

[H30-4]

クラスターイオンの生物効果に関する研究

Study on the Biological Effects of Cluster Ions

長谷純宏[#], 佐藤勝也, 千葉敦也, 平野貴美, 斎藤勇一, 鳴海一雅
Yoshihiro Hase[#], Katsuya Satoh, Atsuya Chiba, Yoshimi Hirano, Yuichi Saito, Kazumasa Narumi
Takasaki Advanced Radiation Research Institute,
National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology (QST)

Abstract

Spores of *Bacillus subtilis* were employed as a model organism to examine the biological effects of cluster ions, and the sample preparation and irradiation method were established. No significant difference was found on the lethal effect of 2 MeV C⁺, 4 MeV C₂⁺ and 6 MeV C₃⁺ per particle. Lethal effects and inactivation cross section examined in the wide ranges of LET suggested that the single atoms of 2 MeV C deposited energy more than enough to kill the spores, and therefore, there was no significant difference between the cluster and monomer ion beams under this experimental condition.

Keyword: cluster ions, spore, lethal effect, *Bacillus subtilis*

1. はじめに

クラスターイオンは、複数の原子が nm 距離に近接した状態で物質に入射することから、単原子イオンに比べて特異なエネルギー付与を示すことが知られている。材料表面の改質や分析ではクラスターイオン特有の照射効果が報告されているが、生物試料における研究は皆無である。現在利用可能なクラスターイオンは静電加速器で加速された MeV 級であるため、照射試料は、薄く且つ真空中での照射に耐え得るものに限定される。枯草菌 (*Bacillus subtilis*) は産業微生物としても利用され、その胞子は、乾燥や真空を含む様々な環境に強い耐性を有することが知られている。そこで、枯草菌の胞子を生物試料のモデルとし、クラスターイオンの生物効果の特徴について明らかにすることを目的とした研究を行っている。ここでは、照射方法の確立及び炭素イオンの致死効果を評価した結果について報告する。

2. 実験方法

2.1 試料調整

枯草菌胞子の水懸濁液を常法により作製した^[1]。約 10 mm 角にカットしたシリコンウェハ上に 3 μ l の胞子懸濁液 (2 $\times$ 10⁵ 個の胞子を含む) を滴下し、凍結乾燥の後、氷上に置いて結露処理を行うことにより胞子の塊りを伸展させ、ほぼ単層に配置された試料を作製した。胞子が配置されたスポットの直径は 4.5 mm 以下であった。

2.2 照射

量研高崎研 TIARA のタンデム加速器に接続された真空チャンバー内で、2 MeV/atom の単原子イオン 2 MeV C⁺、及びクラスターイオンとして 4 MeV C₂⁺ 及び 6 MeV C₃⁺ を照射した。ビーム径は 5 mm とした。ビーム電流は 1.0 pA に設定し、照射時間を変えて 1 $\times$ 10⁸ から 2 $\times$ 10⁹ p/cm² のフルエンスで照射した。

比較試験のため、TIARA の AVF サイクロトロンからの 5 種類のイオンビーム (LET: 24 ~ 2,214 keV/ μ m) 及びガンマ線を照射した。これらの照射では、セルロースメンブレン上に集めた胞子を凍結乾燥した試料を使用した。

2.3 生存率測定

照射翌日に胞子を 1 ml の PBT バッファー (10 mM sodium phosphate buffer, 0.01% Tween 20, pH 7.0) に回収した。同バッファーで希釈系列を作製し、LB 培地に塗布した試料を 37°C で一晩培養後、形成されたコロニー数と希釈倍率に基づいて生存率を求めた。

3. 結果と考察

2 MeV C⁺、4 MeV C₂⁺ 及び 6 MeV C₃⁺ のいずれにおいても、照射粒子数に依存的に胞子の生存率は低下し、粒子数あたりの致死効果に有意な差はなかった。(Fig. 1(A))。従って、原子あたりでは、クラスターイオンの方が単原子イオンに比べて致死効果が低い結果となった (Fig. 1(B))。

2 MeV C⁺ の試料表面での LET は 1,141 keV/ μ m と評価される。この高い LET が単原子イオンとクラスターイオンで致死効果に差が見られなかった原因である可能性について検討するため、幅広い LET 範囲のイオンビーム及びガンマ線の致死効果を調査した (Fig. 2(A))。線量あたりの致死効果は、156 keV/ μ m 前後の LET でピークを示した (Fig. 2(B))。すなわち、タンデム加速器からの 2 MeV C⁺ では、不活化に必要な量以上の過大なエネルギーが 1 原子によって付与される、いわゆるオーバーキルの状態になっており、そのため、単原子イオンとクラスターイオンの粒子あたりの致死効果に差が無かったと考えられた。不活化断面積は LET が高くなるに従って増加し、468 keV/ μ m 以上で、0.2~0.3 μ m² の範囲で一定となった。この値は、枯草菌胞子の断面でゲノム DNA が存在するコア領域の面積^[2] (0.25 μ m²) と一致すること

[#] hase.yoshihiro@qst.go.jp

[H30-4]

から、468 keV/μm 以上の LET では、枯草菌孢子は 1 原子のヒットで致死することが示唆され、上記の考察が支持された。

今後、より低い LET 領域のビームを用いて同様の試験を行い、致死効果及び遺伝子変異に関するクラスターイオンの照射効果を評価する。

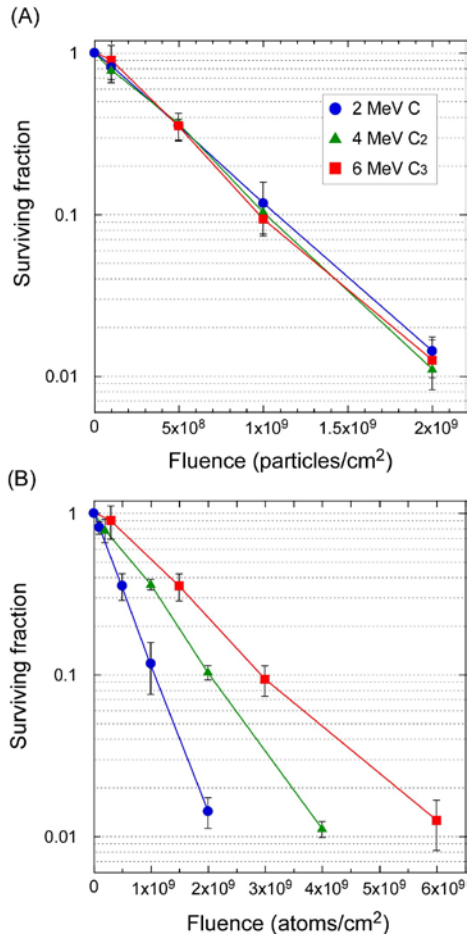


Figure 1. Survival rate of *B. subtilis* spores irradiated with 2 MeV C⁺, 4 MeV C₂⁺ and 6 MeV C₃⁺. Surviving fraction is shown as a function of particle/cm² (A) and atoms/cm² (B).

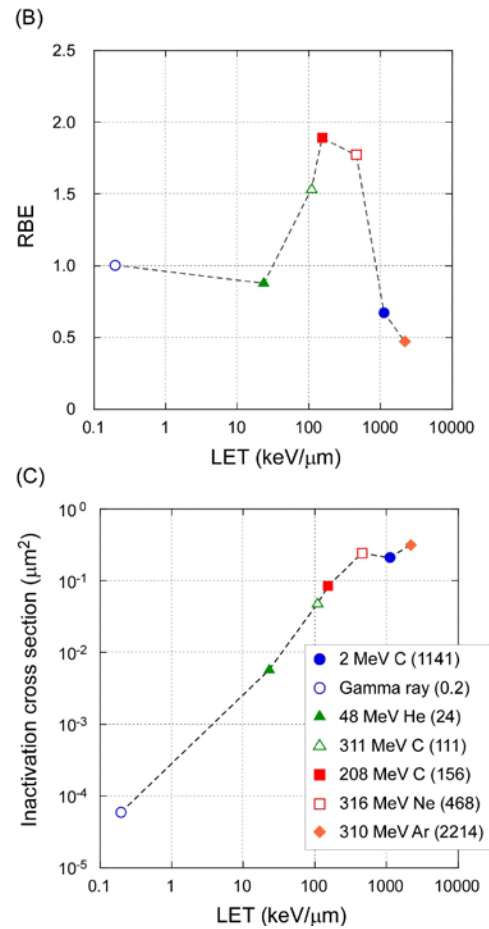
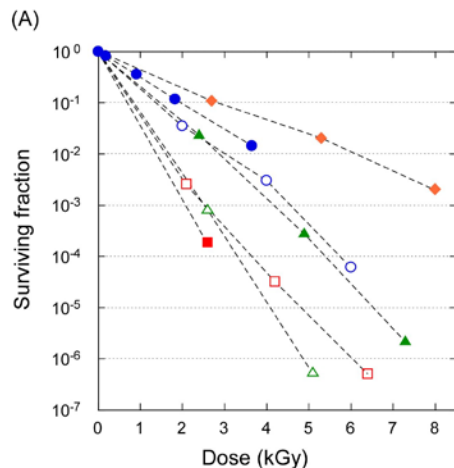


Figure 2. Lethal effect and inactivation cross section of gamma rays and ion beams with different LETs. (A) Dose response for surviving fraction. (B) Relationship between LET and relative biological effectiveness (RBE) based on the dose required to reduce the surviving fraction to 0.1. (C) Inactivation cross section as a function of LET. Values in parentheses represent the LET (keV/μm) for each ion species.

参考文献

- [1] Nicholson WL and Setlow P, Molecular Biological Methods for *Bacillus*. Harwood CR and Cutting SM Eds., The Biological Laboratories, Harvard University: Cambridge, MA, USA, pp. 391–450 (1990).
- [2] Nicholson WL et al., Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64, 548–572. (2000).