

放射性物質の植物への移行と影響に関する研究
(平成10年度先行基礎工学分野に関する研究)

1999年5月

核燃料サイクル開発機構

人形峠環境技術センター

放射性物質の植物への移行と影響に関する研究
(平成10年度先行基礎工学分野に関する研究)

長柄 収一, 鶴留 浩二, 時澤 孝之

要 旨

本研究では、放射性物質や放射線による植物遺伝子への影響の評価を目的として、U、Raといった放射性核種を含有する夜次鉱さいダム土壌を用いて室内試験を行った。ここでは特にモデル植物として遺伝子配列が明らかなシロイヌナズナを用いて、遺伝子の変異について調査した。また放射性核種の移行及び吸収量を測定する手法を開発する目的で、イメージングプレート (IP) の適用を試みた。

平成9年度にシロイヌナズナから抽出した DNA を用いて、PCR (Polymerase Chain Reaction) 法による DNA 増幅の結果から、放射線や放射性核種影響に関与するカルコン合成遺伝子が増幅できていることを確認できた。また、鉱さいダム土壌で生育させたシロイヌナズナの IP 分析結果から、植物体の放射線分布を測定することが確認でき、微量な放射線の測定方法に道が開けた。

なお、本研究は岡山大学との共同で実験を進めており、DNA 増幅操作までをサイクル機構が担当し、サブクローニングからシーケンスまでの DNA 組換え実験を含む操作については、岡山大学が担当して実験を行った。

The research on effect of radioactive material concentration and radiation to DNA plant
(The research on precedence foundation engineering field in fiscal 1998)

S.Nagara, K.Tsurudome and T.Tokizawa

Abstract

For the purpose of effect of radioactive material concentration and radiation to DNA in plant, this study carried out laboratory experiment using soil from the Yotsugi mill-tailings dam which contained radionuclides such as uranium and radium. In present experiment, the *Arabidopsis* in which gene sequence had been clarified was used as a model plant, and the existence of the mutation of the gene was confirmed. In addition, the Imaging Plate method (IP) was applied to the detection of the radioactive material, and the applicability of IP for the analysis of the radioactive material migration was evaluated.

In fiscal 1997, DNA amplification by the PCR (Polymerase Chain Reaction) method was carried out using DNA extracted from the *Arabidopsis*. The result showed that chalcone synthesis gene examined, when radiation and effect by the radioactive material are analyzed, could be amplified. From results of IP-image of the *Arabidopsis* which is grown in the soil from Yotsugi mill-tailings dam, it was able to be confirmed that radiation distribution in the plant body is measured, and the way opened it in the measuring method of the small radiation.

This study promotes the experiment in the cooperation with Okayama Univ.. JNC was in charge of from the rearing of the plant to the DNA amplification operation. And Okayama Univ. was in charge of the operation that contains the DNA recombination experiment from sub-cloning to sequence.

Key word: plant, gene, radioactive material, radiation, mutation, mill tailing, Imaging Plate,

Environmental Research and Development Group
Ningyo-toge Environment Engineering Center, JNC

目 次

| | |
|-------------------------------------|---|
| 1. はじめに | 1 |
| 2. 目 的 | 2 |
| 3. 実施内容 | 3 |
| 3.1 放射線や放射性物質による植物体の遺伝子影響 | 3 |
| 3.2 IP による放射性物質の植物体への濃集に関する調査 | 4 |
| 4. 試験結果及び考察 | 5 |
| 4.1 放射線や放射性物質による植物体の遺伝子影響 | 5 |
| 4.2 IP による放射性物質の植物体への濃集に関する調査 | 5 |
| 5. まとめ | 7 |
| 6. 今後の課題と予定 | 8 |
| 6.1 放射線や放射性物質による植物体の遺伝子影響 | 8 |
| 6.2 IP による放射性物質の植物体への濃集に関する調査 | 8 |
| 6.3 最終報告書の作成 | 8 |
| 7. 参考文献 | 9 |

表・図・写真目次

| | |
|---|----|
| 表 3.1 CHS 合成遺伝子用のプライマー | 10 |
| 表 4.1 抽出サンプルの DNA 濃度測定結果 | 10 |
| 表 4.2 銻さい土壌中の放射性物質及び放射線の分析結果 | 11 |
| 図 4.1 PCR 産物を電気泳動で分画した結果 | 12 |
| 写真 3.1 PCR 装置 (TaKaRa 製 PCR Thermal Cycler) | 13 |
| 写真 3.2 電気泳動装置 (コスモ・バイオ製ミューピッドII) | 13 |
| 写真 3.3 紫外線照射装置 (UVP 製トランスイルミネーター) | 14 |
| 写真 3.4 IP 分析装置 (FUJIX BAS2000A) | 14 |
| 写真 4.1 銻さい土壌で生育させた植物体の IP 分析結果 (3hr 露出) | 15 |
| 写真 4.2 銻さい土壌で生育させた植物体の IP 分析結果 (24hr 露出) | 16 |

1. はじめに

ウラン鉱山などの跡措置での安全評価を行う上で、埋設された鉱さいなどからの放射線照射により生じる植物への諸影響や地下水などを介して移行する放射性核種による影響などについて評価しておく必要がある。

放射線の生物に対する影響は、直接的影響と遺伝的影響に分けられる。直接的影響には、線量が大きく被ばく後に比較的短期間に現れる急性障害、線量が比較的小さく数ヶ月～数年経て現れる晩発障害がある。遺伝的影響には、染色体の構造及び数の変化に由来する染色体異常（染色体突然変異）と染色体上にある遺伝子1個の変化による遺伝子突然変異（点突然変異）があるが、低線量の際には染色体異常が稀にしか起こらなく、高線量により染色体異常を起こした細胞は死滅することが多いために遺伝子的影響として現われにくい。¹⁾埋設された鉱さいなどからの放射線量は、10Gy以上のヒトが数日で死亡するような高線量ではなく、環境放射線レベルかまたはそれに近い比較的低線量で長期間継続されることから、植物には先に述べた晩発的影響及び遺伝子突然変異による次世代への影響の可能性がある。また埋設された鉱さいなどからの植物への影響は外部からの放射線の他に、吸収による内部からの放射線によるもの、放射性核種そのもの持つ化学的毒性によるものが考えられる。鉱さいの放射性核種を植物体に取り込むことによる諸影響についても、十分に把握しておく必要がある。

遺伝子研究のモデル植物は、分子生物学的アプローチをとりやすいということが最も重要な条件となる。この条件として1)実験室内の環境で栽培しやすい、2)植物体が小さい（高さ約20cm）、3)世代時間が短い（6～8週間）、4)ゲノムサイズが小さい、5)染色体の分子マップが完備している、6)情報ネットワークが整っていることなどがあげられる。「シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)」はこれらの条件を満たしており、ゲノム解析など多くの植物科学の領域でシロイヌナズナを用いた研究は世界中で活発となっている。²⁾よって植物の遺伝子に関する研究にはシロイヌナズナが最も適しており、さらに数多くある遺伝子から放射線や放射性核種に対して変異を受けやすい部分を調査することで、放射線や放射性核種からの影響を明らかになると思われる。

以上のことから、本研究では放射線及び放射性核種によるシロイヌナズナの遺伝子変異に注目して、埋設された鉱さいなどによる植物の遺伝子への影響について評価を行う。

本研究は先行基礎工学分野に関する研究のテーマとして、平成9年度～11年度の3年間、岡山大学農学部総合農業科学科の山田哲治教授と共同で進めており（平成9年度は客員研究員）、本年度はその2年目となる。

2. 目的

本研究では、放射線や放射性核種による植物体の遺伝子的な影響調査を目的として、U、Ra といった放射性核種を含有する夜次鉱さいダムの土壌を対象に、遺伝子の塩基配列が明らかにされているシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の放射線及び放射性核種に対して変異を受けやすい遺伝子をモデルとした影響調査を行うとともに、鉱さいから溶出する放射性核種の植物体への移行や吸収量について、イメージングプレート（以下 IP という）を用いた測定方法の検討を行う。

3. 実施内容

3.1 放射線や放射性核種による植物体の遺伝子影響

放射線や放射性核種による植物体の遺伝子影響の調査には、植物体から DNA を取り出して DNA 解析を行う必要がある。この操作手順は、1)植物体からの DNA 抽出、2) DNA 増幅、3)サブクローニング、4)シーケンス解析に大別される。平成9年度までに、鉱さいダム土壌などによる植物の生育、生育後の葉組織からの DNA 抽出及び予備的な PCR 法による DNA 断片の増幅操作を実施している。今年度は DNA 増幅からシーケンス解析を実施するが、DNA 増幅をサイクル機構が担当し、サブクローニングからシーケンス解析を岡山大学が担当して実施した。

(1)PCR を用いた特異的遺伝子座 DNA 断片の増幅 (サイクル機構担当)

植物体より抽出した DNA は、遺伝子実験などで一般的に多く利用されている PCR(Polymerase Chain Reaction)法によって DNA 増幅を実施する。

PCR 法は、対象とする DNA、2種のプライマー、耐熱性ポリメラーゼをヌクレオチドの含まれる溶液に溶かし、その溶液を3段階に温度変化させながら反応させる。95℃では DNA が一本鎖になり、55℃ではプライマーが相同領域に結合し、72℃では複製反応が起こる。これが1サイクルにあたり、DNA が2倍に増幅される。このサイクルを22回行くと、計算上は100万倍になる。実際には30サイクル程度行すが、100万倍から1,000万倍にまで増幅される。³⁾

平成9年度はトランジェニックタバコ植物体の葉色素変異に関する「GUS プライマー」を用いて DNA 増幅予備実験を行い、岡山大学で実施している PCR 条件によって DNA 断片が増幅することを確認している。今年度はシロイヌナズナの放射線及び放射性核種に対して影響を受ける遺伝子に関するプライマーを新規合成して、これを用いて DNA の増幅を実施する。DNA 断片の増幅手順を下記に示す。

1) プライマー合成

PCR を行う前に、先ず増幅させたい DNA 領域の両末端の部分と相同な配列をもつ20~30塩基ほどのプライマーを合成する必要がある。今回の実験では、放射線及び放射性核種に対して影響を受けやすいカルコン合成遺伝子(以下 CHS 遺伝子という)を対象にプライマー合成を行った。このプライマー合成に必要なシーケンスなど諸条件については岡山大学山田先生が設定し、合成は宝酒造株式会社カスタムセンターに依頼した。表3.1に合成した2種類のプライマーのデータを示す。

2) 抽出サンプルの DNA 濃度測定

PCR 反応液を調整する前に、サンプル中の DNA 濃度を把握しておく必要がある。DNA の定量は、核酸に含まれる塩基が260nm付近の紫外吸収する性質を利用した光学的方法⁴⁾により実施した。

3) PCR 反応液の調製

1)で合成したプライマーを使い、2)DNA 濃度をもとに PCR 反応液の調整⁵⁾を行う。

4)PCR 装置による DNA 断片の増幅

3)で調製した PCR 反応液は、PCR 装置(写真3.1)を用いて自動増幅させる。

5)電気泳動による DNA 断片の増幅の確認

PCR により増幅させた DNA 断片(以下 PCR 産物という)は、電気泳動装置(写真3.2)を用いて分画し、紫外線照射装置(写真3.3)により DNA 断片の増幅の確認を行う。

(2)サブクローニングからシーケンス解析(岡山大学担当)

PCR により増幅させた DNA はサブクローニングによる精製操作を行った後、シーケンサーによる解析を行う。サブクローニング操作には組換え DNA 実験操作を含むため、岡山大学担当により遺伝子組換え実験施設

内で実施した。

3.2 IPによる放射性核種の植物体への濃集に関する調査

放射性核種を含有する土壌で生育した植物体について、放射性核種の移行部位調査を目的として、植物体に取り込まれた放射性核種から照射する放射線分布状態及び放射性強度について調査を行う。植物体の放射線分布測定には、医療分野などで多く利用されているIPを用いた。IPは写真フィルムやX線フィルムの数十倍の検出感度を有し、X線に感度があるだけでなく、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P などのβ線源、 ^{125}I 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ などのγ線やα線に対しても高い感度を有する¹⁾。

今年度は鉦さいダム土壌で生育させた植物体の放射線分布を確認するとともにIPの露出時間の検討も合わせて行った。下記に今回実施した実験条件を示す。

なお、植物生育からIPプレートへの露出までをサイクル機構が担当し、IP分析は岡山大学が担当して実施した。

1) 生育条件

- 土 壌 : 鉦さいダム土壌+牛糞 200g (土壌:牛糞=7:3)
- 植 物 : シロイヌナズナ
- 生 育 : 温度 22°C, 湿度 50%RH, 照度 3,000lx (12h 明期-12h 暗期), 6週間生育

2) IP分析

- 前処理 : 植物体表面を純粋で洗浄した後、サランラップする。
- IPプレート : FUJIFILM製 BAS-IP MS 2025 (20×25cm)
- 露出時間 : 3hr, 24hr
- IP分析 : IP分析装置 (写真 3.4)

4. 試験結果及び考察

4.1 放射線や放射性物質による植物体の遺伝子影響

(1) PCR を用いた特異的遺伝子座 DNA 断片の増幅（サイクル機構担当）

DNA 増幅の各操作での結果について下記に示す。

1) 抽出サンプルの DNA 濃度測定

表 4.1 に抽出サンプルの DNA 濃度結果を示す。各サンプルの DNA 濃度にかんがりのばらつきが見られるが、これは抽出時に用いた葉組織量の違いと操作での収率の差である。表中の A_{260}/A_{280} は DNA 純度を調べるためのもので、標準値は約 1.9 となる。今回の結果から A_{260}/A_{280} 値のほとんどは 1.9 前後であるので、昨年度の DNA 抽出操作により純度のよい DNA が得られていると言える。

2) 電気泳動による DNA 断片の増幅の確認

図 4.1 に PCR 産物を電気泳動で分画した結果を示す。写真上側は各土壌サンプル名とその番号 (M は DNA マーカー「 λ -HindIII」)、左側は DNA の大きさ (bp)、右側は増幅できた DNA 断片のバンドが現れる位置 (約 1kbp) を矢印で示している。今回の結果から、すべての土壌サンプル分から 1kbp 付近の DNA バンド (矢印 ← の部分) を確認することができたので、今回実施した DNA 増幅条件での PCR によって、目的とした CHS 合成遺伝子の増幅は行えていると言える。

この後に岡山大学担当で実施するサブクローニング～シーケンスに用いるサンプルには、今回の分画した結果でなるべく 1kbp 以外のバンドが現れていない下記のものを選択した。

(サブクローニング～シーケンスに用いる PCR 産物)

- | | |
|---------------------|--------|
| ・岡山大学土壌 | No. 8 |
| ・夜次鉱さいダム土壌+パーミキュライト | No. 10 |
| ・開発試験棟土壌 | No. 25 |
| ・夜次鉱さいダム土壌 | No. 52 |

(2) サブクローニングから DNA 塩基配列解析（岡山大学担当）

サイクル機構で作製した PCR 産物を用いて、サブクローニングから DNA 塩基配列解析を行った結果、各土壌サンプルの塩基配列には変異がないことが明らかになっている（詳細は共同研究報告書に記述）。

4.2 IP による放射性物質の植物体への濃集に関する調査

写真 4.1 及び 4.2 に IP 分析結果を示すが、今回の IP 分析写真では、放射線の存在する部分が黒くなるように設定している。今回の実験では、鉱さいダム土壌で生育を行った植物体 1 体について IP 分析を行い、写真 4.1 の 3hr 露出結果から、鮮明さには欠けるものの内部に取り込まれた放射性核種からのものと思われる画像が特には葉部分に見られる。今回 IP に用いたサンプルは非常に小さな植物体であることから、これ以上の把握については IP では難しいことも考えられるが、更に詳細な IP 画像の解析により、本植物の部位毎の TF (濃縮比) や CR (移行係数) についてのデータを求めることができるものとする。

また写真 4.2 の 24hr 露出からは、露出時間が長いにもかかわらず写真 4.1 と比較して植物体の形が確認し難い結果になった。この原因として、IP の露光から読み取り操作までの時間が長いと輝尽性発光強度が低下 (室温 24 時間で約 6 割低下) するフェーディングと呼ばれる現象¹⁾が起きたものと推測され、IP 露出時間については 3hr までが適当であると言える。

表 4.2 に夜次鉱さいダム土壌の U, Ra 濃度及び α 線, β 線測定結果を示す。測定結果から、夜次鉱さいダム土壌から純水への溶出濃度は全 U : 1.07 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 全 Ra : 2.0E-3Bq/ml, 溶出率は全 U : 1.24%, 全 Ra : 1.25% となった。過去に内部で実施された溶出試験結果と比較した場合、全 U, 全 Ra の溶出濃度は同オーダーであ

ったが、全 U 溶出率は今回が約 10% 低く、全 Ra 溶出率はほぼ同値であった。この溶出率の差については、1) 土壌採取場所、2) 溶出条件（固液比、接触時間など）が異なるためと考えられる。過去の溶出試験結果と今回の溶出試験結果からは、鉍さいダム土壌と水との接触により微量放射性核種の溶出が認められることから、鉍さい上に生育した植物はこれら水分に含まれる放射性核種を体内に吸収していると考えられる。

5. まとめ

放射線や放射性物質による植物体の遺伝子影響は、DNA 抽出操作までをサイクル機構が担当し、放射線及び放射性核種から影響を受けやすい CHS 合成遺伝子の増幅を行った。DNA 抽出以降のサブクローニングからシーケンス解析の操作は岡山大学が担当し、4 サンプルについて遺伝子への影響が無いことを確認している。

IP による放射性核種の植物体への濃集に関する調査は、鉦さいダム土壌で生育させたシロイヌナズナの IP 分析写真結果から、植物体内部に取り込まれた放射性核種によるものと思われる画像が特に葉の部分に分布していることを確認した。

6. 今後の課題と予定

6.1 放射線や放射性物質による植物体の遺伝子影響

今年度は、サイクル機構が担当して CHS 遺伝子を増幅させて、岡山大学が担当してサブクローニングからシーケンス解析を実施している。最終的には両者のパートをとりまとめ、先行基礎工学研究で報告されることになる。

今年度のシーケンス解析は4件と少ない結果に終わった。これは DNA 増幅の開始時期が遅かったことと、サブクローニング操作に時間がかかったため、来年度は実験の再現性も含めて植物の生育及びシーケンスサンプル数を増やしていく予定である。

本研究では鉍さいに直接植物体を生育させた実験を行ったために鉍さいからの影響要因が複雑化しているが、放射線に対して敏感な部分の DNA に影響が見られれば、主な要因は外部と内部からの放射線によるものであるが、その他の要因として放射性核種による化学的毒性などが考えられる。実験は鉍さいからの放射線による影響について調査する目的で実施しており、放射性核種による影響については放射性核種を含有する培地で植物を生育させる実験によって遺伝子への影響を把握していく。その他要因による植物の遺伝子への影響は、本研究とは別に文献などの調査が必要となる。

また遺伝的影響について、これまでは植物の1世代のみを対象として研究を実施しているが、遺伝子突然では次世代以降に影響を及ぼすため、2世代以降への評価につなげる研究を行っていく。

6.2 IP による放射性核種の植物体への濃集に関する調査

今回植物体に確認された放射線について、植物内部に吸収された放射性核種によるものであるのかを明らかにするため、一般土壌と鉍さいダム土壌との IP 対照実験を行うとともに、IP 露出時間を変えた実験によって、各部位への放射線強度の違いから放射性核種の移行について調査を行う。また植物体中の放射性核種について、極微量の分析方法に耐えるサンプル量の確保等を検討して研究を進めいく。

6.3 最終報告書の作成

本研究は先行基礎分野に関する共同研究として平成9年度～平成11年度の3年間の予定で実施している。最終年度となる平成11年度は3年間の研究成果をまとめ、平成12年3月迄に最終報告書を作成し、サイクル機構の技術資料登録を行う。

7. 参考文献

- 1) 石川友清：放射性概論 ー第1種放射線試験受験用テキストー (1996)
- 2) 島本功, 岡田清孝：細胞工学別冊 植物細胞工学シリーズ4 モデル植物の実験プロトコルーイネ・シロイヌナズナ編ー, p22-26 (1996)
- 3) 松村正實：ラボマニュアル遺伝子工学 第3版(1996)

表3.1 CHS合成遺伝子用のプライマー

| プライマー名 | base | 塩基配列 |
|--------|------|--------------------------------|
| PNC-1 | 24 | 5'-TGGACACCAGACAGGACATCGTGG-3' |
| PNC-2 | 24 | 5'-CGCTCGACATGTTTCCATACTCGC-3' |

塩基コードG: グアニン A: アデニン T: チミン C: シトシン

表4.1 抽出サンプルのDNA濃度測定結果

開発試験棟土壌

| No. | A260 | A280 | A260/A280 | 希釈倍率 | DNA濃度 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) |
|-----|-------|-------|-----------|------|--|
| 1 | 0.018 | 0.010 | 1.800 | 400 | 0.360 |
| 2 | 0.008 | 0.004 | 2.000 | 400 | 0.160 |
| 3 | 0.038 | 0.020 | 1.900 | 400 | 0.760 |
| 4 | 0.016 | 0.009 | 1.778 | 400 | 0.320 |
| 5 | 0.016 | 0.009 | 1.778 | 400 | 0.320 |
| 6 | 0.021 | 0.011 | 1.909 | 400 | 0.420 |
| 7 | 0.008 | 0.004 | 2.000 | 400 | 0.160 |
| 8 | 0.012 | 0.006 | 2.000 | 400 | 0.240 |
| 9 | 0.028 | 0.016 | 1.750 | 400 | 0.560 |
| 10 | 0.035 | 0.019 | 1.842 | 400 | 0.700 |
| 11 | 0.019 | 0.011 | 1.727 | 400 | 0.380 |
| 12 | 0.033 | 0.018 | 1.833 | 400 | 0.660 |
| 13 | 0.035 | 0.019 | 1.842 | 400 | 0.700 |
| 14 | 0.024 | 0.014 | 1.714 | 400 | 0.480 |
| 15 | 0.029 | 0.016 | 1.813 | 400 | 0.580 |
| 16 | 0.014 | 0.008 | 1.750 | 400 | 0.280 |
| 17 | 0.016 | 0.009 | 1.778 | 400 | 0.320 |
| 18 | 0.027 | 0.015 | 1.800 | 400 | 0.540 |
| 19 | 0.026 | 0.015 | 1.733 | 400 | 0.520 |
| 20 | 0.037 | 0.020 | 1.850 | 400 | 0.740 |
| 21 | 0.044 | 0.024 | 1.833 | 400 | 0.880 |
| 22 | 0.045 | 0.025 | 1.800 | 400 | 0.900 |
| 23 | 0.047 | 0.026 | 1.808 | 400 | 0.940 |
| 24 | 0.039 | 0.023 | 1.696 | 400 | 0.780 |
| 25 | 0.046 | 0.026 | 1.769 | 400 | 0.920 |
| 26 | 0.070 | 0.038 | 1.842 | 400 | 1.400 |

鉱さいダム土壌

| No. | A260 | A280 | A260/A280 | 希釈倍率 | DNA濃度 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) |
|-----|-------|------|-----------|------|--|
| 51 | 0.118 | | | 40 | 0.236 |
| 52 | 0.410 | | | 40 | 0.821 |
| 53 | 0.213 | | | 40 | 0.427 |
| 54 | 0.171 | | | 40 | 0.342 |

注) A280測定は未実施

岡山大学土壌

| No. | A260 | A280 | A260/A280 | 希釈倍率 | DNA濃度 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) |
|-----|-------|-------|-----------|------|--|
| 1 | 0.060 | 0.037 | 1.622 | 400 | 1.200 |
| 2 | 0.046 | 0.025 | 1.840 | 400 | 0.920 |
| 3 | 0.072 | 0.040 | 1.800 | 400 | 1.440 |
| 4 | 0.051 | 0.029 | 1.759 | 400 | 1.020 |
| 5 | 0.031 | 0.018 | 1.722 | 400 | 0.620 |
| 6 | 0.056 | 0.031 | 1.806 | 400 | 1.120 |
| 7 | 0.024 | 0.013 | 1.846 | 400 | 0.480 |
| 8 | 0.028 | 0.016 | 1.750 | 400 | 0.560 |
| 9 | 0.030 | 0.016 | 1.875 | 400 | 0.600 |
| 10 | 0.025 | 0.015 | 1.667 | 400 | 0.500 |
| 11 | 0.036 | 0.020 | 1.800 | 400 | 0.720 |
| 12 | 0.023 | 0.013 | 1.769 | 400 | 0.460 |

鉱さいダム土壌:バーミキュライト

| No. | A260 | A280 | A260/A280 | 希釈倍率 | DNA濃度 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) |
|-----|-------|-------|-----------|------|--|
| 1 | 0.040 | 0.020 | 2.000 | 400 | 0.800 |
| 2 | 0.023 | 0.011 | 2.091 | 400 | 0.460 |
| 3 | 0.022 | 0.011 | 2.000 | 400 | 0.440 |
| 4 | 0.041 | 0.021 | 1.952 | 400 | 0.820 |
| 5 | 0.048 | 0.024 | 2.000 | 400 | 0.960 |
| 6 | 0.040 | 0.021 | 1.905 | 400 | 0.800 |
| 7 | 0.059 | 0.030 | 1.967 | 400 | 1.180 |
| 8 | 0.046 | 0.025 | 1.840 | 400 | 0.920 |
| 9 | 0.062 | 0.031 | 2.000 | 400 | 1.240 |
| 10 | 0.042 | 0.021 | 2.000 | 400 | 0.840 |
| 11 | 0.049 | 0.024 | 2.042 | 400 | 0.980 |
| 12 | 0.047 | 0.023 | 2.043 | 400 | 0.940 |
| 13 | 0.044 | 0.022 | 2.000 | 400 | 0.880 |

$$\text{DNA濃度}(\mu\text{g}/\mu\text{l}) = \text{A260} \times 50 \times \text{希釈倍率} \times 0.001$$

表4.2 鉱さい土壌中の放射性物質及び放射線の分析結果

| 分析項目 | 測定回数 | 含有試験(Bq/g乾土) | | 溶出試験(Bq/ml) ⁶⁾ | |
|--------------------|------|--------------|-------------|---------------------------|-------------|
| | | 測定値 | 平均値 | 測定値 | 平均値 |
| 全U ¹⁾²⁾ | 1 | 837 | 862 | 1.07 | 1.07 |
| | 2 | 819 | | 1.08 | |
| | 3 | 930 | | 1.05 | |
| 全Ra ³⁾ | 1 | 1.6E+1±1.3% | 1.6E+1±1.3% | 2.0E-3±3.5% | 2.0E-3±3.5% |
| | 2 | 1.5E+1±1.3% | | 2.1E-3±3.4% | |
| | 3 | 1.6E+1±1.3% | | 1.9E-3±3.6% | |
| 全α ⁴⁾ | 1 | 1.3E+2±1.8% | 1.3E+2±1.8% | 2.6E-2±2.7% | 2.6E-2±2.7% |
| | 2 | 1.3E+2±1.8% | | 2.6E-2±2.7% | |
| | 3 | 1.3E+2±1.8% | | 2.6E-2±2.7% | |
| 全β ⁵⁾ | 1 | 1.8E+2±2.0% | 1.8E+2±2.0% | 8.2E-3±6.5% | 8.5E-3±6.3% |
| | 2 | 1.8E+2±2.0% | | 8.7E-3±6.1% | |
| | 3 | 1.8E+2±2.0% | | 8.6E-3±6.2% | |

注)

1)全Uの単位は、含有試験ではμg/g乾土、溶出試験ではμg/ml。

2)全U:酸分解後、ICPで測定した。

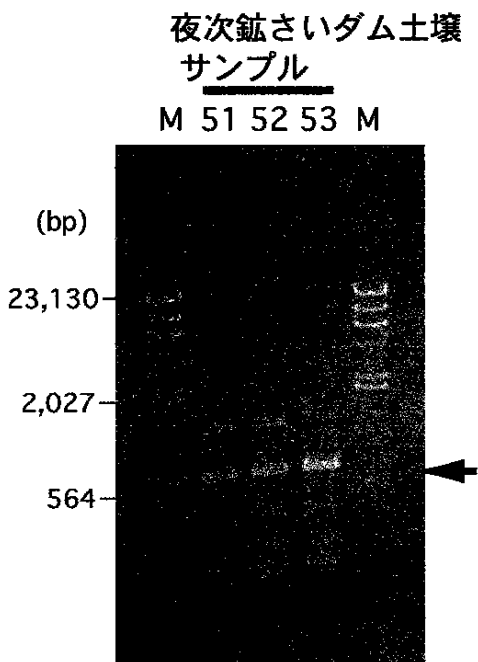
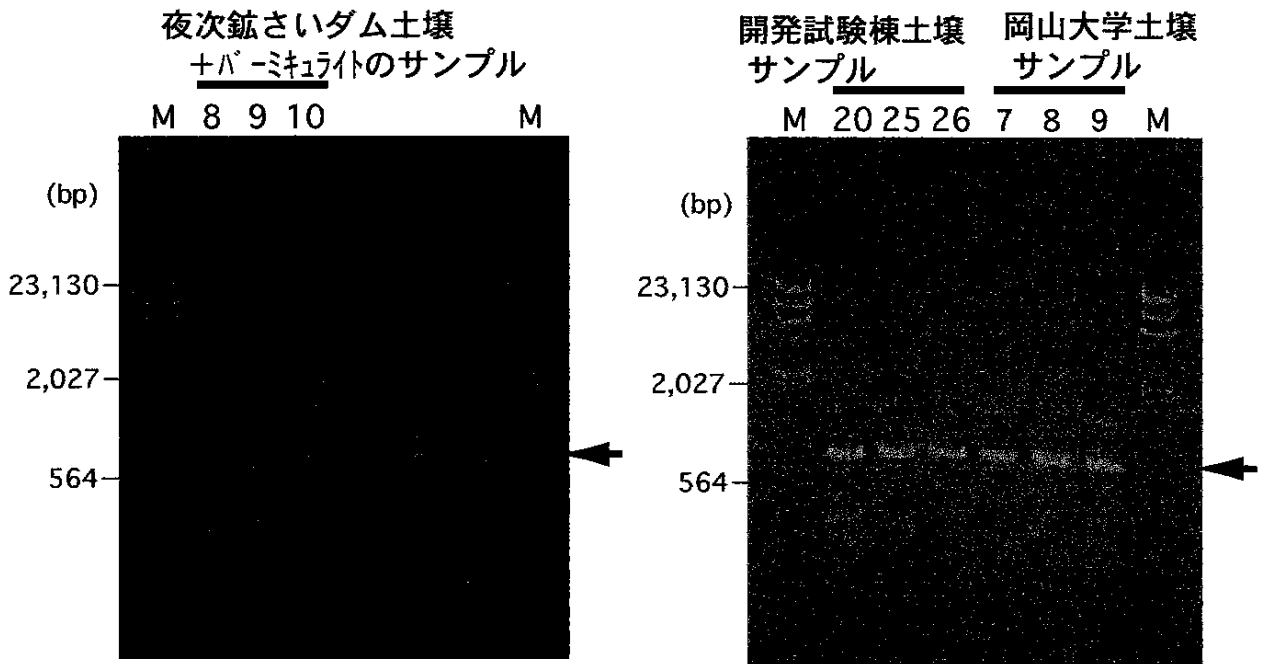
3)全Ra:ラジウム分析法、科学技術庁放射能測定シリーズ19に準拠し実施した。

4)全α:酸分解後、鉄共沈法により測定試料を作成し、ZnS(硫化亜鉛シンチレータ)によりα線計測を実施した。

5)全β放射能測定法、科学技術庁放射能測定シリーズ1に準拠し実施した。

6)土壌溶出試験:環境庁告示13号に基づいた溶出試験

土壌と純水を重量体積比10%の割合で混合し、振とう機を用いて6時間振とう後、その溶液を孔径1μmのグラスファイバーフィルターを用いて濾過した。



M : マーカー (λ-hind III)
 ← は増幅したDNA断片
 のバンド

図4.1 PCR産物を電気泳動で分画した結果



写真3.1 PCR装置(TaKaRa製 PCR Thermal Cycler)

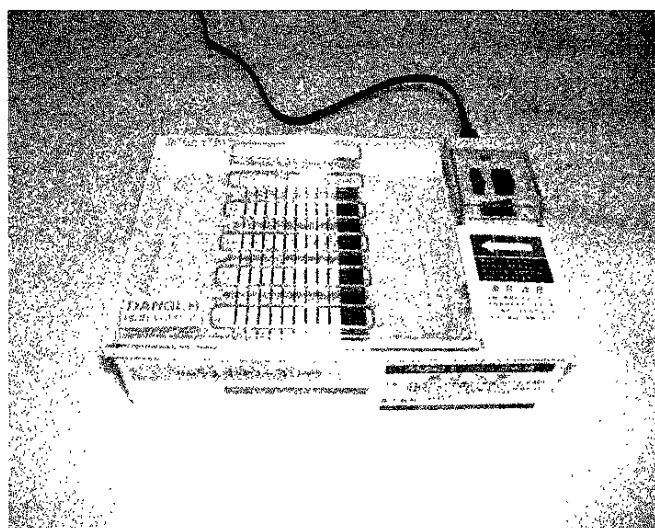


写真3.2 電気泳動装置 (コシエ・バイテ製ミュージピッドII)

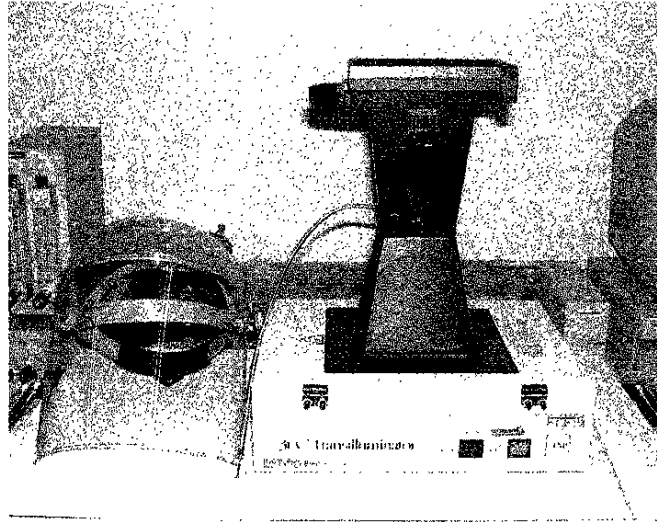


写真3.3 紫外線照射装置 (UVP製トランスイルミネーター)
中央下：照射装置、中央上：ポラロイドカメラ、左：保護面

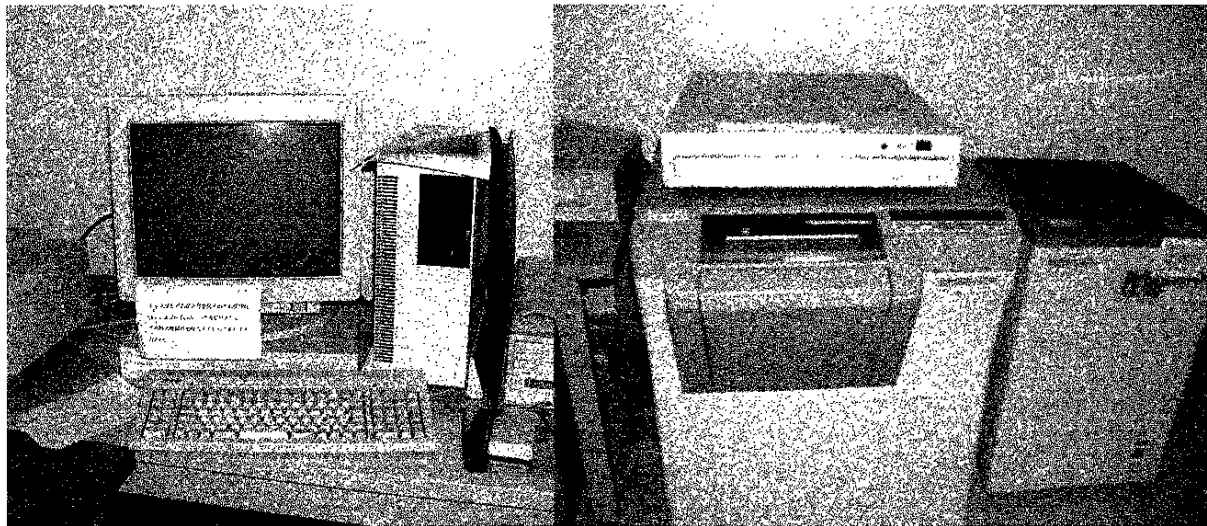
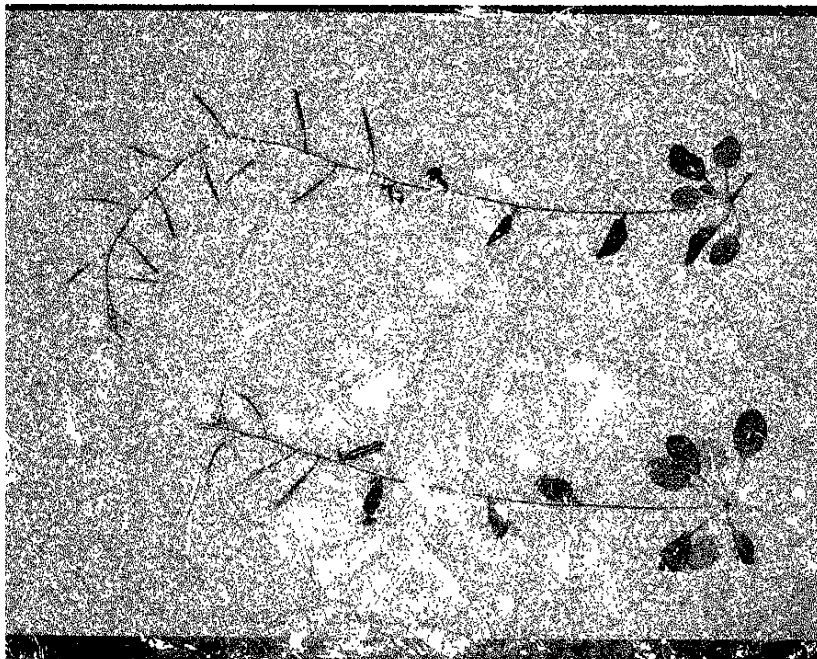
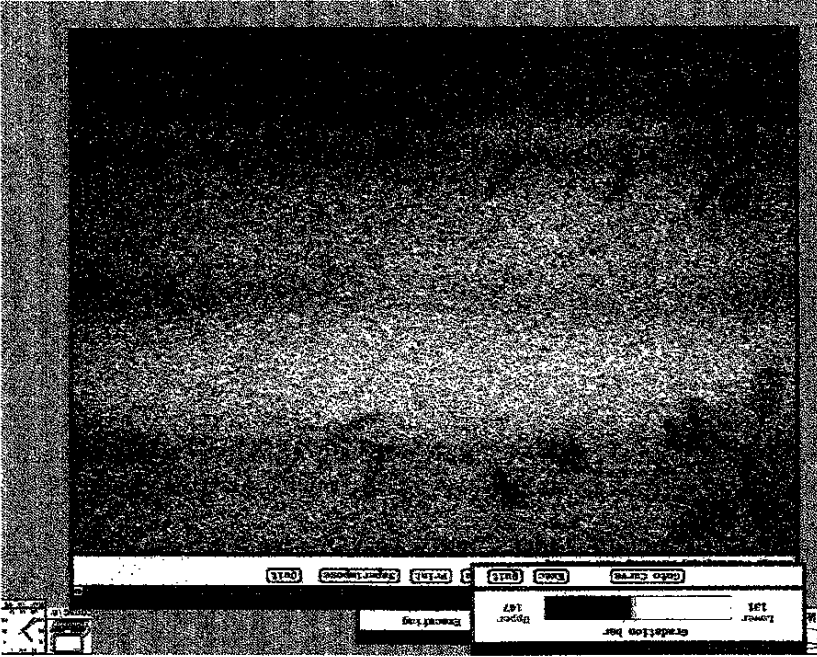


写真3.4 IP分析装置 FUJIX BAS200A (岡山大学)
左：制御用unixコンピュータ、右：IP読み取り装置、カラープリンター

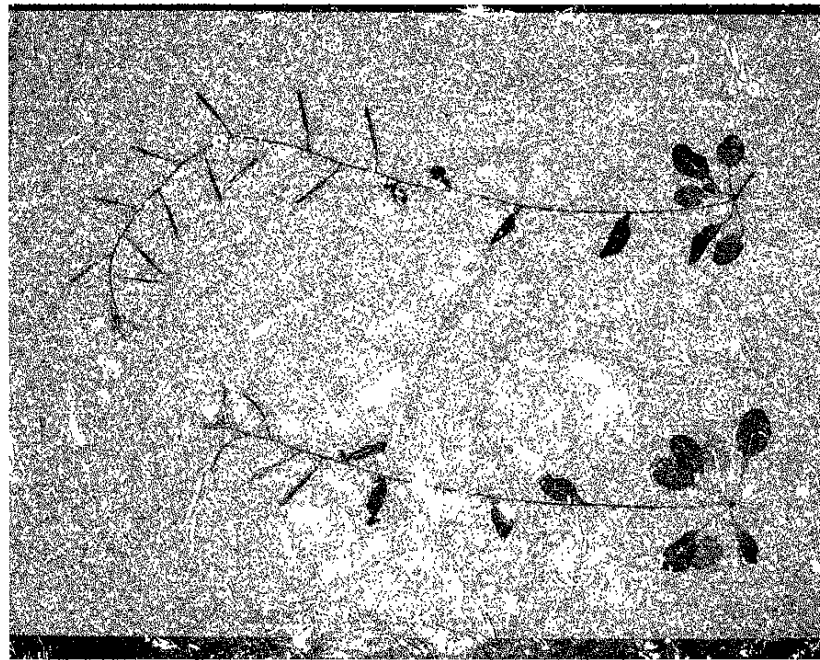


植物体 (シロイヌナズナ)

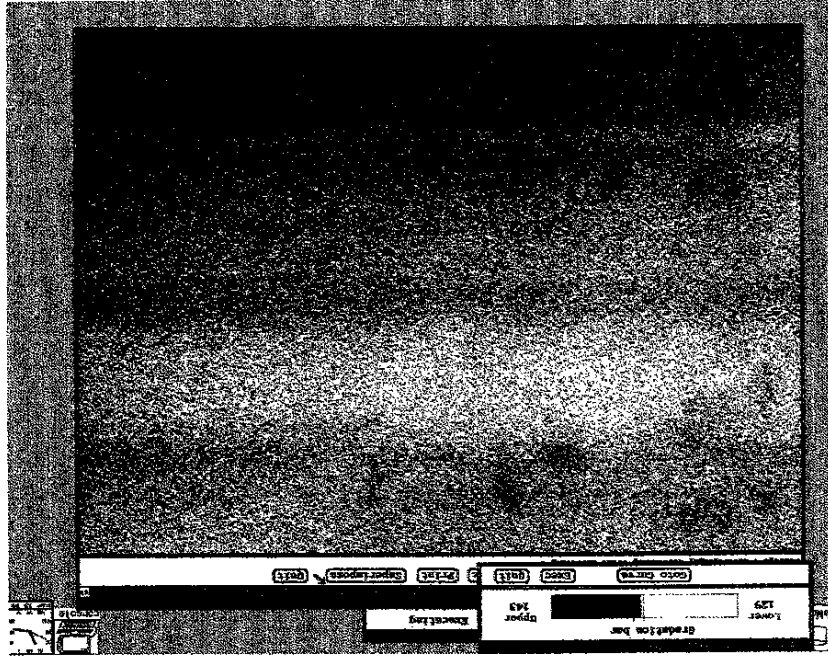


IP分析写真 (3hr露出)

写真4.1 鉢さい土壌で生育させた植物体のIP分析結果



植物体 (シロイヌナズナ)



IP分析写真 (24hr露出)

写真4.2 鉋さい土壌で生育させた植物体のIP分析結果