

同志社大学

2015年度 個人研究費研究経過・成果報告書

2016年 3月 22日提出

所属	職名	氏名																								
生命医科学部	教授	剣持 貴弘																								
研究題目	ゲノム DNA 二重鎖切断定量的計測法の確立と切断メカニズムの解明:分子鎖直接観察法																									
研究成果の概要	<p>蛍光顕微鏡による DNA 一分子観察の方法論を適用し、超音波照射によるゲノムサイズ DNA の二重鎖切断を定量的に評価した。本研究では、振動数 30 kHz の超音波を用い、連続波とパルス波による DNA 二重鎖切断効率の違いを検証した。</p> <p>図 1 に、振動数 30 kHz、音圧 90 kPa 一定とした超音波を 60 秒間、連続、およびパルス照射した場合の 10 kbp 当たりの DNA 二重鎖切断回数を示す。本実験では、T4 DNA (166 kbp) を用い、照射率 D (Duty ratio) は、図 1(a) に示すように、パルス周期 τ_T と実際の照射時間 τ_{ON} との比で定義され、$D=1.0$ は連続波を意味する。</p> <p>図 1(b) に示されるように、$D=0.8$ 程度までは、切断回数が線形的に増加するが、$D=0.9$ で、著しい増加が見られ、その後、再び減少を示す。$D=1.0$ の場合が、連続波の切断回数を示すことから、$D=0.6$ 近傍以下のパルス波では、切断回数が連続波より少なく、$D=0.6$ を超えると、逆に、切断回数が多くなるという結果を得た。この実験条件では、連続波が、最も入力エネルギーが大きくなるにも関わらず、照射率が 0.6 を超えると、DNA の切断効率が連続波よりパルス波の方が高くなることが示された。</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div data-bbox="459 1547 877 1888" style="text-align: center;"> $D = \frac{\tau_{ON}}{\tau_{ON} + \tau_{OFF}}, \tau_T = \tau_{ON} + \tau_{OFF}$ <p>(τ_T: Pulse repetition period)</p> </div> <div data-bbox="943 1554 1369 1861" style="text-align: center;"> <table border="1"> <caption>Data for Figure 1(b)</caption> <thead> <tr> <th>Duty ratio / D</th> <th>Number of DSBs per 10 kbp / n</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.0</td><td>0.0</td></tr> <tr><td>0.1</td><td>0.2</td></tr> <tr><td>0.2</td><td>0.4</td></tr> <tr><td>0.3</td><td>0.6</td></tr> <tr><td>0.4</td><td>0.8</td></tr> <tr><td>0.5</td><td>1.0</td></tr> <tr><td>0.6</td><td>1.2</td></tr> <tr><td>0.7</td><td>1.4</td></tr> <tr><td>0.8</td><td>1.6</td></tr> <tr><td>0.9</td><td>1.8</td></tr> <tr><td>1.0</td><td>2.0</td></tr> </tbody> </table> </div> </div> <p>図 1 (a) 照射率による連続波 (CW) とパルス波の定義. (b) DNA 二重鎖切断の照射率依存性</p>		Duty ratio / D	Number of DSBs per 10 kbp / n	0.0	0.0	0.1	0.2	0.2	0.4	0.3	0.6	0.4	0.8	0.5	1.0	0.6	1.2	0.7	1.4	0.8	1.6	0.9	1.8	1.0	2.0
Duty ratio / D	Number of DSBs per 10 kbp / n																									
0.0	0.0																									
0.1	0.2																									
0.2	0.4																									
0.3	0.6																									
0.4	0.8																									
0.5	1.0																									
0.6	1.2																									
0.7	1.4																									
0.8	1.6																									
0.9	1.8																									
1.0	2.0																									

