年 10 月 30～31 日、琉球大学

## $\alpha$ -エラスチンの粒子形成とガンマ線架橋による安定化

阪府大院・理・生物科学 藤本真理、古田雅一\*

九工大院生命体工学 岡元孝二

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

### 【緒言】

天然のエラスチン $\alpha$ -elastin（ウシ項靱帯由来）水溶液は、一定温度以上に昇温すると凝集・微粒子化する特性がある。この特性を利用して $\alpha$ -elastinを凝集させガンマ線で架橋を行うことで、安定した架橋粒子が得られないかどうかについて検討した。

### 【実験方法】

ウシ項靱帯由来 $\alpha$ -エラスチン (Elastin Product Co, Inc.より購入)の凝集が十分確認できる濃度10 mg/mlになるように純水に溶解した。 $\alpha$ -エラスチン水溶液を4°Cまで冷却し、その後60°Cまで昇温し凝集させた。粒子化に最適な昇温速度を得るために次の方法を検討した。Slow Heating:30分かけて60°Cまで昇温、Fast Heating:10分かけて60°Cまで昇温、Heat Shock:瞬間的に60°Cまで昇温。 $\alpha$ -エラスチンを凝集させた後、凝集体の粒径を動的光散乱法を用いて測定した。さらに $\alpha$ -エラスチン水溶液を昇温後、60°Cに保持しながらガンマ線照射を行い架橋を試みた。ガンマ線照射後、架橋粒子の生成を確認し動的光散乱法を用いて粒径を測定した。

### 【結果と考察】

ガンマ線照射を行う前、Slow Heating では平均240 nm、Fast Heating では平均270 nm、Heat Shock では平均380 nmの $\alpha$ -エラスチン凝集体が得られた。ガンマ線照射を行うと、ガンマ線照射を行う前では $\alpha$ -エラスチンが溶解していた4°Cまで冷却しても $\alpha$ -エラスチン凝集体が溶解することはなかった。また SDS-PAGE よりガンマ線照射後はガンマ線照射前よりも分子量が増加していた。この結果からガンマ線によって架橋されたことが確認できた。架橋された $\alpha$ -エラスチン凝集体の大きさは60°Cでは平均400 nmで昇温速度の違いによる大きさの差はほとんど見られなかった。15°CではFast Heating、Heat Shock では粒度分布が広がったがSlow Heating では粒度分布が狭く平均140 nmになった。また電子顕微鏡写真より球状の粒子の生成が確認できた。

### 本研究に関する研究発表

- 1)  $\alpha$ -エラスチンの粒子形成とガンマ線架橋による安定化、藤本真理<sup>1</sup>、岡元孝二<sup>2</sup>、古田雅一<sup>3</sup>（<sup>1</sup>大阪府立大学大学院理学系研究科、<sup>2</sup>九州工業大学大学院情報工学研究科生命情報工学研究科系、<sup>3</sup>大阪府立大学大学院理学系研究科）第82回日本生化学会大会、2009年10月21日～24日、神戸ポートアイランド
- 2) Effect of Concentration on the Formation of the  $\alpha$ -Elastin Nanoparticles by Gamma-ray Crosslinking, Mari Fujimoto, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta、第46回ペプチド討論会、平成21年11月4日(金)～6日(土)、



北九州国際会議場、北九州市、講演要旨集 pp. 87.

- 3) エラスチンの温度応答性と放射線架橋によるナノ粒子化、藤本真理、岡元孝二、古田雅一、第7回日本エラスチン研究会学術集会、平成21年12月4日(金)～5日(土)、北九州国際会議場、北九州市
- 4) Effect of gamma irradiation dose on the fabrication of  $\alpha$ -elastin nanoparticles by gamma-ray crosslinking, Mari Fujimoto, Mayuko Takeda, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta, 11<sup>th</sup> Pacific Polymer Conference (PPC11), 6-10, December (2009) Cairns Convention Centre, Cairns, Australia.
- 5) Effect of polypeptide concentration and gamma radiation dose on the fabrication of alpha-elastin nanoparticles by Gamma-ray Crosslinking ( $\alpha$ -エラスチンのナノ粒子化に及ぼすガンマ線量及び濃度の影響), Mari Fujimoto, Mayuko Takeda, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta, The 5<sup>th</sup> International Symposium on Material Cycling Engineering (第5回資源循環工学国際会議)、March 10-11, 2010, Osaka Prefecture University, Sakai, Osaka, JAPAN. P107-P108

## **Bacillus** 属細菌芽胞の増殖挙動・発芽過程に及ぼす放射線効果

阪府大院・理・生物科学 向原岳、古田雅一\*、石川悦子、小池佳都子

シスメックス株式会社 小田康雅、坂田孝

(\*本研究に関する連絡先：電話(内線)3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【緒言】食品の殺菌には主に加熱殺菌法が用いられているが、透過力が強く温度上昇が少ない放射線殺菌法が栄養成分や香気成分の劣化を防ぐために有効である。従って香辛料などの乾燥食品に対しては放射線殺菌の普及が進んできている。放射線殺菌においては照射量を増やせば殺菌効果はそれだけ上がるが、過剰な照射は食品を劣化させてしまうため、極力少ない線量で殺菌できれば有利である。自然界に普遍的に存在する *Bacillus* 属細菌は芽胞を形成することで大腸菌のような栄養型細菌よりも高い放射線抵抗性を示す。本研究では香辛料の代表的汚染菌である *Bacillus megaterium* 及び *Bacillus licheniformis* の芽胞を用いて、放射線照射による殺菌効果及び照射後の発芽増殖の挙動について検討した。

【実験】*B. megaterium* は2種類の標準株 (ATCC<sup>(R)</sup> No.8245 と NBRC No.15308) をそれぞれ芽胞形成培地に接種し 30°C で1週間培養後、形成した芽胞を回収した。*B. megaterium* の芽胞を生理食塩水で約  $1.0 \times 10^7$  cells/ml に希釈し、<sup>60</sup>Co  $\gamma$  線を照射後コロニーカウント法で生残率を求めた。また黒コショウから菌を回収して BBL クリスタル GP で菌種を同定し、その中で検出頻度が最も高かった *B. licheniformis* を *B. megaterium* と同様の手順で芽胞を調製し、生残率を求めた。次に *B. licheniformis* 芽胞と *B. megaterium* 芽胞に <sup>60</sup>Co  $\gamma$  線を照射して 37°C で振とう培養し、時間経過における濁度変化を分光光度計を用いて 10 分間隔で測定し、同時に発芽の過程を 1 時間ごとに位相差顕微鏡で観察した。

【結果と考察】コロニーカウント法によって得られた生残率を比較すると、*B. licheniformis* 芽胞は直線型の生残曲線を示したのに対し、*B. megaterium* 芽胞はシグモイド型の生残曲線を示した。このことから *B. megaterium* 芽胞の方が高い放射線抵抗性を有することが確認された。照射した黒コショウからは *B. licheniformis* が最も多く検出されたため、この芽胞と *B. megaterium* 芽胞の照射後の濁度変化を指標として発芽過程を比較すると、芽胞の発芽過程については非照射と照射した芽胞とで差は見られなかった。従って、 $\gamma$  線は芽胞の発芽過程そのものには影響を与えず、発芽後の増殖挙動に影響を与える可能性が示唆された。発芽後の増殖挙動については線量の増加に伴って増殖開始時期の遅延が見られた。ただし増殖開始の遅延の度合いが *B. megaterium* では一定の割合で増大したのに対し、*B. licheniformis* では線量に依存しなかった。このことは発芽後の損傷修復の様式が両者で異なる可能性を示唆するものである。

# イメージングプレートを用いた照射食品の自然放射能の分布の 可視化と食品照射の広聴活動への応用

阪府大院・理・生物科学 古田雅一\*

阪府大産学官 伊藤憲男

(\*本研究に関する連絡先：電話(内線) 3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

## 【緒言】

食品照射に利用できる放射線は、 $^{60}\text{Co}$ 、および $^{137}\text{Cs}$ のガンマ線、エネルギーが1000万電子ボルト(10 MeV)以下の電子線、エネルギーが500万電子ボルト(5 MeV)以下のエックス線、が国際基準(Codex 規格)において定められている。この範囲の放射線のエネルギーにおいては放射化の心配はないが、一般消費者にとってはいまだに懸念材料となっている。そこで本研究においては非照射及び $^{60}\text{Co}$ ガンマ線照射を行った香辛料について今一度精密な放射能測定を行うとともに、イメージングプレートを用いて放射能の可視化を試み、照射試料と非照射試料の誘導放射能の有無を一般消費者にわかりやすく示せるかどうかを検討した。

## 【実験方法】

非照射および $^{60}\text{Co}$ ガンマ線照射した黒胡椒(41 g)、オレガノ(28 g)、オールスパイス(31 g)、パプリカ(37 g)、セージ(21 g)をそれぞれプラスチックシャーレに封入し、20 cm厚みの鉄室内の低バックグラウンド環境下に設置したリチウムドリフトゲルマニウム検出器を用いて100 ksec(27.8時間)測定した。波高分析装置(Aptec社製、Series 5000)により放射性核種を同定した。

また一部の試料をポリ袋に封入し、イメージングプレートに密着させ、低バックグラウンド下で室温にて露光し、一定期間後読取装置により画像を得た。

## 【結果と考察】

得られた波高分析パターンを分析し、10 kGy照射試料と未照射試料に含まれる放射能を比較したところ、得られた放射能ピークはすべてウラン系列、トリウム系列の自然放射性核種、及び試料に含まれる $^{40}\text{K}$ に由来することが明らかとなり、ガンマ線照射に起因する誘導放射能が検出されないことを再確認した。

これらの結果をよりわかりやすく一般消費者に示すための方策として現在黒コショウ、パプリカを用いてイメージングプレートによる自然放射能分布の画像化を行ったところ、37日間露光した試料について一部鮮明な画像が得られた。現在、より鮮明な画像を得るためにそれぞれの試料に対してIPの感光条件の最適化を行っている。

## 本研究に関する研究発表

- 1) イメージングプレートを用いた照射食品の自然放射能の分布の可視化と食品照射の広聴活動への応用、大阪府大理 ○古田雅一 大阪府大産学官連携機構 伊藤憲男、日本原子力学会 2010年春の年会、2010年3月26日(金)~28日(日) 会場 茨城大学 水戸キャンパス

## 糖代謝を指標とした *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答機構の解析

阪府大院・理・生物科学 渡邊健、古田雅一\*

阪府大院・生命環境・応用生命 松井文彦、宮西順子、岸田正夫

シスメックス株式会社 小田康雅、坂田孝

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール [mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp](mailto:mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp))

### 【緒言】

環境中にはさまざまなストレスが存在し、生物はこれらのストレスに常に曝されている。そのような中で生物が生存し続けることができたのはストレスに対する防御機構を獲得したためと考えられている。真核生物のモデルである酵母はストレス応答の研究に多く用いられてきた。酵母を熱曝露したときには熱ショックタンパク質とともにトレハロースが蓄積され、この糖が熱耐性の獲得に非常に重要な物質であることがわかっている。また、トレハロースが細胞内に蓄積したときには過酸化水素( $H_2O_2$ )に対して抵抗性になるという報告もあることから、トレハロースが他の酸化ストレスに対しても防護効果があることが期待される。そこで我々は放射線の1つであるガンマ線に着目した。ガンマ線はそれ自体が細胞に損傷を与える直接作用とガンマ線が水分子と反応することで生じるフリーラジカルが細胞に損傷を与える間接作用の2通りの作用を有する。ガンマ線の間接作用は $H_2O_2$ と類似の作用で細胞に損傷を与えるため、トレハロースがガンマ線に対しても防護効果がある可能性が高いと考えられる。そこで本研究ではガンマ線に対する防護物質としてトレハロースが蓄積されるのかを検証した。さらにトレハロースが細胞内に蓄積したときにはガンマ線に対して抵抗性になるのか、トレハロース蓄積時にはどのような損傷を抑制されるのかを検証した。

### 【実験方法】

#### ①ガンマ線によるトレハロース蓄積の有無

対数増殖期まで培養した出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の野生株である BY4741 に 0.01~5 kGy までの  $^{60}Co$  ガンマ線を照射した。照射した細胞を熱水処理することでトレハロースを抽出し、酵素法にて定量した。

#### ②トレハロース細胞内蓄積時のガンマ線抵抗性

対数増殖期まで培養した出芽酵母の野生株(BY4741)とトレハロースを合成できない *TPS1* 欠損変異株( $\Delta tps1$ )に 40°C、20 分の熱処理をすると、野生株ではトレハロースが蓄積され、変異株では蓄積されない。熱前処理した、もしくはしていない両株に 1 kGy の  $^{60}Co$  ガンマ線を照射し、コロニーカウント法により生残率を測定した。

#### ③トレハロース蓄積時の細胞内 ROS レベル

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞に ROS 検出試薬  $H_2DCFDA$  を取り込ませた後、ガラスビーズで細胞を破砕して得られた抽出物の蛍光強度を測定した。

④トレハロース蓄積時の脂質過酸化

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞をガラスビーズで破碎して得られた抽出物をチオバルビツール酸(TBA)と反応させ、その生成物の特異的吸収を測定した。

⑤トレハロース蓄積時の DNA 二本鎖切断の生成

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞を低融点アガロースで包埋し、その状態で酵素処理することで染色体DNAを抽出した。抽出した染色体DNAをパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)にて電気泳動し、DSBの生成状態を観察した。

【結果と考察】

対数増殖期の野生株に 0.01~5 kGy のガンマ線を照射してもトレハロースは検出されなかったことから、ガンマ線に対するストレス応答物質としてトレハロースは蓄積されないことが確認できた。

野生株では熱処理後に 1 kGy のガンマ線を照射した場合の生残率が熱処理せずに直接ガンマ線を照射した場合の生残率に比べ7倍になった。一方、変異株では熱処理後に

1 kGy のガンマ線を照射した場合の生残率が熱処理せずに直接ガンマ線を照射した場合の生残率に比べ 2.5 倍になり、野生株よりも増加幅が小さかった(Fig. 1)。このことから、トレハロースが細胞内に蓄積したときにはガンマ線に対して抵抗性になることが示唆された。野生株のみにおいて、熱処理した場合の ROS レベルは熱未処理の場合よりも小さくなった。また

野生株と変異株の両株において、熱処理した場合の脂質過酸化の値は熱未処理の場合より小さくなったが、減少幅は野生株の方が大きかった。さらに野生株のみにおいて、熱処理した場合の DSB 生成は熱未処理の場合より少なかった(Fig. 2)。以上のことから、トレハロースが細胞内に蓄積したときには ROS レベルの増加、脂質過酸化と DSB の生成が抑制されることが示唆され、このことがガンマ線抵抗性の獲得に寄与したと考えられる。

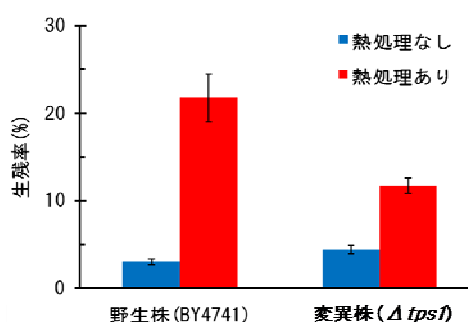


Fig. 2. 1 kGy 照射後の生残率

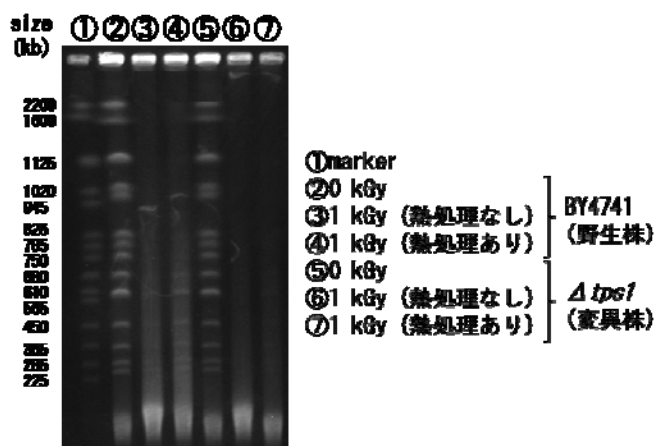


Fig. 3. 1 kGy 照射後の DSB 生成

## 本研究に関する研究発表

- 1) *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答機構の解析、松井文彦<sup>1</sup>、宮西順子<sup>1</sup>、渡邊健<sup>2</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、(<sup>1</sup>大阪府大院・生命環境、<sup>2</sup>大阪府大院・理・生科) 酵母遺伝学フォーラム第42回研究発表会、2009年7月28~30日、つくば ノバホール
- 2) *Saccharomyces cerevisiae* を用いた放射線障害応答機構の解明、松井文彦<sup>1</sup>、宮西順子<sup>1</sup>、渡邊健<sup>2</sup>、小田康雅<sup>3</sup>、坂田孝<sup>3</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、(<sup>1</sup>大阪府大院・生環・応生、<sup>2</sup>大阪府大院・理・生科、<sup>3</sup>シスメックス(株)) 日本防菌防黴学会第36回年次大会、2009年9月14~15日、千里ライフサイエンスセンター、吹田市
- 3) トレハロース産生を指標とした *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答、渡邊健<sup>2</sup>、松井文彦<sup>1</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、2009年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会、2009年10月30~31日、琉球大学
- 4) *Saccharomyces cerevisiae* におけるトレハロース蓄積時の放射線抵抗性  
大阪府立大学理学系研究科、渡邊健、古田雅一、大阪府立大学生命環境科学研究科、岸田正夫、日本農芸化学会2010年度大会、2010年3月27~30日、東京大学

## 乾燥ストレスが *Enterobacter sakazakii* の放射線感受性に与える影響

阪府大理生物 藤井夏日、古田雅一\*

(\*本研究に関する連絡先 : 電話 (内線) 3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

[緒言] *Enterobacter sakazakii* は環境に広く分布する腸内細菌科に属する菌のひとつで、とくに乳児用調製粉乳を介して乳幼児に感染し、髄膜炎や壊死性腸炎を引き起こす日和見性病原菌として知られている。本菌の熱耐性は他の腸内細菌科の菌 (*E. coli* など) とさほど変わらず、調製粉乳についていえば、使用する際に70°C以上のお湯で調乳することで殺菌が可能である。しかし一方で、乾燥に対してはとて強く、調製粉乳中で数年間にわたり生存したという報告がある<sup>[1]</sup>。熱に弱く乾燥に強いという特徴から、調製粉乳への汚染は、製造工程における熱殺菌後の乾燥処理や製品充填の過程、調整工程における二次汚染が大半を占めているものと考えられている。私たちは、製品が消費者の手にわたる前の段階で *E. sakazakii* の汚染レベルをより低く抑えられないかと考え、ガンマ線による殺菌に着目した。これは包装済みの製品に対しても有効で、かつ、品質劣化の少ない非加熱殺菌法として世界的にも高く評価されている。今回は、ガンマ線による殺菌を考える上で、乾燥環境下におかれた本菌がその放射線感受性をどのように変化させるのかについて、*E. coli* と比較検証した。

[実験] *E. sakazakii* (ATCC51329) を TSB 培地に、*E. coli* (K12) を LB 培地に植えてそれぞれ定常期まで培養した。このそれぞれに<sup>60</sup>Co ガンマ線を照射した後、平板培地に播き、翌日コロニーカウント法により生残率を求め、液体培地中における放射線感受性を評価した。乾燥環境下における放射線感受性の評価については、同様に定常期まで培養した菌液から遠心分離により菌体を回収し、シリカゲルを敷いたデシケート管内にて0、24、48時間放置するという乾燥ストレスを与えた。これにガンマ線を照射した後、コロニーカウント法により生残率を調べた。また、*E. sakazakii* が示す高い乾燥耐性には細胞内トレハロース蓄積が関与しているという報告がある<sup>[2]</sup>ことから、乾燥処理後のトレハロース含量を酵素法により測定し、トレハロース量と乾燥耐性、放射線抵抗性に相関関係が見られるのかどうかについても検証した。

[結果] 液体培地中で照射した場合の生残曲線は *E. sakazakii* と *E. coli* で差はなく、生残菌数は1 kGy あたりおよそ3 log CFU 減少し、D<sub>10</sub>値は0.4 kGy であった。乾燥状態で照射した場合の生残率は、*E. sakazakii* と *E. coli* とともに液体培地中よりも高い値を示し、生残菌数は *E. sakazakii* で1 kGy あたりおよそ1 log CFU の減少、*E. coli* でおよそ2 log CFU の減少であった。生残曲線は両者で異なる傾向を示し、*E. sakazakii* では乾燥処理時間が0時間から24、48時間と長くなるにつれて、D<sub>10</sub>値は0.6、0.8、1.1 kGy と変化し、放射線抵抗性の向上が見られた。一方、*E. coli* の D<sub>10</sub>値は乾燥処理時間に関わらず0.5~0.6 kGy を示し、放射線抵抗性の向上は見られなかった。放射線抵抗性の向上が見られた *E. sakazakii* についてトレハロース含量を測定したところ、乾燥処理時間によるトレハロース量の変化は見られなかった。

### 参考文献

[1] Caubilla Barron, Juncal Forsythe, Stephen J. (2007) *J. Food Prot.* 70:2111-2117.

[2] P. Breeuwer, A. Lardeau, M. Peterz and H.M. Joosten. (2003) *J. Appl. Microbiol.* 95:967-973.

## アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの崩壊と細胞脱離

福田一馬、上田英二\* (阪府大院 生物)

(\*本研究に関する連絡先：電話 (内線) 3616、mail: uheda@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物の細胞には細胞壁があり、それぞれの細胞は主にペクチンからなる中葉 (ミドルラメラ) を介して隣の細胞と接着している。ミドルラメラのペクチン分解とそれに伴う細胞脱離の現象は、アブシジョン (器官脱離)、根冠細胞の脱離、果実の成熟、花粉の形成など植物の生長過程で普遍的に見られる。しかし、ミドルラメラペクチンの構造は非常に複雑であり細胞接着の詳細は不明である。また、ミドルラメラペクチンの分解やそれに伴う細胞脱離の詳細についても不明な部分が多い。

私たちは、アカウキクサ (水生シダ) の根の離層細胞がアポプラストの pH に依存して脱離することを発見した。その後の研究によって、離層細胞のミドルラメラペクチンはアポプラスト pH に依存して分解されること、細胞脱離はミドルラメラペクチンの分解の結果起こることを明らかにした。ペクチンの分解にはおそらく細胞壁に存在する酵素が関与していると考えられるが、詳しいことは不明である。アポプラスト pH に依存したミドルラメラの分解はこれまで知られていなかった現象である。私たちは、この現象の詳細を明らかにすることができれば、ペクチンを介した植物細胞の接着や脱離についての新しい知見が得られるのではないかと考えている。

現在、アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの崩壊過程の詳細を明らかにするため以下の検討を行っている。

- ① 種々の薬剤、酵素を使って細胞脱離に及ぼす効果を検討している。
- ② 細胞の脱離に伴うミドルラメラペクチンの構造変化を、異なるペクチンエピトープを認識するモノクローナル抗体を使って解析している。
- ③ アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの分解は、アカウキクサ以外の植物でも認められる一般的な現象なのか否かについて、インゲン豆の細胞脱離系を新たに開発し検討を重ねている。



## オーキシン極性移動制御物質の探索 -生物検定系の開発-

大阪府立大学大学院 理学系研究科 上田純一\*

大阪府立大学 総合教育研究機構 宮本健助

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3596、メール ueda@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物の成長、発達に重要な役割を担っている植物ホルモンのオーキシン (Indole-3-acetic acid, IAA) は極性移動を示すことが知られている。現在まで、オーキシン極性移動制御物質としては、非天然型の化合物である 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA)、*N*-(1-naphthyl)phthalamic acid (NPA)、9-hydroxyfluorene-9-carboxylic acid (HFCA) がその阻害剤として知られているにすぎない。本研究においては、広く植物界より天然型のオーキシン極性移動制御物質を探索することを目的とした。特に本年度は、放射性オーキシンを用いて、そのための生物検定系の開発を目指した。

生物検定系開発のための供試植物として、明所で生育させたキュウリ (*Cucumis sativus* L.) 胚軸、ダイコン (*Raphanus sativus* L.) 胚軸、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) 花茎、暗所で生育させたトウモロコシ (*Zea mays* L.) 幼葉鞘および中胚軸、エンドウ (*Pisum sativum* L.) 上胚軸、アズキ (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi et H. Ohashi var. *angularis*) 上胚軸、オートムギ (*Avena sativa* L.) 幼葉鞘、イネ (*Oryza sativa* L.) 幼葉鞘を用いた。

American Radiolabeled Chemicals Inc. の [ $^{14}\text{C}$ ]IAA (3.7 MBq/ml) を 37 KBq/ml に調整し、1.5 ml エッペンドルフチューブに 25  $\mu\text{l}$  ずつ分注した。上記植物の各器官より 20 mm の切片を調整し、その頂端側から IAA を取り込ませ、暗所、室温にて 3、6、9、12、24 時間培養した。培養終了後、切片の他端 2 mm を切り出してバイアルに移し、液体シンチレーションカウンター (2 ml) を加えてそこに含まれる放射活性を測定した。

生物検定系開発に関する各種諸条件を考慮した結果、供試植物としては、播種後 5 日で実験に用いることが可能で、操作性および費用面でも有利と考えられる明所で生育させたダイコン芽生えの胚軸が検定植物として最適であることが明らかとなった。ダイコン胚軸切片におけるオーキシン極性移動を経時的に測定した結果、オーキシン極性移動の値は 3~9 時間までほぼ直線的に増加し、9 時間以降は実験終了時の 24 時間目までほぼ一定の値を示した。従って、オーキシン極性移動促進活性の探索には切片培養後 6 時間目に、阻害活性の探索には 9 時間目の放射活性を用いることとした。次年度以降、この生物検定系を用いて、植物界から天然型オーキシン極性移動制御物質を探索することとした。

### 参考文献

- 1) Kiyotaka Okada, Junichi Ueda Masako K. Komaki, Callum J. Bell and Yoshiro Shimura. Requirement of the auxin polar transport system in early stages of *Arabidopsis* floral bud formation. *Plant Cell*, 3:677-684 (1991)
- 2) Mariko Oka, Junichi Ueda, Kensuke Miyamoto, Ryoichi Yamamoto, Takayuki Hoson and Seiichiro Kamisaka. Effect of simulated microgravity on auxin polar transport in inflorescence axis of *Arabidopsis thaliana*. *Biol. Sci. Space*, 9:331-336 (1995)

## 植物の青色光受容体 phototropin の光感受性制御機構の解明

大阪府大・理学系研究科 岡島公司、嘉祥寺谷幸子、桂ひとみ、福岡翠、徳富哲\*

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4110、E-mail: toxa@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物にとって光環境変化に対する応答は重要である。フォトトロピン (phot)は植物の青色光受容体で、光屈性、気孔開口、葉緑体光定位運動などを制御している。Phot 分子は1分子の FMN を非共有的に結合した LOV ドメインを2つ (LOV1、LOV2) N 末端側にもち、Ser/Thr キナーゼドメインを C 末端側にもつ。暗所では主に LOV2 がキナーゼ活性を抑制している。FMN が青色光を吸収すると保存された Cys 残基と一過的に共有結合(アダクト)を形成し(S390 状態)、数秒から数分で元 (D450 状態)に戻るフォトサイクルを示す。アダクト形成に伴い LOV2 ドメインの構造変化が引き起こされると抑制が解かれキナーゼ活性が上昇する。アダクトが解消されると LOV2 は再びキナーゼを抑制する。このように LOV によってキナーゼ活性の光制御が行われる。phot はキナーゼ活性の上昇による自己リン酸化、さらに基質のリン酸化によってシグナルを下流に伝えると考えられる。シロイヌナズナには2つの phot (phot1, phot2) があり、phot1 は弱光から強光で働き、phot2 は強光で働くことが知られているが、こうした光感受性の違いに関して分子機構の解明はできていない。

我々はこれまでに大腸菌で発現・精製したシロイヌナズナの phot2 LOV2-キナーゼペプチドが光依存的にキナーゼ活性調節できることを確認している。本研究では、LOV2 の FMN 近傍にある Arg を Lys に置換した変異体 (R/K) を作製した。UV-可視吸収スペクトルの解析から R/K では S390 から D450 への回帰速度が約 10 倍速くなっていた。また、キナーゼ活性の光強度依存性を測定したところ、強光下でキナーゼの活性上昇が見られた。さらに、シロイヌナズナにおいて R/K 変異体を作製し、葉緑体定位運動の光強度依存性を測定した。葉緑体は光環境の違いにより細胞内での局在をかえる。暗所においては底面、弱光下では上面に集合、強光下では側面に局在する。R/K 変異株では WT よりも光感受性が悪くなり、強光下でも葉緑体の集合が見られ、さらに強い光では側面への局在が観察された。こうしたことから、phot において LOV2 ドメインのフォトサイクルにかかる時間が植物の光感受性を決める要因の一つになっていることが考えられる。

### <学会発表>

- 1) 岡島公司、嶋田崇史、松岡大介、徳富哲 (2009) 日本植物学会第37回大会 (山形)
- 2) 岡島公司 (2009) 第47回日本生物物理学会年会 (徳島)
- 3) K. Okajima, S. Kashojiya, M. Fukuoka, S. Tokutomi (2009)  
Memorial Symposium for the 25th International Prize for Biology (Kyoto)
- 4) 嘉祥寺谷幸子、岡島公司、徳富哲 (2010) 第51回日本植物生理学会年会 (熊本)
- 5) 福岡翠、岡島公司、桂ひとみ、徳富哲 (2010) 第51回日本植物生理学会年会 (熊本)

## マウス出血性水頭症原因遺伝子 *hhy* の解析

阪府大院理学系生物科学 森展子\*

阪府大院生命環境獣医病理学 平野隆爾、桑村充

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9837 (内線) 3593、メール morin@b.s.osakafu-u.ac.jp)

hemorrhagic hydrocephalus (*hhy*) 突然変異は、本学動物実験施設において遺伝子医学研究室が維持している、BALB/c マウスのバックグラウンドに生じた自然突然変異で、常染色体劣性遺伝性である。*hhy* ホモ接合体は、生後まもなく、ほぼ 100% の浸透率で水頭症を発症する。多くの症例で脳内に出血が認められるため、出血性水頭症と命名した。また、*hhy* ホモ接合体の大脳皮質下には必ず、異所性灰白質が見られ、この突然変異の水頭症の病因は、大脳皮質形成と密接に関係すると推測された。この突然変異は 12 番染色体上にあり、水頭症原因遺伝子として新規である(1)。この突然変異を、MSM に戻し交配し、*hhy*/+ヘテロ接合体として維持しながら、詳細マッピングを進め、これまでに、候補領域を 1Mb に絞った。この領域内に含まれる遺伝子の一つが、ゲノムに散在するレトロトランスポゾン様繰り返し配列との組換えによって破壊されていた (GenBank 登録済み)。この遺伝子がコードするたんぱくの細胞生物学的機能は、全くわかっていない。

私達は、HHY タンパクを大腸菌で発現させ、精製たんぱくを抗原として抗 HHY 抗体を作製した。これを用いて、正常マウス脳における HHY たんぱくの局在を調べた。その結果、HHY たんぱくは、胎仔期、新生仔期脳の第 3 脳室および側脳室表面にあり、生後数日のうちに消失した。脳内の他の部位にはなかった。胎仔の脳室面に存在する細胞は、ラジアルグリア細胞である。この細胞は、脳室側に短い突起をのびし、その頂端部で相互に結合し脳室表面を形成している。また、脳表面に向かって、ラジアルファイバーと呼ばれる放射状の長い突起を伸ばし、脳軟膜 (基底膜) に接着している。ラジアルグリア細胞は、不等分裂を繰り返しながらニューロン前駆細胞を産生する幹細胞であり、同時に、新生ニューロンの所定の位置への移動をガイドする皮質構築の支持細胞でもある。ラジアルグリア細胞は、皮質形成期には、幹細胞および支持細胞としてその形態と性質を維持しているが、生後急速に消失し、脳室面を覆う上皮細胞とアストログリアとに姿を変える。*hhy* 変異マウスでは、HHY たんぱくは検出されなかった。現在、HHY たんぱくの欠損とラジアルグリアの異常、水頭症との関係を、さまざまな角度から調べている。

### 本研究に関する研究発表 (原著論文、その他報文、学会等報告)

- 1) Kuwamura, M., Kinoshita, A., Okumoto, M., Yamate, J., Mori, N. Hemorrhagic hydrocephalus (*hhy*): a novel mutation on mouse chromosome 12, *Brain Res. Dev. Brain Res.* **152**, 69-72 (2004)
- 2) 森展子, 外岡武士, 永木恵美, 伊吹将人, 森田健治, 平野隆爾, 名部美琴, 桑村充, 山手丈至「出血性水頭症突然変異マウスの遺伝・病態解析」日本分子生物学会年会 2009 年 12 月 (横浜)

## 放射線誘発染色体不安定性と染色体内再構成との関係

大阪府立大学産学官連携機構 田辺正輝、白石一乗、児玉靖司\*

京都大学原子炉実験所 縄田寿克

鳥取大学大学院医学系研究科 押村光雄

(\*本研究に関する連絡先:電話(内線)4240、kodama@riast.osakafu-u.ac.jp)

### 【緒言】

放射線被ばくした生存細胞の子孫に遅延性染色体異常が誘発されることはよく知られている。そこで我々は、被ばくした1本のヒト染色体を被ばくしていないマウス受容細胞に移入する手法を用いて、被ばく染色体が遅延性染色体異常誘発にどのような役割を果たすのかを解析した。特に本研究では、放射線被ばくによる染色体不安定化に染色体内再構成がどのように関わるのかを明らかにするために、サブテロメア領域の不安定化との関連性について調べた。

### 【材料と方法】

遅延性染色体異常誘発に被ばく染色体が果たす役割を知るために、4Gyの軟X線を照射したヒト8番染色体をマウス不死化線維芽細胞に微小核融合法を用いて移入した。その後、微小核融合細胞における移入ヒト染色体の安定性を、ヒト染色体に特異的な蛍光DNAプローブを用いたFISH法により解析した。さらに染色体不安定化と染色体内再構成との関連性を調べるために、サブテロメアFISH法を用いてサブテロメア領域の不安定性について解析した。

### 【結果と考察】

被ばくしていないヒト8番染色体を移入した微小核融合細胞では、染色体移入後のヒト染色体の構造異常は見られなかった。このことは染色体移入過程で染色体構造が不安定化することはないことを示している。4Gy被ばくヒト8番染色体を移入した19種の微小核融合細胞について移入染色体の安定性を調べたところ、3種類以上の染色体異常が高い(88~98%)割合で生じている細胞が3種(16%)存在した。サブテロメアFISH法によって染色体内再構成を解析した結果、このうち1種で、8番染色体長腕による同腕染色体(i8q)が高頻度でみられた。以上の結果は、放射線による遅延性染色体異常の誘導と染色体内再構成との間には強い関連性が無いことを示唆している。

## マウス神経幹細胞における放射線損傷応答の解析

大阪府立大学産学官連携機構 寺本敬志、白石一乗、児玉靖司\*

大阪府立大学大学院理学系研究科生物科学専攻 原正之

(\*本研究に関する連絡先:電話(内線)4240、メール kodama@riast.osakafu-u.ac.jp)

### 【背景と目的】

難治性腫瘍の代表である神経膠芽細胞腫は放射線抵抗性である。その原因は腫瘍細胞中に存在するがん幹細胞が高い DNA 修復能と DNA 損傷応答能を持つことにあることが示唆されている。脳腫瘍幹細胞と神経幹細胞はともによく似た未分化細胞の特徴を有しているが、正常神経幹細胞の放射線損傷応答能はこれまでに調べられていない。そこで本研究では、マウス神経幹細胞の放射線損傷応答の特徴を明らかにするために、マウス神経幹細胞を CD133 陽性細胞と CD133 陰性細胞に分け、放射線によって誘発される DNA2 重鎖切断の修復動態について、リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) フォーカスを指標にして解析した。

### 【材料と方法】

ICR マウス胎児から線維芽細胞、また、胎児脳から神経幹細胞を含むニューロスフェア (NS) 形成細胞を分離して培養系に移した。神経幹細胞を濃縮するために、フィコエリトリン (PE) コンジュゲート抗 CD133 抗体を結合させ、さらに磁性体粒子結合抗 PE 抗体を用いて CD133 陽性細胞を磁性体化した。この磁性体化細胞を磁気カラムを用いて分取して神経幹細胞を濃縮した。得られた CD133 陽性、及び CD133 陰性 NS 形成細胞に 1 Gy の軟 X 線を照射し、照射直後(0 時間)から 12 時間後まで継時的に細胞をサンプリングした。その後、サイトスピンによってスライドガラス上に細胞を固定し、 $\gamma$ -H2AX フォーカスを可視化して定量した。対照として、マウス線維芽細胞を用いた。

### 【結果と考察】

1 Gy 照射直後の細胞当たりの DNA 2 重鎖切断数を  $\gamma$ -H2AX フォーカス数を指標にして比べたところ、線維芽細胞では細胞当たり平均 31 個なのに対し、NS 形成細胞では平均 23 個であり、有意な差がみられた。しかし、CD133 陽性細胞と陰性細胞との間には差がみられなかった。線維芽細胞と NS 形成細胞の細胞当たりの  $\gamma$ -H2AX フォーカス数の違いは X 線照射 1 時間後までみられ、NS 形成細胞で有意に低下していた。その後、両者の差は次第に小さくなり、12 時間後にはともにフォーカス数が細胞当たり 6 個程度になって差がなくなった。以上の結果は、マウス神経幹細胞と線維芽細胞では DNA 2 重鎖切断修復能に差があることを示唆している。このことはまた、がん幹細胞にみられる高い DNA 修復能が幹細胞の特徴に由来する可能性を示唆する。

# シュワン細胞とマウス神経幹細胞/前駆細胞共培養条件下での 分化誘導に関する研究

阪府大院理 細胞組織工学研究 G 石橋暢浩、森英樹、原正之\*

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9842 (内線) 3602 メール hara@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【緒言】 ミエリンを形成するグリア細胞の種類は中枢神経と末梢神経で大きく異なっており、中枢神経ではオリゴデンドロサイト、末梢神経ではシュワン細胞(SC)によって構成されている。中枢神経が損傷を受けると、損傷部ではアストロサイトの増殖によるグリア瘢痕を形成と、オリゴデンドロサイトは伸長阻害因子の発現を起こし、神経の再生は阻害される。一方、末梢神経が損傷を受けると損傷部はワーラー変性を起こす。ワーラー変性を起こした組織では SC が NGF などの多くの栄養因子を産生し、これらが損傷を受けた神経に働きかけ、生存と再生に作用する<sup>[1]</sup>。本研究では、これまでに当研究室で行った末梢神経の神経再生に関わる研究<sup>[2]</sup>に引き続き、中枢神経再生に関する知見も得たいと考えている。そのためにコラーゲンゲル上で、SC が中枢神経系の神経幹細胞/前駆細胞(NSPC)の分化に伴う形態変化に及ぼす影響の解析を試みた。

【実験】 実験には、成長因子を添加した無血清 DMEM/F-12 培地で培養した E14.5 マウス前脳由来の NSPC、Forskolin を加えた DMEM 培地で培養した P2 マウス坐骨神経組織から分離した SC を用いた。24 ウェルプレートにコラーゲンゲルを加えて、SC を  $1.0 \times 10^4$  cells/mL の細胞密度で播種し、その後 neurosphere を形成した NSPC を播種した。7 日間分化誘導後、細胞の形態を観察し、さらに、細胞集塊から分化した細胞集団が占める面積の増大(伸展率)と細胞集団の形態的特徴(円形度= $4\pi S/L^2$ , S: 測定対象の面積, L: 測定対象の周囲長)を評価した。ニューロンマーカーの anti-tubulin $\beta$ III 抗体とアストロサイトのマーカーの anti-GFAP 抗体を用いて免疫染色し、蛍光顕微鏡で撮影した。

【結果と考察】 いずれの条件でも、細胞集塊形成した NSPC は接着し、展開することが確認され、培養日数の経過とともに細胞集団が占める面積の割合が大きくなっていくのが確認された。SC と共培養した NSPC では、細胞の伸展が著しく、細胞集塊から展開した細胞同士が接する傾向が見られたことから、細胞集団の形状としては突出部が多くなり、培養時間に依存して円形度が大きく低下した。両条件とも GFAP 陽性の細胞は多く観察された。これらの結果より、NSPC を SC と共培養した条件では、細胞集塊からの伸展率が高く、円形度も小さくなったことから、SC は NSPC の分化に伴った細胞の展開を促進したと考えられる。また蛍光顕微鏡観察は、SC が細胞集塊から展開したアストロサイト同士を橋渡しする構造も観察された。このことから今後は、NSPC の分化、アストロサイトの展開を制御している分子メカニズムとして、SC からの分泌された液性因子ばかりでなく、細胞間の直接的な相互作用についても解析していきたい。

## 参考文献

1. Rosalia, P *et.al.* : Schwann cell: A source of neurotrophic activity on cortical glutamatergic neurons in culture, *Brain Reserch*, 1069, 139-144, 2006
2. Eiko, G *et.al.* : A rolled sheet of collagen gel cultured Schwann cell: Model of nerve conduit to enhance neurite growth, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, in press, 2010

## マウス神経幹細胞/前駆細胞のニューロスフェア形成過程の解析

阪府大院理 細胞組織工学研究 G 吉元菜々江、森英樹、原正之\*

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9842 (内線) 3602 メール hara@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【目的】 神経幹細胞/前駆細胞は未分化な状態を維持しながら増殖し続ける自己複製能と、ニューロン・アストロサイト・オリゴデンドロサイトという中枢神経系を構成する細胞への多分化能を併せ持つ、未分化な細胞として定義される。増殖因子を添加した無血清培養下では単一の細胞から分裂を繰り返し、ニューロスフェアという細胞集塊を形成しながら増殖・培養維持することができる<sup>[1]</sup>。しかし、ニューロスフェア形成が細胞の未分化状態の維持に影響することは報告されているものの、詳しいメカニズムについてはよく分かっていない<sup>[2]</sup>。そこで、本研究では神経幹細胞/前駆細胞の培養経過に伴うニューロスフェアの形態的特徴と、神経幹細胞の分化能の変化を解析した。

【方法】 ICR マウス (E14.5) 胎仔脳由来の神経幹細胞/前駆細胞を用い、無血清培地中で増殖させた。トリプシン処理により単一細胞化した後、細胞を再び無血清培地下に播種した。培養 0 日目から 5 日目までの計 6 日間、培養中の細胞を撮影し、それらの画像を基に培養経過に伴うニューロスフェアの大きさ及び数の変化を解析した。また、培養ディッシュから毎日細胞をサンプリングし、poly-L-ornithin (PLO) でコートしたガラス上にて、1%ウシ胎仔血清を含む培地でそれぞれ 7 日間分化誘導した。各条件において分化誘導した細胞を抗 tublin $\beta$ III (Tuj1) 抗体、抗 glial fibrillary acidic protein (GFAP) 抗体を用いて免疫染色した。染色した細胞を蛍光顕微鏡で観察した。

【結果と考察】 培養 2 日目から直径 70 $\mu$ m 以上の比較的大きなニューロスフェアが形成され始めたが、一視野あたりのニューロスフェアの個数を比較してみると、その密度は徐々に減少した。免疫染色した細胞を観察すると、単一細胞が多い 0 日目や 1 日目は GFAP 陽性細胞の伸展はあまり見られなかったが、3 日目以降は良く伸展している箇所が比較的多く観察された。また、Tuj1 陽性細胞も 10%程度観察されたが、形態的な違いが見られた。

以上のことから、ニューロスフェアは他のニューロスフェアや単一細胞と結合してより大きなニューロスフェアとなったため、大きさの分布は培養経過に伴い大きくなるが、密度は減少したと考えられる。また、単一細胞のみでは分化誘導してもあまり伸展せず、比較的大きなスフェアを多く含んでいた方が細胞の伸展が良いと考えられる。

### 参考文献

- 1) B. A.Reynolds, S. Weiss : Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the mammalian central nervous system : Science, 255, 1707-1710 (1992)
- 2) H.Mori.et al : Effect of neurosphere size on the growth rate of human neural stem/progenitor cells : Journal of Neuroscience Research, 8, 1682-1691 (2006)

# 弾性率の異なる足場材料上におけるマウス神経幹細胞に由来する アストロサイトの形態変化

阪府大院理 細胞組織工学研究 G 森英樹\*、原正之

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9842 (内線) 3618 メール morihide@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【目的】 生体組織は各々の組織を構成している細胞密度やそれらの細胞外のマトリクス成分や構造によって、組織部位の硬さは異なっている。近年、足場材料弾性率の変化に応じて組織幹細胞の分化傾向および形態が変化することが次々と報告されている<sup>(1,2)</sup>。この事は、培養基質の硬さが幹細胞の分化や形態変化を引き起こす物理的因子であることを示している。そこで、本研究では硬さの異なる培養基質が神経幹細胞/前駆細胞 (NSPC) の分化に伴う形態変化に対してどのような影響を与えるか解析した。

【方法】 E14.5 ICR マウス終脳由来の NSPC を実験に用い、弾性率の異なる化学架橋コラーゲンゲルやポリアクリルアミドゲル上で分化誘導を行った。分化誘導後のサンプルを免疫染色し、NSPC から分化したアストロサイトの細胞形態を画像解析した。画像解析には形状認識プログラム IMAQ Vision を用い、glial fibrillary acidic protein 陽性のアストロサイトが展開した面積もとに比較した。さらに、各々の足場条件における分化細胞の細胞骨格制御因子である Rho ファミリー遺伝子の発現解析も行った。

【結果と考察】 化学架橋コラーゲンゲルでは、足場弾性率の変化に伴い分化したアストロサイトの移動に違いがみられ、貯蔵弾性率が高いゲルほど移動範囲は広がった。また、貯蔵弾性率が高いゲルほど Rho ファミリー遺伝子の発現も高くなっていた。コラーゲン修飾ポリアクリルアミドゲルでも同様の傾向が得られた。これらの結果から、ゲルの硬さによる機械的刺激が NSPC から分化した細胞の Rho ファミリー遺伝子の発現を活性化し、アストロサイトの移動・展開を促進したと考えられる。

## 参考文献

1. Adam J.Engler, Shamik Sen, H.Lee Sweeney, and Dennis E.Discher : Matix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification : Cell 126,677-689 (2006)
2. Dennis E.Discher,Dacid J.Mooney,Peter W.Zandstra : Growth Factors,Matrices,and Force Combine and Control Stem Cells : Science 324,1673-1677 (2009)



## リンパ腫誘発感受性を支配するマウス4番染色体上の2つの遺伝子座

阪府大院理学系生物科学 森展子\*

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9837 (内線) 3593、メール morin@b.s.osakafu-u.ac.jp)

放射線照射による発がん効果（がんの種類、頻度、発生時期）は、使用するマウスの系統によって大きく変化する。これは、遺伝的多型によるものであり、マウスを用いた放射線発がん実験によって得られた結果をヒトに外挿しようとするとき、大きな問題となる。本研究では、放射線のがん誘発効果におけるマウス系統差の原因である発がん感受性遺伝子（群）を明らかにし、放射線のヒト健康に及ぼす影響評価の標準化の一助とすることを目的とする。

これまでに、放射線によるリンパ腫誘発に高感受性の BALB/c 系統と抵抗性の STS 系統を組み合わせた遺伝交配系実験によって、放射線誘発リンパ腫感受性遺伝子を4番染色体上に位置づけた。また、BALB/c マウスの4番染色体の一部を STS マウスのそれで置き換えた、コンジェニック系統を複数作製し、4番染色体中央部からテロメア付近までの広い範囲を、リンパ腫感受性遺伝子領域から除外した。遺伝解析とコンジェニックマウスの解析とから、リンパ腫感受性遺伝子領域として限定された、4番染色体中央部からセントロメア近傍に広がる領域には、有意の関連性を示す二つの小領域が認められたことから、この領域には、リンパ腫感受性を支配する遺伝子が少なくとも2箇所があると推定された。このことを確かめるため、この小領域の一方に STS 由来部分を含むがもう一方の小領域には含まないコンジェニック系統を3系統作製し、コンジェニック系統またはそれと BALB/c との F2 交雑を放射線照射、それぞれの小領域に放射線リンパ腫感受性遺伝子が含まれるかをテストした。その結果、二つの小領域にそれぞれ、発がん感受性遺伝子が存在すると判明した。4番染色体中央部約 7Mb 領域には、発がんに関与を示す遺伝子が存在した。この領域よりセントロメア側約 11.4 Mb の範囲には、弱い関連を示す新規発がん感受性遺伝子座があった。候補遺伝子は、現在のところ不明である。一方、強い関連を示したもう一つの発がん感受性遺伝子領域には、細胞周期制御因子の一つで、ヒト T 細胞リンパ腫でホモ欠損が高頻度で見つかるがん抑制遺伝子 p16 があり、BALB/c マウスはこの遺伝子に機能微弱型変異があることが知られている(1)。これら2つの発がん感受性遺伝子座の同定を論文発表し(2)、今後、p16 を候補遺伝子として検討することとした。

### 本研究に関する研究発表（原著論文、その他報文、学会等報告）

- 1) 森展子「*Cdkn2a* と異なるマウス4番染色体新規発がん感受性遺伝子座」第68回日本癌学会総会, 2009年10月（横浜）
- 2) Mori, N. Two loci controlling susceptibility to radiation-induced lymphomagenesis on mouse chromosome 4: *Cdkn2a*, a candidate for one locus, and a novel locus distinct from *Cdkn2a*, *Radiat. Res.* **173**, 158-164 (2010)

## 香辛料の汚染細菌の放射線抵抗性と食肉類中での増殖回復挙動について

阪府大院・理・生物科学 古田雅一\*、向原岳、石川悦子、小池佳都子

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール [mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp](mailto:mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp))

### 【緒言】

生残菌を含む香辛料を生菌数が少ない殺菌済み加工食品に添加した場合の生残微生物の増殖挙動を検討することは、食品加工における効果的な微生物制御には必要不可欠であると考えられる。そこで本研究においては殺菌された香辛料に生存する微生物群が加工食品の中でどのような増殖パターンを示すか、放射線と過熱水蒸気について比較した。

### 【実験方法】

わが国で流通している香辛料の中から代表的なものとして市販の未殺菌及び過熱水蒸気殺菌済みの黒コショウ、パプリカ、セージをそれぞれ購入し、未殺菌の香辛料は大阪府立大学産学官連携機構放射線研究センターの<sup>60</sup>Coガンマ線照射施設において10 kGyまでの異なる線量を均質に照射した。

未殺菌、過熱水蒸気殺菌、放射線殺菌済みの試料25 gと回収液(0.05%Tween80, 0.1%ペプトン水)250 mLをフィルター付ストマッカー用袋に入れ、ストマッカー(サンプル容量400 mL、200ストローク/分)により2分間ブレンディングした。得られた試料中の一般生菌数、大腸菌群、真菌類の菌数を食品衛生検査指針に従って求めた。

さらに上記の香辛料試料をコーヒーマイルにより粉碎し(4 g)、市販のフードプロセッサーで20~30秒すりつぶした加工ソーセージ(17 g)に添加してサンプル瓶に入れ、良く混合させて30°Cで培養した。経日的に一瓶ずつ回収し、前述の方法により一般生菌数、大腸菌群、真菌類に属する微生物コロニーの変化を測定した。

### 【結果と考察】

<sup>60</sup>Coガンマ線照射後の殺菌効果は、10 kGy照射で十分加工食品に使用可能なレベル(1000個/g未満)まで殺菌できることを確認した。同時に生残菌の多くが芽胞を形成するBacillus属の細菌であることを顕微鏡観察およびBBLクリスタル簡易同定キットにより明らかにした。これらの試料を生菌数が少ないソーセージに添加し、生残菌の増殖パターンを計測したところ、放射線照射、加熱共にはほぼ類似の増殖挙動を示すことが示唆された。

今回用いた市販のソーセージからは一般生菌、酵母・カビ類、大腸菌群はいずれも検出されなかったが、経日的にサンプリングして菌数を評価したところ、培養と共に一般生菌数、酵母・カビ類の菌数は急激に増加し、培養2日後には試料1 g当り10<sup>8</sup>CFU以上に達した。一方、大腸菌群に関しては培養3日後も菌が検出されず、フードプロセッサーによる試料調製時においてソーセージには大腸菌群は存在しないことが示された。

以上の結果から過熱水蒸気殺菌、放射線殺菌いずれの処理を受けた黒コショウ、パプリカ、セージの生残菌はソーセージ中で未処理の菌の増殖レベルを超える増殖は示さないことが確認された。

#### **本研究に関する研究発表**

##### **1) Bacillus 属細菌の放射線抵抗性と香辛料における増殖挙動について**

○古田雅一<sup>1</sup>、浅野哲也<sup>1</sup>、富井恵奈美<sup>1</sup>、石川悦子<sup>1</sup>、保科美幸<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 阪府大院・理 <sup>2</sup> 阪府大院・生命環境)、2009 年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会、2009 年 10 月 30～31 日、琉球大学

## $\alpha$ -エラスチンの粒子形成とガンマ線架橋による安定化

阪府大院・理・生物科学 藤本真理、古田雅一\*

九工大院生命体工学 岡元孝二

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

### 【緒言】

天然のエラスチン $\alpha$ -elastin（ウシ項靱帯由来）水溶液は、一定温度以上に昇温すると凝集・微粒子化する特性がある。この特性を利用して $\alpha$ -elastinを凝集させガンマ線で架橋を行うことで、安定した架橋粒子が得られないかどうかについて検討した。

### 【実験方法】

ウシ項靱帯由来 $\alpha$ -エラスチン (Elastin Product Co, Inc.より購入)の凝集が十分確認できる濃度10 mg/mlになるように純水に溶解した。 $\alpha$ -エラスチン水溶液を4°Cまで冷却し、その後60°Cまで昇温し凝集させた。粒子化に最適な昇温速度を得るために次の方法を検討した。Slow Heating:30分かけて60°Cまで昇温、Fast Heating:10分かけて60°Cまで昇温、Heat Shock:瞬間的に60°Cまで昇温。 $\alpha$ -エラスチンを凝集させた後、凝集体の粒径を動的光散乱法を用いて測定した。さらに $\alpha$ -エラスチン水溶液を昇温後、60°Cに保持しながらガンマ線照射を行い架橋を試みた。ガンマ線照射後、架橋粒子の生成を確認し動的光散乱法を用いて粒径を測定した。

### 【結果と考察】

ガンマ線照射を行う前、Slow Heating では平均240 nm、Fast Heating では平均270 nm、Heat Shock では平均380 nmの $\alpha$ -エラスチン凝集体が得られた。ガンマ線照射を行うと、ガンマ線照射を行う前では $\alpha$ -エラスチンが溶解していた4°Cまで冷却しても $\alpha$ -エラスチン凝集体が溶解することはなかった。またSDS-PAGEよりガンマ線照射後はガンマ線照射前よりも分子量が増加していた。この結果からガンマ線によって架橋されたことが確認できた。架橋された $\alpha$ -エラスチン凝集体の大きさは60°Cでは平均400 nmで昇温速度の違いによる大きさの差はほとんど見られなかった。15°CではFast Heating、Heat Shockでは粒度分布が広がったがSlow Heatingでは粒度分布が狭く平均140 nmになった。また電子顕微鏡写真より球状の粒子の生成が確認できた。

### 本研究に関する研究発表

- 1)  $\alpha$ -エラスチンの粒子形成とガンマ線架橋による安定化、藤本真理<sup>1</sup>、岡元孝二<sup>2</sup>、古田雅一<sup>3</sup>（<sup>1</sup>大阪府立大学大学院理学系研究科、<sup>2</sup>九州工業大学大学院情報工学研究科生命情報工学研究科系、<sup>3</sup>大阪府立大学大学院理学系研究科）第82回日本生化学会大会、2009年10月21日～24日、神戸ポートアイランド
- 2) Effect of Concentration on the Formation of the  $\alpha$ -Elastin Nanoparticles by Gamma-ray Crosslinking, Mari Fujimoto, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta、第46回ペプチド討論会、平成21年11月4日(金)～6日(土)、

北九州国際会議場、北九州市、講演要旨集 pp. 87.

- 3) エラスチンの温度応答性と放射線架橋によるナノ粒子化、藤本真理、岡元孝二、古田雅一、第7回日本エラスチン研究会学術集会、平成21年12月4日(金)～5日(土)、北九州国際会議場、北九州市
- 4) Effect of gamma irradiation dose on the fabrication of  $\alpha$ -elastin nanoparticles by gamma-ray crosslinking, Mari Fujimoto, Mayuko Takeda, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta, 11<sup>th</sup> Pacific Polymer Conference (PPC11), 6-10, December (2009) Cairns Convention Centre, Cairns, Australia.
- 5) Effect of polypeptide concentration and gamma radiation dose on the fabrication of alpha-elastin nanoparticles by Gamma-ray Crosslinking ( $\alpha$ -エラスチンのナノ粒子化に及ぼすガンマ線量及び濃度の影響), Mari Fujimoto, Mayuko Takeda, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta, The 5<sup>th</sup> International Symposium on Material Cycling Engineering (第5回資源循環工学国際会議)、March 10-11, 2010, Osaka Prefecture University, Sakai, Osaka, JAPAN. P107-P108

## **Bacillus** 属細菌芽胞の増殖挙動・発芽過程に及ぼす放射線効果

阪府大院・理・生物科学 向原岳、古田雅一\*、石川悦子、小池佳都子

シスメックス株式会社 小田康雅、坂田孝

(\*本研究に関する連絡先：電話(内線)3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【緒言】食品の殺菌には主に加熱殺菌法が用いられているが、透過力が強く温度上昇が少ない放射線殺菌法が栄養成分や香気成分の劣化を防ぐために有効である。従って香辛料などの乾燥食品に対しては放射線殺菌の普及が進んできている。放射線殺菌においては照射量を増やせば殺菌効果はそれだけ上がるが、過剰な照射は食品を劣化させてしまうため、極力少ない線量で殺菌できれば有利である。自然界に普遍的に存在する *Bacillus* 属細菌は芽胞を形成することで大腸菌のような栄養型細菌よりも高い放射線抵抗性を示す。本研究では香辛料の代表的汚染菌である *Bacillus megaterium* 及び *Bacillus licheniformis* の芽胞を用いて、放射線照射による殺菌効果及び照射後の発芽増殖の挙動について検討した。

【実験】*B. megaterium* は2種類の標準株 (ATCC<sup>(R)</sup> No.8245 と NBRC No.15308) をそれぞれ芽胞形成培地に接種し 30°C で1週間培養後、形成した芽胞を回収した。*B. megaterium* の芽胞を生理食塩水で約  $1.0 \times 10^7$  cells/ml に希釈し、<sup>60</sup>Co  $\gamma$  線を照射後コロニーカウント法で生残率を求めた。また黒コショウから菌を回収して BBL クリスタル GP で菌種を同定し、その中で検出頻度が最も高かった *B. licheniformis* を *B. megaterium* と同様の手順で芽胞を調製し、生残率を求めた。次に *B. licheniformis* 芽胞と *B. megaterium* 芽胞に <sup>60</sup>Co  $\gamma$  線を照射して 37°C で振とう培養し、時間経過における濁度変化を分光光度計を用いて 10 分間隔で測定し、同時に発芽の過程を 1 時間ごとに位相差顕微鏡で観察した。

【結果と考察】コロニーカウント法によって得られた生残率を比較すると、*B. licheniformis* 芽胞は直線型の生残曲線を示したのに対し、*B. megaterium* 芽胞はシグモイド型の生残曲線を示した。このことから *B. megaterium* 芽胞の方が高い放射線抵抗性を有することが確認された。照射した黒コショウからは *B. licheniformis* が最も多く検出されたため、この芽胞と *B. megaterium* 芽胞の照射後の濁度変化を指標として発芽過程を比較すると、芽胞の発芽過程については非照射と照射した芽胞とで差は見られなかった。従って、 $\gamma$  線は芽胞の発芽過程そのものには影響を与えず、発芽後の増殖挙動に影響を与える可能性が示唆された。発芽後の増殖挙動については線量の増加に伴って増殖開始時期の遅延が見られた。ただし増殖開始の遅延の度合いが *B. megaterium* では一定の割合で増大したのに対し、*B. licheniformis* では線量に依存しなかった。このことは発芽後の損傷修復の様式が両者で異なる可能性を示唆するものである。

# イメージングプレートを用いた照射食品の自然放射能の分布の 可視化と食品照射の広聴活動への応用

阪府大院・理・生物科学 古田雅一\*

阪府大産学官 伊藤憲男

(\*本研究に関する連絡先：電話(内線) 3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

## 【緒言】

食品照射に利用できる放射線は、 $^{60}\text{Co}$ 、および  $^{137}\text{Cs}$  のガンマ線、エネルギーが 1000 万電子ボルト (10 MeV) 以下の電子線、エネルギーが 500 万電子ボルト (5 MeV) 以下のエックス線、が国際基準 (Codex 規格) において定められている。この範囲の放射線のエネルギーにおいては放射化の心配はないが、一般消費者にとってはいまだに懸念材料となっている。そこで本研究においては非照射及び  $^{60}\text{Co}$  ガンマ線照射を行った香辛料について今一度精密な放射能測定を行うとともに、イメージングプレートを用いて放射能の可視化を試み、照射試料と非照射試料の誘導放射能の有無を一般消費者にわかりやすく示せるかどうかを検討した。

## 【実験方法】

非照射および  $^{60}\text{Co}$  ガンマ線照射した黒胡椒 (41 g)、オレガノ (28 g)、オールスパイス (31 g)、パプリカ (37 g)、セージ (21 g) をそれぞれプラスチックシャーレに封入し、20 cm 厚みの鉄室内の低バックグラウンド環境下に設置したリチウムドリフトゲルマニウム検出器を用いて 100 ksec (27.8 時間) 測定した。波高分析装置 (Aptec 社製、Series 5000) により放射性核種を同定した。

また一部の試料をポリ袋に封入し、イメージングプレートに密着させ、低バックグラウンド下で室温にて露光し、一定期間後読取装置により画像を得た。

## 【結果と考察】

得られた波高分析パターンを分析し、10 kGy 照射試料と未照射試料に含まれる放射能を比較したところ、得られた放射能ピークはすべてウラン系列、トリウム系列の自然放射性核種、及び試料に含まれる  $^{40}\text{K}$  に由来することが明らかとなり、ガンマ線照射に起因する誘導放射能が検出されないことを再確認した。

これらの結果をよりわかりやすく一般消費者に示すための方策として現在黒コショウ、パプリカを用いてイメージングプレートによる自然放射能分布の画像化を行ったところ、37 日間露光した試料について一部鮮明な画像が得られた。現在、より鮮明な画像を得るためにそれぞれの試料に対して IP の感光条件の最適化を行っている。

## 本研究に関する研究発表

- 1) イメージングプレートを用いた照射食品の自然放射能の分布の可視化と食品照射の広聴活動への応用、大阪府大理 ○古田雅一 大阪府大産学官連携機構 伊藤憲男、日本原子力学会 2010 年春の年会、2010 年 3 月 26 日 (金) ~ 28 日 (日) 会場 茨城大学 水戸キャンパス

## 糖代謝を指標とした *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答機構の解析

阪府大院・理・生物科学 渡邊健、古田雅一\*

阪府大院・生命環境・応用生命 松井文彦、宮西順子、岸田正夫

シスメックス株式会社 小田康雅、坂田孝

(\*本研究に関する連絡先：電話(内線) 3542、メール [mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp](mailto:mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp))

### 【緒言】

環境中にはさまざまなストレスが存在し、生物はこれらのストレスに常に曝されている。そのような中で生物が生存し続けることができたのはストレスに対する防御機構を獲得したためと考えられている。真核生物のモデルである酵母はストレス応答の研究に多く用いられてきた。酵母を熱曝露したときには熱ショックタンパク質とともにトレハロースが蓄積され、この糖が熱耐性の獲得に非常に重要な物質であることがわかっている。また、トレハロースが細胞内に蓄積したときには過酸化水素( $H_2O_2$ )に対して抵抗性になるという報告もあることから、トレハロースが他の酸化ストレスに対しても防護効果があることが期待される。そこで我々は放射線の1つであるガンマ線に着目した。ガンマ線はそれ自体が細胞に損傷を与える直接作用とガンマ線が水分子と反応することで生じるフリーラジカルが細胞に損傷を与える間接作用の2通りの作用を有する。ガンマ線の間接作用は $H_2O_2$ と類似の作用で細胞に損傷を与えるため、トレハロースがガンマ線に対しても防護効果がある可能性が高いと考えられる。そこで本研究ではガンマ線に対する防護物質としてトレハロースが蓄積されるのかを検証した。さらにトレハロースが細胞内に蓄積したときにはガンマ線に対して抵抗性になるのか、トレハロース蓄積時にはどのような損傷を抑制されるのかを検証した。

### 【実験方法】

#### ①ガンマ線によるトレハロース蓄積の有無

対数増殖期まで培養した出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の野生株である BY4741 に 0.01~5 kGy までの  $^{60}Co$  ガンマ線を照射した。照射した細胞を熱水処理することでトレハロースを抽出し、酵素法にて定量した。

#### ②トレハロース細胞内蓄積時のガンマ線抵抗性

対数増殖期まで培養した出芽酵母の野生株(BY4741)とトレハロースを合成できない *TPS1* 欠損変異株( $\Delta tps1$ )に 40°C、20 分の熱処理をすると、野生株ではトレハロースが蓄積され、変異株では蓄積されない。熱前処理した、もしくはしていない両株に 1 kGy の  $^{60}Co$  ガンマ線を照射し、コロニーカウント法により生残率を測定した。

#### ③トレハロース蓄積時の細胞内 ROS レベル

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞に ROS 検出試薬  $H_2DCFDA$  を取り込ませた後、ガラスビーズで細胞を破砕して得られた抽出物の蛍光強度を測定した。



④トレハロース蓄積時の脂質過酸化

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞をガラスビーズで破碎して得られた抽出物をチオバルビツール酸(TBA)と反応させ、その生成物の特異的吸収を測定した。

⑤トレハロース蓄積時の DNA 二本鎖切断の生成

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞を低融点アガロースで包埋し、その状態で酵素処理することで染色体DNAを抽出した。抽出した染色体DNAをパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)にて電気泳動し、DSBの生成状態を観察した。

【結果と考察】

対数増殖期の野生株に 0.01~5 kGy のガンマ線を照射してもトレハロースは検出されなかったことから、ガンマ線に対するストレス応答物質としてトレハロースは蓄積されないことが確認できた。

野生株では熱処理後に 1 kGy のガンマ線を照射した場合の生残率が熱処理せずに直接ガンマ線を照射した場合の生残率に比べ7倍になった。一方、変異株では熱処理後に

1 kGy のガンマ線を照射した場合の生残率が熱処理せずに直接ガンマ線を照射した場合の生残率に比べ 2.5 倍になり、野生株よりも増加幅が小さかった(Fig. 1)。このことから、トレハロースが細胞内に蓄積したときにはガンマ線に対して抵抗性になることが示唆された。野生株のみにおいて、熱処理した場合の ROS レベルは熱未処理の場合よりも小さくなった。また

野生株と変異株の両株において、熱処理した場合の脂質過酸化の値は熱未処理の場合より小さくなったが、減少幅は野生株の方が大きかった。さらに野生株のみにおいて、熱処理した場合の DSB 生成は熱未処理の場合より少なかった(Fig. 2)。以上のことから、トレハロースが細胞内に蓄積したときには ROS レベルの増加、脂質過酸化と DSB の生成が抑制されることが示唆され、このことがガンマ線抵抗性の獲得に寄与したと考えられる。

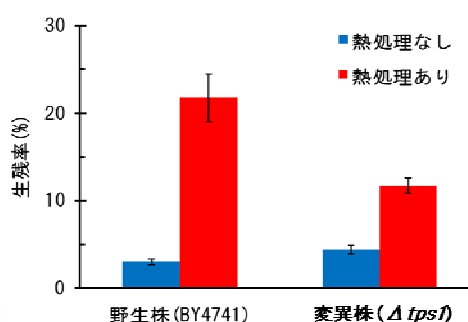


Fig. 2. 1 kGy 照射後の生残率

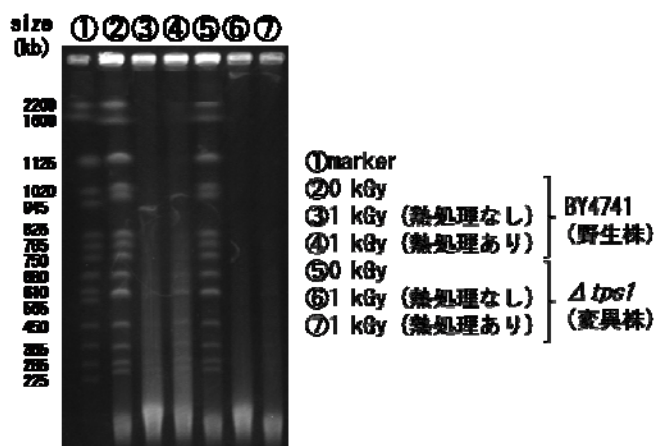


Fig. 3. 1 kGy 照射後の DSB 生成

## 本研究に関する研究発表

- 1) *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答機構の解析、松井文彦<sup>1</sup>、宮西順子<sup>1</sup>、渡邊健<sup>2</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、(<sup>1</sup>大阪府大院・生命環境、<sup>2</sup>大阪府大院・理・生科) 酵母遺伝学フォーラム第42回研究発表会、2009年7月28~30日、つくば ノバホール
- 2) *Saccharomyces cerevisiae* を用いた放射線障害応答機構の解明、松井文彦<sup>1</sup>、宮西順子<sup>1</sup>、渡邊健<sup>2</sup>、小田康雅<sup>3</sup>、坂田孝<sup>3</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、(<sup>1</sup>大阪府大院・生環・応生、<sup>2</sup>大阪府大院・理・生科、<sup>3</sup>シスメックス(株)) 日本防菌防黴学会第36回年次大会、2009年9月14~15日、千里ライフサイエンスセンター、吹田市
- 3) トレハロース産生を指標とした *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答、渡邊健<sup>2</sup>、松井文彦<sup>1</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、2009年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会、2009年10月30~31日、琉球大学
- 4) *Saccharomyces cerevisiae* におけるトレハロース蓄積時の放射線抵抗性  
大阪府立大学理学系研究科、渡邊健、古田雅一、大阪府立大学生命環境科学研究科、岸田正夫、日本農芸化学会2010年度大会、2010年3月27~30日、東京大学

## 乾燥ストレスが *Enterobacter sakazakii* の放射線感受性に与える影響

阪府大理生物 藤井夏日、古田雅一\*

(\*本研究に関する連絡先 : 電話 (内線) 3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

[緒言] *Enterobacter sakazakii* は環境に広く分布する腸内細菌科に属する菌のひとつで、とくに乳児用調製粉乳を介して乳幼児に感染し、髄膜炎や壊死性腸炎を引き起こす日和見性病原菌として知られている。本菌の熱耐性は他の腸内細菌科の菌 (*E. coli* など) とさほど変わらず、調製粉乳についていえば、使用する際に70°C以上のお湯で調乳することで殺菌が可能である。しかし一方で、乾燥に対してはとて強く、調製粉乳中で数年間にわたり生存したという報告がある<sup>[1]</sup>。熱に弱く乾燥に強いという特徴から、調製粉乳への汚染は、製造工程における熱殺菌後の乾燥処理や製品充填の過程、調整工程における二次汚染が大半を占めているものと考えられている。私たちは、製品が消費者の手にわたる前の段階で *E. sakazakii* の汚染レベルをより低く抑えられないかと考え、ガンマ線による殺菌に着目した。これは包装済みの製品に対しても有効で、かつ、品質劣化の少ない非加熱殺菌法として世界的にも高く評価されている。今回は、ガンマ線による殺菌を考える上で、乾燥環境下におかれた本菌がその放射線感受性をどのように変化させるのかについて、*E. coli* と比較検証した。

[実験] *E. sakazakii* (ATCC51329) を TSB 培地に、*E. coli* (K12) を LB 培地に植えてそれぞれ定常期まで培養した。このそれぞれに<sup>60</sup>Co ガンマ線を照射した後、平板培地に播き、翌日コロニーカウント法により生残率を求め、液体培地中における放射線感受性を評価した。乾燥環境下における放射線感受性の評価については、同様に定常期まで培養した菌液から遠心分離により菌体を回収し、シリカゲルを敷いたデシケート管内にて0、24、48時間放置するという乾燥ストレスを与えた。これにガンマ線を照射した後、コロニーカウント法により生残率を調べた。また、*E. sakazakii* が示す高い乾燥耐性には細胞内トレハロース蓄積が関与しているという報告がある<sup>[2]</sup>ことから、乾燥処理後のトレハロース含量を酵素法により測定し、トレハロース量と乾燥耐性、放射線抵抗性に相関関係が見られるのかどうかについても検証した。

[結果] 液体培地中で照射した場合の生残曲線は *E. sakazakii* と *E. coli* で差はなく、生残菌数は1 kGy あたりおよそ3 log CFU 減少し、D<sub>10</sub>値は0.4 kGy であった。乾燥状態で照射した場合の生残率は、*E. sakazakii* と *E. coli* とともに液体培地中よりも高い値を示し、生残菌数は *E. sakazakii* で1 kGy あたりおよそ1 log CFU の減少、*E. coli* でおよそ2 log CFU の減少であった。生残曲線は両者で異なる傾向を示し、*E. sakazakii* では乾燥処理時間が0時間から24、48時間と長くなるにつれて、D<sub>10</sub>値は0.6、0.8、1.1 kGy と変化し、放射線抵抗性の向上が見られた。一方、*E. coli* の D<sub>10</sub>値は乾燥処理時間に関わらず0.5~0.6 kGy を示し、放射線抵抗性の向上は見られなかった。放射線抵抗性の向上が見られた *E. sakazakii* についてトレハロース含量を測定したところ、乾燥処理時間によるトレハロース量の変化は見られなかった。

### 参考文献

[1] Caubilla Barron, Juncal Forsythe, Stephen J. (2007) *J. Food Prot.* 70:2111-2117.

[2] P. Breeuwer, A. Lardeau, M. Peterz and H.M. Joosten. (2003) *J. Appl. Microbiol.* 95:967-973.

## アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの崩壊と細胞脱離

福田一馬、上田英二\* (阪府大院 生物)

(\*本研究に関する連絡先：電話 (内線) 3616、mail: uheda@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物の細胞には細胞壁があり、それぞれの細胞は主にペクチンからなる中葉 (ミドルラメラ) を介して隣の細胞と接着している。ミドルラメラのペクチン分解とそれに伴う細胞脱離の現象は、アブシジョン (器官脱離)、根冠細胞の脱離、果実の成熟、花粉の形成など植物の生長過程で普遍的に見られる。しかし、ミドルラメラペクチンの構造は非常に複雑であり細胞接着の詳細は不明である。また、ミドルラメラペクチンの分解やそれに伴う細胞脱離の詳細についても不明な部分が多い。

私たちは、アカウキクサ (水生シダ) の根の離層細胞がアポプラストの pH に依存して脱離することを発見した。その後の研究によって、離層細胞のミドルラメラペクチンはアポプラスト pH に依存して分解されること、細胞脱離はミドルラメラペクチンの分解の結果起こることを明らかにした。ペクチンの分解にはおそらく細胞壁に存在する酵素が関与していると考えられるが、詳しいことは不明である。アポプラスト pH に依存したミドルラメラの分解はこれまで知られていなかった現象である。私たちは、この現象の詳細を明らかにすることができれば、ペクチンを介した植物細胞の接着や脱離についての新しい知見が得られるのではないかと考えている。

現在、アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの崩壊過程の詳細を明らかにするため以下の検討を行っている。

- ① 種々の薬剤、酵素を使って細胞脱離に及ぼす効果を検討している。
- ② 細胞の脱離に伴うミドルラメラペクチンの構造変化を、異なるペクチンエピトープを認識するモノクローナル抗体を使って解析している。
- ③ アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの分解は、アカウキクサ以外の植物でも認められる一般的な現象なのか否かについて、インゲン豆の細胞脱離系を新たに開発し検討を重ねている。

## オーキシン極性移動制御物質の探索 -生物検定系の開発-

大阪府立大学大学院 理学系研究科 上田純一\*

大阪府立大学 総合教育研究機構 宮本健助

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3596、メール ueda@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物の成長、発達に重要な役割を担っている植物ホルモンのオーキシン (Indole-3-acetic acid, IAA) は極性移動を示すことが知られている。現在まで、オーキシン極性移動制御物質としては、非天然型の化合物である 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA)、*N*-(1-naphthyl)phthalamic acid (NPA)、9-hydroxyfluorene-9-carboxylic acid (HFCA) がその阻害剤として知られているにすぎない。本研究においては、広く植物界より天然型のオーキシン極性移動制御物質を探索することを目的とした。特に本年度は、放射性オーキシンを用いて、そのための生物検定系の開発を目指した。

生物検定系開発のための供試植物として、明所で生育させたキュウリ (*Cucumis sativus* L.) 胚軸、ダイコン (*Raphanus sativus* L.) 胚軸、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) 花茎、暗所で生育させたトウモロコシ (*Zea mays* L.) 幼葉鞘および中胚軸、エンドウ (*Pisum sativum* L.) 上胚軸、アズキ (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi et H. Ohashi var. *angularis*) 上胚軸、オートムギ (*Avena sativa* L.) 幼葉鞘、イネ (*Oryza sativa* L.) 幼葉鞘を用いた。

American Radiolabeled Chemicals Inc. の [ $^{14}\text{C}$ ]IAA (3.7 MBq/ml) を 37 KBq/ml に調整し、1.5 ml エッペンドルフチューブに 25  $\mu\text{l}$  ずつ分注した。上記植物の各器官より 20 mm の切片を調整し、その頂端側から IAA を取り込ませ、暗所、室温にて 3、6、9、12、24 時間培養した。培養終了後、切片の他端 2 mm を切り出してバイアルに移し、液体シンチレーションカウンター (2 ml) を加えてそこに含まれる放射活性を測定した。

生物検定系開発に関する各種諸条件を考慮した結果、供試植物としては、播種後 5 日で実験に用いることが可能で、操作性および費用面でも有利と考えられる明所で生育させたダイコン芽生えの胚軸が検定植物として最適であることが明らかとなった。ダイコン胚軸切片におけるオーキシン極性移動を経時的に測定した結果、オーキシン極性移動の値は 3~9 時間までほぼ直線的に増加し、9 時間以降は実験終了時の 24 時間目までほぼ一定の値を示した。従って、オーキシン極性移動促進活性の探索には切片培養後 6 時間目に、阻害活性の探索には 9 時間目の放射活性を用いることとした。次年度以降、この生物検定系を用いて、植物界から天然型オーキシン極性移動制御物質を探索することとした。

### 参考文献

- 1) Kiyotaka Okada, Junichi Ueda Masako K. Komaki, Callum J. Bell and Yoshiro Shimura. Requirement of the auxin polar transport system in early stages of *Arabidopsis* floral bud formation. *Plant Cell*, 3:677-684 (1991)
- 2) Mariko Oka, Junichi Ueda, Kensuke Miyamoto, Ryoichi Yamamoto, Takayuki Hoson and Seiichiro Kamisaka. Effect of simulated microgravity on auxin polar transport in inflorescence axis of *Arabidopsis thaliana*. *Biol. Sci. Space*, 9:331-336 (1995)

## 植物の青色光受容体 phototropin の光感受性制御機構の解明

大阪府大・理学系研究科 岡島公司、嘉祥寺谷幸子、桂ひとみ、福岡翠、徳富哲\*

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4110、E-mail: toxa@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物にとって光環境変化に対する応答は重要である。フォトトロピン (phot)は植物の青色光受容体で、光屈性、気孔開口、葉緑体光定位運動などを制御している。Phot 分子は1分子の FMN を非共有的に結合した LOV ドメインを2つ (LOV1、LOV2) N 末端側にもち、Ser/Thr キナーゼドメインを C 末端側にもつ。暗所では主に LOV2 がキナーゼ活性を抑制している。FMN が青色光を吸収すると保存された Cys 残基と一過的に共有結合(アダクト)を形成し(S390 状態)、数秒から数分で元 (D450 状態)に戻るフォトサイクルを示す。アダクト形成に伴い LOV2 ドメインの構造変化が引き起こされると抑制が解かれキナーゼ活性が上昇する。アダクトが解消されると LOV2 は再びキナーゼを抑制する。このように LOV によってキナーゼ活性の光制御が行われる。phot はキナーゼ活性の上昇による自己リン酸化、さらに基質のリン酸化によってシグナルを下流に伝えると考えられる。シロイヌナズナには2つの phot (phot1, phot2) があり、phot1 は弱光から強光で働き、phot2 は強光で働くことが知られているが、こうした光感受性の違いに関して分子機構の解明はできていない。

我々はこれまでに大腸菌で発現・精製したシロイヌナズナの phot2 LOV2-キナーゼペプチドが光依存的にキナーゼ活性調節できることを確認している。本研究では、LOV2 の FMN 近傍にある Arg を Lys に置換した変異体 (R/K) を作製した。UV-可視吸収スペクトルの解析から R/K では S390 から D450 への回帰速度が約 10 倍速くなっていた。また、キナーゼ活性の光強度依存性を測定したところ、強光下でキナーゼの活性上昇が見られた。さらに、シロイヌナズナにおいて R/K 変異体を作製し、葉緑体定位運動の光強度依存性を測定した。葉緑体は光環境の違いにより細胞内での局在をかえる。暗所においては底面、弱光下では上面に集合、強光下では側面に局在する。R/K 変異株では WT よりも光感受性が悪くなり、強光下でも葉緑体の集合が見られ、さらに強い光では側面への局在が観察された。こうしたことから、phot において LOV2 ドメインのフォトサイクルにかかる時間が植物の光感受性を決める要因の一つになっていることが考えられる。

### <学会発表>

- 1) 岡島公司、嶋田崇史、松岡大介、徳富哲 (2009) 日本植物学会第37回大会 (山形)
- 2) 岡島公司 (2009) 第47回日本生物物理学会年会 (徳島)
- 3) K. Okajima, S. Kashojiya, M. Fukuoka, S. Tokutomi (2009)  
Memorial Symposium for the 25th International Prize for Biology (Kyoto)
- 4) 嘉祥寺谷幸子、岡島公司、徳富哲 (2010) 第51回日本植物生理学会年会 (熊本)
- 5) 福岡翠、岡島公司、桂ひとみ、徳富哲 (2010) 第51回日本植物生理学会年会 (熊本)

## マウス出血性水頭症原因遺伝子 *hhy* の解析

阪府大院理学系生物科学 森展子\*

阪府大院生命環境獣医病理学 平野隆爾、桑村充

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9837 (内線) 3593、メール morin@b.s.osakafu-u.ac.jp)

hemorrhagic hydrocephalus (*hhy*) 突然変異は、本学動物実験施設において遺伝子医学研究室が維持している、BALB/c マウスのバックグラウンドに生じた自然突然変異で、常染色体劣性遺伝性である。*hhy* ホモ接合体は、生後まもなく、ほぼ 100% の浸透率で水頭症を発症する。多くの症例で脳内に出血が認められるため、出血性水頭症と命名した。また、*hhy* ホモ接合体の大脳皮質下には必ず、異所性灰白質が見られ、この突然変異の水頭症の病因は、大脳皮質形成と密接に関係すると推測された。この突然変異は 12 番染色体上にあり、水頭症原因遺伝子として新規である(1)。この突然変異を、MSM に戻し交配し、*hhy*/+ヘテロ接合体として維持しながら、詳細マッピングを進め、これまでに、候補領域を 1Mb に絞った。この領域内に含まれる遺伝子の一つが、ゲノムに散在するレトロトランスポゾン様繰り返し配列との組換えによって破壊されていた (GenBank 登録済み)。この遺伝子がコードするたんぱくの細胞生物学的機能は、全くわかっていない。

私達は、HHY タンパクを大腸菌で発現させ、精製たんぱくを抗原として抗 HHY 抗体を作製した。これを用いて、正常マウス脳における HHY たんぱくの局在を調べた。その結果、HHY たんぱくは、胎仔期、新生仔期脳の第 3 脳室および側脳室表面にあり、生後数日のうちに消失した。脳内の他の部位にはなかった。胎仔の脳室面に存在する細胞は、ラジアルグリア細胞である。この細胞は、脳室側に短い突起をのびし、その頂端部で相互に結合し脳室表面を形成している。また、脳表面に向かって、ラジアルファイバーと呼ばれる放射状の長い突起を伸ばし、脳軟膜 (基底膜) に接着している。ラジアルグリア細胞は、不等分裂を繰り返しながらニューロン前駆細胞を産生する幹細胞であり、同時に、新生ニューロンの所定の位置への移動をガイドする皮質構築の支持細胞でもある。ラジアルグリア細胞は、皮質形成期には、幹細胞および支持細胞としてその形態と性質を維持しているが、生後急速に消失し、脳室面を覆う上皮細胞とアストログリアとに姿を変える。*hhy* 変異マウスでは、HHY たんぱくは検出されなかった。現在、HHY たんぱくの欠損とラジアルグリアの異常、水頭症との関係を、さまざまな角度から調べている。

### 本研究に関する研究発表 (原著論文、その他報文、学会等報告)

- 1) Kuwamura, M., Kinoshita, A., Okumoto, M., Yamate, J., Mori, N. Hemorrhagic hydrocephalus (*hhy*): a novel mutation on mouse chromosome 12, *Brain Res. Dev. Brain Res.* **152**, 69-72 (2004)
- 2) 森展子, 外岡武士, 永木恵美, 伊吹将人, 森田健治, 平野隆爾, 名部美琴, 桑村充, 山手丈至「出血性水頭症突然変異マウスの遺伝・病態解析」日本分子生物学会年会 2009 年 12 月 (横浜)

## 放射線誘発染色体不安定性と染色体内再構成との関係

大阪府立大学産学官連携機構 田辺正輝、白石一乗、児玉靖司\*

京都大学原子炉実験所 縄田寿克

鳥取大学大学院医学系研究科 押村光雄

(\*本研究に関する連絡先:電話(内線)4240、kodama@riast.osakafu-u.ac.jp)

### 【緒言】

放射線被ばくした生存細胞の子孫に遅延性染色体異常が誘発されることはよく知られている。そこで我々は、被ばくした1本のヒト染色体を被ばくしていないマウス受容細胞に移入する手法を用いて、被ばく染色体が遅延性染色体異常誘発にどのような役割を果たすのかを解析した。特に本研究では、放射線被ばくによる染色体不安定化に染色体内再構成がどのように関わるのかを明らかにするために、サブテロメア領域の不安定化との関連性について調べた。

### 【材料と方法】

遅延性染色体異常誘発に被ばく染色体が果たす役割を知るために、4Gyの軟X線を照射したヒト8番染色体をマウス不死化線維芽細胞に微小核融合法を用いて移入した。その後、微小核融合細胞における移入ヒト染色体の安定性を、ヒト染色体に特異的な蛍光DNAプローブを用いたFISH法により解析した。さらに染色体不安定化と染色体内再構成との関連性を調べるために、サブテロメアFISH法を用いてサブテロメア領域の不安定性について解析した。

### 【結果と考察】

被ばくしていないヒト8番染色体を移入した微小核融合細胞では、染色体移入後のヒト染色体の構造異常は見られなかった。このことは染色体移入過程で染色体構造が不安定化することはないことを示している。4Gy被ばくヒト8番染色体を移入した19種の微小核融合細胞について移入染色体の安定性を調べたところ、3種類以上の染色体異常が高い(88~98%)割合で生じている細胞が3種(16%)存在した。サブテロメアFISH法によって染色体内再構成を解析した結果、このうち1種で、8番染色体長腕による同腕染色体(i8q)が高頻度でみられた。以上の結果は、放射線による遅延性染色体異常の誘導と染色体内再構成との間には強い関連性が無いことを示唆している。



## マウス神経幹細胞における放射線損傷応答の解析

大阪府立大学産学官連携機構 寺本敬志、白石一乗、児玉靖司\*

大阪府立大学大学院理学系研究科生物科学専攻 原正之

(\*本研究に関する連絡先:電話(内線)4240、メール kodama@riast.osakafu-u.ac.jp)

### 【背景と目的】

難治性腫瘍の代表である神経膠芽細胞腫は放射線抵抗性である。その原因は腫瘍細胞中に存在するがん幹細胞が高い DNA 修復能と DNA 損傷応答能を持つことにあることが示唆されている。脳腫瘍幹細胞と神経幹細胞はともによく似た未分化細胞の特徴を有しているが、正常神経幹細胞の放射線損傷応答能はこれまでに調べられていない。そこで本研究では、マウス神経幹細胞の放射線損傷応答の特徴を明らかにするために、マウス神経幹細胞を CD133 陽性細胞と CD133 陰性細胞に分け、放射線によって誘発される DNA2 重鎖切断の修復動態について、リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) フォーカスを指標にして解析した。

### 【材料と方法】

ICR マウス胎児から線維芽細胞、また、胎児脳から神経幹細胞を含むニューロスフェア (NS) 形成細胞を分離して培養系に移した。神経幹細胞を濃縮するために、フィコエリトリン (PE) コンジュゲート抗 CD133 抗体を結合させ、さらに磁性体粒子結合抗 PE 抗体を用いて CD133 陽性細胞を磁性体化した。この磁性体化細胞を磁気カラムを用いて分取して神経幹細胞を濃縮した。得られた CD133 陽性、及び CD133 陰性 NS 形成細胞に 1 Gy の軟 X 線を照射し、照射直後(0 時間)から 12 時間後まで継時的に細胞をサンプリングした。その後、サイトスピンによってスライドガラス上に細胞を固定し、 $\gamma$ -H2AX フォーカスを可視化して定量した。対照として、マウス線維芽細胞を用いた。

### 【結果と考察】

1 Gy 照射直後の細胞当たりの DNA 2 重鎖切断数を  $\gamma$ -H2AX フォーカス数を指標にして比べたところ、線維芽細胞では細胞当たり平均 31 個なのに対し、NS 形成細胞では平均 23 個であり、有意な差がみられた。しかし、CD133 陽性細胞と陰性細胞との間には差がみられなかった。線維芽細胞と NS 形成細胞の細胞当たりの  $\gamma$ -H2AX フォーカス数の違いは X 線照射 1 時間後までみられ、NS 形成細胞で有意に低下していた。その後、両者の差は次第に小さくなり、12 時間後にはともにフォーカス数が細胞当たり 6 個程度になって差がなくなった。以上の結果は、マウス神経幹細胞と線維芽細胞では DNA 2 重鎖切断修復能に差があることを示唆している。このことはまた、がん幹細胞にみられる高い DNA 修復能が幹細胞の特徴に由来する可能性を示唆する。

## マウス神経幹細胞/前駆細胞のニューロスフェア形成過程の解析

阪府大院理 細胞組織工学研究 G 吉元菜々江、森英樹、原正之\*

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9842 (内線) 3602 メール hara@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【目的】 神経幹細胞/前駆細胞は未分化な状態を維持しながら増殖し続ける自己複製能と、ニューロン・アストロサイト・オリゴデンドロサイトという中枢神経系を構成する細胞への多分化能を併せ持つ、未分化な細胞として定義される。増殖因子を添加した無血清培養下では単一の細胞から分裂を繰り返し、ニューロスフェアという細胞集塊を形成しながら増殖・培養維持することができる<sup>[1]</sup>。しかし、ニューロスフェア形成が細胞の未分化状態の維持に影響することは報告されているものの、詳しいメカニズムについてはよく分かっていない<sup>[2]</sup>。そこで、本研究では神経幹細胞/前駆細胞の培養経過に伴うニューロスフェアの形態的特徴と、神経幹細胞の分化能の変化を解析した。

【方法】 ICR マウス (E14.5) 胎仔脳由来の神経幹細胞/前駆細胞を用い、無血清培地中で増殖させた。トリプシン処理により単一細胞化した後、細胞を再び無血清培地下に播種した。培養 0 日目から 5 日目までの計 6 日間、培養中の細胞を撮影し、それらの画像を基に培養経過に伴うニューロスフェアの大きさ及び数の変化を解析した。また、培養ディッシュから毎日細胞をサンプリングし、poly-L-ornithin (PLO) でコートしたガラス上にて、1%ウシ胎仔血清を含む培地でそれぞれ 7 日間分化誘導した。各条件において分化誘導した細胞を抗 tublin $\beta$ III (Tuj1) 抗体、抗 glial fibrillary acidic protein (GFAP) 抗体を用いて免疫染色した。染色した細胞を蛍光顕微鏡で観察した。

【結果と考察】 培養 2 日目から直径 70 $\mu$ m 以上の比較的大きなニューロスフェアが形成され始めたが、一視野あたりのニューロスフェアの個数を比較してみると、その密度は徐々に減少した。免疫染色した細胞を観察すると、単一細胞が多い 0 日目や 1 日目は GFAP 陽性細胞の伸展はあまり見られなかったが、3 日目以降は良く伸展している箇所が比較的多く観察された。また、Tuj1 陽性細胞も 10%程度観察されたが、形態的な違いが見られた。

以上のことから、ニューロスフェアは他のニューロスフェアや単一細胞と結合してより大きなニューロスフェアとなったため、大きさの分布は培養経過に伴い大きくなるが、密度は減少したと考えられる。また、単一細胞のみでは分化誘導してもあまり伸展せず、比較的大きなスフェアを多く含んでいた方が細胞の伸展が良いと考えられる。

### 参考文献

- 1) B. A.Reynolds, S. Weiss : Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the mammalian central nervous system : Science, 255, 1707-1710 (1992)
- 2) H.Mori.et al : Effect of neurosphere size on the growth rate of human neural stem/progenitor cells : Journal of Neuroscience Research, 8, 1682-1691 (2006)

# 弾性率の異なる足場材料上におけるマウス神経幹細胞に由来する アストロサイトの形態変化

阪府大院理 細胞組織工学研究 G 森英樹\*、原正之

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9842 (内線) 3618 メール morihide@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【目的】 生体組織は各々の組織を構成している細胞密度やそれらの細胞外のマトリクス成分や構造によって、組織部位の硬さは異なっている。近年、足場材料弾性率の変化に応じて組織幹細胞の分化傾向および形態が変化することが次々と報告されている<sup>(1,2)</sup>。この事は、培養基質の硬さが幹細胞の分化や形態変化を引き起こす物理的因子であることを示している。そこで、本研究では硬さの異なる培養基質が神経幹細胞/前駆細胞 (NSPC) の分化に伴う形態変化に対してどのような影響を与えるか解析した。

【方法】 E14.5 ICR マウス終脳由来の NSPC を実験に用い、弾性率の異なる化学架橋コラーゲンゲルやポリアクリルアミドゲル上で分化誘導を行った。分化誘導後のサンプルを免疫染色し、NSPC から分化したアストロサイトの細胞形態を画像解析した。画像解析には形状認識プログラム IMAQ Vision を用い、glial fibrillary acidic protein 陽性のアストロサイトが展開した面積もとに比較した。さらに、各々の足場条件における分化細胞の細胞骨格制御因子である Rho ファミリー遺伝子の発現解析も行った。

【結果と考察】 化学架橋コラーゲンゲルでは、足場弾性率の変化に伴い分化したアストロサイトの移動に違いがみられ、貯蔵弾性率が高いゲルほど移動範囲は広がった。また、貯蔵弾性率が高いゲルほど Rho ファミリー遺伝子の発現も高くなっていた。コラーゲン修飾ポリアクリルアミドゲルでも同様の傾向が得られた。これらの結果から、ゲルの硬さによる機械的刺激が NSPC から分化した細胞の Rho ファミリー遺伝子の発現を活性化し、アストロサイトの移動・展開を促進したと考えられる。

## 参考文献

1. Adam J.Engler, Shamik Sen, H.Lee Sweeney, and Dennis E.Discher : Matix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification : Cell 126,677-689 (2006)
2. Dennis E.Discher,Dacid J.Mooney,Peter W.Zandstra : Growth Factors,Matrices,and Force Combine and Control Stem Cells : Science 324,1673-1677 (2009)

## リンパ腫誘発感受性を支配するマウス4番染色体上の2つの遺伝子座

阪府大院理学系生物科学 森展子\*

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9837 (内線) 3593、メール morin@b.s.osakafu-u.ac.jp)

放射線照射による発がん効果(がんの種類、頻度、発生時期)は、使用するマウスの系統によって大きく変化する。これは、遺伝的多型によるものであり、マウスを用いた放射線発がん実験によって得られた結果をヒトに外挿しようとするとき、大きな問題となる。本研究では、放射線のがん誘発効果におけるマウス系統差の原因である発がん感受性遺伝子(群)を明らかにし、放射線のヒト健康に及ぼす影響評価の標準化の一助とすることを目的とする。

これまでに、放射線によるリンパ腫誘発に高感受性のBALB/c系統と抵抗性のSTS系統を組み合わせた遺伝交配系実験によって、放射線誘発リンパ腫感受性遺伝子を4番染色体上に位置づけた。また、BALB/cマウスの4番染色体の一部をSTSマウスのそれで置き換えた、コンジェニック系統を複数作製し、4番染色体中央部からテロメア付近までの広い範囲を、リンパ腫感受性遺伝子領域から除外した。遺伝解析とコンジェニックマウスの解析とから、リンパ腫感受性遺伝子領域として限定された、4番染色体中央部からセントロメア近傍に広がる領域には、有意の関連性を示す二つの小領域が認められたことから、この領域には、リンパ腫感受性を支配する遺伝子が少なくとも2箇所があると推定された。このことを確かめるため、この小領域の一方にSTS由来部分を含むがもう一方の小領域には含まないコンジェニック系統を3系統作製し、コンジェニック系統またはそれとBALB/cとのF2交雑を放射線照射、それぞれの小領域に放射線リンパ腫感受性遺伝子が含まれるかをテストした。その結果、二つの小領域にそれぞれ、発がん感受性遺伝子が存在すると判明した。4番染色体中央部約7Mb領域には、発がんに関与を示す遺伝子が存在した。この領域よりセントロメア側約11.4Mbの範囲には、弱い関連を示す新規発がん感受性遺伝子座があった。候補遺伝子は、現在のところ不明である。一方、強い関連を示したもう一つの発がん感受性遺伝子領域には、細胞周期制御因子の一つで、ヒトT細胞リンパ腫でホモ欠損が高頻度で見つかるがん抑制遺伝子p16があり、BALB/cマウスはこの遺伝子に機能微弱型変異があることが知られている(1)。これら2つの発がん感受性遺伝子座の同定を論文発表し(2)、今後、p16を候補遺伝子として検討することとした。

### 本研究に関する研究発表(原著論文、その他報文、学会等報告)

- 1) 森展子「*Cdkn2a*と異なるマウス4番染色体新規発がん感受性遺伝子座」第68回日本癌学会総会、2009年10月(横浜)
- 2) Mori, N. Two loci controlling susceptibility to radiation-induced lymphomagenesis on mouse chromosome 4: *Cdkn2a*, a candidate for one locus, and a novel locus distinct from *Cdkn2a*, *Radiat. Res.* **173**, 158-164 (2010)

## 香辛料の汚染細菌の放射線抵抗性と食肉類中での増殖回復挙動について

阪府大院・理・生物科学 古田雅一\*、向原岳、石川悦子、小池佳都子

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール [mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp](mailto:mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp))

### 【緒言】

生残菌を含む香辛料を生菌数が少ない殺菌済み加工食品に添加した場合の生残微生物の増殖挙動を検討することは、食品加工における効果的な微生物制御には必要不可欠であると考えられる。そこで本研究においては殺菌された香辛料に生存する微生物群が加工食品の中でどのような増殖パターンを示すか、放射線と過熱水蒸気について比較した。

### 【実験方法】

わが国で流通している香辛料の中から代表的なものとして市販の未殺菌及び過熱水蒸気殺菌済みの黒コショウ、パプリカ、セージをそれぞれ購入し、未殺菌の香辛料は大阪府立大学産学官連携機構放射線研究センターの<sup>60</sup>Coガンマ線照射施設において10 kGyまでの異なる線量を均質に照射した。

未殺菌、過熱水蒸気殺菌、放射線殺菌済みの試料25 gと回収液(0.05%Tween80, 0.1%ペプトン水)250 mLをフィルター付ストマッカー用袋に入れ、ストマッカー(サンプル容量400 mL、200ストローク/分)により2分間ブレンディングした。得られた試料中の一般生菌数、大腸菌群、真菌類の菌数を食品衛生検査指針に従って求めた。

さらに上記の香辛料試料をコーヒーマイルにより粉碎し(4 g)、市販のフードプロセッサーで20~30秒すりつぶした加工ソーセージ(17 g)に添加してサンプル瓶に入れ、良く混合させて30°Cで培養した。経日的に一瓶ずつ回収し、前述の方法により一般生菌数、大腸菌群、真菌類に属する微生物コロニーの変化を測定した。

### 【結果と考察】

<sup>60</sup>Coガンマ線照射後の殺菌効果は、10 kGy照射で十分加工食品に使用可能なレベル(1000個/g未満)まで殺菌できることを確認した。同時に生残菌の多くが芽胞を形成するBacillus属の細菌であることを顕微鏡観察およびBBLクリスタル簡易同定キットにより明らかにした。これらの試料を生菌数が少ないソーセージに添加し、生残菌の増殖パターンを計測したところ、放射線照射、加熱共にはほぼ類似の増殖挙動を示すことが示唆された。

今回用いた市販のソーセージからは一般生菌、酵母・カビ類、大腸菌群はいずれも検出されなかったが、経日的にサンプリングして菌数を評価したところ、培養と共に一般生菌数、酵母・カビ類の菌数は急激に増加し、培養2日後には試料1 g当り10<sup>8</sup>CFU以上に達した。一方、大腸菌群に関しては培養3日後も菌が検出されず、フードプロセッサーによる試料調製時においてソーセージには大腸菌群は存在しないことが示された。

以上の結果から過熱水蒸気殺菌、放射線殺菌いずれの処理を受けた黒コショウ、パプリカ、セージの生残菌はソーセージ中で未処理の菌の増殖レベルを超える増殖は示さないことが確認された。

#### **本研究に関する研究発表**

1) *Bacillus* 属細菌の放射線抵抗性と香辛料における増殖挙動について

○古田雅一<sup>1</sup>、浅野哲也<sup>1</sup>、富井恵奈美<sup>1</sup>、石川悦子<sup>1</sup>、保科美幸<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 阪府大院・理 <sup>2</sup> 阪府大院・生命環境)、2009 年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会、2009 年 10 月 30～31 日、琉球大学

## $\alpha$ -エラスチンの粒子形成とガンマ線架橋による安定化

阪府大院・理・生物科学 藤本真理、古田雅一\*

九工大院生命体工学 岡元孝二

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

### 【緒言】

天然のエラスチン $\alpha$ -elastin（ウシ項靱帯由来）水溶液は、一定温度以上に昇温すると凝集・微粒子化する特性がある。この特性を利用して $\alpha$ -elastinを凝集させガンマ線で架橋を行うことで、安定した架橋粒子が得られないかどうかについて検討した。

### 【実験方法】

ウシ項靱帯由来 $\alpha$ -エラスチン (Elastin Product Co, Inc.より購入)の凝集が十分確認できる濃度10 mg/mlになるように純水に溶解した。 $\alpha$ -エラスチン水溶液を4°Cまで冷却し、その後60°Cまで昇温し凝集させた。粒子化に最適な昇温速度を得るために次の方法を検討した。Slow Heating:30分かけて60°Cまで昇温、Fast Heating:10分かけて60°Cまで昇温、Heat Shock:瞬間的に60°Cまで昇温。 $\alpha$ -エラスチンを凝集させた後、凝集体の粒径を動的光散乱法を用いて測定した。さらに $\alpha$ -エラスチン水溶液を昇温後、60°Cに保持しながらガンマ線照射を行い架橋を試みた。ガンマ線照射後、架橋粒子の生成を確認し動的光散乱法を用いて粒径を測定した。

### 【結果と考察】

ガンマ線照射を行う前、Slow Heating では平均240 nm、Fast Heating では平均270 nm、Heat Shock では平均380 nmの $\alpha$ -エラスチン凝集体が得られた。ガンマ線照射を行うと、ガンマ線照射を行う前では $\alpha$ -エラスチンが溶解していた4°Cまで冷却しても $\alpha$ -エラスチン凝集体が溶解することはなかった。また SDS-PAGE よりガンマ線照射後はガンマ線照射前よりも分子量が増加していた。この結果からガンマ線によって架橋されたことが確認できた。架橋された $\alpha$ -エラスチン凝集体の大きさは60°Cでは平均400 nmで昇温速度の違いによる大きさの差はほとんど見られなかった。15°CではFast Heating、Heat Shock では粒度分布が広がったがSlow Heating では粒度分布が狭く平均140 nmになった。また電子顕微鏡写真より球状の粒子の生成が確認できた。

### 本研究に関する研究発表

- 1)  $\alpha$ -エラスチンの粒子形成とガンマ線架橋による安定化、藤本真理<sup>1</sup>、岡元孝二<sup>2</sup>、古田雅一<sup>3</sup>（<sup>1</sup>大阪府立大学大学院理学系研究科、<sup>2</sup>九州工業大学大学院情報工学研究科生命情報工学研究科系、<sup>3</sup>大阪府立大学大学院理学系研究科）第82回日本生化学会大会、2009年10月21日～24日、神戸ポートアイランド
- 2) Effect of Concentration on the Formation of the  $\alpha$ -Elastin Nanoparticles by Gamma-ray Crosslinking, Mari Fujimoto, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta、第46回ペプチド討論会、平成21年11月4日(金)～6日(土)、

北九州国際会議場、北九州市、講演要旨集 pp. 87.

- 3) エラスチンの温度応答性と放射線架橋によるナノ粒子化、藤本真理、岡元孝二、古田雅一、第7回日本エラスチン研究会学術集会、平成21年12月4日(金)～5日(土)、北九州国際会議場、北九州市
- 4) Effect of gamma irradiation dose on the fabrication of  $\alpha$ -elastin nanoparticles by gamma-ray crosslinking, Mari Fujimoto, Mayuko Takeda, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta, 11<sup>th</sup> Pacific Polymer Conference (PPC11), 6-10, December (2009) Cairns Convention Centre, Cairns, Australia.
- 5) Effect of polypeptide concentration and gamma radiation dose on the fabrication of alpha-elastin nanoparticles by Gamma-ray Crosslinking ( $\alpha$ -エラスチンのナノ粒子化に及ぼすガンマ線量及び濃度の影響), Mari Fujimoto, Mayuko Takeda, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta, The 5<sup>th</sup> International Symposium on Material Cycling Engineering (第5回資源循環工学国際会議)、March 10-11, 2010, Osaka Prefecture University, Sakai, Osaka, JAPAN. P107-P108



## **Bacillus** 属細菌芽胞の増殖挙動・発芽過程に及ぼす放射線効果

阪府大院・理・生物科学 向原岳、古田雅一\*、石川悦子、小池佳都子

シスメックス株式会社 小田康雅、坂田孝

(\*本研究に関する連絡先：電話(内線)3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【緒言】食品の殺菌には主に加熱殺菌法が用いられているが、透過力が強く温度上昇が少ない放射線殺菌法が栄養成分や香気成分の劣化を防ぐために有効である。従って香辛料などの乾燥食品に対しては放射線殺菌の普及が進んできている。放射線殺菌においては照射量を増やせば殺菌効果はそれだけ上がるが、過剰な照射は食品を劣化させてしまうため、極力少ない線量で殺菌できれば有利である。自然界に普遍的に存在する *Bacillus* 属細菌は芽胞を形成することで大腸菌のような栄養型細菌よりも高い放射線抵抗性を示す。本研究では香辛料の代表的汚染菌である *Bacillus megaterium* 及び *Bacillus licheniformis* の芽胞を用いて、放射線照射による殺菌効果及び照射後の発芽増殖の挙動について検討した。

【実験】*B. megaterium* は2種類の標準株 (ATCC<sup>(R)</sup> No.8245 と NBRC No.15308) をそれぞれ芽胞形成培地に接種し 30°C で1週間培養後、形成した芽胞を回収した。*B. megaterium* の芽胞を生理食塩水で約  $1.0 \times 10^7$  cells/ml に希釈し、<sup>60</sup>Co  $\gamma$  線を照射後コロニーカウント法で生残率を求めた。また黒コショウから菌を回収して BBL クリスタル GP で菌種を同定し、その中で検出頻度が最も高かった *B. licheniformis* を *B. megaterium* と同様の手順で芽胞を調製し、生残率を求めた。次に *B. licheniformis* 芽胞と *B. megaterium* 芽胞に <sup>60</sup>Co  $\gamma$  線を照射して 37°C で振とう培養し、時間経過における濁度変化を分光光度計を用いて 10 分間隔で測定し、同時に発芽の過程を 1 時間ごとに位相差顕微鏡で観察した。

【結果と考察】コロニーカウント法によって得られた生残率を比較すると、*B. licheniformis* 芽胞は直線型の生残曲線を示したのに対し、*B. megaterium* 芽胞はシグモイド型の生残曲線を示した。このことから *B. megaterium* 芽胞の方が高い放射線抵抗性を有することが確認された。照射した黒コショウからは *B. licheniformis* が最も多く検出されたため、この芽胞と *B. megaterium* 芽胞の照射後の濁度変化を指標として発芽過程を比較すると、芽胞の発芽過程については非照射と照射した芽胞とで差は見られなかった。従って、 $\gamma$  線は芽胞の発芽過程そのものには影響を与えず、発芽後の増殖挙動に影響を与える可能性が示唆された。発芽後の増殖挙動については線量の増加に伴って増殖開始時期の遅延が見られた。ただし増殖開始の遅延の度合いが *B. megaterium* では一定の割合で増大したのに対し、*B. licheniformis* では線量に依存しなかった。このことは発芽後の損傷修復の様式が両者で異なる可能性を示唆するものである。

# イメージングプレートを用いた照射食品の自然放射能の分布の 可視化と食品照射の広聴活動への応用

阪府大院・理・生物科学 古田雅一\*

阪府大産学官 伊藤憲男

(\*本研究に関する連絡先：電話(内線) 3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

## 【緒言】

食品照射に利用できる放射線は、 $^{60}\text{Co}$ 、および $^{137}\text{Cs}$ のガンマ線、エネルギーが1000万電子ボルト(10 MeV)以下の電子線、エネルギーが500万電子ボルト(5 MeV)以下のエックス線、が国際基準(Codex 規格)において定められている。この範囲の放射線のエネルギーにおいては放射化の心配はないが、一般消費者にとってはいまだに懸念材料となっている。そこで本研究においては非照射及び $^{60}\text{Co}$ ガンマ線照射を行った香辛料について今一度精密な放射能測定を行うとともに、イメージングプレートを用いて放射能の可視化を試み、照射試料と非照射試料の誘導放射能の有無を一般消費者にわかりやすく示せるかどうかを検討した。

## 【実験方法】

非照射および $^{60}\text{Co}$ ガンマ線照射した黒胡椒(41 g)、オレガノ(28 g)、オールスパイス(31 g)、パプリカ(37 g)、セージ(21 g)をそれぞれプラスチックシャーレに封入し、20 cm厚みの鉄室内の低バックグラウンド環境下に設置したリチウムドリフトゲルマニウム検出器を用いて100 ksec(27.8時間)測定した。波高分析装置(Aptec社製、Series 5000)により放射性核種を同定した。

また一部の試料をポリ袋に封入し、イメージングプレートに密着させ、低バックグラウンド下で室温にて露光し、一定期間後読取装置により画像を得た。

## 【結果と考察】

得られた波高分析パターンを分析し、10 kGy照射試料と未照射試料に含まれる放射能を比較したところ、得られた放射能ピークはすべてウラン系列、トリウム系列の自然放射性核種、及び試料に含まれる $^{40}\text{K}$ に由来することが明らかとなり、ガンマ線照射に起因する誘導放射能が検出されないことを再確認した。

これらの結果をよりわかりやすく一般消費者に示すための方策として現在黒コショウ、パプリカを用いてイメージングプレートによる自然放射能分布の画像化を行ったところ、37日間露光した試料について一部鮮明な画像が得られた。現在、より鮮明な画像を得るためにそれぞれの試料に対してIPの感光条件の最適化を行っている。

## 本研究に関する研究発表

- 1) イメージングプレートを用いた照射食品の自然放射能の分布の可視化と食品照射の広聴活動への応用、大阪府大理 ○古田雅一 大阪府大産学官連携機構 伊藤憲男、日本原子力学会 2010年春の年会、2010年3月26日(金)~28日(日) 会場 茨城大学 水戸キャンパス

## 糖代謝を指標とした *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答機構の解析

阪府大院・理・生物科学 渡邊健、古田雅一\*

阪府大院・生命環境・応用生命 松井文彦、宮西順子、岸田正夫

シスメックス株式会社 小田康雅、坂田孝

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール [mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp](mailto:mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp))

### 【緒言】

環境中にはさまざまなストレスが存在し、生物はこれらのストレスに常に曝されている。そのような中で生物が生存し続けることができたのはストレスに対する防御機構を獲得したためと考えられている。真核生物のモデルである酵母はストレス応答の研究に多く用いられてきた。酵母を熱曝露したときには熱ショックタンパク質とともにトレハロースが蓄積され、この糖が熱耐性の獲得に非常に重要な物質であることがわかっている。また、トレハロースが細胞内に蓄積したときには過酸化水素( $H_2O_2$ )に対して抵抗性になるという報告もあることから、トレハロースが他の酸化ストレスに対しても防護効果があることが期待される。そこで我々は放射線の1つであるガンマ線に着目した。ガンマ線はそれ自体が細胞に損傷を与える直接作用とガンマ線が水分子と反応することで生じるフリーラジカルが細胞に損傷を与える間接作用の2通りの作用を有する。ガンマ線の間接作用は $H_2O_2$ と類似の作用で細胞に損傷を与えるため、トレハロースがガンマ線に対しても防護効果がある可能性が高いと考えられる。そこで本研究ではガンマ線に対する防護物質としてトレハロースが蓄積されるのかを検証した。さらにトレハロースが細胞内に蓄積したときにはガンマ線に対して抵抗性になるのか、トレハロース蓄積時にはどのような損傷を抑制されるのかを検証した。

### 【実験方法】

#### ①ガンマ線によるトレハロース蓄積の有無

対数増殖期まで培養した出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の野生株である BY4741 に 0.01~5 kGy までの  $^{60}Co$  ガンマ線を照射した。照射した細胞を熱水処理することでトレハロースを抽出し、酵素法にて定量した。

#### ②トレハロース細胞内蓄積時のガンマ線抵抗性

対数増殖期まで培養した出芽酵母の野生株(BY4741)とトレハロースを合成できない *TPS1* 欠損変異株( $\Delta tps1$ )に 40°C、20 分の熱処理をすると、野生株ではトレハロースが蓄積され、変異株では蓄積されない。熱前処理した、もしくはしていない両株に 1 kGy の  $^{60}Co$  ガンマ線を照射し、コロニーカウント法により生残率を測定した。

#### ③トレハロース蓄積時の細胞内 ROS レベル

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞に ROS 検出試薬  $H_2DCFDA$  を取り込ませた後、ガラスビーズで細胞を破砕して得られた抽出物の蛍光強度を測定した。

④トレハロース蓄積時の脂質過酸化

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞をガラスビーズで破碎して得られた抽出物をチオバルビツール酸(TBA)と反応させ、その生成物の特異的吸収を測定した。

⑤トレハロース蓄積時の DNA 二本鎖切断の生成

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞を低融点アガロースで包埋し、その状態で酵素処理することで染色体DNAを抽出した。抽出した染色体DNAをパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)にて電気泳動し、DSBの生成状態を観察した。

【結果と考察】

対数増殖期の野生株に 0.01~5 kGy のガンマ線を照射してもトレハロースは検出されなかったことから、ガンマ線に対するストレス応答物質としてトレハロースは蓄積されないことが確認できた。

野生株では熱処理後に 1 kGy のガンマ線を照射した場合の生残率が熱処理せずに直接ガンマ線を照射した場合の生残率に比べ7倍になった。一方、変異株では熱処理後に

1 kGy のガンマ線を照射した場合の生残率が熱処理せずに直接ガンマ線を照射した場合の生残率に比べ 2.5 倍になり、野生株よりも増加幅が小さかった(Fig. 1)。このことから、トレハロースが細胞内に蓄積したときにはガンマ線に対して抵抗性になることが示唆された。野生株のみにおいて、熱処理した場合の ROS レベルは熱未処理の場合よりも小さくなった。また

野生株と変異株の両株において、熱処理した場合の脂質過酸化の値は熱未処理の場合より小さくなったが、減少幅は野生株の方が大きかった。さらに野生株のみにおいて、熱処理した場合の DSB 生成は熱未処理の場合より少なかった(Fig. 2)。以上のことから、トレハロースが細胞内に蓄積したときには ROS レベルの増加、脂質過酸化と DSB の生成が抑制されることが示唆され、このことがガンマ線抵抗性の獲得に寄与したと考えられる。

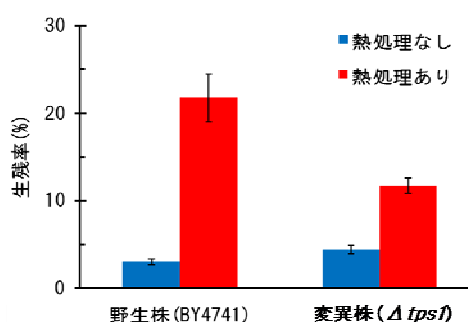


Fig. 2. 1 kGy 照射後の生残率

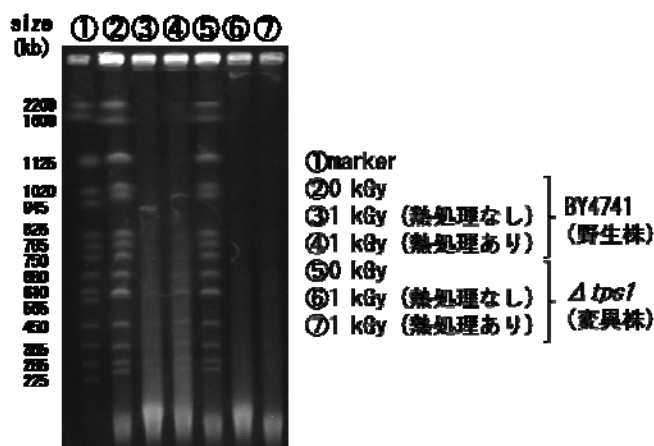


Fig. 3. 1 kGy 照射後の DSB 生成

## 本研究に関する研究発表

- 1) *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答機構の解析、松井文彦<sup>1</sup>、宮西順子<sup>1</sup>、渡邊健<sup>2</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、(<sup>1</sup>大阪府大院・生命環境、<sup>2</sup>大阪府大院・理・生科) 酵母遺伝学フォーラム第42回研究発表会、2009年7月28~30日、つくば ノバホール
- 2) *Saccharomyces cerevisiae* を用いた放射線障害応答機構の解明、松井文彦<sup>1</sup>、宮西順子<sup>1</sup>、渡邊健<sup>2</sup>、小田康雅<sup>3</sup>、坂田孝<sup>3</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、(<sup>1</sup>大阪府大院・生環・応生、<sup>2</sup>大阪府大院・理・生科、<sup>3</sup>シスメックス(株)) 日本防菌防黴学会第36回年次大会、2009年9月14~15日、千里ライフサイエンスセンター、吹田市
- 3) トレハロース産生を指標とした *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答、渡邊健<sup>2</sup>、松井文彦<sup>1</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、2009年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会、2009年10月30~31日、琉球大学
- 4) *Saccharomyces cerevisiae* におけるトレハロース蓄積時の放射線抵抗性  
大阪府立大学理学系研究科、渡邊健、古田雅一、大阪府立大学生命環境科学研究科、岸田正夫、日本農芸化学会2010年度大会、2010年3月27~30日、東京大学

## 乾燥ストレスが *Enterobacter sakazakii* の放射線感受性に与える影響

阪府大理生物 藤井夏日、古田雅一\*

(\*本研究に関する連絡先 : 電話 (内線) 3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

[緒言] *Enterobacter sakazakii* は環境に広く分布する腸内細菌科に属する菌のひとつで、とくに乳児用調製粉乳を介して乳幼児に感染し、髄膜炎や壊死性腸炎を引き起こす日和見性病原菌として知られている。本菌の熱耐性は他の腸内細菌科の菌 (*E. coli* など) とさほど変わらず、調製粉乳についていえば、使用する際に70°C以上のお湯で調乳することで殺菌が可能である。しかし一方で、乾燥に対してはとて強く、調製粉乳中で数年間にわたり生存したという報告がある<sup>[1]</sup>。熱に弱く乾燥に強いという特徴から、調製粉乳への汚染は、製造工程における熱殺菌後の乾燥処理や製品充填の過程、調整工程における二次汚染が大半を占めているものと考えられている。私たちは、製品が消費者の手にわたる前の段階で *E. sakazakii* の汚染レベルをより低く抑えられないかと考え、ガンマ線による殺菌に着目した。これは包装済みの製品に対しても有効で、かつ、品質劣化の少ない非加熱殺菌法として世界的にも高く評価されている。今回は、ガンマ線による殺菌を考える上で、乾燥環境下におかれた本菌がその放射線感受性をどのように変化させるのかについて、*E. coli* と比較検証した。

[実験] *E. sakazakii* (ATCC51329) を TSB 培地に、*E. coli* (K12) を LB 培地に植えてそれぞれ定常期まで培養した。このそれぞれに<sup>60</sup>Co ガンマ線を照射した後、平板培地に播き、翌日コロニーカウント法により生残率を求め、液体培地中における放射線感受性を評価した。乾燥環境下における放射線感受性の評価については、同様に定常期まで培養した菌液から遠心分離により菌体を回収し、シリカゲルを敷いたデシケート管内にて0、24、48時間放置するという乾燥ストレスを与えた。これにガンマ線を照射した後、コロニーカウント法により生残率を調べた。また、*E. sakazakii* が示す高い乾燥耐性には細胞内トレハロース蓄積が関与しているという報告がある<sup>[2]</sup>ことから、乾燥処理後のトレハロース含量を酵素法により測定し、トレハロース量と乾燥耐性、放射線抵抗性に相関関係が見られるのかどうかについても検証した。

[結果] 液体培地中で照射した場合の生残曲線は *E. sakazakii* と *E. coli* で差はなく、生残菌数は1 kGy あたりおよそ3 log CFU 減少し、D<sub>10</sub>値は0.4 kGy であった。乾燥状態で照射した場合の生残率は、*E. sakazakii* と *E. coli* とともに液体培地中よりも高い値を示し、生残菌数は *E. sakazakii* で1 kGy あたりおよそ1 log CFU の減少、*E. coli* でおよそ2 log CFU の減少であった。生残曲線は両者で異なる傾向を示し、*E. sakazakii* では乾燥処理時間が0時間から24、48時間と長くなるにつれて、D<sub>10</sub>値は0.6、0.8、1.1 kGy と変化し、放射線抵抗性の向上が見られた。一方、*E. coli* の D<sub>10</sub>値は乾燥処理時間に関わらず0.5~0.6 kGy を示し、放射線抵抗性の向上は見られなかった。放射線抵抗性の向上が見られた *E. sakazakii* についてトレハロース含量を測定したところ、乾燥処理時間によるトレハロース量の変化は見られなかった。

### 参考文献

[1] Caubilla Barron, Juncal Forsythe, Stephen J. (2007) *J. Food Prot.* 70:2111-2117.

[2] P. Breeuwer, A. Lardeau, M. Peterz and H.M. Joosten. (2003) *J. Appl. Microbiol.* 95:967-973.

## アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの崩壊と細胞脱離

福田一馬、上田英二\* (阪府大院 生物)

(\*本研究に関する連絡先：電話 (内線) 3616、mail: uheda@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物の細胞には細胞壁があり、それぞれの細胞は主にペクチンからなる中葉 (ミドルラメラ) を介して隣の細胞と接着している。ミドルラメラのペクチン分解とそれに伴う細胞脱離の現象は、アブシジョン (器官脱離)、根冠細胞の脱離、果実の成熟、花粉の形成など植物の生長過程で普遍的に見られる。しかし、ミドルラメラペクチンの構造は非常に複雑であり細胞接着の詳細は不明である。また、ミドルラメラペクチンの分解やそれに伴う細胞脱離の詳細についても不明な部分が多い。

私たちは、アカウキクサ (水生シダ) の根の離層細胞がアポプラストの pH に依存して脱離することを発見した。その後の研究によって、離層細胞のミドルラメラペクチンはアポプラスト pH に依存して分解されること、細胞脱離はミドルラメラペクチンの分解の結果起こることを明らかにした。ペクチンの分解にはおそらく細胞壁に存在する酵素が関与していると考えられるが、詳しいことは不明である。アポプラスト pH に依存したミドルラメラの分解はこれまで知られていなかった現象である。私たちは、この現象の詳細を明らかにすることができれば、ペクチンを介した植物細胞の接着や脱離についての新しい知見が得られるのではないかと考えている。

現在、アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの崩壊過程の詳細を明らかにするため以下の検討を行っている。

- ① 種々の薬剤、酵素を使って細胞脱離に及ぼす効果を検討している。
- ② 細胞の脱離に伴うミドルラメラペクチンの構造変化を、異なるペクチンエピトープを認識するモノクローナル抗体を使って解析している。
- ③ アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの分解は、アカウキクサ以外の植物でも認められる一般的な現象なのか否かについて、インゲン豆の細胞脱離系を新たに開発し検討を重ねている。

## オーキシン極性移動制御物質の探索 -生物検定系の開発-

大阪府立大学大学院 理学系研究科 上田純一\*

大阪府立大学 総合教育研究機構 宮本健助

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3596、メール ueda@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物の成長、発達に重要な役割を担っている植物ホルモンのオーキシン (Indole-3-acetic acid, IAA) は極性移動を示すことが知られている。現在まで、オーキシン極性移動制御物質としては、非天然型の化合物である 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA)、*N*-(1-naphthyl)phthalamic acid (NPA)、9-hydroxyfluorene-9-carboxylic acid (HFCA) がその阻害剤として知られているにすぎない。本研究においては、広く植物界より天然型のオーキシン極性移動制御物質を探索することを目的とした。特に本年度は、放射性オーキシンを用いて、そのための生物検定系の開発を目指した。

生物検定系開発のための供試植物として、明所で生育させたキュウリ (*Cucumis sativus* L.) 胚軸、ダイコン (*Raphanus sativus* L.) 胚軸、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) 花茎、暗所で生育させたトウモロコシ (*Zea mays* L.) 幼葉鞘および中胚軸、エンドウ (*Pisum sativum* L.) 上胚軸、アズキ (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi et H. Ohashi var. *angularis*) 上胚軸、オートムギ (*Avena sativa* L.) 幼葉鞘、イネ (*Oryza sativa* L.) 幼葉鞘を用いた。

American Radiolabeled Chemicals Inc. の [ $^{14}\text{C}$ ]IAA (3.7 MBq/ml) を 37 KBq/ml に調整し、1.5 ml エッペンドルフチューブに 25  $\mu\text{l}$  ずつ分注した。上記植物の各器官より 20 mm の切片を調整し、その頂端側から IAA を取り込ませ、暗所、室温にて 3、6、9、12、24 時間培養した。培養終了後、切片の他端 2 mm を切り出してバイアルに移し、液体シンチレーションカウンター (2 ml) を加えてそこに含まれる放射活性を測定した。

生物検定系開発に関する各種諸条件を考慮した結果、供試植物としては、播種後 5 日で実験に用いることが可能で、操作性および費用面でも有利と考えられる明所で生育させたダイコン芽生えの胚軸が検定植物として最適であることが明らかとなった。ダイコン胚軸切片におけるオーキシン極性移動を経時的に測定した結果、オーキシン極性移動の値は 3~9 時間までほぼ直線的に増加し、9 時間以降は実験終了時の 24 時間目までほぼ一定の値を示した。従って、オーキシン極性移動促進活性の探索には切片培養後 6 時間目に、阻害活性の探索には 9 時間目の放射活性を用いることとした。次年度以降、この生物検定系を用いて、植物界から天然型オーキシン極性移動制御物質を探索することとした。

### 参考文献

- 1) Kiyotaka Okada, Junichi Ueda Masako K. Komaki, Callum J. Bell and Yoshiro Shimura. Requirement of the auxin polar transport system in early stages of *Arabidopsis* floral bud formation. *Plant Cell*, 3:677-684 (1991)
- 2) Mariko Oka, Junichi Ueda, Kensuke Miyamoto, Ryoichi Yamamoto, Takayuki Hoson and Seiichiro Kamisaka. Effect of simulated microgravity on auxin polar transport in inflorescence axis of *Arabidopsis thaliana*. *Biol. Sci. Space*, 9:331-336 (1995)



## 植物の青色光受容体 phototropin の光感受性制御機構の解明

大阪府大・理学系研究科 岡島公司、嘉祥寺谷幸子、桂ひとみ、福岡翠、徳富哲\*

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4110、E-mail: toxa@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物にとって光環境変化に対する応答は重要である。フォトトロピン (phot)は植物の青色光受容体で、光屈性、気孔開口、葉緑体光定位運動などを制御している。Phot 分子は1分子の FMN を非共有的に結合した LOV ドメインを2つ (LOV1、LOV2) N 末端側にもち、Ser/Thr キナーゼドメインを C 末端側にもつ。暗所では主に LOV2 がキナーゼ活性を抑制している。FMN が青色光を吸収すると保存された Cys 残基と一過的に共有結合(アダクト)を形成し(S390 状態)、数秒から数分で元 (D450 状態)に戻るフォトサイクルを示す。アダクト形成に伴い LOV2 ドメインの構造変化が引き起こされると抑制が解かれキナーゼ活性が上昇する。アダクトが解消されると LOV2 は再びキナーゼを抑制する。このように LOV によってキナーゼ活性の光制御が行われる。phot はキナーゼ活性の上昇による自己リン酸化、さらに基質のリン酸化によってシグナルを下流に伝えると考えられる。シロイヌナズナには2つの phot (phot1, phot2) があり、phot1 は弱光から強光で働き、phot2 は強光で働くことが知られているが、こうした光感受性の違いに関して分子機構の解明はできていない。

我々はこれまでに大腸菌で発現・精製したシロイヌナズナの phot2 LOV2-キナーゼペプチドが光依存的にキナーゼ活性調節できることを確認している。本研究では、LOV2 の FMN 近傍にある Arg を Lys に置換した変異体 (R/K) を作製した。UV-可視吸収スペクトルの解析から R/K では S390 から D450 への回帰速度が約 10 倍速くなっていた。また、キナーゼ活性の光強度依存性を測定したところ、強光下でキナーゼの活性上昇が見られた。さらに、シロイヌナズナにおいて R/K 変異体を作製し、葉緑体定位運動の光強度依存性を測定した。葉緑体は光環境の違いにより細胞内での局在をかえる。暗所においては底面、弱光下では上面に集合、強光下では側面に局在する。R/K 変異株では WT よりも光感受性が悪くなり、強光下でも葉緑体の集合が見られ、さらに強い光では側面への局在が観察された。こうしたことから、phot において LOV2 ドメインのフォトサイクルにかかる時間が植物の光感受性を決める要因の一つになっていることが考えられる。

### <学会発表>

- 1) 岡島公司、嶋田崇史、松岡大介、徳富哲 (2009) 日本植物学会第37回大会 (山形)
- 2) 岡島公司 (2009) 第47回日本生物物理学会年会 (徳島)
- 3) K. Okajima, S. Kashojiya, M. Fukuoka, S. Tokutomi (2009)  
Memorial Symposium for the 25th International Prize for Biology (Kyoto)
- 4) 嘉祥寺谷幸子、岡島公司、徳富哲 (2010) 第51回日本植物生理学会年会 (熊本)
- 5) 福岡翠、岡島公司、桂ひとみ、徳富哲 (2010) 第51回日本植物生理学会年会 (熊本)

## ライナックおよびコッククロフト・ウオルトン電子加速器の現状

大阪府立大産学官連携機構 谷口良一\*、小嶋崇夫、岡喬、奥田修一

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4293、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

### [現状]

18MeV 電子ライナックの 2009 年の運転時間は 211 時間であった。前年の 224 時間と、ほぼ同程度であるが、長期的な減少傾向は続いている。図 1 に年間運転時間の、この 25 年間の推移を示す。2009 年の修理時間は 35 時間であった。一方、600keV コッククロフト・ウオルトン電子線加速器の運転時間は 309 時間であった。これは前年の 254 時間よりも増加しており、順調に稼動していると言える。

### [メンテナンス]

1)ベンダーラインの改修：地下室の照射ラインは、昨年までの改造で、約 3 年間停止状態にあった。これは、真空ラインの改修の結果、加速器の真空部分の大半がステンレス製に置き換わったのに対して、地下室に導入する部分、特に照射コーンがアルミニウム製にとどまったことが原因である。この部分は、重量の関係でステンレス製に改造することが困難であった。このため、フランジ部分で、ステンレスとアルミニウムという異種金属の接合が必要となったが、ビームの直射を受ける部分でもあり、バイトン等のガスカートでは、短期間で劣化することが予想された。今回アルミニウムとステンレスを爆着接合した特殊なフランジを導入し、地下室ビームラインを再開することができた。

2)ビームスキャナーの改修：前述の改修に並行して、地下室ビームを走査するマグネット、電源、発振器等を設置し、これらを用いて電子ビームの走査を行った。ビームの走査状態は、ビーム画像モニタで確認され、地下室の 2 次元照射ラインは再開された。

### [研究テーマ]

表 1 に 2009 年にライナック等を利用した主要なテーマを示す。主な研究題目は、微弱電子ビームの測定法の研究、ウラン等の高感度分析、高エネルギー X 線の遮へいの研究、医療用照射の線量率制御の研究、衛星用太陽電池の耐放射線性の研究などであった。

### [本研究に関する研究発表]

1)「大阪府立大学電子加速器と利用研究の現状」、奥田修一、谷口良一、小嶋崇夫、岡喬、岩瀬彰宏、第 6 回日本加速器学会年会・第 34 回リニアック技術研究会 (2009.8.5-7、東海村)。

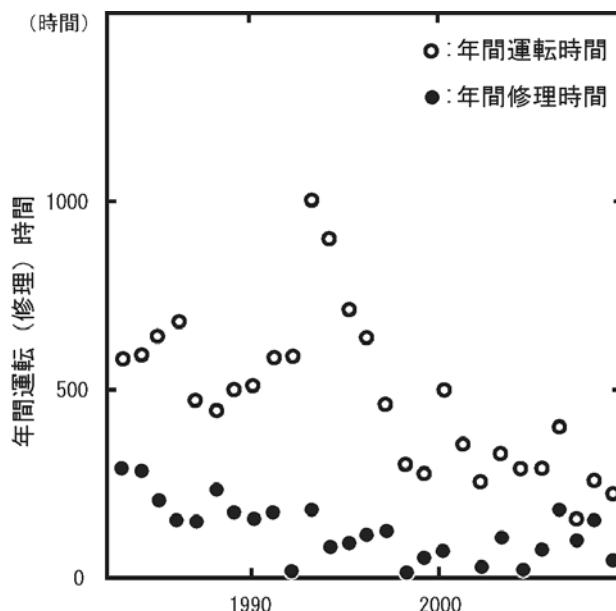


図 1 年間運転時間の推移

表 1 2009 年の主な実験テーマ

ラジオグラフィ
微弱電子ビームの取り出しと利用
金属材料、半導体の照射
ウラン・トリウムの高感度分析
強磁場下の X 線線量分布測定
医療用 X 線遮へいの研究
人工衛星搭載太陽電池の照射試験

## 線源棟照射施設の保守管理

阪府大産学官 小嶋崇夫\*、岡喬、谷口良一、奥田修一

大阪ニュークリアサイエンス協会 森秀信

(\*本報告に関する連絡先：電話（内線）4213、メール kojima@riast.osakafu-u.ac.jp)

平成 21 年度に実施した線源棟照射施設の保守管理に伴う主要な工事・作業の概要を以下に示す。

### 1) 照射プールライニングの溶接部検査

照射プールライニング溶接部の健全性確認のため、浸透探傷および真空法による非破壊検査を平成 21 年 6 月に実施した。要した日数は(1)線源格納、排水および清掃、(2)検査等、(3)復旧に各 6 日の計 18 日間であった。

### 2) コバルト第 1 照射室～第 2 照射室間しゃへい扉駆動機構の修理

自主点検(平成 21 年 9 月実施)の際にコバルト第 1 照射室～第 2 照射室間しゃへい扉の作動状態を確認したところ、負荷の増加が確認された。所内で不具合箇所調査を行い、ギヤ機構の分解・持ち帰り修理を依頼し復旧した。

### 3) ライナック第 1 照射室内分電盤の整備

電気設備点検結果に基づき、ライナック第 1 照射室内の分電盤への給電経路を地下室コンベア設備に沿った経路に変更した。

### 4) 照射プール用照明更新の検討

照射プール用照明の更新について検討を開始した。現在の器具と同等のものは特注品となるため、既製品で仕様を満たすものを購入し試験運用を実施した。今後、使用中の機器を更新していく予定である。

### 5) 照射プール純水装置樹脂再生用試薬移送治具の改良

照射プール純水装置樹脂再生用の試薬を受け入れて貯蔵タンクに移送するための治具を製作した。屋内への揮発した試薬の拡散を抑制することができ、作業時の安全性が向上した。

### 6) 線源棟クレーンの定期点検および性能検査の受検

平成 21 年 5 月に線源棟に設置されているクレーン 9 台の定期点検を実施し、検査対象となる 6 台のクレーンについて性能検査を受検した。

### 7) 放射線監視装置の分解点検・修理

平成 22 年 3 月、コバルト第 1～第 3 照射室とコバルト第 4 照射室・照射プールの各系統の放射線監視装置(照射設備制御装置を含む)の点検を実施した。交換部品の入手が難しくなっているものがあり、数年単位での装置維持・改修・更新の計画が必要である。

## 謝辞

御協力頂いた大阪府立大学産学官連携機構管理運営グループ、事務局施設課および作業従事者の方々に深く感謝致します。

## 冷却型 CCD 画像素子の放射線損傷

大阪府立大産学官連携機構 谷口良一\*、佐々木遼也、奥田修一  
京都大学原子炉実験所 岡本賢一  
近畿大学 小川喜弘  
電子科学研究所 辻本 忠

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4293、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

**[はじめに]** 冷却型 CCD 素子は高感度かつ定量性がすぐれ、放射線画像素子として広く用いられている。ただし冷却型 CCD 画像には特徴的な白点ノイズが出現し、これが実用上の問題となっていた。また、このノイズには、外見は同じでも常に同じ位置に出現する、固定パターンノイズ(FPN)と、ランダムに出現するランダムノイズに分かれており、それぞれ放射線に対する応答が異なっている。

**[固定パターンノイズ]** 冷却型 CCD の白点ノイズは、1 画素の大きさを持ち、周囲の画像とはかけ離れた輝度をもつという特徴がある。図 1 に中性子透過画像中に現れた白点ノイズの外観を示す。バックグラウンド状態では、これらのノイズの大半は FPN であった。放射線を照射すると、白点ノイズは、これに比例して増大するが、増大したノイズの大半はランダムノイズであった。このランダムノイズは、放射線照射を終了した時点で消失する。γ線の照射では FPN の増大は認められなかった。一方、中性子の照射を行った場合、僅かな増加が認められた。図 2 は、近大原子炉で照射した結果である。照射量は、最大（1 W 時）で、 $1 \times 10^4 \text{ n/cm}^2$  で 30 分の照射であった。図の点線は、同じ条件で LiF フィルターを挿入し、中性子成分をカットしたものである。FPN の生成に中性子が大きな寄与をしていることは確実である。

### [本研究に関する研究発表]

- 1) 「冷却型 CCD の放射線損傷」、谷口良一、佐々木遼也、奥田修一、小川喜弘、岡本賢一、辻本忠、非破壊検査協会第 7 回放射線による非破壊評価シンポジウム講演論文集（2010 年 3 月 4-5 日、東京）pp93-98
- 2) 「冷却型 CCD の放射線損傷とノイズ特性の変化」、谷口良一、奥田修一、佐々木遼也、岡本賢一、小川喜弘、辻本忠、非破壊検査協会春季大会（2009 年 5 月 19 日、東京）
- 3) 「冷却型 CCD カメラの放射線損傷とノイズ特性の変化」、谷口良一、佐々木遼也、奥田修一、岡本賢一、小川喜弘、辻本忠、非破壊検査に関する研究発表会（2009 年 8 月 10 日、大阪）
- 4) 「冷却型 CCD の照射損傷とノイズ特性の変化」、谷口良一、非破壊検査、Vol.59, No.3(2010)pp119-124
- 5) “Noise Characteristic of Neutron Images Obtained by Cooled CCD Device”, R.Taniguchi, R.Sasaki, S.Okuda, K.Okamoto, Y.Ogawa, T.Tsujimoto, Nucl.Instr.Meth.,A605(2009)pp85-90

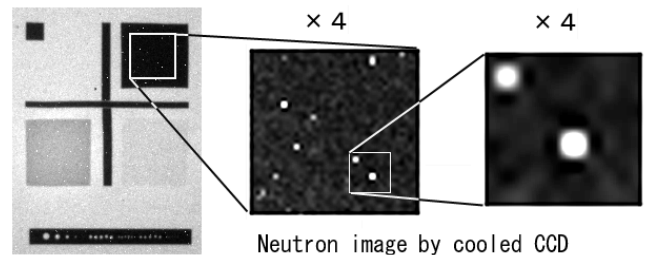


図 1 冷却型 CCD の白点ノイズ

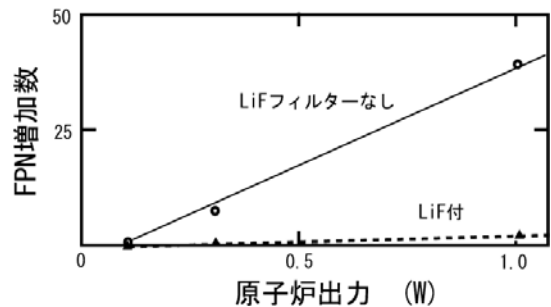


図 2 中性子照射による FPN の増加

## 微弱電子線の直接照射による重金属の2次元分析法

大阪府立大産学官連携機構 佐々木遼也、谷口良一\*、小嶋崇夫、奥田修一  
(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4230、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

[はじめに] 本研究では、電子線形加速器から発生する微弱電子線を試料に直接入射し、電子の準弾性散乱による核反応に伴って発生する中性子を検出するとともに、試料の2次元元素分析を行った。

[実験] 図1のように、試料を2次元の移動ステージに載せ、11MeVのエネルギーの電子線を照射した。ターゲットから約2m離れた位置にBF<sub>3</sub>中性子検出器を設置し、発生した中性子を計測した。試料は図2に示すように、厚さ1mmのアルミニウム板の上に、厚さ1mmの鉛板で十字を形成したものである。実験では、試料をX-Z移動ステージに載せ、2次元的に移動させながら中性子の測定を行った。各測定点における中性子計数を輝度変調して表示したものが図3である。図のように、試料の十字パターンが確認でき、本分析法によって鉛の2次元分布の測定が可能であることを示している。

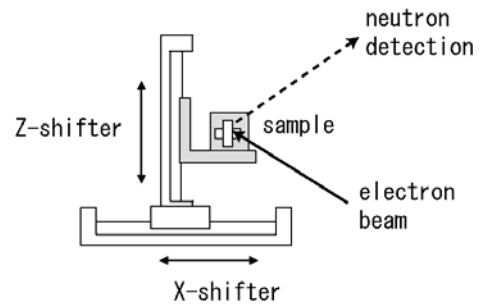


図1 試料の2次元走査測定体系

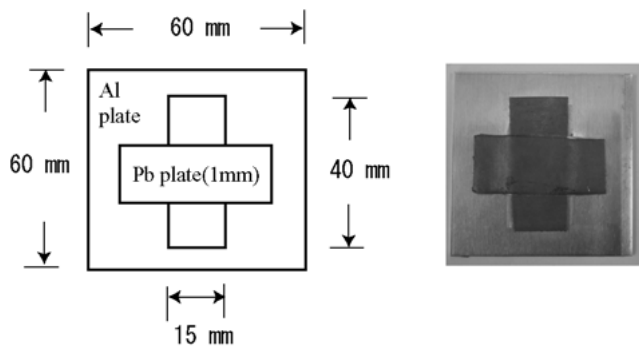


図2 用いた鉛標準試料

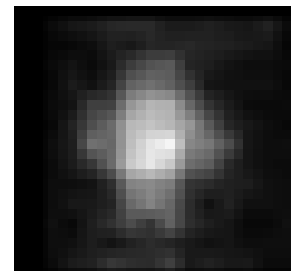


図3 試料の2次元走査による中性子画像

### [本研究に関する研究発表]

- 1) 「超微弱電子線直接照射法のウラン検出感度の評価」、佐々木遼也、谷口良一、小嶋崇夫、奥田修一、非破壊検査協会放射線分科会資料 No.10426 (2009年7月) p.1
- 2) 「微弱電子線の直接照射によるウラン・トリウムの高感度非破壊分析法」、佐々木遼也、谷口良一、小嶋崇夫、奥田修一、第7回放射線による非破壊評価シンポジウム講演論文集 (2010年3月) p.71-76
- 3) 「微弱電子線の直接照射によるU、Thの高感度検出」、佐々木遼也、岩瀬彰宏、谷口良一、小嶋崇夫、奥田修一、日本原子力学会 2009年年会 (2009年3月24日、東京)
- 4) 「超微弱電子線直接照射法のウラン検出感度の評価」、谷口良一、奥田修一、佐々木遼也、小嶋崇夫、日本加速器学会年会 (2009年8月5日、東海)

## 水トリー発生に伴う残留放射線の計測

大阪府立大産学官連携機構 谷口良一\*

中部電力(株)エネルギー応用研究所 熊澤孝夫

(\*本研究に関する連絡先：電話 (内線) 4293、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

### [はじめに]

我々は、電力ケーブルの主要な劣化形態である水トリーの発生に伴う放射線の発生を捕らえることを試みている。実験では、模擬試料を用いて水中での課電を繰り返した。昨年、課電終了後の電極試料から、バックグラウンドと大幅に異なる $\gamma$ 線スペクトルが短期間観測された。そのスペクトルを精密に解析した結果を報告したい。

### [実験]

半導電性電極の周囲を架橋ポリエチレンで覆った電極試料を水道水に浸漬し、この電極と接地電極（金線）との間に交流電圧（ $\sim 2.7\text{kV}/2\text{kHz}$ ）を印加し、水トリーを発生させた。課電は1実験当たり約1000時間続いた。課電終了後、約1週間電極試料を上記水道水中に放置した後に取り出し、その約1時間後に低バックグラウンド環境下でGe測定した。

図1に昨年度観測されたスペクトルを示す。縦軸はリニア表示で、バックグラウンドを差し引いた値を示している。一方、図2はRa226標準線源を測定した例である。図のように、両者のスペクトルは類似しているが、Pb214の強度が図1では、かなり弱いことが注目される。Bi214はPb214の子孫核種であり、Ra226標準線源中では、系列の放射性元素がほぼ放射平衡にあることが予想されるが、観測されたスペクトルでは、Pb214のピーク面積が、図2よりも約半分になっており、ウラン系列の放射平衡から大きくずれていることが分かる。残留放射線がPb214を起点とする放射平衡にあるならば、この値は3分の1以下になると予想されるが、測定値はこの中間に位置している。異常残留放射線の原因はPb214の異常な出現と言い換えることができそうであるが、原因を含め未知の要因は多い。

### [本研究に関する研究発表]

- 1) 「水トリー発生に伴う放射線の計測：(9)残留放射線現象の再現性」、熊澤孝夫、谷口良一、日本原子力学会 2009年秋の大会予稿集（2009年9月16-18日、仙台）I15
- 2) 「水トリー発生に伴う放射線の計測：(10)残留放射線スペクトルの解析」、谷口良一、熊澤孝夫、日本原子力学会 2009年秋の大会予稿集（2009年9月16-18日、仙台）I16

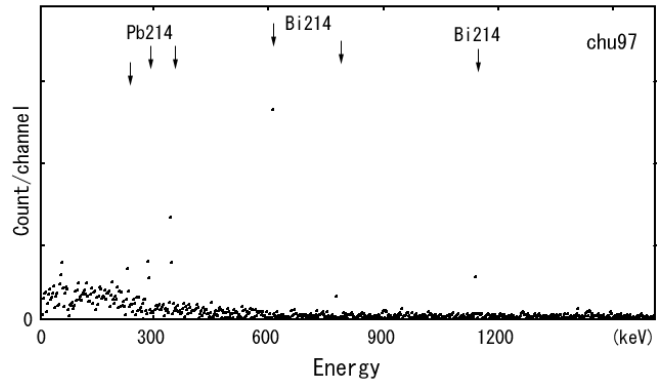


図1 昨年度観測された残留放射線スペクトル

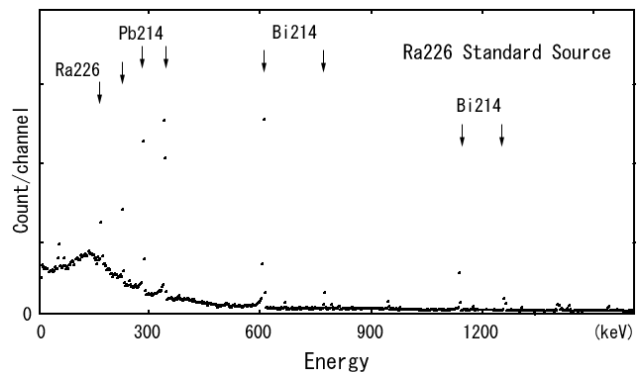


図2 Ra226標準線源の測定例

# 高強度 THz コヒーレント放射による過渡現象の研究

阪府大 奥田修一\*、小松大悟、谷口良一、小嶋崇夫

Kangwon Univ. S.Nam

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4227、メール okuda@riast.osakafu-u.ac.jp)

高エネルギー電子バンチからのコヒーレント放射は、極めて高い強度のパルス光で、光源としての利用が期待されている。ここで半サイクル光による、新しい励起現象の研究が注目される。これまで京大原子炉の電子ライナックによるコヒーレント遷移放射光源[1]を用いて、波数  $4\text{--}13\text{ cm}^{-1}$  で吸収分光を行った結果、 $\text{SiO}_2$  ナノ粒子などで光強度の違いによる光透過率のわずかな変化が観測された。しかしこの現象については、明らかにされていない。本研究ではこの機構解明を目的として、ポンプ・プローブ実験系を構築し、光源特性を調べた。

大阪府立大学 (OPU) 18 MeV S バンド電子ライナックからの、エネルギー10 MeV、バンチ当りの電荷量 0.3 nC のビームを用いる。加速管の位相条件を変えてバンチ圧縮し、光源にまっすぐに輸送する。最初の計画においては、シンクロトロン放射に比べて高い強度で、光源配置が比較的簡単なコヒーレント遷移放射を選択した。放射パルス電場の方向をそろえるために、放射の一部を除く。真空容器内に遠隔で挿入できるアルミニウムフォイルを光源とし、電子ビームを集束する。後方の遷移放射を石英窓を通して取り出す。以後の光輸送系は空气中に設置した。

本実験系は、パルスコヒーレント光照射によって物質に誘起される過渡現象について明らかにするために構築された。実験系は、現状のパルスラジオリシス系を基本にした。計測系の概念図を図1に示す。ポンプ光として、遷移放射をアルミニウムコート凹面鏡で試料に集光する。波長 1 mm における強度として、 $2 \times 10^8\text{ J/1\%B.W.}$  が推定されている。プローブ光は、一部をスプリッターで分割し、平行光束にした後、遅延回路を設けてタイミングを調整する。基本的な光特性の測定を行いながら、光源系の最適化を続けている。今後、シンクロトロン放射の利用、電子ビームによるポンプ実験を行う。

本研究の一部は、平成20-22年度のKEK大学等連携支援事業および平成20-22年度の科研費(課題番号:20360421)によった。

## 参考文献

[1] S. Okuda and T. Takahashi, *Infrared Phys. Technol.* 51 (2008) 410.

## 本研究に関する研究発表 (原著論文、その他報文、学会等報告)

- 1) 大阪府立大学の電子加速器と多目的利用の現状、奥田修一、谷口良一、小嶋崇夫、岡喬、第6回日本加速器学会年会 (2009. 8. 5-7, 東海) .
- 2) コヒーレント放射ポンプ・プローブ実験系の光源特性、奥田修一、坂本泰一、小嶋崇夫、谷口良一、高橋俊晴、日本原子力学会秋の大会 (2009. 9. 16-18, 仙台) I53.
- 3) コヒーレント THz 放射光源による吸収分光実験、奥田修一、小松大悟、高橋俊晴、谷口良一、小嶋崇夫、第16回 FEL と High-Power Radiation 研究会 (2010. 3. 4-5, 佐用郡) .
- 4) Experimental Study for the Behaviors of Water Molecules by Using Coherent THz Radiation Light Sources, S. Okuda, D. Komatsu, R. Taniguchi, T. Kojima and T. Takahashi, 5th Int. Symp. on Material Cycling Engineering (2010. 3. 10-11, Sakai) PS-56.

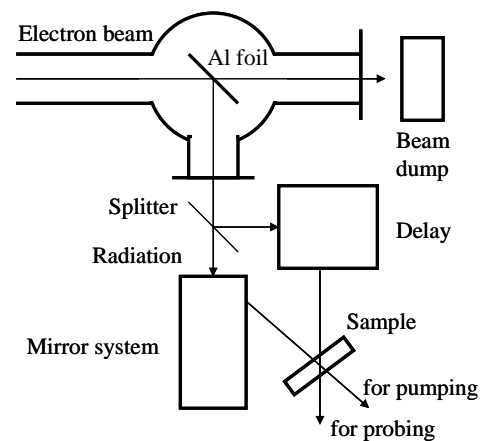


図1 ポンプ・プローブ実験系概念図

- 5) Characteristics of the Electron Linac Based Coherent Radiation Light Source at OPU, S. Okuda, T. Kojima, R. Taniguchi , 1st Int. Particle Accelerator Conf. (2010. 5. 23-28, Kyoto) MOPEA033.
- 6) 量子ビームの開発研究と誘起される反応の研究 (第4章)、“大阪府立大学における分野横断型研究の展開 -21世紀科学研究所の挑戦-”、大阪府立大学 21 世紀科学研究機構編 (分担執筆、総ページ数 231)、大阪公立大学共同出版会 2010 年 (2010, ISBN978-4-901409-72-8 C3000) .



## アスベストおよび各種材料中の自然放射線の測定

大阪府立大産学官連携機構 谷口良一\*、佐々木遼也、小嶋崇夫、奥田修一

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4293、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

【はじめに】 自然放射線を測定することで、アスベストを非破壊で検知する方法の開発を行っている。アスベスト中の自然放射線が多いことを利用すれば、非破壊かつ遠隔でアスベストの検知が可能である。しかし、その感度はアスベストだけでなく各種材料中の自然放射線の大小に依存する。本研究では様々な材料中の自然放射線の強度と成分の測定を行った。

【自然放射線測定】 表1に、測定を行った材料、鉱物を示す。その中の主なものを、カリウムおよびU+Thの2つの成分で2次元表示したものが図1である。図中の黒丸でアスベスト試料のデータを示している。アスベストは、かんらん石、角閃石等の造岩鉱物が熱水変成をうけて含水の繊維状鉱物になったものである。各種の鉱物のいくつかは、アスベストと同様に図1の右上に分布する傾向にある。一方、石膏を代表とする一群の建築材料は、放射線が少なく、図1の左下に分布することが明らかとなった。これらの材料では、アスベスト検知の可能性が高いことが明らかとなった。

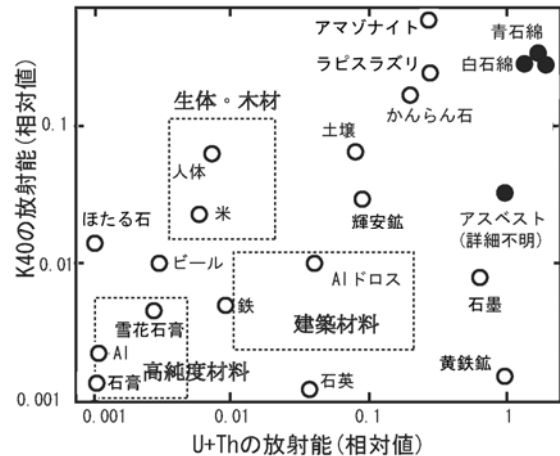


図1 各種鉱物、材料中の自然放射線

表1 自然放射線測定を行った鉱物の詳細

鉱物	組成	成因	鉱物	組成	成因
白石綿	$Mg_3SiO_5(OH)_4$	熱水鉱床	かんらん石	$(Mg, Fe)_2SiO_4$	変成岩
青石綿	$Na_2Fe_2Si_8O_{22}(OH)_2$	熱水鉱床	方鉛鉱	PbS	熱水鉱床
茶石綿	$(Mg, Fe)_7SiO_{22}(OH)_2$	熱水鉱床	ほたる石	$CaF_2$	変成・堆積
石英	$SiO_2$	pegmatite	ばら輝石	$(Mn, Ca)_5Si_5O_{15}$	熱水、変成
アマゾナイト	$KAl_2Si_8O_{18}$	pegmatite	黄鉄鉱	$FeS_2$	熱水、変成
輝安鉱	$Sb_2S_3$	熱水鉱床	緑柱石	$Be_3Al_2Si_6O_{18}$	変成
トパーズ	$Al_2SiO_4$	pegmatite	雪花石膏	$CaSO_4$	堆積・変成
岩塩	NaCl	堆積他	含クロム白雲母	$K(Al, Cr)_2(AlSi_3)O_{10}$	変成・熱水
クロム鉄鉱	$FeCr_2O_4$	変成	石膏	$CaSO_4$	堆積・変成
石墨	C	堆積・変成	ラピスラズリ	$Na_3Ca(Al_3Si_3O_{12})S$	変成
珪灰石	$Ca_3Si_3O_9$	変成	滑石	$Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$	変成
磁鉄鉱	$Fe^{2+}Fe^{3+}_2O_4$	変成・堆積	重晶石	BaSO4	変成・堆積

### 【本研究に関する研究発表】

- 1) 「アスベストの非破壊検知法」、谷口良一、佐々木遼也、小嶋崇夫、奥田修一、放射線と産業、125号 (2010) pp26-30
- 2) 「自然放射線測定による非破壊アスベスト検知装置の開発」、谷口良一、佐々木遼也、小嶋崇夫、奥田修一、非破壊検査協会放射線分科会資料 No. 10427 (2009年7月) p. 5

# Positron annihilation study of the hardening behavior in Al-Cu based alloy by electron and heavy ion irradiation

Fuminobu Hori\*, Ippei Kobayashi, Yuichi Saito<sup>a</sup>, Norito Ishikawa<sup>a</sup>, Takeshi Oshima<sup>a</sup>,  
Akihiro Iwase

(\*corresponding author: 072-254-9812(5658), e-mail; horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

Dep. of Mater. Sci.& Eng., Osaka Pref. Univ.

<sup>a</sup>Japanese Atomic Energy Research Agency

## 1. Introduction

Radiation enhanced segregation is one of the important phenomena. In the present study, we have tried to irradiate of high energetic particles to Al-Cu based alloy system, which is called Duralmin, in order to control and improve the mechanical properties. Moreover, we have studied the process of some clusters formation in this alloy under electron and swift heavy ion irradiation by using positron annihilation and other techniques. In this paper, therefore, we report the results of the micro Vicker's hardness, positron annihilation Doppler broadening and three-dimensional atom probe measurements for Al-Cu based alloys aged or irradiated with electron and heavy ion, such as Xenon and Iodine.

## 2. Experimental

Al-Cu based alloy (Duralumin-JIS2017) was prepared by arc melt method. 10 mm x 10 mm x 1mm size samples were cut for micro Vickers and positron annihilation measurements. They were annealed at 793 K for 1 hour in air and quenched into ice water. I-ion and Xe-ion irradiations with an energy of 10 MeV and 200 MeV into Al-Cu based alloys were performed at room temperature by using a tandem type accelerator at the Japanese Atomic Energy Research Agency (JAEA) Takasaki, JAPAN. 3 MeV electrons irradiation have been performed for Al-Cu based alloy at room temperature by using tandem accelerator at JAEA Tokai. The maximum damage depth for 10 MeV Iodine and 200 MeV Xenon into Al-Cu based alloy was calculated to be approximately 4 and 20  $\mu\text{m}$ , respectively. After irradiation isothermal annealing at 423 and 453 K and isochronal annealing were performed. Coincidence Doppler broadening (CDB) measurement for each annealed and irradiated sample was performed. CDB spectra were derived with total counts of about more than  $10^8$ . Micro Vickers hardness was also measured by conventional equipment. The measuring temperature was room temperature and the applied load were 25 and 100 gf with holding time of 10 s. Applied load of these value is optimized for estimated damage peak for each ion irradiation. Atom probe analyses were performed for as prepared, aged at 423 K and I-ion irradiated samples using a three-dimensional atom probe (3DAP) equipment [8]. Needle-like atom probe specimens were prepared with a diameter of 100 nm by the micro-polishing technique.

## 3. Results

We have found that the electron irradiation does not affect the hardness but the change in hardness due to Xe and I-ion irradiation was measured. The change in hardness with annealing at 423 K observed in Al-Cu based alloy irradiated with I ions is remarkably larger than that for age hardened Al-Cu based alloy without irradiation. From the results of positron annihilation CDB and 3DAP measurements, it was found that low density of large size precipitates are formed in aged sample without irradiation, and large amounts of small size clusters are formed in ion irradiated sample, respectively. These facts suggest that these clusters affect the mechanical properties especially the hardness and their effects strongly depend on the size and density of clusters. The present experimental results show that swift heavy ion irradiation can be used for the modification of hardness and its hardness can be improved near surface than in age hardenable Al-Cu based alloy.

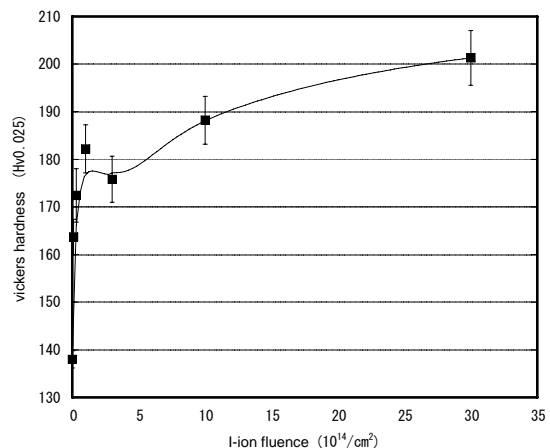


Figure Change in micro Vickers hardness for Al-Cu based alloy as a function of 10 MeV I-ion irradiation dose.

## **Research activities**

### **Presentations**

1. “Positron annihilation study of the hardening behavior in Al-Cu alloy by the irradiation”, Fuminobu Hori, Ippei Kobayashi, Akihiro Iwase, Advanced Science Research Symposium 2009(ASR2009) [Positron, Muon and other exotic particle beams for materials and atomic/molecular sciences], 2009, Tokai, Japan
2. 軽金属関西支部 若手研究者・院生による研究発表会 (2009年1月7日、大阪)  
高エネルギー粒子線照射によるアルミ合金の硬度制御  
小林一平、岩瀬彰宏、堀史説、金野泰幸、千星聡、石川法人、齊藤勇一

### **Publications**

1. “Positron annihilation study of the hardening behavior in Al-Cu alloy by the irradiation”, Fuminobu Hori, Ippei Kobayashi, Akihiro Iwase, Journal of Physics Conf. series (to be published)

## γ線照射還元法により生成した Au/Pd 二元系金属微粒子の線量率依存性

阪府大院工マテリアル工学分野 山本正明、田口昇、岩瀬彰宏、堀史説\*

産総研ユビキタス 秋田知樹、田中真悟

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）5658、メール horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

【緒言】超音波やγ線のような照射場を用いて金属イオン水溶液中のイオンの還元反応を制御する事によって貴金属ナノ微粒子の作成が可能である。

これまでにγ線照射還元法においてポリエチレングリコールモノステアレート(PEG-MS)を界面活性剤に用いることでコア(Au)-シェル(Pd)構造を持ち粒径が単分散で均一な微粒子の合成が可能であると報告してきた。微粒子の構造制御という点で添加する界面活性剤やエネルギーの付与率が重要なパラメータであると考えられる。今回は線量率をパラメータにとりγ線照射により微粒子を合成し Au-Pd 二元系微粒子の構造や粒径のエネルギー付与率依存性の検討を行った。

【実験】照射溶液は Au<sup>3+</sup>、Pd<sup>2+</sup>イオン水溶液(1:1)に界面活性剤として PEG-MS 0.4 mM を添加したものをを用いた。照射には <sup>60</sup>Co 線源からの放射γ線をそれぞれ 1.5、3.0、5.0、7.45、17.7 kGy/h の線量率で全線量が 10 kGy となるように大気中で照射した。γ線照射後の各試料について吸光度測定(UV/vis)、電顕(TEM、STEM、EDS)観察を行った。

【結果】Uv/vis測定の結果を図に示す。

7.45、17.7 kGy/hではAuのプラズモンピーク(520 nm)の消滅が見られることからコア(Au)-シェル(Pd)構造を有する微粒子の生成が示唆された。また、線量率の減少に従ってこのプラズモンピークが顕著に現れ、線量率により生成する微粒子のコアシェル構造の層厚や粒径制御が可能であると考えられる。

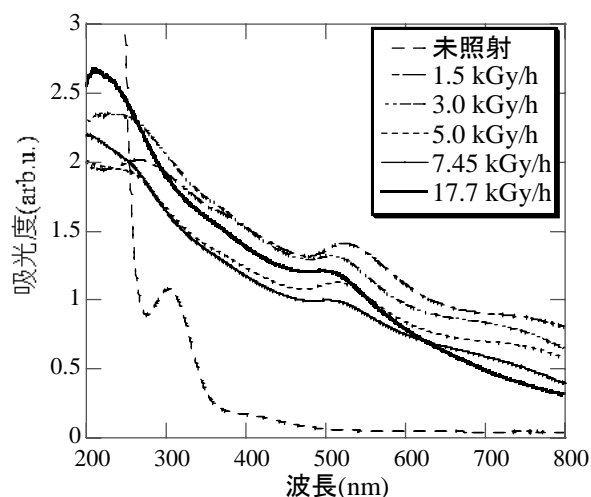


図1 UV/visによる吸光度測定の結果

### 本研究に関する研究発表

- 1) 日本金属学会 2009年3月春季大会(東工大) 山本正明、田口昇、岩瀬彰宏、秋田知樹、田中真悟、堀史説
- 2) 日本金属学会 2009年9月秋季大会(京都大) 山本正明、田口昇、岩瀬彰宏、秋田知樹、田中真悟、堀史説
- 3) N. Taguchi, A. Iwase, N. Maeda, T. Kojima, R. Taniguchi, S. Okuda, T. Akita, T. Abe, T. Kambara, H. Ryuto, F. Hori, Radiat. Phys. Chem. 78 pp.1049-1053 (2009)

## ZrCuAl バルク金属ガラス内の自由体積の合金組成依存性

阪府大院工 石井顕人、峯野慎也、岩瀬彰宏、堀史説\*  
東北大金研 横山嘉彦、今野豊彦

(\*本研究に関する連絡先: 電話 (内線) 072-254-9812(5658)、E-mail; horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

**【研究背景】** 近年、Zr 系の金属ガラスにおいて亜共晶組成での耐構造緩和脆化が報告されているが、その特性の内部構造からの詳細な説明は成されていない。我々はこれまで金属ガラスの物性に影響する因子として考えられている自由体積を陽電子消滅法により評価し、共晶系において自由体積周囲に Zr 原子は合金組成よりも多い割合で存在する事等を示してきた。本件ではこれまでの手法を亜共晶系に適用する事で自由体積および局所微細構造の合金組成依存性を考察した。

**【研究内容】** 傾角鋳造法により 3 種類の  $Zr_xCu_{90-x}Al_{10}$  ( $x=50$ (共晶)、55、60(亜共晶))バルク金属ガラス ( $\phi 8 \times 50$  mm) を作製し、X 線回折(XRD)、密度測定、陽電子消滅寿命測定、同時計数ドップラー拡がり(CDB)測定及び EXAFS 測定を行った。EXAFS 測定は高エネルギー加速器研究機構(KEK)BL-27 において Zr の K 吸収端を利用して行った。

**【結果】** 3 種類の  $Zr_xCu_{90-x}Al_{10}$  ( $x=50$ (共晶)、55、60(亜共晶))バルク金属ガラスにおける自由体積周囲の電子密度分布を示す CDB 比率曲線は図のように組成に依存し、いずれの組成においても Zr の比率が合金組成よりも多い事が分かった。しかし、自由体積サイズに依存した値を示す陽電子寿命値はいずれの組成でも殆ど違いは見られなかった。これらの結果より、自由体積の空隙サイズは組成に依存せず、その周囲の元素分布の違いのみが合金組成依存性として反映される事が分かった。さらに、Zr K 吸収端における EXAFS 測定により得られた Zr 原子周囲の局所構造を示すスペクトルにも明確な合金組成依存性が見られたが、Cu K 吸収端からの測定には顕著な依存性は見出されなかった。これは殆どの Zr が自由体積周辺に存在する事を示唆している。これらの事から、Zr-Cu-Al バルク金属ガラスの自由体積サイズは組成によらずほぼ一定であるが、周囲に存在する元素比率は合金組成を示し且つ、Zr が偏って存在している事は合金組成によらず共通している事などが分かった。

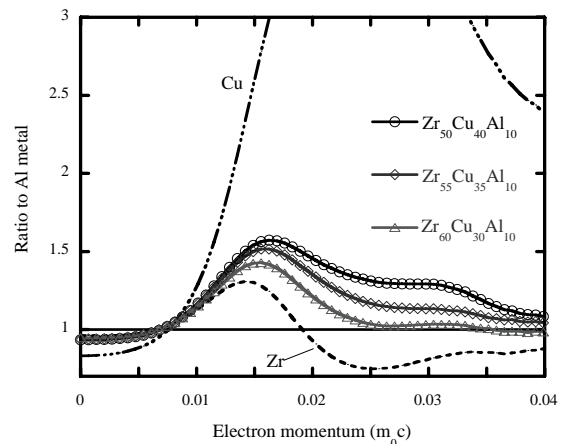


図.  $Zr_xCu_{90-x}Al_{10}$  ( $x=50, 55, 60$ )バルク金属ガラスの Al に対する CDB 比率曲線

### 本研究に関する研究発表

学会発表  
国内学会

- 1) 日本金属学会 2009 年秋期大会、(京都大学吉田キャンパス 9 月 15 日-17 日) 石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説、「Zr50Cu40Al10 金属ガラスの熱的緩和挙動の焼鈍温度依存性」
- 2) 格子欠陥制御工学研究会(女川 2009 年 11 月 20-22 日) 石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説「バルク金属ガラス中の自由体積と局所構造の熱的挙動」
- 3) 京都大学原子炉実験所専門研究会「陽電子科学とその理工学への応用」(京都大学原子炉実験所、2009 年 11 月 20-21 日) 石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説「等温焼鈍による ZrCuAl バルク金属ガラスの局所構造変化」 [Positron annihilation study of ZrCuAl bulk metallic glass during isothermal annealing]
- 4) 日本物理学会 2010 年春季大会、(岡山大学 3 月 20-23 日) 石井顕人、峯野慎也、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説「Zr 基 3 元系バルク非晶質金属中の自由体積構造の組成依存性」
- 5) 日本金属学会 2010 年春期大会、(筑波大学 3 月 27-30 日) 石井顕人、峯野慎也、岩瀬彰宏、横山嘉彦、今野豊彦、堀史説「Zr-Cu-Al バルク金属ガラス中の自由体積の組成依存性」

#### 国際会議

1. “Effect of annealing on the local structure in ZrCuAl bulk metallic glass”, A. Ishii, A. Iwase, Y. Yokoyama, T.J. Konno and F. Hori 16th International Symposium on Metastable, Amorphous and Nanostructured Materials (ISMANAM 2009) July 5-9, 2009 Beijing, China
2. “Free volume in Zr-based bulk glassy alloys studied by positron annihilation techniques” A Ishii, A Iwase, Y Yokoyama, T J Konno, Y Kawasuso, A Yabu-uchi, M Maekawa, and F Hori, Advanced Science Research Symposium 2009(ASR2009) [Positron, Muon and other exotic particle beams for materials and atomic/molecular sciences], November 10-12, 2009, Tokai, Japan
3. “Behavior of free volume in bulk ZrCuAl metallic glass after irradiation” Yuka Fukumoto, Akito Ishii, Akihiro Iwase, Yoshihiko Yokoyama, Fuminobu Hori Advanced Science Research Symposium 2009(ASR2009) [Positron, Muon and other exotic particle beams for materials and atomic/molecular sciences], November 10-12, 2009, Tokai, Japan

#### 発表論文

1. Effect of thermal annealing on the local structure in ZrCuAl bulk metallic glass, A Ishii, A Iwase, Yuka Fukumoto, Y Yokoyama, T J Konno and F Hori, Journal of Alloys and Compounds (Article in Press)
2. Free volume in Zr-based bulk glassy alloys studied by positron annihilation techniques, A Ishii, A Iwase, Y Yokoyama, T J Konno, Y Kawasuso, A Yabu-uchi, M Maekawa, and F Hori Journal of Physics: Conference Series, (to be published)

# Thermal vacancy formation in Co-based Heusler-type alloys $\text{Co}_2\text{MnZ}$ ( $Z = \text{Si, Ge, Sn}$ )

\*F. Hori, S. Kikuchi<sup>a</sup>, T. Fujiwara<sup>a</sup>, M. Kogachi<sup>a</sup>

(\*corresponding author: 072-254-9812(5658), e-mail; horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

Department of Materials Science, Osaka Pref. University

<sup>a</sup> Department of Physical Science, Osaka Pref. University

## 1. Introduction

Co-based Heusler-type ferromagnetic alloys  $\text{Co}_2\text{YZ}$  (e.g.,  $Y = \text{Cr}$  and  $\text{Mn}$  and  $Z = \text{Si, Ge, Sn}$  and  $\text{Al}$ ) are prospective candidates for application in the spin electronics devices because these are theoretically predicted to be half-metal ferromagnets with 100% spin polarization due to a gap at the Fermi level in the minority-spin band. Despite the theoretical prediction, it is difficult to demonstrate the half-metallicity for these compounds. Some factors such as atomic disorder, nonstoichiometry and oxidation in the bulk and interface are thought to lead to degradation of the halfmetallicity. The Heusler (L21)-type structure with a chemical formula of  $\text{X}_2\text{YZ}$  consists of four fcc sublattices (symmetry group  $\text{Fm}\bar{3}\text{m}$ ), it can be also regarded as the structure consisting of eight bcc unit cells in which eight cube corner positions, X-sites, are occupied by X atoms, while eight body centered positions are occupied alternately by Y atoms (Y-site) and Z atoms (Z-site). Atomic disorder occurs by deviating the composition from the stoichiometry or by elevating temperature from 0 K. Effect of this atomic disorder on the magnetic properties as well as the half-metallicity in the Co-based Heusler alloys  $\text{Co}_2\text{YZ}$  ( $X = \text{Co}$ ) was recently examined from theoretical viewpoint

## 2. Experimental

$\text{Co}_2\text{MnZ}$  ( $Z = \text{Si, Ge}$  and  $\text{Sn}$ ) alloys were prepared by arc melting Co and Mn (purity of 99.99%) and Si, Ge and Sn (99.999%). Weight losses were less than 0.5%. Each ingot was homogenized at 1273K for 50 h in a sealed silica tube filled with argon. The plate samples with a size of about 10mmx5mmx1mm and 5mmx5mmx1mm were prepared for density and positron annihilation measurements. As reference samples, plate samples of pure Co, Mn, Si, Ge and Sn were also prepared for the positron annihilation measurement. They were annealed at 1173K for 2 h in silica tubes filled with argon, followed by cooling to room temperature at a rate of 2 K/min. Individual samples were again annealed at various temperatures from 773K to 1273K and then water-quenched (in quenching from temperatures above 973K, the silica tubes were immediately crushed in water). Quenching temperature  $TQ$  and holding time are, 773K (25–50 d), 873K (14–21 d), 973K (5–7 d), 1073K (24 h), 1173K (5 h) and 1273K (1 h). The plate samples (about 1mm $\times$ 1mm $\times$ 15mm) for the electrical resistivity measurement were prepared for  $\text{Co}_2\text{MnGe}$  and  $\text{Co}_2\text{MnSn}$ . It was performed by a standard DC four-terminal method in a similar way as in. The positron lifetime and coincidence Doppler broadening measurements were performed for identify the kind of vacancies and their surrounding elemental configuration.

## 3. Results

- (1) The vacancy concentration determined from the density and lattice constant measurements increased with increase in quenching temperature up to 1073K or 1273 K. Particularly in  $\text{Co}_2\text{MnGe}$  and  $\text{Co}_2\text{MnSn}$ , a high vacancy concentration exceeding 2% was observed at high quenching temperatures. Further, a distinct linear relation was found between the vacancy concentration and the lattice constant.
- (2) Change in the electrical resistivity due to ageing at various temperatures of 773–873K showed a relaxation behavior in  $\text{Co}_2\text{MnGe}$  and  $\text{Co}_2\text{MnSn}$ . This is due to annealing-out of the excess vacancies retained during furnace-cooling from 1173 K.
- (3) The vacancy formation and migration energies were evaluated from the above measurements. These values are comparable with those for B2-type FeAl and CoGa alloys generating a high concentration of thermal vacancies.
- (4) The vacancy type and the vacancy site were examined for the quenched alloys from 773K by the positron lifetime and coincidence Doppler broadening measurements. As a result, it was suggested that the mono-vacancies are randomly distributed over the lattice sites.

## Publications

1. "Thermal vacancy formation in Co-based Heusler-type alloys  $\text{Co}_2\text{MnZ}$  ( $Z = \text{Si, Ge, Sn}$ )", M.Kogachi, S.Kikuchi, T.Fujiwara, F.Hori, Journal of Alloys and Compounds 480 (2009) 462–468

## Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> バルク金属ガラスにおける自由体積緩和過程

大阪府大院工学研究科 峯野慎也、石井顕人、岩瀬彰宏、堀史説\*

東北大金研 横山嘉彦、今野豊彦

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）072-254-9812(5658)、E-mail; horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

**【研究背景】** 亜共晶系である Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> バルク金属ガラスは構造緩和において共晶系である Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> バルク金属ガラスと異なり、脆化しにくいという報告がある。しかし組成に依存した脆化機構の違いの要因と考えられている内部構造の詳細な評価はされていない。そこで、局所構造を有し、金属ガラスの種々の特性との関連があると考えられている自由体積の構造緩和過程での変化を陽電子消滅法により測定し、構造緩和過程における Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> バルク金属ガラスの局所構造変化について考察した。

**【研究内容】** 傾角鋳造法で作製したロッド状の Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> バルク金属ガラス(直径約 0.8 mm, 長さ約 5 cm)を厚さ約 0.4mm に切り出し、真空中にてガラス転移点 ( $T_g=656$  K) 以下の 600 K で 100~18000 s の等温焼鈍を行ない、各温度について X 線回折(XRD)、陽電子寿命測定、同時計数ドップラー拡がり(CDB)測定を行なった。これらの結果を共晶系の同様の実験結果と比較してみた。

**【結果】** 未焼鈍の Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> と Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> を比べると陽電子寿命値はほぼ同じであった。このことから自由体積のサイズは同じであると考えられる。しかし、密度は Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> が 6.640g/cm<sup>3</sup>、Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> が 6.825g/cm<sup>3</sup> であり、密度を考慮すると Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> の方が空隙は多いはずである。これらの結果から、

Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> と Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> の自由体積サイズ分布は同じで、その密度が亜共晶系の方が高いのではないかと考えられる。

図に Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> の構造緩和における陽電子寿命値変化を示す。18000 s までの構造緩和過程においては Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> の自由体積緩和量は Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> に比べ小さかった。Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> は陽電子寿命変化と密度変化に良い相関があるが、Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> では相関は見られなかった。この結果より組成の違いにより自由体積緩和の過程にも違いが生じると考えられ、このことが機械的特性の違いに影響している可能性が考えられる。

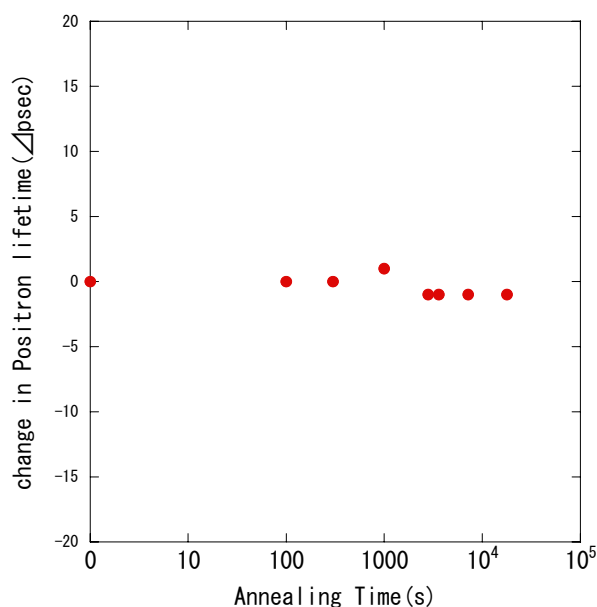


図 Zr<sub>60</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub> の構造緩和における陽電子寿命値変化



# Behavior of free volume in ZrCuAl bulk metallic glass after irradiation

Yuka Fukumoto, Akito Ishii, Akihiro Iwase, Takeshi Oshima<sup>a</sup>, Norito Ishikawa<sup>a</sup>,  
Yoshihiko Yokoyama<sup>b</sup>, Fuminobu Hori\*

(\*corresponding author: 072-254-9812(5658)、 e-mail; horif@mtr.osakafu-u.ac.jp)

Department of Materials Science & Engineering, Osaka Pref. University

<sup>a</sup>Japanese Atomic Energy Research Agency

<sup>b</sup>Institute for Materials Research, Tohoku University

## 1. Introduction

The bulk metallic glasses (BMGs) are expected to be useful for various applications due to their superior mechanical properties, hardness, strength, corrosion resistance and micro-formability. We suggest that the properties of BMGs are further improved by irradiation. So far, thin film of metallic glass with electron and ion irradiation has been extensively studied. Thin film metallic glasses are crystallized due to both electron and ion irradiation. However, we suspect that the BMGs to irradiations are different from that observed in thin film metallic glasses because of influence of thickness. In this study, we investigated the effects of electron and ion irradiation on the free volumes and mechanical properties of ZrCuAl BMGs.

## 2. Experimental

Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> bulk metallic glass samples were fabricated by the tilt casting method in an arc furnace and cut into the size of  $\phi$  8 mm x 60 mm disc. These were irradiated by 200 MeV Xe ions with a total dose of about  $1.0 \times 10^{14}$  ions/cm<sup>2</sup> or 2 MeV electrons with a dose of about  $1.4 \times 10^{18}$  e<sup>-</sup>/cm<sup>2</sup> at room temperature. Positron annihilation lifetime and coincidence Doppler broadening (CDB) measurements were carried out using a <sup>22</sup>NaCl source deposited on thin Kapton foils with an activity of 172 kBq at room temperature. All the positron lifetime spectra were analyzed by RESOLUTION program. To confirm crystallinities of the samples due to irradiation, X-ray diffraction (XRD) measurements were performed using Rigaku Ultima IV. Furthermore, micro-Vickers hardness test was performed for before and after irradiated samples by using a Shimadzu HMV-2 with applied load of 200 and 1000 g imposed for 10 s.

## 3. Results

In this study, the structural changes of Zr<sub>50</sub>Cu<sub>40</sub>Al<sub>10</sub> BMG after electron and swift heavy ion irradiation were studied by employing the positron annihilation spectroscopy, the XRD and the hardness measurements. No crystallization after electron and Xe ion irradiation was observed, while the different structural changes were induced by electron and Xe ion irradiation. That is, free volume size in BMG increases after electron irradiation and decreases after Xe ion irradiation without compositional changes. These features are compatible to the changes of hardness upon irradiation. Our results suggest that swift heavy ion irradiation results in more important structural modifications to the “bulk” metallic glass as compared to the electron irradiation.

The absence of crystallization upon irradiation is contradictory to the previous reports concerning the crystallization of thin film metallic glasses by irradiation. We suppose that the radiation effect for metallic glass strongly depends on the thickness and also incident ion energy. For instance, crystallization of Zr<sub>55</sub>Cu<sub>30</sub>Al<sub>10</sub>Ni<sub>5</sub> BMG by 10 keV Ar ion irradiation with total dose of  $2.7 \times 10^{17}$  ions has been reported. The further studies are still needed to elucidate the influence of sample thickness and irradiation condition on the modification of metallic glasses.

## Research activities

### Presentations

1. “Behavior of free volume in bulk ZrCuAl metallic glass after irradiation”, Yuka Fukumoto, Akito Ishii, Akihiro Iwase, Yoshihiko Yokoyama, Fuminobu Hori, Advanced Science Research Symposium 2009(ASR2009) [Positron, Muon and other exotic particle beams for materials and atomic/molecular sciences], 2009, Tokai, Japan
2. 京都大学原子炉実験所専門研究会『陽電子科学とその理工学への応用』（2009年3月、大阪）  
粒子線照射した ZrCuAl バルク金属ガラスの陽電子消滅測定  
堀史説、福本由佳、石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦

- 3.日本材料学会 第9回金属ガラス部門委員会 (2009年7月、大阪)  
陽電子消滅測定法を用いたZr基金属ガラスの構造緩和の研究  
堀史説
- 4.日本金属学会 2009年秋季大会 (2009年9月、京都)  
粒子線照射によるバルク ZrCuAl 金属ガラスの照射効果  
福本由佳、石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、堀史説
- 5.材料物性工学談話会 平成21年度第4回研究会 (2009年12月18日、大阪)  
粒子線照射によるバルク金属ガラスの自由体積と機械的特性の変化  
福本由佳、石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦、堀史説
- 6.日本物理学会年次大会 (2010年3月、岡山)  
ZrCuAl バルク金属ガラスに対する粒子線照射効果」  
堀史説、福本由佳、石井顕人、岩瀬彰宏、横山嘉彦

### **Publications**

1. “Behavior of free volume in bulk ZrCuAl metallic glass after irradiation”, Yuka Fukumoto, Akito Ishii, Akihiro Iwase, Yoshihiko Yokoyama, Fuminobu Hori, Journal of Physics Conf. series (to be published)

# IP の長時間露光法の検討

大阪府立大産学官連携機構 谷口良一\*、小嶋崇夫、奥田修一

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4293、メール tan@riast.osakafu-u.ac.jp)

## [はじめに]

IP（イメージングプレート）は、高感度で広いダイナミックレンジをもつデジタルイメージング法であり、様々な分野でフィルムの代替手段として利用されつつある。我々のグループも微弱中性子画像の撮像手段として以前から検討を行ってきた。

微弱な放射線画像の測定を対象とした場合、しばしば長時間露光が必要となる。IP には、特別な画像蓄積装置なしでも手軽に長時間露光が可能であるという実用的な長所があるが、現実には、高感度写真フィルムに見られる「相反則不軌」に相当するような現象などがあり、ある程度以上の長さの長時間露光は有効ではなかった。

## [実験]

微弱な放射線場で IP（イメージングプレート）を長時間露光して使用する場合、放射線照射によって IP 中に生成された情報が時間の経過とともに、ある割合で消失して行く、フェーディング（潜像退行）という現象が問題となる。また、長時間、環境中に放置すれば、自然界に存在する環境放射線によって、IP が感光するという現象も起こる。フェーディングは強い温度依存性を持つことが知られている。そこで以下のような実験を行った。

(1) IP を図 4 の装置で一定時間（30 分）照射する。

(2) 一定時間、IP を保存し、その後、読み出す。

その際、IP を常温（約 20℃）で保存したものと、低温

（1℃）で保存したものを用意し比較した。図 1 に結果を示す。図の横軸は保存時間、縦軸は画像の中央部分の輝度を示している。輝度は規格化している。図中の白丸は IP を低温保存したものであり、三角は常温保存したものの輝度を示している。図のように、2 日程度の保存によって、常温で 4 割、低温でも 2 割程度、輝度は低下していることが分かる。

同時に、微弱な放射線場で IP（イメージングプレート）を長時間露光して使用する場合、IP の温度を低温にする

ことが極めて有効であることが明らかとなった。ただし、本稿で最初に指摘した自然放射線によるカブリの増加という現象に関しては、今のところ明確な結論は得られていない。さらに長時間の照射の結果を待ちたい。

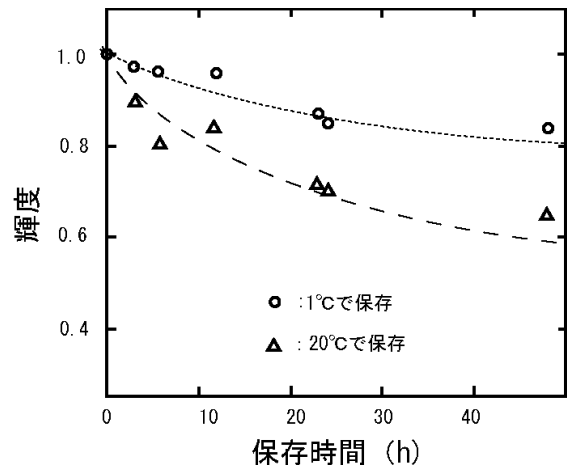


図 1 IP のフェーディング特性と温度との関係

## [本研究に関する研究発表]

1) 「IP の長時間露光特性の検討」、谷口良一、佐々木遼也、小嶋崇夫、奥田修一、非破壊検査協会第 7 回放射線による非破壊評価シンポジウム講演論文集（2010 年 3 月 4-5 日、東京）pp23-28

## アスコルビン酸グルコシドによる DNA の高次構造変化と放射線感受性への影響

大阪府立大産学官連携機構 森利明\*

京大院・理・物理 鈴木麻里<sup>1</sup>、吉川研一

立命館大・総合理工 吉川祐子、今中忠行

名大院・環境 陳寧、Anatoly Zinchenko、村田静昭

名大院・医 神戸俊夫

<sup>1</sup>JST・ICORP 時空間秩序プロジェクト

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4221、メール：morit@riast.osakafu-u.ac.jp)

【目的】我々の研究グループはこれまでに 100kbp を超える長鎖 DNA の高次構造について蛍光顕微鏡を用いて研究してきた。今回は、アスコルビン酸(AsA)の誘導体であるアスコルビン酸グルコシド(AA-2G)に注目し、AA-2G を作用させたときの DNA の高次構造変化と、ガンマ線による二重鎖切断に対する保護作用との関係を定量的に解析した。AsA は抗酸化作用を有するビタミン C であり、食品の酸化防止剤として広く使用されている。一方、AA-2G は AsA に比べて安定性が高く、食品や医薬品および化粧品等への利用が期待されている。

【方法】長鎖 DNA (166 キロ塩基対、全長 57 ミクロンの T4 フェージ DNA) を用いて、AA-2G を含む DNA 溶液にコバルト 60 によるガンマ線照射を行った。照射後、蛍光顕微鏡を用いた単一分子観察により、個々の DNA 分子の全長を測定し、DNA の高次構造変化とガンマ線による DNA 損傷との関連性を調べた。

【結果と考察】蛍光顕微鏡を用いた単一分子観察により、AA-2G が、長鎖 DNA に対して ON/OFF 型の特異的な高次構造変化を引き起こすことが明らかとなった。さらに AA-2G によって凝縮した DNA 分子では、放射線による二重鎖切断が著しく抑制されていることが示された。

### 参考文献

- 1) 吉川祐子「DNA 二重鎖切断反応の可視化：ビタミン C による抑制効果の定量的計測」ビタミン、81,297 (2007).
- 2) Y. Yoshikawa, T. Mori, N. Magome, K. Hibino, K. Yoshikawa, Chem. Phys. Lett., 456, 80 (2008).
- 3) M. Suzuki, C. Crozatier, K. Yoshikawa, T. Mori, Y. Yoshikawa, Chem. Phys. Lett, 480, 113 (2009).

### 本研究に関する研究発表

- 1) 日本ビタミン学会第 62 回大会、2010 年 6 月 11~12 日 盛岡市
- 2) T. Mori and Y. Yoshikawa, 11<sup>th</sup> International Workshop on Radiation Damage to DNA, May 15-19, 2010, Atlanta, Georgia, USA

## CYP1A1、1B1 の誘導的発現とベンゾ[a]ピレン付加体形成

阪府大産学官 椎崎一宏\*、川西優喜、八木孝司

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9830 (内) 4224 shiizaki@riast.osakafu-u.ac.jp)

タバコ煙等に含まれる発がん物質、ベンゾ[a]ピレン (BaP) は体内に取り込まれた後に代謝活性化を受けてゲノム DNA と付加体を形成し変異を引き起こす。BaP はアリール炭化水素受容体 (AhR) を介して、自らの代謝酵素である CYP1A1 および CYP1B1 を誘導することが知られている。BaP の代謝活性化を引き起こすこれらの薬物代謝酵素は、これまで BaP の変異原性の増悪因子と考えられてきた。ところが、ヒト肝ガン由来細胞 HepG2 に CYP1A1 を強力に誘導するダイオキシン (TCDD) を前処理すると BaP 曝露後の付加体形成が減少することを我々は見出した。この TCDD による保護効果は BaP の代謝活性体である BPDE 曝露時において、より顕著であった。BaP 付加体形成に対する CYP1A1 の役割を明確化するため、マウス Hepa-1c1c 細胞およびその CYP1A1 欠損株、c37 細胞を用いて BPDE 曝露後の付加体形成ならびに TCDD による抑制作用を検討した。結果として Hepa-1c1c 細胞では HepG2 細胞同様に TCDD による付加体形成の抑制効果が認められたが、c37 株では抑制作用は全く認められなかった。また、Tet-on システムを用いて、TCDD 非依存的に CYP1A1 を誘導したところ、BPDE 曝露後の付加体形成は顕著に減少した。これらの結果から TCDD による付加体形成抑制は CYP1A1 の誘導的発現に起因し、CYP1A1 が BaP を BPDE に代謝活性化するだけでなく、BPDE を安定代謝物に変換していることが原因であると考えられた。

一方、AhR を介して誘導される薬物代謝酵素は CYP1A1 以外にも 1A2、1B1 が知られている。特に肝臓以外の多くの組織・細胞で発現している CYP1B1 は CYP1A1 同様に BaP を代謝活性化するが、本研究で用いてきた HepG2 や Hepa-1c1c では CYP1B1 を発現していない。我々は次に CYP1B1 の AhR を介した誘導的発現と BaP 付加体形成について検討を行った。まず CYP1A1 および CYP1B1 の発現量が異なる細胞を同定するため、肺胞上皮細胞株 A549、ヒト乳がん細胞 MCF-7 における CYP1A1、1B1 の構成的発現ならびに TCDD 処理による誘導的発現を検討した。MCF-7 細胞では CYP1A1 および 1B1 の誘導が、A549 では CYP1B1 のみが誘導された。これらの細胞で TCDD 処理による BaP 付加体形成への影響を検討したところ、どちらの細胞でも TCDD 前処理は BaP 付加体形成に対して増強的に働いた。一方、BPDE の曝露では MCF-7 では HepG2 と同様に TCDD による保護作用が見られたが、A549 に対しては変化がなかった。

これらの結果から、CYP1B1 は CYP1A1 と異なり BPDE を不活性化できず、その誘導的発現は BaP 付加体形成を増悪させる可能性が示唆された。BaP の毒性発現には、各組織でのこれらの酵素の発現量ならびに発現比が重要だと考えられる。

### 本研究に関する研究発表

1) 2009 年 11 月 日本環境変異原学会第 38 回大会「ベンゾ[a]ピレンの DNA 付加体形成に対する TCDD 曝露の影響」

## CYP1A1、1B1 の誘導的発現とベンゾ[a]ピレン付加体形成

阪府大産学官 椎崎一宏\*、川西優喜、八木孝司

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9830 (内) 4224 shiizaki@riast.osakafu-u.ac.jp)

タバコ煙等に含まれる発がん物質、ベンゾ[a]ピレン (BaP) は体内に取り込まれた後に代謝活性化を受けてゲノム DNA と付加体を形成し変異を引き起こす。BaP はアリアル炭化水素受容体 (AhR) を介して、自らの代謝酵素である CYP1A1 および CYP1B1 を誘導することが知られている。BaP の代謝活性化を引き起こすこれらの薬物代謝酵素は、これまで BaP の変異原性の増悪因子と考えられてきた。ところが、ヒト肝ガン由来細胞 HepG2 に CYP1A1 を強力に誘導するダイオキシン (TCDD) を前処理すると BaP 曝露後の付加体形成が減少することを我々は見出した。この TCDD による保護効果は BaP の代謝活性体である BPDE 曝露時において、より顕著であった。BaP 付加体形成に対する CYP1A1 の役割を明確化するため、マウス Hepa-1c1c 細胞およびその CYP1A1 欠損株、c37 細胞を用いて BPDE 曝露後の付加体形成ならびに TCDD による抑制作用を検討した。結果として Hepa-1c1c 細胞では HepG2 細胞同様に TCDD による付加体形成の抑制効果が認められたが、c37 株では抑制作用は全く認められなかった。また、Tet-on システムを用いて、TCDD 非依存的に CYP1A1 を誘導したところ、BPDE 曝露後の付加体形成は顕著に減少した。これらの結果から TCDD による付加体形成抑制は CYP1A1 の誘導的発現に起因し、CYP1A1 が BaP を BPDE に代謝活性化するだけでなく、BPDE を安定代謝物に変換していることが原因であると考えられた。

一方、AhR を介して誘導される薬物代謝酵素は CYP1A1 以外にも 1A2、1B1 が知られている。特に肝臓以外の多くの組織・細胞で発現している CYP1B1 は CYP1A1 同様に BaP を代謝活性化するが、本研究で用いてきた HepG2 や Hepa-1c1c では CYP1B1 を発現していない。我々は次に CYP1B1 の AhR を介した誘導的な発現と BaP 付加体形成について検討を行った。まず CYP1A1 および CYP1B1 の発現量が異なる細胞を同定するため、肺胞上皮細胞株 A549、ヒト乳がん細胞 MCF-7 における CYP1A1、1B1 の構成的発現ならびに TCDD 処理による誘導的発現を検討した。MCF-7 細胞では CYP1A1 および 1B1 の誘導が、A549 では CYP1B1 のみが誘導された。これらの細胞で TCDD 処理による BaP 付加体形成への影響を検討したところ、どちらの細胞でも TCDD 前処理は BaP 付加体形成に対して増強的に働いた。一方、BPDE の曝露では MCF-7 では HepG2 と同様に TCDD による保護作用が見られたが、A549 に対しては変化がなかった。

これらの結果から、CYP1B1 は CYP1A1 と異なり BPDE を不活性化できず、その誘導的発現は BaP 付加体形成を増悪させる可能性が示唆された。BaP の毒性発現には、各組織でのこれらの酵素の発現量ならびに発現比が重要だと考えられる。

### 本研究に関する研究発表

1) 2009 年 11 月 日本環境変異原学会第 38 回大会「ベンゾ[a]ピレンの DNA 付加体形成に対する TCDD 曝露の影響」

## 部位特異的 3-Nitrobenzanthrone 付加体を持つプラスミドの作製と ヒト由来の細胞での TLS/変異アッセイ

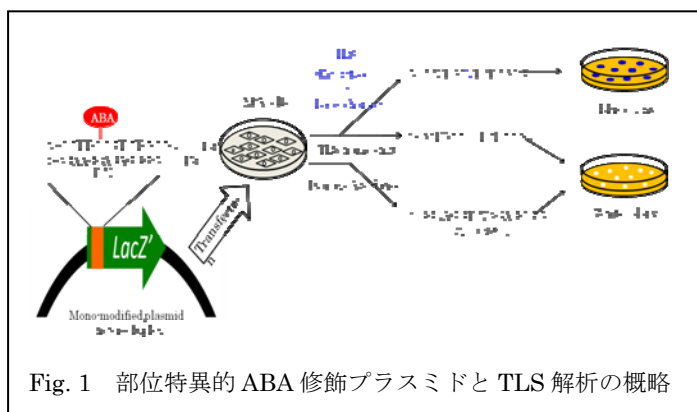
府大産学官 藤川芳宏、川西優喜\*、八木孝司  
神奈川工大 高村岳樹

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9830 (内) 4224、kawanisi@riast.osakafu-u.ac.jp)

【緒言】3-Nitrobenzanthrone(3-NBA)は大気浮遊物質粒子状物質およびディーゼル排気中に存在する大気汚染物質である。NBA は微生物を用いた変異原性試験の Ames 試験において非常に強い変異原性を示す。NBA は、いくつかの種類の Aminobenzanthrone-DNA 付加体(ABA 付加体)を形成する(1)。DNA 付加体は通常 DNA 修復機構によって取り除かれる。しかし、修復前に複製フォークが損傷個所にさしかかると DNA 合成は阻害される。近年、DNA 損傷を乗り越えて起こる DNA 合成(Translesion DNA synthesis:TLS)機構が発見された(2)。TLS は突然変異誘発や発がんにおいて重要な役割を果たしている。

本研究の目的は、様々な構造の ABA 付加体を部位特異的にもつプラスミドを作製することと、これをヒト細胞株内で TLS させ、損傷個所で誘発される突然変異の特徴を明らかにすることである。

【実験】部位特異的 ABA 修飾プラスミドと TLS 解析の概略を Fig. 1 に示す。付加体修飾鎖を鋳型に複製した娘プラスミド



だけが機能する LacZ' を発現する。従って、大腸菌コロニーは X-gal/IPTG プレート上で青色を呈する。青・白コロニーの比率と、娘プラスミドの塩基配列解析から、TLS の起こりやすさと突然変異の種類を明らかにする。

【結果と考察】陰性対照として付加体のないプラスミドを作製した。これを、ヒト細胞株内で複製させ、娘プラスミドを抽出、大腸菌に導入した。青色と白色のコロニー比はほぼ 1 : 2 であった。また、4 種類の ABA 付加体を部位特異的にもつプラスミドをそれぞれ作製中である。これらをヒト細胞株内で複製させ、付加体の化学構造の違いが TLS・突然誘発にどのような影響を与えるか調べる予定である。

### 引用文献

1. Volker M. Arlt *et al.* (2005) *Cancer Res.*, 65, 2644-2652
2. Lauren S. Waters *et al.* (2009) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 73, 134-154

## 塩酸セレギリンならびに関連物質の MAO 阻害活性

エフピー株式会社 ト部和則、国村直、西村哲也、石橋恵利子

大阪府立大学産学官連携機構 川西優喜、八木孝司\*

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）072-254-9862(4210)、メール yagi-t@riast.osakafu-u.ac.jp)

パーキンソン病 (PD)では、振戦、筋固縮、無動、姿勢反射障害といった特徴的な運動症状を呈し、病理学的に黒質線条体ドパミン神経系の進行性の変性が認められる。現在、PDでの薬物治療は、黒質線条体ドパミン神経系でのドパミンの不足を補う対症療法が主であり、ドパミンの前駆体 L-DOPA（ドーパ脱炭酸酵素阻害薬含有）やドパミン受容体アゴニスト等が用いられている。さらに、ドパミンの代謝に関わる B 型モノアミン酸化酵素(MAO-B)の阻害薬である塩酸セレギリンは、内因性および L-DOPA 製剤由来のドパミンの代謝を抑制することにより症状の改善を示す。最近、MAO-B は、加齢のみでなく PD においてその活性が亢進することや、MAO-B 高発現マウスにおいて PD 様の病理学および行動学的所見が認められたことなどから、PD の病因への関与の可能性が示唆されている [1]。

一方、非選択的 MAO 阻害は末梢でのチラミンの代謝を抑制し、チラミンによる神経終末部からのノルアドレナリンの放出を促進するため高血圧を引き起こす。したがって、本研究では、脳および末梢組織（肝臓、回腸）より得たミトコンドリア画分を用いて塩酸セレギリンならびに関連物質処置時の MAO 阻害活性を測定し、MAO-B/MAO-A の選択性を比較することで薬効および安全性の評価を行うことを目的としている。

MAO 活性の測定は、ラット脳、肝臓、回腸より得たミトコンドリア画分を、MAO-A 基質 [<sup>14</sup>C] Serotonin および MAO-B 基質 [<sup>14</sup>C] Phenylethylamine と反応させる。クエン酸添加により反応を停止させた後、それぞれ酢酸エチル、オクタンで代謝物を抽出し、液体シンチレーションカウンターで測定する。現在、条件検討により決定した反応条件を用い、既知の MAO-A および MAO-B 阻害薬の *in vitro* および *ex vivo* での阻害活性を測定している。

### 参考文献

- [1] Mallajosyula JK et al. (2008) MAO-B elevation in mouse brain astrocytes results in Parkinson's pathology. PLoS One;3(2):e1616.



## <sup>32</sup>P ポストラベル法による 3-ニトロベンズアントロン DNA 付加体の解析

阪府大産学官 川西優喜\*、萩尾宗一郎、八木孝司

神奈川工大 高村岳樹

(\*本研究に関する連絡先: 電話(内線)072-254-9830(4224)、メール kawanisi@riast.osakafu-u.ac.jp)

3-ニトロベンズアントロン(3-NBA)は、ディーゼル排ガス由来の変異原性大気汚染物質である。3-NBA は細胞内に DNA 付加体を形成する。本研究では、<sup>32</sup>P ポストラベル-ポリアクリルアミド電気泳動法を用いて、3-NBA に曝露したヒト培養細胞中に生じる DNA 付加体を調べた。その結果、最も多く生成した付加体は dA3'p-N<sup>6</sup>-C2-ABA であり、次いで dG3'p-N<sup>2</sup>-C2-ABA の生成量が多かった。これらの DNA 付加体は、3-NBA の処理濃度に依存して増加する傾向にあり、処理時間 6 時間までは時間に依存した DNA 付加体量の増加が見られた。

次に各 DNA 付加体の修復効率を調べた。細胞を 3-NBA に曝露後、一定時間培養し DNA 修復を行わせた後 DNA を回収し、各付加体の減少量を測定した。その結果、dA3'p-N<sup>6</sup>-C2-ABA、dG3'p-N<sup>2</sup>-C2-ABA の減少を認めた。また dA3'p-N<sup>6</sup>-C2-ABA は dG3'p-N<sup>2</sup>-C2-ABA と比べて減少量が多く、修復されやすい付加体と考えられた。この傾向は、これまでに当研究室で行われた *supF* シャトルベクター系を用いた実験<sup>1)</sup>とも一致した。dA3'p-N<sup>6</sup>-C2-ABA は、生成量が多いが、修復されやすい付加体でもあると示唆された。

### 参考文献

- 1) H. Nishida, M. Kawanishi, T. Takamura, T. Yagi, (2008) Mutagenic specificity of N-acetoxy-3-aminobenzanthrone, a major metabolically activated form of 3-nitrobenzanthrone, in shuttle vector plasmids propagated in human cells, *Mutation Research*, 654(1):82-87

### 本研究に関する研究発表 (原著論文、その他報文、学会等報告)

- a) Formation, DNA Repair, and TLS of 3-Nitrobenzanthrone-derived DNA Adducts, M Kawanishi, H Nishida, H Ishii, T Kanno, T Takamura, T Matsuda, T Yagi, 10th International Conference on Environmental Mutagens, Firenze, Italy, 2009 年 8 月
- b) Efficiencies of formation and repair of 3-NBA-induced DNA-adducts, Soichiro Hagio, Masanobu Kawanishi, Takeji Takamura, Tomonari Matsuda, Takashi Yagi, 日本環境変異原学会第 38 回大会, 静岡, 2009 年 11 月

## マウス出血性水頭症原因遺伝子 *hhy* の解析

阪府大院理学系生物科学 森展子\*

阪府大院生命環境獣医病理学 平野隆爾、桑村充

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9837 (内線) 3593、メール morin@b.s.osakafu-u.ac.jp)

hemorrhagic hydrocephalus (*hhy*) 突然変異は、本学動物実験施設において遺伝子医学研究室が維持している、BALB/c マウスのバックグラウンドに生じた自然突然変異で、常染色体劣性遺伝性である。*hhy* ホモ接合体は、生後まもなく、ほぼ 100% の浸透率で水頭症を発症する。多くの症例で脳内に出血が認められるため、出血性水頭症と命名した。また、*hhy* ホモ接合体の大脳皮質下には必ず、異所性灰白質が見られ、この突然変異の水頭症の病因は、大脳皮質形成と密接に関係すると推測された。この突然変異は 12 番染色体上にあり、水頭症原因遺伝子として新規である(1)。この突然変異を、MSM に戻し交配し、*hhy*/+ヘテロ接合体として維持しながら、詳細マッピングを進め、これまでに、候補領域を 1Mb に絞った。この領域内に含まれる遺伝子の一つが、ゲノムに散在するレトロトランスポゾン様繰り返し配列との組換えによって破壊されていた (GenBank 登録済み)。この遺伝子がコードするたんぱくの細胞生物学的機能は、全くわかっていない。

私達は、HHY タンパクを大腸菌で発現させ、精製たんぱくを抗原として抗 HHY 抗体を作製した。これを用いて、正常マウス脳における HHY たんぱくの局在を調べた。その結果、HHY たんぱくは、胎仔期、新生仔期脳の第 3 脳室および側脳室表面にあり、生後数日のうちに消失した。脳内の他の部位にはなかった。胎仔の脳室面に存在する細胞は、ラジアルグリア細胞である。この細胞は、脳室側に短い突起をのびし、その頂端部で相互に結合し脳室表面を形成している。また、脳表面に向かって、ラジアルファイバーと呼ばれる放射状の長い突起を伸ばし、脳軟膜 (基底膜) に接着している。ラジアルグリア細胞は、不等分裂を繰り返しながらニューロン前駆細胞を産生する幹細胞であり、同時に、新生ニューロンの所定の位置への移動をガイドする皮質構築の支持細胞でもある。ラジアルグリア細胞は、皮質形成期には、幹細胞および支持細胞としてその形態と性質を維持しているが、生後急速に消失し、脳室面を覆う上皮細胞とアストログリアとに姿を変える。*hhy* 変異マウスでは、HHY たんぱくは検出されなかった。現在、HHY たんぱくの欠損とラジアルグリアの異常、水頭症との関係を、さまざまな角度から調べている。

### 本研究に関する研究発表 (原著論文、その他報文、学会等報告)

- 1) Kuwamura, M., Kinoshita, A., Okumoto, M., Yamate, J., Mori, N. Hemorrhagic hydrocephalus (*hhy*): a novel mutation on mouse chromosome 12, *Brain Res. Dev. Brain Res.* **152**, 69-72 (2004)
- 2) 森展子, 外岡武士, 永木恵美, 伊吹将人, 森田健治, 平野隆爾, 名部美琴, 桑村充, 山手丈至「出血性水頭症突然変異マウスの遺伝・病態解析」日本分子生物学会年会 2009 年 12 月 (横浜)

## 放射線誘発染色体不安定性と染色体内再構成との関係

大阪府立大学産学官連携機構 田辺正輝、白石一乗、児玉靖司\*

京都大学原子炉実験所 縄田寿克

鳥取大学大学院医学系研究科 押村光雄

(\*本研究に関する連絡先:電話(内線)4240、kodama@riast.osakafu-u.ac.jp)

### 【緒言】

放射線被ばくした生存細胞の子孫に遅延性染色体異常が誘発されることはよく知られている。そこで我々は、被ばくした1本のヒト染色体を被ばくしていないマウス受容細胞に移入する手法を用いて、被ばく染色体が遅延性染色体異常誘発にどのような役割を果たすのかを解析した。特に本研究では、放射線被ばくによる染色体不安定化に染色体内再構成がどのように関わるのかを明らかにするために、サブテロメア領域の不安定化との関連性について調べた。

### 【材料と方法】

遅延性染色体異常誘発に被ばく染色体が果たす役割を知るために、4Gyの軟X線を照射したヒト8番染色体をマウス不死化線維芽細胞に微小核融合法を用いて移入した。その後、微小核融合細胞における移入ヒト染色体の安定性を、ヒト染色体に特異的な蛍光DNAプローブを用いたFISH法により解析した。さらに染色体不安定化と染色体内再構成との関連性を調べるために、サブテロメアFISH法を用いてサブテロメア領域の不安定性について解析した。

### 【結果と考察】

被ばくしていないヒト8番染色体を移入した微小核融合細胞では、染色体移入後のヒト染色体の構造異常は見られなかった。このことは染色体移入過程で染色体構造が不安定化することはないことを示している。4Gy被ばくヒト8番染色体を移入した19種の微小核融合細胞について移入染色体の安定性を調べたところ、3種類以上の染色体異常が高い(88~98%)割合で生じている細胞が3種(16%)存在した。サブテロメアFISH法によって染色体内再構成を解析した結果、このうち1種で、8番染色体長腕による同腕染色体(i8q)が高頻度でみられた。以上の結果は、放射線による遅延性染色体異常の誘導と染色体内再構成との間には強い関連性が無いことを示唆している。

## マウス神経幹細胞における放射線損傷応答の解析

大阪府立大学産学官連携機構 寺本敬志、白石一乗、児玉靖司\*

大阪府立大学大学院理学系研究科生物科学専攻 原正之

(\*本研究に関する連絡先:電話(内線)4240、メール kodama@riast.osakafu-u.ac.jp)

### 【背景と目的】

難治性腫瘍の代表である神経膠芽細胞腫は放射線抵抗性である。その原因は腫瘍細胞中に存在するがん幹細胞が高い DNA 修復能と DNA 損傷応答能を持つことにあることが示唆されている。脳腫瘍幹細胞と神経幹細胞はともによく似た未分化細胞の特徴を有しているが、正常神経幹細胞の放射線損傷応答能はこれまでに調べられていない。そこで本研究では、マウス神経幹細胞の放射線損傷応答の特徴を明らかにするために、マウス神経幹細胞を CD133 陽性細胞と CD133 陰性細胞に分け、放射線によって誘発される DNA2 重鎖切断の修復動態について、リン酸化ヒストン H2AX ( $\gamma$ -H2AX) フォーカスを指標にして解析した。

### 【材料と方法】

ICR マウス胎児から線維芽細胞、また、胎児脳から神経幹細胞を含むニューロスフェア (NS) 形成細胞を分離して培養系に移した。神経幹細胞を濃縮するために、フィコエリトリン (PE) コンジュゲート抗 CD133 抗体を結合させ、さらに磁性体粒子結合抗 PE 抗体を用いて CD133 陽性細胞を磁性体化した。この磁性体化細胞を磁気カラムを用いて分取して神経幹細胞を濃縮した。得られた CD133 陽性、及び CD133 陰性 NS 形成細胞に 1 Gy の軟 X 線を照射し、照射直後(0 時間)から 12 時間後まで継時的に細胞をサンプリングした。その後、サイトスピンによってスライドガラス上に細胞を固定し、 $\gamma$ -H2AX フォーカスを可視化して定量した。対照として、マウス線維芽細胞を用いた。

### 【結果と考察】

1 Gy 照射直後の細胞当たりの DNA 2 重鎖切断数を  $\gamma$ -H2AX フォーカス数を指標にして比べたところ、線維芽細胞では細胞当たり平均 31 個なのに対し、NS 形成細胞では平均 23 個であり、有意な差がみられた。しかし、CD133 陽性細胞と陰性細胞との間には差がみられなかった。線維芽細胞と NS 形成細胞の細胞当たりの  $\gamma$ -H2AX フォーカス数の違いは X 線照射 1 時間後までみられ、NS 形成細胞で有意に低下していた。その後、両者の差は次第に小さくなり、12 時間後にはともにフォーカス数が細胞当たり 6 個程度になって差がなくなった。以上の結果は、マウス神経幹細胞と線維芽細胞では DNA 2 重鎖切断修復能に差があることを示唆している。このことはまた、がん幹細胞にみられる高い DNA 修復能が幹細胞の特徴に由来する可能性を示唆する。

## マウス神経幹細胞/前駆細胞のニューロスフェア形成過程の解析

阪府大院理 細胞組織工学研究 G 吉元菜々江、森英樹、原正之\*

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9842 (内線) 3602 メール hara@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【目的】 神経幹細胞/前駆細胞は未分化な状態を維持しながら増殖し続ける自己複製能と、ニューロン・アストロサイト・オリゴデンドロサイトという中枢神経系を構成する細胞への多分化能を併せ持つ、未分化な細胞として定義される。増殖因子を添加した無血清培養下では単一の細胞から分裂を繰り返し、ニューロスフェアという細胞集塊を形成しながら増殖・培養維持することができる<sup>[1]</sup>。しかし、ニューロスフェア形成が細胞の未分化状態の維持に影響することは報告されているものの、詳しいメカニズムについてはよく分かっていない<sup>[2]</sup>。そこで、本研究では神経幹細胞/前駆細胞の培養経過に伴うニューロスフェアの形態的特徴と、神経幹細胞の分化能の変化を解析した。

【方法】 ICR マウス (E14.5) 胎仔脳由来の神経幹細胞/前駆細胞を用い、無血清培地中で増殖させた。トリプシン処理により単一細胞化した後、細胞を再び無血清培地下に播種した。培養 0 日目から 5 日目までの計 6 日間、培養中の細胞を撮影し、それらの画像を基に培養経過に伴うニューロスフェアの大きさ及び数の変化を解析した。また、培養ディッシュから毎日細胞をサンプリングし、poly-L-ornithin (PLO) でコートしたガラス上にて、1%ウシ胎仔血清を含む培地でそれぞれ 7 日間分化誘導した。各条件において分化誘導した細胞を抗 tublin $\beta$ III (Tuj1) 抗体、抗 glial fibrillary acidic protein (GFAP) 抗体を用いて免疫染色した。染色した細胞を蛍光顕微鏡で観察した。

【結果と考察】 培養 2 日目から直径 70 $\mu$ m 以上の比較的大きなニューロスフェアが形成され始めたが、一視野あたりのニューロスフェアの個数を比較してみると、その密度は徐々に減少した。免疫染色した細胞を観察すると、単一細胞が多い 0 日目や 1 日目は GFAP 陽性細胞の伸展はあまり見られなかったが、3 日目以降は良く伸展している箇所が比較的多く観察された。また、Tuj1 陽性細胞も 10%程度観察されたが、形態的な違いが見られた。

以上のことから、ニューロスフェアは他のニューロスフェアや単一細胞と結合してより大きなニューロスフェアとなったため、大きさの分布は培養経過に伴い大きくなるが、密度は減少したと考えられる。また、単一細胞のみでは分化誘導してもあまり伸展せず、比較的大きなスフェアを多く含んでいた方が細胞の伸展が良いと考えられる。

### 参考文献

- 1) B. A.Reynolds, S. Weiss : Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the mammalian central nervous system : Science, 255, 1707-1710 (1992)
- 2) H.Mori.et al : Effect of neurosphere size on the growth rate of human neural stem/progenitor cells : Journal of Neuroscience Research, 8, 1682-1691 (2006)

## 弾性率の異なる足場材料上におけるマウス神経幹細胞に由来する アストロサイトの形態変化

阪府大院理 細胞組織工学研究 G 森英樹\*、原正之

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9842 (内線) 3618 メール morihide@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【目的】 生体組織は各々の組織を構成している細胞密度やそれらの細胞外のマトリクス成分や構造によって、組織部位の硬さは異なっている。近年、足場材料弾性率の変化に応じて組織幹細胞の分化傾向および形態が変化することが次々と報告されている<sup>(1,2)</sup>。この事は、培養基質の硬さが幹細胞の分化や形態変化を引き起こす物理的因子であることを示している。そこで、本研究では硬さの異なる培養基質が神経幹細胞/前駆細胞 (NSPC) の分化に伴う形態変化に対してどのような影響を与えるか解析した。

【方法】 E14.5 ICR マウス終脳由来の NSPC を実験に用い、弾性率の異なる化学架橋コラーゲンゲルやポリアクリルアミドゲル上で分化誘導を行った。分化誘導後のサンプルを免疫染色し、NSPC から分化したアストロサイトの細胞形態を画像解析した。画像解析には形状認識プログラム IMAQ Vision を用い、glial fibrillary acidic protein 陽性のアストロサイトが展開した面積もとに比較した。さらに、各々の足場条件における分化細胞の細胞骨格制御因子である Rho ファミリー遺伝子の発現解析も行った。

【結果と考察】 化学架橋コラーゲンゲルでは、足場弾性率の変化に伴い分化したアストロサイトの移動に違いがみられ、貯蔵弾性率が高いゲルほど移動範囲は広がった。また、貯蔵弾性率が高いゲルほど Rho ファミリー遺伝子の発現も高くなっていた。コラーゲン修飾ポリアクリルアミドゲルでも同様の傾向が得られた。これらの結果から、ゲルの硬さによる機械的刺激が NSPC から分化した細胞の Rho ファミリー遺伝子の発現を活性化し、アストロサイトの移動・展開を促進したと考えられる。

### 参考文献

1. Adam J.Engler, Shamik Sen, H.Lee Sweeney, and Dennis E.Discher : Matix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification : Cell 126,677-689 (2006)
2. Dennis E.Discher,Dacid J.Mooney,Peter W.Zandstra : Growth Factors,Matrices,and Force Combine and Control Stem Cells : Science 324,1673-1677 (2009)

## リンパ腫誘発感受性を支配するマウス 4 番染色体上の 2 つの遺伝子座

阪府大院理学系生物科学 森展子\*

(\*本研究に関する連絡先：電話 072-254-9837 (内線) 3593、メール morin@b.s.osakafu-u.ac.jp)

放射線照射による発がん効果（がんの種類、頻度、発生時期）は、使用するマウスの系統によって大きく変化する。これは、遺伝的多型によるものであり、マウスを用いた放射線発がん実験によって得られた結果をヒトに外挿しようとするとき、大きな問題となる。本研究では、放射線のがん誘発効果におけるマウス系統差の原因である発がん感受性遺伝子（群）を明らかにし、放射線のヒト健康に及ぼす影響評価の標準化の一助とすることを目的とする。

これまでに、放射線によるリンパ腫誘発に高感受性の BALB/c 系統と抵抗性の STS 系統を組み合わせた遺伝交配系実験によって、放射線誘発リンパ腫感受性遺伝子を 4 番染色体上に位置づけた。また、BALB/c マウスの 4 番染色体の一部を STS マウスのそれで置き換えた、コンジェニック系統を複数作製し、4 番染色体中央部からテロメア付近までの広い範囲を、リンパ腫感受性遺伝子領域から除外した。遺伝解析とコンジェニックマウスの解析とから、リンパ腫感受性遺伝子領域として限定された、4 番染色体中央部からセントロメア近傍に広がる領域には、有意の関連性を示す二つの小領域が認められたことから、この領域には、リンパ腫感受性を支配する遺伝子が少なくとも 2 箇所があると推定された。このことを確かめるため、この小領域の一方に STS 由来部分を含むがもう一方の小領域には含まないコンジェニック系統を 3 系統作製し、コンジェニック系統またはそれと BALB/c との F2 交雑を放射線照射、それぞれの小領域に放射線リンパ腫感受性遺伝子が含まれるかをテストした。その結果、二つの小領域にそれぞれ、発がん感受性遺伝子が存在すると判明した。4 番染色体中央部約 7Mb 領域には、発がんに関与を示す遺伝子が存在した。この領域よりセントロメア側約 11.4 Mb の範囲には、弱い関連を示す新規発がん感受性遺伝子座があった。候補遺伝子は、現在のところ不明である。一方、強い関連を示したもう一つの発がん感受性遺伝子領域には、細胞周期制御因子の一つで、ヒト T 細胞リンパ腫でホモ欠損が高頻度で見つかるがん抑制遺伝子 p16 があり、BALB/c マウスはこの遺伝子に機能微弱型変異があることが知られている(1)。これら 2 つの発がん感受性遺伝子座の同定を論文発表し(2)、今後、p16 を候補遺伝子として検討することとした。

### 本研究に関する研究発表（原著論文、その他報文、学会等報告）

- 1) 森展子「*Cdkn2a* と異なるマウス 4 番染色体新規発がん感受性遺伝子座」第 68 回日本癌学会総会, 2009 年 10 月（横浜）
- 2) Mori, N. Two loci controlling susceptibility to radiation-induced lymphomagenesis on mouse chromosome 4: *Cdkn2a*, a candidate for one locus, and a novel locus distinct from *Cdkn2a*, *Radiat. Res.* **173**, 158-164 (2010)

## 香辛料の汚染細菌の放射線抵抗性と食肉類中での増殖回復挙動について

阪府大院・理・生物科学 古田雅一\*、向原岳、石川悦子、小池佳都子

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール [mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp](mailto:mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp))

### 【緒言】

生残菌を含む香辛料を生菌数が少ない殺菌済み加工食品に添加した場合の生残微生物の増殖挙動を検討することは、食品加工における効果的な微生物制御には必要不可欠であると考えられる。そこで本研究においては殺菌された香辛料に生存する微生物群が加工食品の中でどのような増殖パターンを示すか、放射線と過熱水蒸気について比較した。

### 【実験方法】

わが国で流通している香辛料の中から代表的なものとして市販の未殺菌及び過熱水蒸気殺菌済みの黒コショウ、パプリカ、セージをそれぞれ購入し、未殺菌の香辛料は大阪府立大学産学官連携機構放射線研究センターの<sup>60</sup>Coガンマ線照射施設において10 kGyまでの異なる線量を均質に照射した。

未殺菌、過熱水蒸気殺菌、放射線殺菌済みの試料25 gと回収液(0.05%Tween80, 0.1%ペプトン水)250 mLをフィルター付ストマッカー用袋に入れ、ストマッカー(サンプル容量400 mL、200ストローク/分)により2分間ブレンディングした。得られた試料中の一般生菌数、大腸菌群、真菌類の菌数を食品衛生検査指針に従って求めた。

さらに上記の香辛料試料をコーヒーマイルにより粉砕し(4 g)、市販のフードプロセッサーで20~30秒すりつぶした加工ソーセージ(17 g)に添加してサンプル瓶に入れ、良く混合させて30°Cで培養した。経日的に一瓶ずつ回収し、前述の方法により一般生菌数、大腸菌群、真菌類に属する微生物コロニーの変化を測定した。

### 【結果と考察】

<sup>60</sup>Coガンマ線照射後の殺菌効果は、10 kGy照射で十分加工食品に使用可能なレベル(1000個/g未満)まで殺菌できることを確認した。同時に生残菌の多くが芽胞を形成するBacillus属の細菌であることを顕微鏡観察およびBBLクリスタル簡易同定キットにより明らかにした。これらの試料を生菌数が少ないソーセージに添加し、生残菌の増殖パターンを計測したところ、放射線照射、加熱共にはほぼ類似の増殖挙動を示すことが示唆された。

今回用いた市販のソーセージからは一般生菌、酵母・カビ類、大腸菌群はいずれも検出されなかったが、経日的にサンプリングして菌数を評価したところ、培養と共に一般生菌数、酵母・カビ類の菌数は急激に増加し、培養2日後には試料1 g当り10<sup>8</sup>CFU以上に達した。一方、大腸菌群に関しては培養3日後も菌が検出されず、フードプロセッサーによる試料調製時においてソーセージには大腸菌群は存在しないことが示された。



以上の結果から過熱水蒸気殺菌、放射線殺菌いずれの処理を受けた黒コショウ、パプリカ、セージの生残菌はソーセージ中で未処理の菌の増殖レベルを超える増殖は示さないことが確認された。

#### **本研究に関する研究発表**

1) *Bacillus* 属細菌の放射線抵抗性と香辛料における増殖挙動について

○古田雅一<sup>1</sup>、浅野哲也<sup>1</sup>、富井恵奈美<sup>1</sup>、石川悦子<sup>1</sup>、保科美幸<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 阪府大院・理 <sup>2</sup> 阪府大院・生命環境)、2009 年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会、2009 年 10 月 30～31 日、琉球大学

## $\alpha$ -エラスチンの粒子形成とガンマ線架橋による安定化

阪府大院・理・生物科学 藤本真理、古田雅一\*

九工大院生命体工学 岡元孝二

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

### 【緒言】

天然のエラスチン $\alpha$ -elastin（ウシ項靱帯由来）水溶液は、一定温度以上に昇温すると凝集・微粒子化する特性がある。この特性を利用して $\alpha$ -elastinを凝集させガンマ線で架橋を行うことで、安定した架橋粒子が得られないかどうかについて検討した。

### 【実験方法】

ウシ項靱帯由来 $\alpha$ -エラスチン (Elastin Product Co, Inc.より購入)の凝集が十分確認できる濃度10 mg/mlになるように純水に溶解した。 $\alpha$ -エラスチン水溶液を4°Cまで冷却し、その後60°Cまで昇温し凝集させた。粒子化に最適な昇温速度を得るために次の方法を検討した。Slow Heating:30分かけて60°Cまで昇温、Fast Heating:10分かけて60°Cまで昇温、Heat Shock:瞬間的に60°Cまで昇温。 $\alpha$ -エラスチンを凝集させた後、凝集体の粒径を動的光散乱法を用いて測定した。さらに $\alpha$ -エラスチン水溶液を昇温後、60°Cに保持しながらガンマ線照射を行い架橋を試みた。ガンマ線照射後、架橋粒子の生成を確認し動的光散乱法を用いて粒径を測定した。

### 【結果と考察】

ガンマ線照射を行う前、Slow Heating では平均240 nm、Fast Heating では平均270 nm、Heat Shock では平均380 nmの $\alpha$ -エラスチン凝集体が得られた。ガンマ線照射を行うと、ガンマ線照射を行う前では $\alpha$ -エラスチンが溶解していた4°Cまで冷却しても $\alpha$ -エラスチン凝集体が溶解することはなかった。また SDS-PAGE よりガンマ線照射後はガンマ線照射前よりも分子量が増加していた。この結果からガンマ線によって架橋されたことが確認できた。架橋された $\alpha$ -エラスチン凝集体の大きさは60°Cでは平均400 nmで昇温速度の違いによる大きさの差はほとんど見られなかった。15°CではFast Heating、Heat Shock では粒度分布が広がったがSlow Heating では粒度分布が狭く平均140 nmになった。また電子顕微鏡写真より球状の粒子の生成が確認できた。

### 本研究に関する研究発表

- 1)  $\alpha$ -エラスチンの粒子形成とガンマ線架橋による安定化、藤本真理<sup>1</sup>、岡元孝二<sup>2</sup>、古田雅一<sup>3</sup>（<sup>1</sup>大阪府立大学大学院理学系研究科、<sup>2</sup>九州工業大学大学院情報工学研究科生命情報工学研究科系、<sup>3</sup>大阪府立大学大学院理学系研究科）第82回日本生化学会大会、2009年10月21日～24日、神戸ポートアイランド
- 2) Effect of Concentration on the Formation of the  $\alpha$ -Elastin Nanoparticles by Gamma-ray Crosslinking, Mari Fujimoto, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta、第46回ペプチド討論会、平成21年11月4日(金)～6日(土)、

北九州国際会議場、北九州市、講演要旨集 pp. 87.

- 3) エラスチンの温度応答性と放射線架橋によるナノ粒子化、藤本真理、岡元孝二、古田雅一、第7回日本エラスチン研究会学術集会、平成21年12月4日(金)～5日(土)、北九州国際会議場、北九州市
- 4) Effect of gamma irradiation dose on the fabrication of  $\alpha$ -elastin nanoparticles by gamma-ray crosslinking, Mari Fujimoto, Mayuko Takeda, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta, 11<sup>th</sup> Pacific Polymer Conference (PPC11), 6-10, December (2009) Cairns Convention Centre, Cairns, Australia.
- 5) Effect of polypeptide concentration and gamma radiation dose on the fabrication of alpha-elastin nanoparticles by Gamma-ray Crosslinking ( $\alpha$ -エラスチンのナノ粒子化に及ぼすガンマ線量及び濃度の影響), Mari Fujimoto, Mayuko Takeda, Kouji Okamoto, and Masakazu Furuta, The 5<sup>th</sup> International Symposium on Material Cycling Engineering (第5回資源循環工学国際会議)、March 10-11, 2010, Osaka Prefecture University, Sakai, Osaka, JAPAN. P107-P108

## **Bacillus** 属細菌芽胞の増殖挙動・発芽過程に及ぼす放射線効果

阪府大院・理・生物科学 向原岳、古田雅一\*、石川悦子、小池佳都子

シスメックス株式会社 小田康雅、坂田孝

(\*本研究に関する連絡先：電話(内線)3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

【緒言】食品の殺菌には主に加熱殺菌法が用いられているが、透過力が強く温度上昇が少ない放射線殺菌法が栄養成分や香気成分の劣化を防ぐために有効である。従って香辛料などの乾燥食品に対しては放射線殺菌の普及が進んできている。放射線殺菌においては照射量を増やせば殺菌効果はそれだけ上がるが、過剰な照射は食品を劣化させてしまうため、極力少ない線量で殺菌できれば有利である。自然界に普遍的に存在する *Bacillus* 属細菌は芽胞を形成することで大腸菌のような栄養型細菌よりも高い放射線抵抗性を示す。本研究では香辛料の代表的汚染菌である *Bacillus megaterium* 及び *Bacillus licheniformis* の芽胞を用いて、放射線照射による殺菌効果及び照射後の発芽増殖の挙動について検討した。

【実験】*B. megaterium* は2種類の標準株 (ATCC<sup>(R)</sup> No.8245 と NBRC No.15308) をそれぞれ芽胞形成培地に接種し 30°C で1週間培養後、形成した芽胞を回収した。*B. megaterium* の芽胞を生理食塩水で約  $1.0 \times 10^7$  cells/ml に希釈し、<sup>60</sup>Co  $\gamma$  線を照射後コロニーカウント法で生残率を求めた。また黒コショウから菌を回収して BBL クリスタル GP で菌種を同定し、その中で検出頻度が最も高かった *B. licheniformis* を *B. megaterium* と同様の手順で芽胞を調製し、生残率を求めた。次に *B. licheniformis* 芽胞と *B. megaterium* 芽胞に <sup>60</sup>Co  $\gamma$  線を照射して 37°C で振とう培養し、時間経過における濁度変化を分光光度計を用いて 10 分間隔で測定し、同時に発芽の過程を 1 時間ごとに位相差顕微鏡で観察した。

【結果と考察】コロニーカウント法によって得られた生残率を比較すると、*B. licheniformis* 芽胞は直線型の生残曲線を示したのに対し、*B. megaterium* 芽胞はシグモイド型の生残曲線を示した。このことから *B. megaterium* 芽胞の方が高い放射線抵抗性を有することが確認された。照射した黒コショウからは *B. licheniformis* が最も多く検出されたため、この芽胞と *B. megaterium* 芽胞の照射後の濁度変化を指標として発芽過程を比較すると、芽胞の発芽過程については非照射と照射した芽胞とで差は見られなかった。従って、 $\gamma$  線は芽胞の発芽過程そのものには影響を与えず、発芽後の増殖挙動に影響を与える可能性が示唆された。発芽後の増殖挙動については線量の増加に伴って増殖開始時期の遅延が見られた。ただし増殖開始の遅延の度合いが *B. megaterium* では一定の割合で増大したのに対し、*B. licheniformis* では線量に依存しなかった。このことは発芽後の損傷修復の様式が両者で異なる可能性を示唆するものである。

# イメージングプレートを用いた照射食品の自然放射能の分布の 可視化と食品照射の広聴活動への応用

阪府大院・理・生物科学 古田雅一\*

阪府大産学官 伊藤憲男

(\*本研究に関する連絡先：電話(内線) 3542、メール [mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp](mailto:mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp))

## 【緒言】

食品照射に利用できる放射線は、 $^{60}\text{Co}$ 、および  $^{137}\text{Cs}$  のガンマ線、エネルギーが 1000 万電子ボルト (10 MeV) 以下の電子線、エネルギーが 500 万電子ボルト (5 MeV) 以下のエックス線、が国際基準 (Codex 規格) において定められている。この範囲の放射線のエネルギーにおいては放射化の心配はないが、一般消費者にとってはいまだに懸念材料となっている。そこで本研究においては非照射及び  $^{60}\text{Co}$  ガンマ線照射を行った香辛料について今一度精密な放射能測定を行うとともに、イメージングプレートを用いて放射能の可視化を試み、照射試料と非照射試料の誘導放射能の有無を一般消費者にわかりやすく示せるかどうかを検討した。

## 【実験方法】

非照射および  $^{60}\text{Co}$  ガンマ線照射した黒胡椒 (41 g)、オレガノ (28 g)、オールスパイス (31 g)、パプリカ (37 g)、セージ (21 g) をそれぞれプラスチックシャーレに封入し、20 cm 厚みの鉄室内の低バックグラウンド環境下に設置したリチウムドリフトゲルマニウム検出器を用いて 100 ksec (27.8 時間) 測定した。波高分析装置 (Aptec 社製、Series 5000) により放射性核種を同定した。

また一部の試料をポリ袋に封入し、イメージングプレートに密着させ、低バックグラウンド下で室温にて露光し、一定期間後読取装置により画像を得た。

## 【結果と考察】

得られた波高分析パターンを分析し、10 kGy 照射試料と未照射試料に含まれる放射能を比較したところ、得られた放射能ピークはすべてウラン系列、トリウム系列の自然放射性核種、及び試料に含まれる  $^{40}\text{K}$  に由来することが明らかとなり、ガンマ線照射に起因する誘導放射能が検出されないことを再確認した。

これらの結果をよりわかりやすく一般消費者に示すための方策として現在黒コショウ、パプリカを用いてイメージングプレートによる自然放射能分布の画像化を行ったところ、37 日間露光した試料について一部鮮明な画像が得られた。現在、より鮮明な画像を得るためにそれぞれの試料に対して IP の感光条件の最適化を行っている。

## 本研究に関する研究発表

- 1) イメージングプレートを用いた照射食品の自然放射能の分布の可視化と食品照射の広聴活動への応用、大阪府大理 ○古田雅一 大阪府大産学官連携機構 伊藤憲男、日本原子力学会 2010 年春の年会、2010 年 3 月 26 日 (金) ~ 28 日 (日) 会場 茨城大学 水戸キャンパス

## 糖代謝を指標とした *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答機構の解析

阪府大院・理・生物科学 渡邊健、古田雅一\*

阪府大院・生命環境・応用生命 松井文彦、宮西順子、岸田正夫

シスメックス株式会社 小田康雅、坂田孝

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3542、メール [mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp](mailto:mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp))

### 【緒言】

環境中にはさまざまなストレスが存在し、生物はこれらのストレスに常に曝されている。そのような中で生物が生存し続けることができたのはストレスに対する防御機構を獲得したためと考えられている。真核生物のモデルである酵母はストレス応答の研究に多く用いられてきた。酵母を熱曝露したときには熱ショックタンパク質とともにトレハロースが蓄積され、この糖が熱耐性の獲得に非常に重要な物質であることがわかっている。また、トレハロースが細胞内に蓄積したときには過酸化水素( $H_2O_2$ )に対して抵抗性になるという報告もあることから、トレハロースが他の酸化ストレスに対しても防護効果があることが期待される。そこで我々は放射線の1つであるガンマ線に着目した。ガンマ線はそれ自体が細胞に損傷を与える直接作用とガンマ線が水分子と反応することで生じるフリーラジカルが細胞に損傷を与える間接作用の2通りの作用を有する。ガンマ線の間接作用は $H_2O_2$ と類似の作用で細胞に損傷を与えるため、トレハロースがガンマ線に対しても防護効果がある可能性が高いと考えられる。そこで本研究ではガンマ線に対する防護物質としてトレハロースが蓄積されるのかを検証した。さらにトレハロースが細胞内に蓄積したときにはガンマ線に対して抵抗性になるのか、トレハロース蓄積時にはどのような損傷を抑制されるのかを検証した。

### 【実験方法】

#### ①ガンマ線によるトレハロース蓄積の有無

対数増殖期まで培養した出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の野生株である BY4741 に 0.01~5 kGy までの  $^{60}Co$  ガンマ線を照射した。照射した細胞を熱水処理することでトレハロースを抽出し、酵素法にて定量した。

#### ②トレハロース細胞内蓄積時のガンマ線抵抗性

対数増殖期まで培養した出芽酵母の野生株(BY4741)とトレハロースを合成できない *TPS1* 欠損変異株( $\Delta tps1$ )に 40°C、20 分の熱処理をすると、野生株ではトレハロースが蓄積され、変異株では蓄積されない。熱前処理した、もしくはしていない両株に 1 kGy の  $^{60}Co$  ガンマ線を照射し、コロニーカウント法により生残率を測定した。

#### ③トレハロース蓄積時の細胞内 ROS レベル

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞に ROS 検出試薬  $H_2DCFDA$  を取り込ませた後、ガラスビーズで細胞を破砕して得られた抽出物の蛍光強度を測定した。

④トレハロース蓄積時の脂質過酸化

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞をガラスビーズで破碎して得られた抽出物をチオバルビツール酸(TBA)と反応させ、その生成物の特異的吸収を測定した。

⑤トレハロース蓄積時の DNA 二本鎖切断の生成

②と同様の方法でガンマ線照射した細胞を低融点アガロースで包埋し、その状態で酵素処理することで染色体DNAを抽出した。抽出した染色体DNAをパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)にて電気泳動し、DSBの生成状態を観察した。

【結果と考察】

対数増殖期の野生株に 0.01~5 kGy のガンマ線を照射してもトレハロースは検出されなかったことから、ガンマ線に対するストレス応答物質としてトレハロースは蓄積されないことが確認できた。

野生株では熱前処理後に 1 kGy のガンマ線を照射した場合の生残率が熱処理せずに直接ガンマ線を照射した場合の生残率に比べ7倍になった。一方、変異株では熱処理後に

1 kGy のガンマ線を照射した場合の生残率が熱処理せずに直接ガンマ線を照射した場合の生残率に比べ 2.5 倍になり、野生株よりも増加幅が小さかった(Fig. 1)。このことから、トレハロースが細胞内に蓄積したときにはガンマ線に対して抵抗性になることが示唆された。野生株のみにおいて、熱処理した場合の ROS レベルは熱未処理の場合よりも小さくなった。また

野生株と変異株の両株において、熱処理した場合の脂質過酸化の値は熱未処理の場合より小さくなったが、減少幅は野生株の方が大きかった。さらに野生株のみにおいて、熱処理した場合の DSB 生成は熱未処理の場合より少なかった(Fig. 2)。以上のことから、トレハロースが細胞内に蓄積したときには ROS レベルの増加、脂質過酸化と DSB の生成が抑制されることが示唆され、このことがガンマ線抵抗性の獲得に寄与したと考えられる。

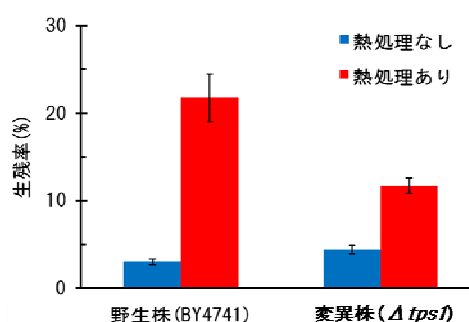


Fig. 2. 1 kGy 照射後の生残率

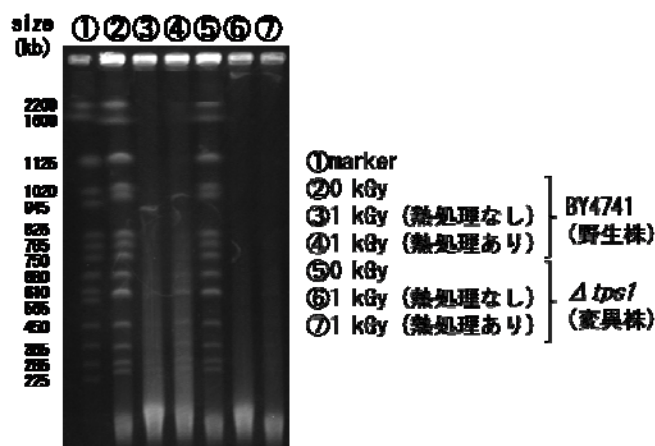


Fig. 3. 1 kGy 照射後の DSB 生成

## 本研究に関する研究発表

- 1) *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答機構の解析、松井文彦<sup>1</sup>、宮西順子<sup>1</sup>、渡邊健<sup>2</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、(<sup>1</sup>大阪府大院・生命環境、<sup>2</sup>大阪府大院・理・生科) 酵母遺伝学フォーラム第42回研究発表会、2009年7月28~30日、つくば ノバホール
- 2) *Saccharomyces cerevisiae* を用いた放射線障害応答機構の解明、松井文彦<sup>1</sup>、宮西順子<sup>1</sup>、渡邊健<sup>2</sup>、小田康雅<sup>3</sup>、坂田孝<sup>3</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、(<sup>1</sup>大阪府大院・生環・応生、<sup>2</sup>大阪府大院・理・生科、<sup>3</sup>シスメックス(株)) 日本防菌防黴学会第36回年次大会、2009年9月14~15日、千里ライフサイエンスセンター、吹田市
- 3) トレハロース産生を指標とした *Saccharomyces cerevisiae* 放射線ストレス応答、渡邊健<sup>2</sup>、松井文彦<sup>1</sup>、古田雅一<sup>2</sup>、岸田正夫<sup>1</sup>、2009年度日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部、日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同沖縄大会、2009年10月30~31日、琉球大学
- 4) *Saccharomyces cerevisiae* におけるトレハロース蓄積時の放射線抵抗性  
大阪府立大学理学系研究科、渡邊健、古田雅一、大阪府立大学生命環境科学研究科、岸田正夫、日本農芸化学会2010年度大会、2010年3月27~30日、東京大学



## 乾燥ストレスが *Enterobacter sakazakii* の放射線感受性に与える影響

阪府大理生物 藤井夏日、古田雅一\*

(\*本研究に関する連絡先 : 電話 (内線) 3542、メール mfuruta@b.s.osakafu-u.ac.jp)

[緒言] *Enterobacter sakazakii* は環境に広く分布する腸内細菌科に属する菌のひとつで、とくに乳児用調製粉乳を介して乳幼児に感染し、髄膜炎や壊死性腸炎を引き起こす日和見性病原菌として知られている。本菌の熱耐性は他の腸内細菌科の菌 (*E. coli* など) とさほど変わらず、調製粉乳についていえば、使用する際に70°C以上のお湯で調乳することで殺菌が可能である。しかし一方で、乾燥に対してはとても強く、調製粉乳中で数年間にわたり生存したという報告がある<sup>[1]</sup>。熱に弱く乾燥に強いという特徴から、調製粉乳への汚染は、製造工程における熱殺菌後の乾燥処理や製品充填の過程、調整工程における二次汚染が大半を占めているものと考えられている。私たちは、製品が消費者の手にわたる前の段階で *E. sakazakii* の汚染レベルをより低く抑えられないかと考え、ガンマ線による殺菌に着目した。これは包装済みの製品に対しても有効で、かつ、品質劣化の少ない非加熱殺菌法として世界的にも高く評価されている。今回は、ガンマ線による殺菌を考える上で、乾燥環境下におかれた本菌がその放射線感受性をどのように変化させるのかについて、*E. coli* と比較検証した。

[実験] *E. sakazakii* (ATCC51329) を TSB 培地に、*E. coli* (K12) を LB 培地に植えてそれぞれ定常期まで培養した。このそれぞれに<sup>60</sup>Co ガンマ線を照射した後、平板培地に播き、翌日コロニーカウント法により生残率を求め、液体培地中における放射線感受性を評価した。乾燥環境下における放射線感受性の評価については、同様に定常期まで培養した菌液から遠心分離により菌体を回収し、シリカゲルを敷いたデシケート管内にて0、24、48時間放置するという乾燥ストレスを与えた。これにガンマ線を照射した後、コロニーカウント法により生残率を調べた。また、*E. sakazakii* が示す高い乾燥耐性には細胞内トレハロース蓄積が関与しているという報告がある<sup>[2]</sup>ことから、乾燥処理後のトレハロース含量を酵素法により測定し、トレハロース量と乾燥耐性、放射線抵抗性に相関関係が見られるのかどうかについても検証した。

[結果] 液体培地中で照射した場合の生残曲線は *E. sakazakii* と *E. coli* で差はなく、生残菌数は1 kGy あたりおよそ3 log CFU 減少し、D<sub>10</sub>値は0.4 kGy であった。乾燥状態で照射した場合の生残率は、*E. sakazakii* と *E. coli* とともに液体培地中よりも高い値を示し、生残菌数は *E. sakazakii* で1 kGy あたりおよそ1 log CFU の減少、*E. coli* でおよそ2 log CFU の減少であった。生残曲線は両者で異なる傾向を示し、*E. sakazakii* では乾燥処理時間が0時間から24、48時間と長くなるにつれて、D<sub>10</sub>値は0.6、0.8、1.1 kGy と変化し、放射線抵抗性の向上が見られた。一方、*E. coli* の D<sub>10</sub>値は乾燥処理時間に関わらず0.5~0.6 kGy を示し、放射線抵抗性の向上は見られなかった。放射線抵抗性の向上が見られた *E. sakazakii* についてトレハロース含量を測定したところ、乾燥処理時間によるトレハロース量の変化は見られなかった。

### 参考文献

[1] Caubilla Barron, Juncal Forsythe, Stephen J. (2007) *J. Food Prot.* 70:2111-2117.

[2] P. Breeuwer, A. Lardeau, M. Peterz and H.M. Joosten. (2003) *J. Appl. Microbiol.* 95:967-973.

## アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの崩壊と細胞脱離

福田一馬、上田英二\* (阪府大院 生物)

(\*本研究に関する連絡先：電話 (内線) 3616、mail: uheda@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物の細胞には細胞壁があり、それぞれの細胞は主にペクチンからなる中葉 (ミドルラメラ) を介して隣の細胞と接着している。ミドルラメラのペクチン分解とそれに伴う細胞脱離の現象は、アブシジョン (器官脱離)、根冠細胞の脱離、果実の成熟、花粉の形成など植物の生長過程で普遍的に見られる。しかし、ミドルラメラペクチンの構造は非常に複雑であり細胞接着の詳細は不明である。また、ミドルラメラペクチンの分解やそれに伴う細胞脱離の詳細についても不明な部分が多い。

私たちは、アカウキクサ (水生シダ) の根の離層細胞がアポプラストの pH に依存して脱離することを発見した。その後の研究によって、離層細胞のミドルラメラペクチンはアポプラスト pH に依存して分解されること、細胞脱離はミドルラメラペクチンの分解の結果起こることを明らかにした。ペクチンの分解にはおそらく細胞壁に存在する酵素が関与していると考えられるが、詳しいことは不明である。アポプラスト pH に依存したミドルラメラの分解はこれまで知られていなかった現象である。私たちは、この現象の詳細を明らかにすることができれば、ペクチンを介した植物細胞の接着や脱離についての新しい知見が得られるのではないかと考えている。

現在、アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの崩壊過程の詳細を明らかにするため以下の検討を行っている。

- ① 種々の薬剤、酵素を使って細胞脱離に及ぼす効果を検討している。
- ② 細胞の脱離に伴うミドルラメラペクチンの構造変化を、異なるペクチンエピトープを認識するモノクローナル抗体を使って解析している。
- ③ アポプラスト pH に依存したミドルラメラペクチンの分解は、アカウキクサ以外の植物でも認められる一般的な現象なのか否かについて、インゲン豆の細胞脱離系を新たに開発し検討を重ねている。

## オーキシン極性移動制御物質の探索 -生物検定系の開発-

大阪府立大学大学院 理学系研究科 上田純一\*

大阪府立大学 総合教育研究機構 宮本健助

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）3596、メール ueda@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物の成長、発達に重要な役割を担っている植物ホルモンのオーキシン (Indole-3-acetic acid, IAA) は極性移動を示すことが知られている。現在まで、オーキシン極性移動制御物質としては、非天然型の化合物である 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA)、*N*-(1-naphthyl)phthalamic acid (NPA)、9-hydroxyfluorene-9-carboxylic acid (HFCA) がその阻害剤として知られているにすぎない。本研究においては、広く植物界より天然型のオーキシン極性移動制御物質を探索することを目的とした。特に本年度は、放射性オーキシンを用いて、そのための生物検定系の開発を目指した。

生物検定系開発のための供試植物として、明所で生育させたキュウリ (*Cucumis sativus* L.) 胚軸、ダイコン (*Raphanus sativus* L.) 胚軸、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) 花茎、暗所で生育させたトウモロコシ (*Zea mays* L.) 幼葉鞘および中胚軸、エンドウ (*Pisum sativum* L.) 上胚軸、アズキ (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi et H. Ohashi var. *angularis*) 上胚軸、オートムギ (*Avena sativa* L.) 幼葉鞘、イネ (*Oryza sativa* L.) 幼葉鞘を用いた。

American Radiolabeled Chemicals Inc. の [ $^{14}\text{C}$ ]IAA (3.7 MBq/ml) を 37 KBq/ml に調整し、1.5 ml エッペンドルフチューブに 25  $\mu\text{l}$  ずつ分注した。上記植物の各器官より 20 mm の切片を調整し、その頂端側から IAA を取り込ませ、暗所、室温にて 3、6、9、12、24 時間培養した。培養終了後、切片の他端 2 mm を切り出してバイアルに移し、液体シンチレーションカウンター (2 ml) を加えてそこに含まれる放射活性を測定した。

生物検定系開発に関する各種諸条件を考慮した結果、供試植物としては、播種後 5 日で実験に用いることが可能で、操作性および費用面でも有利と考えられる明所で生育させたダイコン芽生えの胚軸が検定植物として最適であることが明らかとなった。ダイコン胚軸切片におけるオーキシン極性移動を経時的に測定した結果、オーキシン極性移動の値は 3~9 時間までほぼ直線的に増加し、9 時間以降は実験終了時の 24 時間目までほぼ一定の値を示した。従って、オーキシン極性移動促進活性の探索には切片培養後 6 時間目に、阻害活性の探索には 9 時間目の放射活性を用いることとした。次年度以降、この生物検定系を用いて、植物界から天然型オーキシン極性移動制御物質を探索することとした。

### 参考文献

- 1) Kiyotaka Okada, Junichi Ueda Masako K. Komaki, Callum J. Bell and Yoshiro Shimura. Requirement of the auxin polar transport system in early stages of *Arabidopsis* floral bud formation. *Plant Cell*, 3:677-684 (1991)
- 2) Mariko Oka, Junichi Ueda, Kensuke Miyamoto, Ryoichi Yamamoto, Takayuki Hoson and Seiichiro Kamisaka. Effect of simulated microgravity on auxin polar transport in inflorescence axis of *Arabidopsis thaliana*. *Biol. Sci. Space*, 9:331-336 (1995)

## 植物の青色光受容体 phototropin の光感受性制御機構の解明

大阪府大・理学系研究科 岡島公司、嘉祥寺谷幸子、桂ひとみ、福岡翠、徳富哲\*

(\*本研究に関する連絡先：電話（内線）4110、E-mail: toxa@b.s.osakafu-u.ac.jp)

植物にとって光環境変化に対する応答は重要である。フォトトロピン (phot)は植物の青色光受容体で、光屈性、気孔開口、葉緑体光定位運動などを制御している。Phot 分子は1分子の FMN を非共有的に結合した LOV ドメインを2つ (LOV1、LOV2) N 末端側にもち、Ser/Thr キナーゼドメインを C 末端側にもつ。暗所では主に LOV2 がキナーゼ活性を抑制している。FMN が青色光を吸収すると保存された Cys 残基と一過的に共有結合(アダクト)を形成し(S390 状態)、数秒から数分で元 (D450 状態)に戻るフォトサイクルを示す。アダクト形成に伴い LOV2 ドメインの構造変化が引き起こされると抑制が解かれキナーゼ活性が上昇する。アダクトが解消されると LOV2 は再びキナーゼを抑制する。このように LOV によってキナーゼ活性の光制御が行われる。phot はキナーゼ活性の上昇による自己リン酸化、さらに基質のリン酸化によってシグナルを下流に伝えると考えられる。シロイヌナズナには2つの phot (phot1, phot2) があり、phot1 は弱光から強光で働き、phot2 は強光で働くことが知られているが、こうした光感受性の違いに関して分子機構の解明はできていない。

我々はこれまでに大腸菌で発現・精製したシロイヌナズナの phot2 LOV2-キナーゼペプチドが光依存的にキナーゼ活性調節できることを確認している。本研究では、LOV2 の FMN 近傍にある Arg を Lys に置換した変異体 (R/K) を作製した。UV-可視吸収スペクトルの解析から R/K では S390 から D450 への回帰速度が約 10 倍速くなっていた。また、キナーゼ活性の光強度依存性を測定したところ、強光下でキナーゼの活性上昇が見られた。さらに、シロイヌナズナにおいて R/K 変異体を作製し、葉緑体定位運動の光強度依存性を測定した。葉緑体は光環境の違いにより細胞内での局在をかえる。暗所においては底面、弱光下では上面に集合、強光下では側面に局在する。R/K 変異株では WT よりも光感受性が悪くなり、強光下でも葉緑体の集合が見られ、さらに強い光では側面への局在が観察された。こうしたことから、phot において LOV2 ドメインのフォトサイクルにかかる時間が植物の光感受性を決める要因の一つになっていることが考えられる。

### <学会発表>

- 1) 岡島公司、嶋田崇史、松岡大介、徳富哲 (2009) 日本植物学会第37回大会 (山形)
- 2) 岡島公司 (2009) 第47回日本生物物理学会年会 (徳島)
- 3) K. Okajima, S. Kashojiya, M. Fukuoka, S. Tokutomi (2009)  
Memorial Symposium for the 25th International Prize for Biology (Kyoto)
- 4) 嘉祥寺谷幸子、岡島公司、徳富哲 (2010) 第51回日本植物生理学会年会 (熊本)
- 5) 福岡翠、岡島公司、桂ひとみ、徳富哲 (2010) 第51回日本植物生理学会年会 (熊本)

4. 特別講演

大阪府大産学官連携機構放射線研究センター  
平成21年度共同利用報告書および報告会

「石英系光ファイバとイメージガイドの $\gamma$ 線等、  
高エネルギー照射による劣化挙動の研究進展経緯」

日時 : 平成22年7月12日 (月) 13:15～

場所 : 大阪府立大学 情報センター 視聴覚室

三菱電線工業株式会社

原子力コンサルタント 速水 弘之

# 石英系光ファイバとイメージガイドの $\gamma$ 線等、高エネルギー照射による劣化挙動の研究進展経緯<sup>1,2,3)</sup>

三菱電線工業株式会社 原子力コンサルタント 速水 弘之

## Process of Research for Development of Optical Fibers and Image Guides with Superior Radiation Resistivity

H.Hayami

Consultant of Mitsubishi Cable Industries, Ltd.,

E-mail : h\_hayami816@yahoo.co.jp

### 1、緒言<sup>1,2,3)</sup>

アメリカのガラス会社であるコニング社が、1970年に石英光ファイバの開発を最初に発表して以来、約40年が経過した。その間、光ファイバに関する研究や製造技術の進歩はめざましく、本命の通信用としてだけでなく、YAG等各種レーザーや紫外光源用のエネルギー伝送、各種センサー等計測用など、今日まで幅広い用途に利用されてきた。その中の一つに、直接画像を伝送する石英系イメージガイド（ファイバースコープ）がある。多成分系ガラス製のファイバースコープは、当時既に医療分野で確固たる地位を築いていたが、耐放射線性、細径性、長尺性等、その材質・製法に由来する使用上の制約から、特に原子力用途のニーズには充分に対応しきれないという欠点があった。石英系イメージガイドは、光通信用として開発された低損失の石英系光ファイバ技術に、新たに特有の製造加工技術を付加することによって、昭和54年（1979年）三菱電線工業（株）により世界で初めて開発実用化された。

以来今日まで30年強に亘って、耐放射線性、耐熱性、細径性、長尺性、色忠実性等、石英系特有の長所を生かして、特に原子力関係分野で、保守点検用、観察用、研究用として広く利用されてきた。この商品は初めて世の中に生み出されたであった為、特に開発後何年間かの社会からの反響は極めて大きく、商品展示会には多勢の見学者が押しかけ、更に産業界での実用化は、鉄鋼分野では、実験用高炉（東大）、実用高炉（新日鐵大分）における稼働中の高炉内状況を、また自動車分野では、エンジン内のガソリンの挙動変化（トヨタ）を、いずれも初めて肉眼で観察し知見を得ることができたことを手始めに、各所で広く進められた。中でも原子力分野は、1981年6月に関西電力（株）殿の高浜発電所において、初めて蒸気発生器パイプ内の観察が行われたのを皮切りに、石英系光ファイバ固有の優れた耐放射線性を存分に生かして、その後最も多岐に亘って利用されてきた。

石英系光ファイバやイメージガイドを原子力施設で利用する際には、耐放射線性が最重要特性の一つとなることから、筆者達は、イメージガイドを中心とした石英系光ファイバの $\gamma$ 線照射による可視領域・耐放射線性について、基礎、応用の両面から長年に亘りR&Dを続けてきた。その結果、本特性に最も大きな影響を及ぼす石英珪材料として、既に当時専門家の間で高い評価が広く定着していたClフリー、OH基数百ppm含有の組成よりも、Clフリー、OH基フリー、F含有組成の方がはるかに優れていることを初めて見出した。1988年のSPIE学会<sup>4)</sup>にて最初にその旨触れ、ついで1989年の原子力学会・秋の大会<sup>5)</sup>で正式に発表して以来今日まで、 $\gamma$ 線照射劣化抑制に対するF元素の顕著に優れた働きを、学

会等公の場で発表を重ねてきた。その進展過程で、F元素は唯単に非常に優れた効果を発揮するだけでなく、103の全元素の中でも最も優れた働きをすることが現時点でほぼ間違いなく確実であることも把握でき、その旨原因考察も含め提唱するに至った。

高エネルギー照射による石英系光ファイバとイメージガイド、とりわけイメージガイドの劣化挙動に関して上記の結論を得るに至った研究進展経緯を、“耐放射線性に優れた光ファイバとイメージガイドの開発”〔「放射線」Ionizing Radiation、特集「第十六回放射線夏の学校」、Vol.31、No.2、P85～95、(2005)〕での発表をベースにして以下に報告する<sup>1,2,3,6,7)</sup>。また、 $\gamma$ 線照射劣化抑制の積み重ねた実験結果と屈折率低下効果の双方に及ぼす含有元素の働きを比較照合した結果、両者の挙動は概ね良く一致していることから、自然の秩序であり石英の根幹特性でもある屈折率の大小は、一方で照射劣化性能を示すパラメータになっていると考えられることも提起した。<sup>7)</sup>

## 2、石英系イメージガイドの原子力分野での適用例

原子力分野におけるイメージガイドのこれまでの応用例は、下記のように多岐に亘っている。<sup>8)</sup>

- ①蒸気発生器細管検査、②SG補修工事用ロボット搭載システム、③燃料集合体検査、
- ④アイスコンデンサー-TMI・2号炉内観察、⑤イオン交換樹脂サンプル採取及び観察、⑥廃棄処理槽液面監視、
- ⑦使用済み燃料溶解槽内検査、⑧プール底点検、⑨照射試料切断観察、⑩放射性廃棄物処理施設内監視、⑪アスファルト固化処理設備監視、⑫バルブ内点検、⑬溶接部観察及び自動溶接機案内装置搭載、⑭ミキサー動作状況監視、⑮配管内検査、⑯ガラス固化処理施設監視、
- ⑰遠隔分光分析、⑱燃料棒クラスタ観察、等である。

## 3、高エネルギー照射による石英系ファイバとイメージガイドの劣化挙動の研究進展経緯<sup>1,2,3,6,7)</sup>

耐放射線性研究に着手した当時、「純石英系材料としては、Cl（塩素）の場合と同様に、同じハロゲン族に属するF（フッ素）のドーピングも何らかの欠陥をガラス中に生じさせている可能性があり、耐放射線性を劣化させるが、一方OH基を多量に含有するファイバでは放射線による増加損失が少ない<sup>9,10)</sup>」との内容が、1985年発表の日本原子力学会誌「原子力施設における光ファイバ利用の現状と今後の展望」なる表題でまとめられた長編の特集論文<sup>10)</sup>に報告されている。この考え方は、当時の米ソ冷戦を背景に進めた米国海軍研究所の研究結果の影響を大きく受けたものと思われ、その後専門家の中に広く定着していた。OH基含有は良好、ハロゲン族であるClとF元素の含有は不良というのが通説のこの様な状況下で、Clフリー、OHフリーのコア材イメージガイドの方が、従来のOH基高含有の場合よりも、はるかに $\gamma$ 線照射による劣化特性が優れていることを把握した。

さらに筆者達は、このコア材には悪影響を及ぼすとされていた上記のF元素が含有されていることに初めて着目し、1988年のSPIE学会<sup>4)</sup>にて最初に発表した。当時からF元素自身の働きによるものの確信はあったが、定説に真っ向から反する内容を発表するには、確証できるデータがまだ充分に揃っていなかったこともあり、ここではF元素が優れた改善効果を働く可能性を強く示唆するに止まった。続いて、1989年の原子力学会秋の大会<sup>5)</sup>において、純石英イメージガイドの耐放射線性評価方法の研究を発表した際、コア材料としてはCl、OH基を含まずにFのみを含有する石英が最も優れている

ことを明言した。翌1990年のフランス・リヨンで開催のENC（ヨーロッパ・ニュークリア・コンGRESS）<sup>12)</sup>及び1991年の第3回ニューガラス国際シンポジウム<sup>13)</sup>における国際学会の場で、前者は主として原子力関係の専門家、後者はガラス関係の専門家を対象に同趣旨の研究成果を発表した。

この時点で、可視領域の耐放射線性に関しては、従来優れていると認識されていたOH基は、逆に含有量が少ない程良好であるという従来の通説とは反対の現象が判ってきた。そこで、OH基含有量の出来るだけ少ない100ppmのガラスとF元素3,000ppm含有のガラスを用いたサンプルを供試して両者間の増加損失の優劣比較を行い、Fの働きの方がはるかに優れていることを示した。

特に、普段交流する機会が少ない後者のガラス専門家と、石英ガラスのγ線照射劣化について直接行った自由な意見交換は、結果的に極めて有意義な場となり、次のことが新たに判明した。

- ①OH基説は、ほとんどの専門家が認識し、既に定説に近いオライズされた状態であること
- ②少なくともこの時接触した数多くの専門家の中では、F説を前もって知っていたり、認識していた人は皆無だったこと
- ③F説に賛同してくれた専門家はいなかったが、新たに深く関心を示した人は多くいたこと
- ④F説は正しくないとの否定的な見解を示した専門家も全くいなかったこと

この様に、光通信関係の石英技術者にとっては当時目新しい現象と思えたOH基ドープによる劣化抑制効果は、多成分ガラスの専門家にとっては既にポピュラーな概念になっていたことを掴むことができ、その反面、筆者達が提唱した石英の耐放射線性に及ぼすF元素の顕著に優れた働きについては、専門家でも全く未知の非常に独自性のある考え方であることが、ここで初めて強く認識できた。同時に、この課題を研究テーマとして取り組んできたことにも自信が持て、また大変勇気づけられもし、その後さらに深く研究を掘り下げていく上での大きな力ともなった。

さらにこの場では「それ程F元素の働きが優れているのであれば、高エネルギー紫外線照射用レンズ等にも将来応用ができると考えられるのではないか」との外国専門家からのアドバイスもあった。

続いて、1991年の原子力学会秋の大会<sup>14)</sup>において、放射線場で現実に適用可能なサンプルA（F元素）、B（F元素）、C（OH基）、D（Cl元素）、E（F元素+OH基）なる5種類の石英ガラス材料を用いたイメージングガットを供試して、γ線照射実験を行った結果を発表した。本実験結果から、サンプルA、B即ちF元素単独含有のガラスを使用したイメージングガットの耐放射線性が、特に優れていることが一層明瞭になった。F元素がこの様に照射劣化の抑制に格段に優れた働きをするのは、電気陰性度が全元素の中で最大なこと、酸素との原子半径の差が小さい為、FがSiと結合した際に発生する石英ガラス構造歪みが小さいこと等、F元素固有の物性に起因する本質的な原因によるものであると考えられる旨を述べた。同時に、γ線照射におけるイメージングガットの画像劣化観察写真も、耐放射線性挙動と良く対応していることを示した。さらに、ここで用いた石英ガラスについて、γ線照射による各々の欠陥発生状況を、ESR測定により調べた<sup>15)</sup>(表1参照)。表1から、F元素を含有するガラスA、Bのγ線照射によるE'とNBOHCの両欠陥発生量は他のガラスよりも少なく、かつバランスがとれていることが判り、これまでの増加損失挙動を裏付ける結果が得られた。



表1 ESR測定結果（測定温度：-150℃）

コア材料	照射前（インシャル）	γ線照射後 { $2.58 \times 10^2 \text{C} / (\text{Kg} \cdot \text{h}) = (1 \times 10^6 \text{R/h}) \times 50\text{h}$ }		
	E' (≡Si·) スピンの密度 (spins/g)	E' (≡Si·) スピンの密度 (spins/g)	NBOHC(≡Si-O·) スピンの密度 (spins/g)	PORC(≡Si-O-O·) スピンの密度 (spins/g)
A	$4.3 \times 10^{13}$	$5.1 \times 10^{15}$	$6.1 \times 10^{12}$	無
B	$4.4 \times 10^{13}$	$7.0 \times 10^{15}$	$2.4 \times 10^{13}$	無
C	— ※	$1.3 \times 10^{16}$	$4.4 \times 10^{14}$	有
D	$5.9 \times 10^{13}$	$9.7 \times 10^{16}$	$7.7 \times 10^{13}$	無
E	— ※	$3.1 \times 10^{15}$	$7.9 \times 10^{13}$	有

※：測定限界値以下 ( $< 1.8 \times 10^{13}$ )

続いて、1994年の原子力学会秋の大会<sup>16)</sup>において、コア材料の影響がイメージの場合よりも顕著に現れやすい単線ファインでのγ線照射結果を報告した。表2の様に、F（6条件）、OH基（2条件）、Cl（2条件）各元素の含有量を変化させた四種類のコア材料を選び、可視、近赤外、紫外領域での実験に供試した。γ線照射の場合、400～700nmの可視域特性には3元素単独含有サンプル、800～1100nmの近赤外域特性にはFとCl含有サンプル、200～400nmの紫外線照射の場合は、（F+OH）とOH含有サンプルを供試し、実用に適した組成のコア間同士で比較を行った。その結果、可視域増加損失特性においては、図1に示す様にF含有コアファインは格段に優れていることが、一段と明瞭になった。近赤外域特性においては、F含有コアファインが極めて優れた耐放射線性を示した。

紫外線照射特性においても、代表的な215nm附近の吸収劣化の比較で、（F+OH基）含有コアファインが初期パワーは改善の要があるも非常に優れた挙動を示した。今回、各元素の含有量および照射時間を変化させたサンプルをESR、ラマン測定に供して、石英欠陥（E'、NBOHC）量や石英結合状態の変化を測定したが、その結果からも、照射劣化特性の優劣を裏付ける知見が得られた。

以上から、石英のγ線・紫外線照射による劣化特性を総合的に判断すると、全元素の中でF元素が、本質的に最も優れた働きをする元素であることを、あらためて確信することができた。

1995年の原子力学会春の大会<sup>17)</sup>においては、可視域増加損失特性の挙動と石英欠陥、石英結合測定結果との比較検討から、γ線照射劣化抑制に及ぼすF、OH基、Cl各元素含有コア材の働きを調べた結果を発表した。ここで、単一元素としてはFが本質的に最も優れているのに対し、図2に示す様に従来公知のOH基は、照射による欠陥発生抑制機能よりも、むしろインシャルの欠陥発生抑制に極めて効果的な働きをすることが初めて掴めた。

2001年の原子力学会秋の大会<sup>18)</sup>においては、これまでの実験結果から照射劣化抑制に効果的なF、OH基、Cl元素を単独and/or組み合わせでドープした6種類、総数20組成の過去最大数のコア材からなる石英ファインを、γ線照射実験に供試した。

その結果、可視域における純石英 $\alpha$ 使用のファイバ<sup>6</sup>において、F元素はOH基、Cl元素と比べ、 $\gamma$ 線照射による劣化抑制に対する格段に優れた働きをすることを再確認でき、さらには全元素の中でも本質的に最も優れた働きをすることを再度確信できたことを報告した。

2002年の原子力学会春の大会<sup>19)</sup>では、従来のF、OH基、Cl元素以外に新たにC、S、B元素含有による影響を調べて報告した。本結果及びこれまで積み重ねてきた実験結果とから、石英ファイバ<sup>6</sup>の耐放射線性に及ぼす $\alpha$ 材各含有元素の働きの優劣評価を概念的に分類すると、概略表3の様になると報告した。この評価から、石英 $\alpha$ 材としては構成元素であるSiとOを除き周期表の第3周期以降に属する元素を極力含まないことも、非常に重要な要素であることが初めて掴めた。

表2  $\gamma$ 線照射実験に供試した単線ファイバ<sup>6</sup>

試料	各元素の含有量 (ppm)		
	F元素	OH基	Cl元素
A-1	220	—	—
A-2	470	—	—
A-3	2200	—	—
A-4	3000	—	—
A-5	3800	—	—
A-6	3000	—	—
B-1	—	450	—
B-2	—	750	—
C-1	—	—	1100
C-2	—	—	1900
D-1	1200	50	—
D-2	1000	100	—

表3 石英 $\alpha$ 材含有元素の $\gamma$ 線照射劣化抑制効果についての概念的評価

優劣の分類	該当する元素
非常に優れている	フッ素 (F)
優れている	硼素 (B)、水酸基 (OH基)
普通 (悪くない)	炭素 (C)
良くない	塩素 (Cl)
非常に悪い	硫黄 (S)、ゲルマニウム (Ge)、チタン (Ti) 等

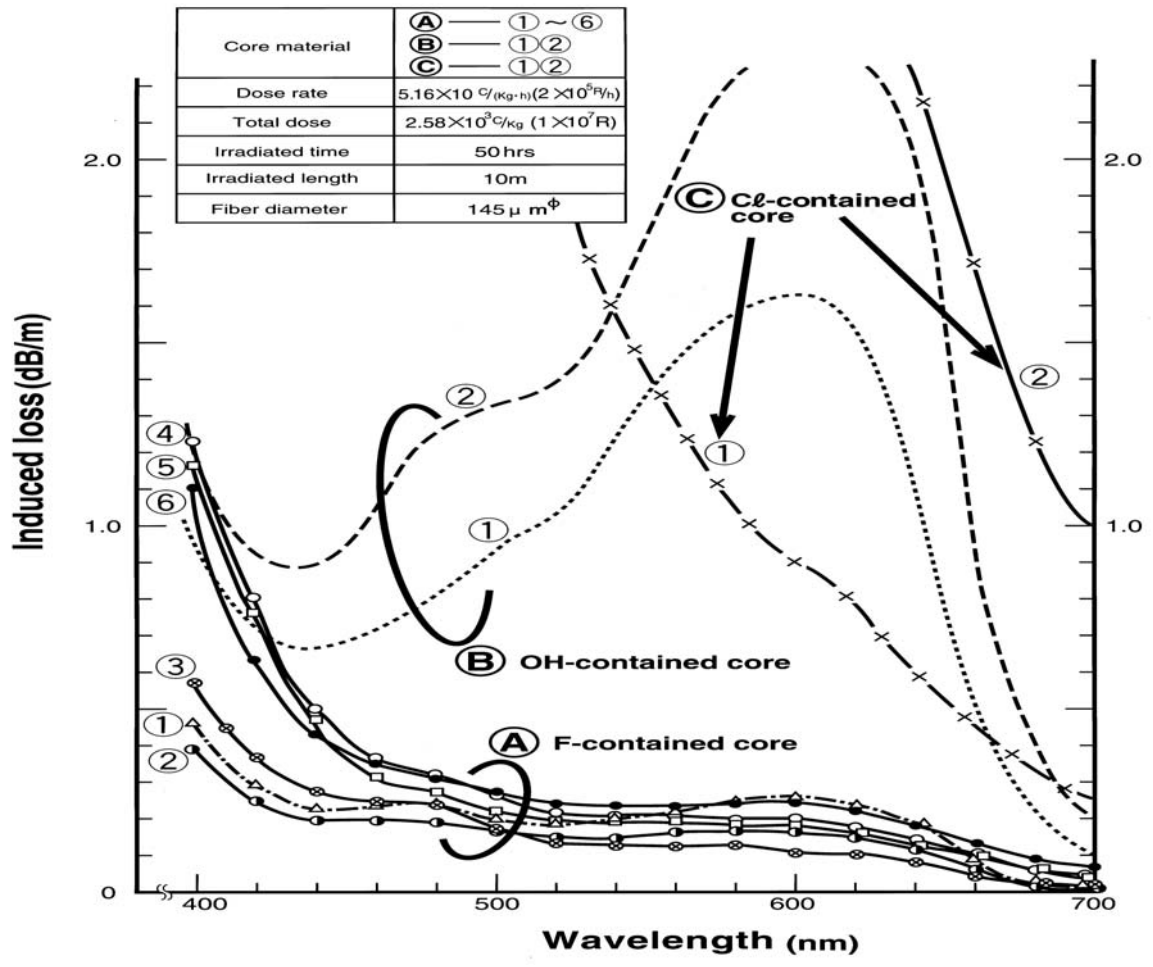


図1 純石英ファイバのγ線照射による可視域増加損失特性に及ぼすコア材料の影響

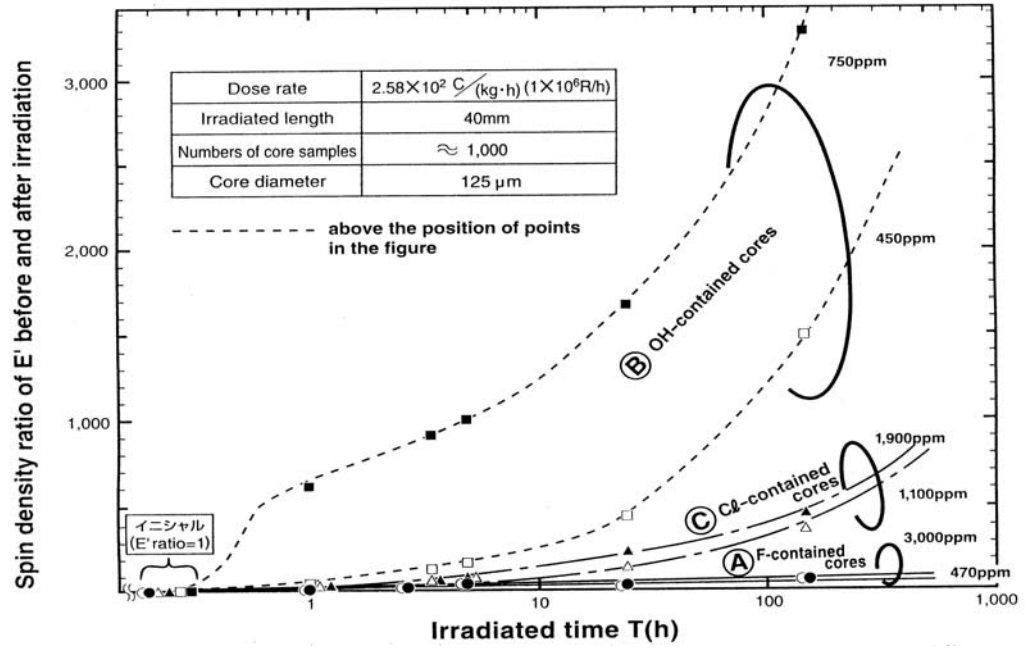


図2 (F、OH基、Cl) 各元素含有コア材のγ線照射前後における石英欠陥 (E') の発生量比に及ぼす照射時間の影響

#### 4、 F元素が石英ガラスの $\gamma$ 線等の照射劣化抑制に対し極めて優れた働きをする原因の考察

以上述べた様に、F元素が極めて優れた働きをするのは、下記①～③の理由によって、外部からの高エネルギー照射時に、ガラスの構造欠陥（ラジカルやひずみ）が発生しにくい為と考える。

①、②は、F元素が直接結合している、あるいは結合近傍の石英ガラス構造に対する働きかけの影響であり、③はF元素自身の働きによる影響である。

- ① 全元素の中で最も電気陰性度が大きいこと（電子を引きつける力が最も強く、Si-Fは最大の結合力があり破断しにくい上、その作用で周辺結合の破断も起こりにくいこと）
- ② 原子半径が酸素とほぼ同程度の大きさであること（その為、Si-F結合が存在しても周囲の石英構造の乱れが生じにくく、極端に歪んだ弱い結合が生じにくいこと）
- ③ 第2周期に属し、かつ原子番号が9であるが故の固有の電子配置にあること（昇位しにくいこと）

SiとOとの化学量論比を正確に1:2に制御することは、製法的に現実には不可能に近いが、理論的にはこの比に可能な限り近い程好ましい。しかし、例えば母材製造の段階で、この酸素の過不足結合が極力少ない状態を達成したとしても、石英ファイバの場合、2000℃以上の高温状態で線引き加工を行った直後に急冷過程を経る為、この後行程における石英構造欠陥や歪みの発生を完全に防止することは、現時点では極めて困難である。

シリカガラスは不均一構造の集合体とも称されている様に、不均一性構造の全く存在しない理想構造を得ることは、現実には不可能だと言っても良からう。それ故にこそ、現状ではF元素を含有させることに極めて高い意義があると考えられる。しかし、もしこれらの問題を何らかの手段で克服して極端に破断欠陥、構造歪みの少ない石英ファイバやイメージガイドの製造技術開発を達成することが出来れば、SiとO元素以外の元素含有量が極力少ない、即ち、最高純度の石英が理想的な組成となる可能性も否定出来ない。

#### 5、特許出願

筆者達は、F元素含有コア材を用いた耐放射線性用イメージガイドにつき1988年に最初の特許を出願し、一方（F元素+OH基）含有コア材を用いた耐紫外線用ファイバやバンドルについては、1991年に最初の特許出願を行っている。いずれの特許も、日、米、英、仏、加の5ヶ国で成立している。

これまで本ファイバやイメージガイド関連の特許については、材料や製造方法を主に合計約150件程度の出願を行っている。（2004年6月17日時点）。

#### 6、結論

以上から、 $\gamma$ 線・紫外線等の高エネルギー照射劣化抑制に最も優れたファイバ、イメージガイド用コア等の石英材料は、酸素過剰・酸素不足結合や構造歪みが極力少なく、かつガラス構成元素のSiとOを除けばCl元素等の第3周期以降に属する元素を全く含まないか、含む場合も最小限度しか含まないガラス構造をベースに、F元素を必要量含有させた組成の材料であると考えられる。

さらに、石英欠陥を補う適切な水素量を含むすれば、一層特性が改善される可能性がある。また

後述の様に、石英の屈折率は、一方で照射劣化性能を占う指標になっていると考える。

## 7、今後の展望

原子力発電は長年に亘り逆風の社会趨勢にあったが、地球温暖化、石油資源の枯渇、エネルギーの安定供給、開発途上国の需要増等の見地から、この先世界的にますます原子力発電に大きく依存していくことは、例え自然エネルギーの利用増が期待できても、現実には避けられないだろう。

原子力発電施設における耐放射線性石英系イメージガイドの需要は、実用化開始以来30年もの長い歳月を経た今日、さすがに当初の様な勢いは無くなっているが、これは需要が広範囲に一巡したうえ、その後CCDカメラ等の様な安価で簡易な代替技術の出現もあり、自然の理でもある。

しかし、原子力発電には安全運転という永遠の至上課題がある。これまでの様な大幅な需要拡大は難しいとしても、石英系イメージガイドの特徴を存分に活かした分野において、新技術の付加や新規用途開発を進めて行けば、将来も利用価値が失せることはないものと考えられる。

今後、世界的に広まっていくと予測されている原子炉新設の一方で、同時に進行中の現軽水炉の大型化や安全性を高めた次世代原子炉新設の動き、また軽水炉のさらなる高経年化や解体廃炉の問題、日本では始まったばかりのフルスケールの導入、今後の成り行きが注目される大きな課題の使用済み高線量廃棄物再処理の行方、南ア等で進行中の高温ガス炉の開発、原型炉、実証炉から一挙に実用化への模索など日本以外にも特に近年中国、インド、ロシア等が力を入れ出した高速増殖炉の新しい動き、更にはフランスのカラッシュで建設中の国際協力で行っているITERによる核融合研究等、これら“原子力ネットワーク”の動きが首尾よく進展した場合には観察やセンサ用等の方面に、耐放射線性の特に優れた石英系光ファイバやイメージガイドが一層強く要求される可能性が高い。

原子力発電に関する以上を始めとした諸分野において、今後とも不可欠の要素となる安全運転の維持管理面、あるいは実用化への技術開発、研究開発面等に於いて、これまで積み重ねてきた筆者たちの耐放射線性研究開発の成果が実を結び、大きく貢献ができるものと信じている。

## 8、終わりに<sup>1,2,3,7)</sup>

光ファイバを構成する重要パラメータとしては、屈折率、伝送損失、伝搬モード、分散、強度等があるが、この中でも屈折率の要素が必須かつ根幹の特性である。

コアは常にクラッドよりも屈折率が高いという概念なくして、光ファイバはそもそも成立しない。

これまでに把握した研究結果から、石英コア材へのドーパント元素をγ線照射劣化抑制効果の優劣順に並べると、おおむねF>B>OH基>Cl>Geとなり、これは石英の屈折率低下に及ぼす元素の効果順(=人智の制御を越えた自然界の秩序)と良く一致している。(図3参照)

このことから、石英の屈折率増減効果という自然界の秩序は、一方で照射劣化性能を示す指標になっているものと筆者は考える。もしも、この考え方が正しいということになれば、含有元素の種類と量とを前もって把握さえすれば、石英ファイバの照射劣化挙動を相当高い確度であらかじめ予測することができるということになる。この面での今後の展開にも併せて期待したい。

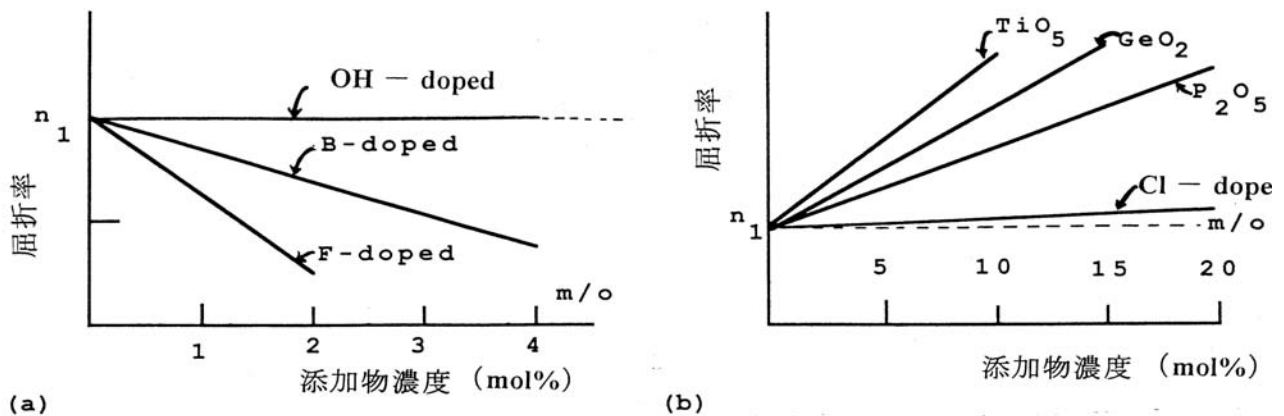


図3 石英の屈折率に及ぼす添加物の影響<sup>20)</sup>

((a)は添加物濃度と共に減少のグループ、(b)は増大のグループ、ClとOH基は筆者が記入)

最後に、本研究を行うにあたり、イメージガイド、ファイバのγ線照射実験はすべて大阪府立大学・放射線研究センターの施設をお借りして実施したものであり、多くの先生方から貴重な指導、ご助言を頂きましたことと併せて、深く同センターに感謝致します。また、2001年以降の原子力学会<sup>18等)</sup>での発表は、東京電力株式会社殿との共同研究による成果であり、ここに厚く感謝致します。

#### 参考文献

- 1) 速水弘之, “耐放射線性に優れた光ファイバとイメージガイドの開発” 放射線、Vol.31、No.2、P85～95、(2005)
- 2) 速水弘之, “第16回放射線夏の学校(サマースクール)テキスト”(2004.8、成蹊大学) P86～93
- 3) 速水弘之, “耐放射線性に優れた光ファイバとイメージガイド—その開発経緯と将来展望”(第12回放射線利用総合シンポジウム資料集、P2～15)(2003.1、大阪産業創造館)
- 4) H. Hayami et al. , “Radiation Response of Pure-silica Core Image-guides” SPIE、Vol.992、Fiber Optics Reliability、P60 (1988、アメリカ・ボストン)
- 5) 速水弘之他, “純石英コアイメージガイドの耐放射線性評価方法” 日本原子力学会「1989年秋の大会」予稿集、F41、P287 (1989、原研東海)
- 6) 速水弘之, “石英系イメージファイバを主とした光ファイバの耐放射線性研究”(JECTECテクニカルセミナー{1}、「光ファイバの最新応用技術」NTS社発刊、P63～136、(2001)
- 7) 速水弘之, “耐放射線性光ファイバの開発と将来展望”(平成14年電気学会全国大会、講演論文集 {7} エネルギー変換・輸送 (2002、工学院大学) シンポジウム{S10}: 原子力・核融合における電力技術の最前線、7-S10-6、P316～319)
- 8) 黒岩他, 大日本電線時報、No.71、P92、(1986.3)
- 9) E.J. Friebele et al. , “Effect of ionizing radiation on the optical attenuation in polymer clad silica fiber-optic waveguides” Appl. Phys. Lett、32、P95 (January 1978)

- 10) G.H. Sigel et al. , “Radiation Response of large core polymer clad silica optical fibres” IEEE Trans. Nucl. Sci, 26, P4796 (December 1978)
- 11) 矢作吉之助編, “原子力施設における光ファイバ`利用の現状と今後の展望”  
日本原子力学会誌、27 (9) 、P768 (1985)
- 12) H. Hayami et al. , “Improvement in Radiation Resistivity of Pure-silica Core Image-guides for Industrial Fiberscopes” ENC90、Vol.III、P1452 (1990、フランス・リヨン)
- 13) H. Hayami et al. , “Improvement in Radiation Resistivity of Pure-silica Core Image-guides for Industrial Fiberscopes” New Glass Forum、The Third International Symposium on New Glass、P92 (1991、東京)
- 14) 速水弘之他, “純石英コアイメージガイド`の繰り返し照射による耐放射線性”  
日本原子力学会「1991年秋の大会」予稿集、B41、P115 (1991、九大)
- 15) H. Hayami et al. , “Radiation Resistivity of Pure silica-Core Image-Guides”  
Journal of Nuclear Science and Technology、30 (2) 、P95 (February 1993)
- 16) 速水弘之他, “純石英系光ファイバ`の照射劣化特性に及ぼすコア材料の影響”  
日本原子力学会「1994年秋の大会」予稿集、E31、P327 (1994、北大)
- 17) 速水弘之他, “純石英系光ファイバ`の照射劣化特性に及ぼすコア材料の影響”  
日本原子力学会「1995年春の大会」予稿集、H28、P414 (1995、東京工大)
- 18) 速水弘之他, “純石英系光ファイバ`の耐放射線性に及ぼすコア材組成の影響”  
日本原子力学会「2001年秋の大会」予稿集、E42、P193 (2001、北大)
- 19) 速水弘之他, “石英系光ファイバ`の耐放射線性に及ぼす含有元素の働き”  
日本原子力学会「2002年春の大会」予稿集、D20、P161 (2002、神戸商船大学)
- 20) Chai yeh, 「Handbook of Fiber Optics」、p21、Academic Press, Incより引用

5.

## 大阪府立大学 21 世紀科学研究所 「量子ビーム誘起反応科学研究所」活動報告

大阪府立大学産学官連携機構 奥田修一\*

(\*本報告に関する連絡先：電話（内線）4227、メール okuda@riast.osakafu-u.ac.jp)

大阪府立大学 21 世紀科学研究所「量子ビーム誘起反応科学研究所」は、バーチャル研究所として、平成 18 年 (2006 年) 2 月 1 日に設立された。量子ビーム誘起反応を、量子ビームと物質との相互作用の基礎からとらえてその反応過程を解析し、複雑な生体における反応の解明にまで結び付けることが目的である。平成 21 年 4 月、この研究所が所属する組織は、21 世紀科学研究機構として部局化された。本研究所の平成 21 年度における活動の概要について報告する。

### 1. 研究活動

#### (1) 量子ビームに関する所内研究活動

#### (2) 量子ビームに関する学外との共同研究活動

参考資料参照

#### (3) 量子ビーム開発のための主な外部資金の状況

##### 1) 大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構・大学等連携支援事業

課題：大阪府立大学における教育研究と知識普及活動のための汎用電子ライナックの整備

代表：奥田修一

期間：平成 20-22 年度

##### 2) 科学研究費基盤(B)

課題：強力なピコ秒コヒーレント放射光電場による物質内電荷移動の研究

代表：奥田修一

期間：平成 20-22 年度

#### (4) 外国との交流

1) 国立江原大学校（韓国）、自然科学大学および Cyclotron Research Institute との協定に基づく研究交流

2) 同 Cyclotron Research Institute 所長 Soon-Kwon Nam 教授との共同研究

3) JSPS の Asian Core Program（日中韓、2008 年度開始、拠点：京都大学）に参加

### 2. 学会等発表

各所員が量子ビームに関する研究発表を行った（参考資料参照）。特に全体にわたる研究の成果は下記にまとめられている。

1) 大阪府立大学産学官連携機構放射線研究センター平成 21 年度放射線施設共同利用報告書。

2) 量子ビームの開発研究と誘起される反応の研究（第 4 章）、「大阪府立大学における分野横断型研究の展開 -21 世紀科学研究所の挑戦-」、大阪府立大学 21 世紀科学研究機構編、大阪公立大学共同出版会 2010 年（2010. ISBN978-4-901409-72-8 C3000）。



### 3. その他の活動

- (1) 大阪府立大学産学官連携機構放射線研究センター平成 21 年度共同利用報告会開催  
(2010. 7. 12、放射線研究センターとの共催)
- (2) 広報活動  
研究所季刊誌 RIQBS No.5 の準備
- (3) 放射線研究センター活動への参画  
将来計画への提言  
電子ライナック、3 MeV (He イオン)タンデムイオン加速器、200 keV 陽子加速器の整備

### 4. 研究活動とその成果の公表

本研究所の研究活動とその成果については、次のホームページで公表している。またこの中で閲覧できるように、定期的な活動報告として RIQBS 掲示板を発行している。

[http://chokai.riast.osakafu-u.ac.jp/~housya3/contents/riqbs\\_syokai.html](http://chokai.riast.osakafu-u.ac.jp/~housya3/contents/riqbs_syokai.html)

### 5. 参考資料

- ・ 研究所ホームページ : <http://www.osakafu-u.ac.jp/affiliate/21science/607.html>
- ・ 季刊誌 RIQBS No.1, No.2, No.3, No.4 (No.5 取りまとめ中)
- ・ 案内パンフレット (2010 年発行)

## 研究員

産学官連携機構先端科学イノベーションセンター教授・奥田修一 (研究所長)  
産学官連携機構先端科学イノベーションセンター助教・小嶋崇夫  
産学官連携機構先端科学イノベーションセンター教授・谷口良一  
産学官連携機構先端科学イノベーションセンター教授・児玉靖司  
産学官連携機構先端科学イノベーションセンター助教・白石一乗  
大学院工学研究科物質・化学系専攻教授・岩瀬彰宏  
大学院工学研究科物質・化学系専攻准教授・堀史説  
大学院理学系研究科生物科学専攻教授・原正之  
大学院理学系研究科生物科学専攻准教授・古田雅一

## 研究所連絡先

産学官連携機構先端科学イノベーションセンター  
量子線材料科学研究室 奥田修一  
電話番号 : 072-252-1161 (代表)  
E-mail : [okuda@riast.osakafu-u.ac.jp](mailto:okuda@riast.osakafu-u.ac.jp)

## 6. 公立大学法人大阪府立大学

### 産学官連携機構・放射線研究センターにおける放射線施設の利用

放射線研究センターには、コバルト 60 ガンマ線源と 18 メガ電子ボルトの高エネルギー電子線加速器を主な放射線源とする日本有数の放射線照射施設があります。これらは非密封放射性同位元素の取扱い施設とともに、学内外や民間にも利用されています。

#### 1. コバルト 60 ガンマ線照射施設

ガンマ線源は、材料の改質、耐放射線性試験、滅菌や生物への照射などが行われています。また、固体表面活性による反応促進、人工衛星搭載機器の照射効果などは、新しい研究として注目されています。主な照射設備を 1.1 で紹介しています。超高線量率照射から低線量率照射、大気中照射から水中照射まで、多様な照射条件に対応可能な、西日本最大の照射施設を有しています。

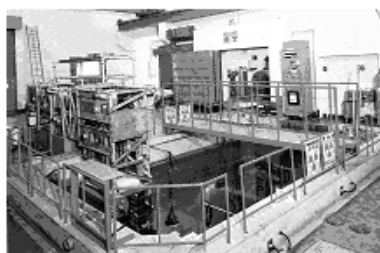


図 1 コバルト 60 ガンマ線源の水プール

##### 1.1 主な照射設備

	線源強度	線量率	用途
第 1 照射室	1 PBq	1~100Gy/h	大線量精密照射
第 2 照射室	500TBq	10~1kGy/h	大線量精密照射
第 3 照射室	3TBq	0.05~5Gy/h	小線量、非破壊検査
第 4 照射室	5PBq	50~10kGy/h	大線量照射
照射プール	5PBq	1k~10kGy/h	大線量水中照射

##### 1.2 コバルト線源の主な照射対象

- ・ 生物分野  
植物の突然変異種発現  
微生物の特性改良  
医療器具・動物飼料等の滅菌
- ・ 化学分野  
放射線分解と有用生成物の生成  
架橋反応の利用による電線被覆材の開発  
楽器の弦の改良

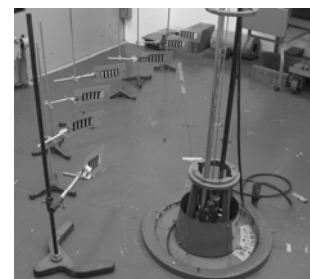


図 2 コバルト 60 照射風景  
(線量計の較正)

- ・ 工学分野                    トランジスタ・IC などの電子部品・機器の照射試験  
原子力発電所で使用する電子機器、光学部品、ケーブルの試験  
人工衛星に搭載する電子機器の照射試験
- ・ 物理分野                    放射線検出器の較正、線量計の特性試験  
ガラス・真珠・宝石等の着色  
超微粒子の生成

## 2. 高エネルギー電子線照射装置（ライナック）

電子線加速器では、線量率が極めて高いことを利用した金属材料の照射効果の研究、放射線がパルス状に出力されることを利用した、物質の過渡的变化を調べる研究、超微弱ビームの発生と利用、新しいラジオグラフィ法の開発研究などが行われています。

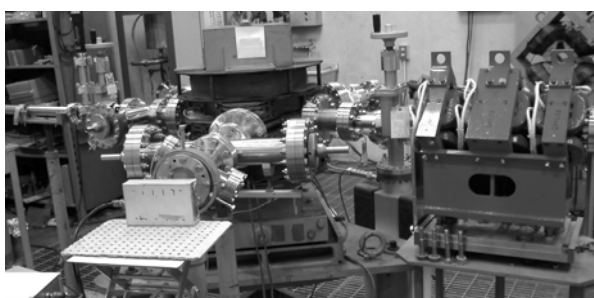


図 3 電子線形加速器（OPU ライナック）

### 2.1 主な照射設備

	粒子束密度	用途
地下照射室	～ $10^{13}e/cm^2/sec$	水平照射、大面積照射
第 2 照射室	～ $10^{12}e/cm^2/sec$	精密照射
第 3 照射室	～ $10^{14}e/cm^2/sec$	大線量照射、分析

### 2.2 ライナックの主な照射対象

- ・ 生物分野                    医療器具等の滅菌  
微弱電子線の生物影響
- ・ 化学分野                    放射線照射による光吸収過渡現象の研究（パルスラジオリシス）  
架橋反応の利用によるタイヤ、被覆材等の開発  
府大 COE 研究における水反応場解析  
液体窒素の照射効果の観測
- ・ 工学分野                    耐放射線性の高い金属、合金の大線量照射  
人工衛星に搭載する機器の耐久性加速試験  
超微量のウラン検出法の開発

- ・物理分野
  - 放射線検出器の較正
  - 電子線による材料中への欠陥導入と、それを利用した分析
  - 貴金属ナノ微粒子の生成
  - 加速器の高性能化、超微弱電子線の開発
  - 加速器を利用した高輝度サブミリ、ミリ波光源の開発と利用

### 3. 低エネルギー電子線照射装置（コッククロフト・ウオルトン型加速器）

エネルギー：60～600 keV

用途：表面照射、表面処理

照射対象例：人工衛星部品の照射

物質の表面改質（硬化、濡れ性の変化）



図4 低エネルギー電子線照射装置

### 4. 非密封放射線施設および、その他の照射装置

非密封放射性同位元素は、トレーサーとしての利用を中心に、化学、農学、生命科学、医学の研究において、種々の特徴ある施設として広く利用されています。



図5 非密封放射線施設

- 用途：
- 放射性同位元素によるトレーサー実験
  - 材料の陽電子利用分析
  - 放射性同位元素による年代測定
  - 環境汚染物質の元素分析
  - 環境放射線の測定



図6 トレーサー実験に用いられる RI 標識化合物

その他の照射設備：

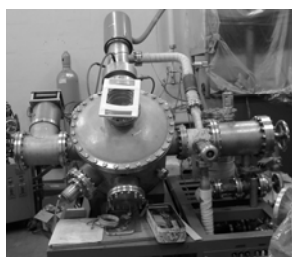


図7 低エネルギー電子線照射装置（100keV）



図8 X線照射装置



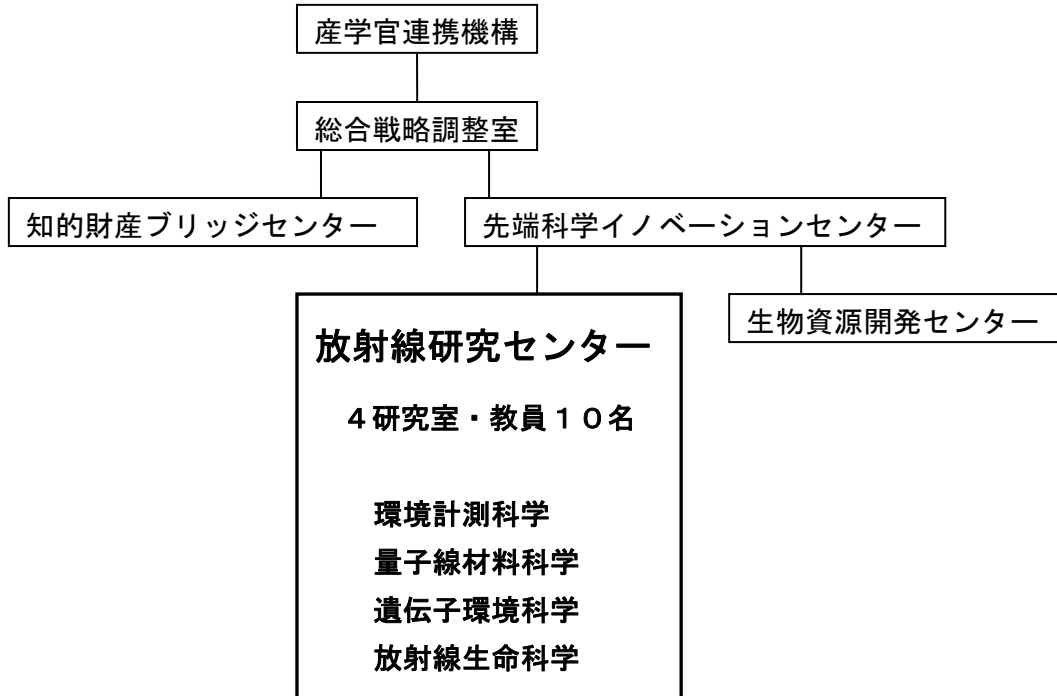
図9 X線非破壊検査装置



図10  $\gamma$ 線非破壊検査装置

## 5. 放射線研究センター組織

1959年に発足した大阪府立放射線中央研究所に設置され、整備された放射線設備は、1990年に大阪府立大学附属研究所（後の先端科学研究所）に引き継がれ、2005年における大阪府立大学の法人化にともない、産学官連携機構・放射線研究センターに引き継がれました。



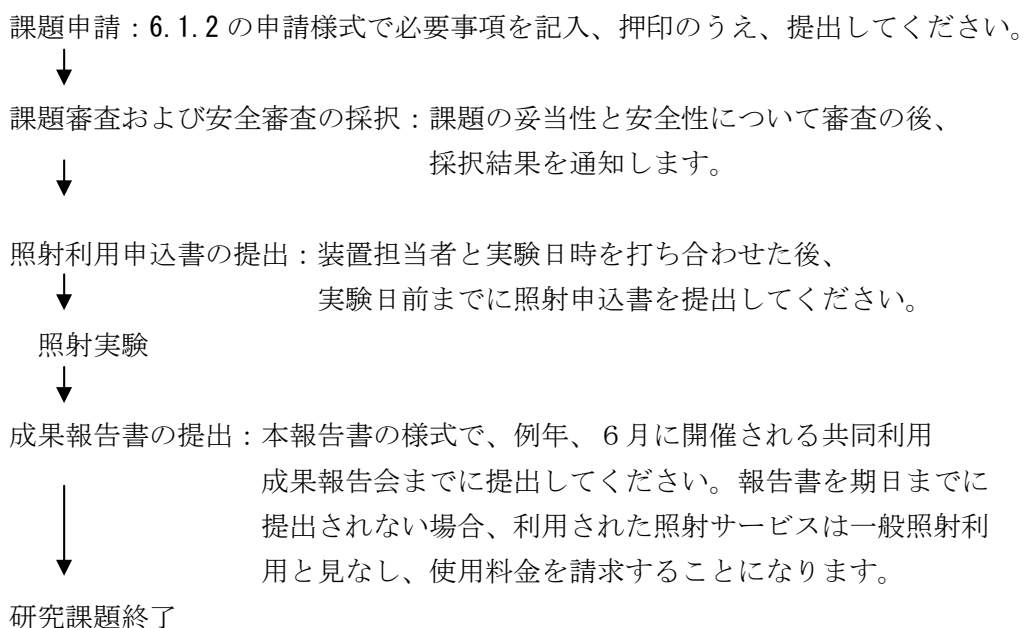
## 6. 放射線照射施設利用のてびき

放射線センターでは、保有する放射線施設を広く一般のユーザーに開放しています。また、府立大学の学内共同利用施設としても利用可能ですが、この場合は研究課題の事前審査と研究成果の公開が必要となります。一般の照射申し込みは随時、学内共同利用の課題申請は年2回受け付けています。いずれの利用の場合でも安全に関する審査は不可欠です。

### 6.1 学内共同利用の手続き

添付の申請用紙に、必要事項を記入、押印のうえ、下記に送ってください。課題の募集は6月と12月の年2回行います。申請課題の有効期限は、6月申請が1年、12月申請が半年とし、複数年にわたる研究課題は、継続課題として再度申請してください。

#### 6.1.1 学内共同利用の手続きの流れ



注 1) 放射線装置を用いた実験を行う場合、実験者の作業を要しない単純照射をのぞいて、実験者の放射線業務従事者登録が必要となります。この手続きには、放射線障害防止法にもとづいた放射線業務従事者講習会への参加が義務付けられています。講習会は年に2回、当センターで開催されています。実験を予定されている方は、早めに受講されることをお勧めします。

注 2) 共同利用研究課題申請書、放射線施設利用申込書等の書式は、ホームページからダウンロードが可能です。

URL: <http://www.riast.osakafu-u.ac.jp/facility/co60.html>

6.1.2

放射線施設利用研究課題申請書（学内共同利用）

放射線研究センター長 殿

下記の通り申請します

平成 年 月 日 申請者 所属 \_\_\_\_\_ 氏名 \_\_\_\_\_ (印)

1. 提案課題の種類（該当する項目に○印）

新規                      継続                      緊急                      継続の場合は前課題名を記入

2. 実験責任者

氏名 \_\_\_\_\_ 所属 \_\_\_\_\_ 内線番号 \_\_\_\_\_

3. 実験課題名

--

4. 共同研究者（所属機関、部局、身分）

--

5. 使用希望装置（該当する項目に○印）

(a) ライナック      (b) コバルト 60      (c) コッククロフト      (d) その他

6. 使用希望条件

使用日数： \_\_\_\_\_ 占有照射室： \_\_\_\_\_

利用条件： \_\_\_\_\_

7. 実験概要（含、従来 of 成果、期待される成果）

8. 備考

9. 放射線研究センター内 連絡者

氏名 \_\_\_\_\_ 内線番号 \_\_\_\_\_

## 6.2 一般照射利用の手続きと使用料金

産学官連携機構放射線研究センターでは、保有する放射線施設を広く一般のユーザーに開放しています。一般の照射申し込みは随時受け付けています。この場合、施設の維持に要する費用の一部を負担していただくことになります。(6.2.2の料金表を参照してください。) また、装置と実験者の安全に関する審査は不可欠ですから、実験の内容を照射申込書に記入していただく必要があります。

### 6.2.1 一般照射利用の手続き

照射利用申込書の提出：装置担当者の実験日時を打ち合わせの後、実験日前までに照射申込書を提出してください。実験日までに安全性について審査を行っています。

↓

照射利用

↓

照射終了：照射時間が確定した後、これに相当する照射料金が府立大学から請求されます。

### 6.2.2 照射手数料

区 分		金額／1照射条件につき	
放射 性同 位元 素に よる 場合	照射プール内での照射	17,000円+2,400円×V×Th	
	照射室での照射	被照射物の占有容積が10リットル未満	9,500円+4,800円×Th
		被照射物の占有容積が10リットル以上 50リットル未満	9,500円+9,500円×Th
		被照射物の占有容積が50リットル以上	19,000円+19,000円×Th
	照射室占用による照射	19,000円+19,000円×TH	
生 装 置 に よる 場合	放射線発		
	ライナックによる場合	34,400円+1,000円×Tm	
	コッククロフト・ウォルトンによる場合	28,800円+500円×Tm	
	X線照射装置による場合	8,800円+300円×Tm	
照射証明書の交付		1通につき 1,500円	

備考

- 「V」は、被照射物の占有容積を表し、その単位は1リットルとする。
- 「Th」は、照射時間を表し、その単位は1時間とする。
- 「TH」は、照射室占用時間を表し、その単位は1時間とする。
- 「Tm」は、照射時間を表し、その単位は1分間とする。
- 占有容積等の計算については、1リットルに満たない端数は1リットル、1時間に満たない端数は1時間、1分間に満たない端数は1分間とする。
- 照射プール内での照射を行う場合で被照射物をバスケット内に入れるときの被照射物の占有容積は、7リットルまでとする。



## 7. 放射線施設の位置と経路

大阪府立大学 産学官連携機構  
放射線研究センター

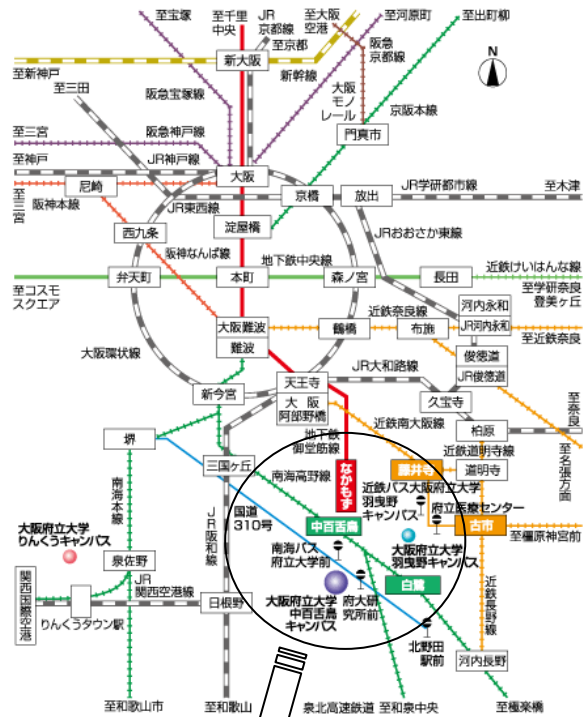
〒599-8570

大阪府堺市中区学園町1-2

Tel: (072) 252-1161 (代)

Fax: (072) 254-9938

<http://www.riast.osakafu-u.ac.jp>



- ◆南海高野線「白鷺駅」下車、徒歩15分
- ◆南海本線「堺駅」またはJR阪和線「三国ヶ丘駅」から南海バス31・32系統（国道310号経由の「福町」、「北野田駅前」行）「府大研究所前」下車
- ◆地下鉄御堂筋線「なかもず駅」下車、5番出口 徒歩20分