

Identification of genes responding to ELF MF stimulation

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/19377

低周波交流磁界に応答する遺伝子の同定

池田 隆¹・原田真市²・細野隆次³・柿川真紀子⁴・岩原正吉⁵・山田外史⁴

¹〒920-8667 金沢市小立野 2-40-20 金沢大学大学院自然科学研究科; ²〒920-8640 金沢市宝町 13-1 金沢大学医学部研究教育機器センター; ³〒920-0942 金沢市小立野 5-11-80 金沢大学医学部保健学科; ⁴〒920-8667 金沢市小立野 2-40-20 金沢大学自然計測応用研究センター; ⁵〒920-8667 金沢市小立野 金沢大学工学部電気電子システム工学科

Takashi IKEDA¹, Shin-ichi HARADA², Ryuji HOSONO³, Makiko KAKIKAWA⁴, Masayoshi IWABARA⁵ and Sotoshi YAMADA⁴: Identification of genes responding to ELF MF stimulation

1. はじめに

近年、超伝導技術の進展により人体がこれまでに経験したことのない強い磁界にさらされる機会が増大している。例えば送電線、家庭電器製品等から発せられる磁界とその生体への影響との関連が話題となっており、最近それら高圧送電線や家電などから出る極低周波(50~60Hz)の電磁波に関する疫学調査が日本国内においても行われ、ガン発症率との関連性からその危険性が示唆されている。このように今日の社会において、磁界が生体に対してどのような影響を与えるかは早急に解決すべき問題となっており、我々はその影響についていち早くより正確な情報を提供する必要がある。

そこで、本研究では磁界による生体への影響を遺伝子レベルで解析するために、ゲノムプロジェクトが終了し全遺伝子配列が明らかとなった線虫 *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) をモデル動物として用いた。今回我々は磁界特異的に応答を示す遺伝子を探索することを目的とし、Differential Display 法を用いた磁界応答性候補遺伝子の同定と、さらにそれら候補遺伝子のいくつかについて RT-PCR(Reverse Transcriptional Polymerase Chain Reaction)法を用いた mRNA レベルでの発現定量的解析を行い、その再現性について検討した。

2. 交流磁界発生装置と mRNA 発現量の定量的解析

今回の実験で用いた交流磁界発生装置は、E 字型の鉄心を 2 つ対向させ、実験領域となる中央に空間を確保している。実験領域内には一様な交流磁界を発生させることができる。コイルにより発生する熱の影響を避けるため、恒温装置により水を循環させることで実験領域内部の温度を制御した。温度のモニターには磁界の影響を受けない水晶振動子をプローブとした温度計を用い、実験領域内部の温度が制御されていることを確認した(表 1)。本装置を用いた実験では磁界を曝露しない線虫群を control、周波数 60Hz、磁界強度 0.5T の正弦波交流磁界を曝露した線虫群を exposed とし、それぞれの線虫から抽出した Total RNA を用いて mRNA 発現量の比較を行った。

この mRNA 発現量を定量するには図 1 に示すように、Differential Display 法により磁界に特異的な応答を示す候補遺伝子を同定し、その候補遺伝子の mRNA 発現量をさらに感度の高い RT-PCR 法により定量的に解析する。候補遺伝子の mRNA 発現量を定量し、control と exposed の比較を行うことができる。また、control と exposed の発現量の有意差検定は student's t-test により行った。

3. 磁界応答性候補遺伝子の同定とその mRNA 発現量の定量的解析

3.1 磁界応答性候補遺伝子の探索

Differential Display 法により磁界に特異的な応答を示す 21 の候補遺伝子を同定した。これら遺伝子

Experimental Area	180 mm × 120 mm × 13 mm
Frequency f	60 Hz
Magnetic field B	0.5 T
Uniformity in area (magnetic field)	< 2.0 %
Temperature t(°C)	15 < t < 37
Fluctuation in area (temperature)	< 0.1 °C

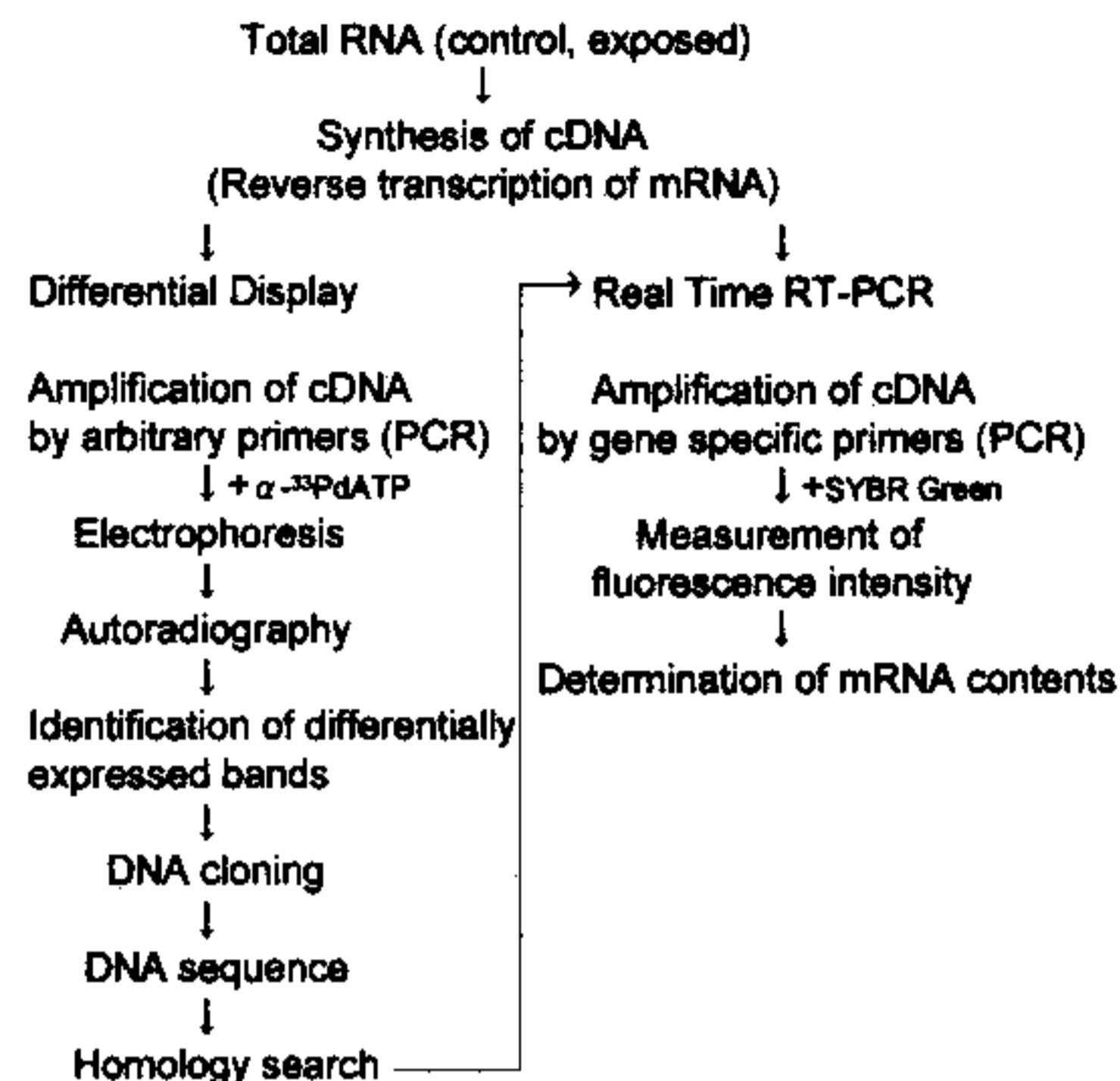


表 1 磁界曝露条件

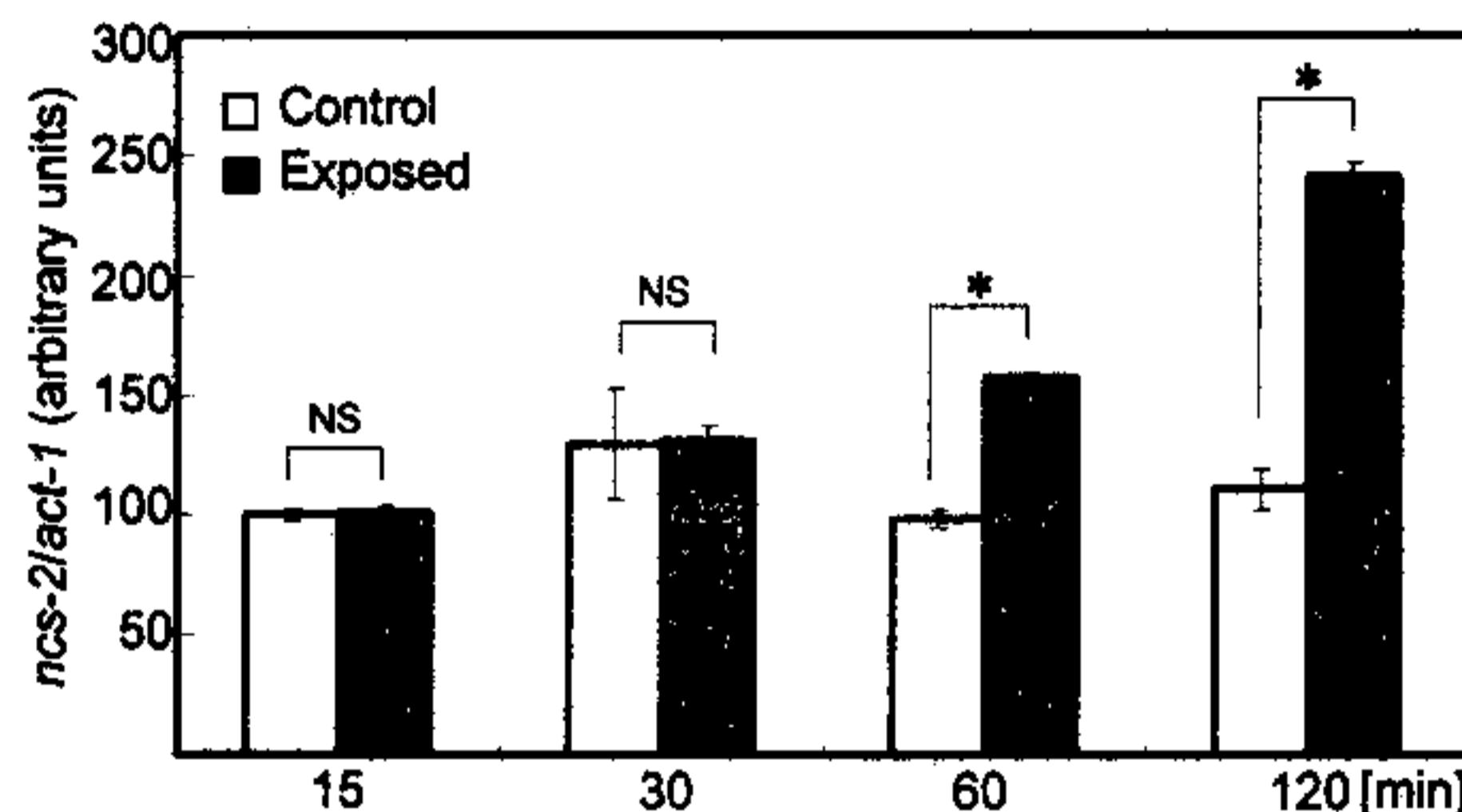


図 2 *ncs-2* 遺伝子の mRNA 発現量(20°C)

(NS: not significant, * : P<0.01, N= 4)

の多くは線虫では機能未知であるが、データベースによるホモロジー検索から大部分はシグナル伝達系、代謝系に関わると推定される遺伝子であった。

3.2 *ncs-2* 遺伝子の mRNA 発現量の比較

さらにそれら候補遺伝子の中から *ncs-2* 遺伝子について RT-PCR 法により mRNA 発現量の再現性を確認した。実験領域内の温度が線虫の生理的条件下である 20°C では、時間が経つにつれ exposed が増加し、曝露時間 120 分で最大約 2.5 倍の発現量の増加を示した(図 2)。

5. まとめ

ncs-2 遺伝子は神経系でのカルシウムセンサータンパク質としての機能を持ち、磁界によるシナプス伝達といった機能への影響からも注目される。このように、神経系に限らず先に行なった Differential Display 法による磁界応答性遺伝子同定と RT-PCR 法による遺伝子発現の定量的解析の実績は他の追随を許さない。また本研究は疫学調査のように、日常生活で被曝する磁界が生体にどのような影響を与えるかその影響評価だけにとどまらない。交流磁界発生装置を用いた加速試験により遺伝子レベルから生体内での神経系、シグナル伝達系、代謝系といった生体機能までの系統的な影響を特定できれば、磁界曝露による遺伝子発現の誘導・抑制を制御することで低侵襲医療や非侵襲的代替療法などの医療分野へ応用することが期待される。

図 1 mRNA 発現量の定量的解析