

## 6.1.2 低線量率 $\gamma$ 線連続照射オス親マウスの仔・孫への影響 -生殖細胞突然変異の検索-

### Transgenerational Effects in Mice Exposed to Continuous Low-Dose-Rate Gamma-Rays - Detection of Germ Cell Mutation -

小倉 啓司, 藤川 勝義, 田中 聡, タナカ イグナシヤ III ブラガ, 一戸 一晃, 小木曾 洋一, 田中 公夫  
生物影響研究部

Keiji OGURA, Katuyoshi FUJIKAWA, Satoshi TANAKA, Ignacia BRAGA-TANAKA III,  
Kazuaki ICHINOHE, Yoichi OGHISO, Kimio TANAKA  
*Department of Radiobiology*

#### Abstract

Transgenerational effects of continuous low-dose-rate (LDR) gamma-ray irradiation of male mice have not been well studied. To clarify incidence of copy number aberrations (CNAs) on the genome of progeny mice, progeny were obtained from C57BL/6J male mice continuously exposed to LDR gamma-rays (20 mGy/22 h/day) for 400 days (total dose: 8000 mGy) from 8 weeks of age. In the primary screening using 1M format oligo-microarray comparative genomic hybridization (CGH), we have so far analyzed a total of 99 genomes from mice (32 progenies from six pairs of parents in the LDR-irradiated group and 41 progenies from seven pairs of parents in the non-irradiated group). Three CNAs in the LDR-irradiated group and one CNA in the non-irradiated group could be detected. Several small CNA candidates were also detected, which will require further screening using 4 $\times$ 144K format oligo-microarray CGH.

#### 1. 目的

低線量率 $\gamma$ 線を長期連続照射したオスマウスと非照射メスマウスとを交配し、その仔・孫を得、それぞれ終生飼育して死亡したマウスより採取された尾組織試料を用いて、染色体の欠失・挿入等ゲノムの変化を網羅的に高い精度で解析してオス親への低線量率放射線長期連続照射が仔・孫に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

#### 2. 方法

8週齢のオスC57BL/6J Nrsマウス（オス親マウス）に20 mGy/22h/dayの低線量率で $\gamma$ 線を400日間連続照射した後、非照射メスC57BL/6J Nrsマウス（メス親マウス）と交配し仔(以後、仔マウス)を得、終生飼育を行った。死亡後速やかにこれらのマウスから尾組織をサンプリングし、凍結保存した。こ

の凍結尾組織から抽出したゲノムDNAに含まれる変異を調べるためにマウスゲノム全体をほぼ均等にカバーした1Mフォーマットアレイ（アジレント社、1枚のスライド上に約60 $\times$ 10<sup>6</sup>ヌクレオチド長のオリゴプライマー約100万種類が搭載されている）を用いたオリゴマイクロアレイCGH法による解析を行った。オス親マウスとメス親マウスが持っている既存の変異と新規突然変異（自然に誘発される自然突然変異、放射線照射によって新たに誘発される放射線誘発突然変異が含まれる）を分別して検出するために、オス親マウスとメス親マウスの変異と仔マウスの変異の塩基位置を比較することで、仔マウスだけに見つかる変異を検出した。

#### 3. 成果の概要

遺伝子変異解析では第1～5回実験全ての死亡マ

ウスのうち 859 匹の凍結尾組織から遺伝子変異解析用ゲノム DNA を抽出・精製した。これまでに非照射対照群オス親、メス親各 7 匹とその仔マウス 41 匹、20 mGy/22h/day 照射群オス親、メス親各 6 匹とその仔マウス 32 匹の合計 99 匹のマウスについて 1M フォーマットアレイによるオリゴマイクロアレイ CGH 法で解析する 1 次スクリーニングが終了した。その結果、合計 93 ヶ所で変異が見つかった。変異は 11 ヶ所の限られた塩基位置に集中していた。このうち、7 ヶ所の領域は仔マウスで見つかった変異が両親や他の家族でも見つかったことか

ら、既存の変異であることが判明した (Fig. 1 の中下段)。残る 4 ヶ所の領域 (20 mGy/22h/day 照射群の仔マウス 3 匹、非照射対照群の仔マウス 1 匹から各 1 ヶ所ずつ) からは親には見られない新規変異が見つかった (Fig. 1 の上段)。他により小さな変異を検索するためにこれら 99 匹のマウスについて、さらに 4×180K フォーマット (1 枚のスライド上に約 60 ヌクレオチド長のオリゴプライマー約 18 万種類が 4 組に分けて搭載されている) を用いたオリゴマイクロアレイ CGH 法による 2 次スクリーニングを開始した。

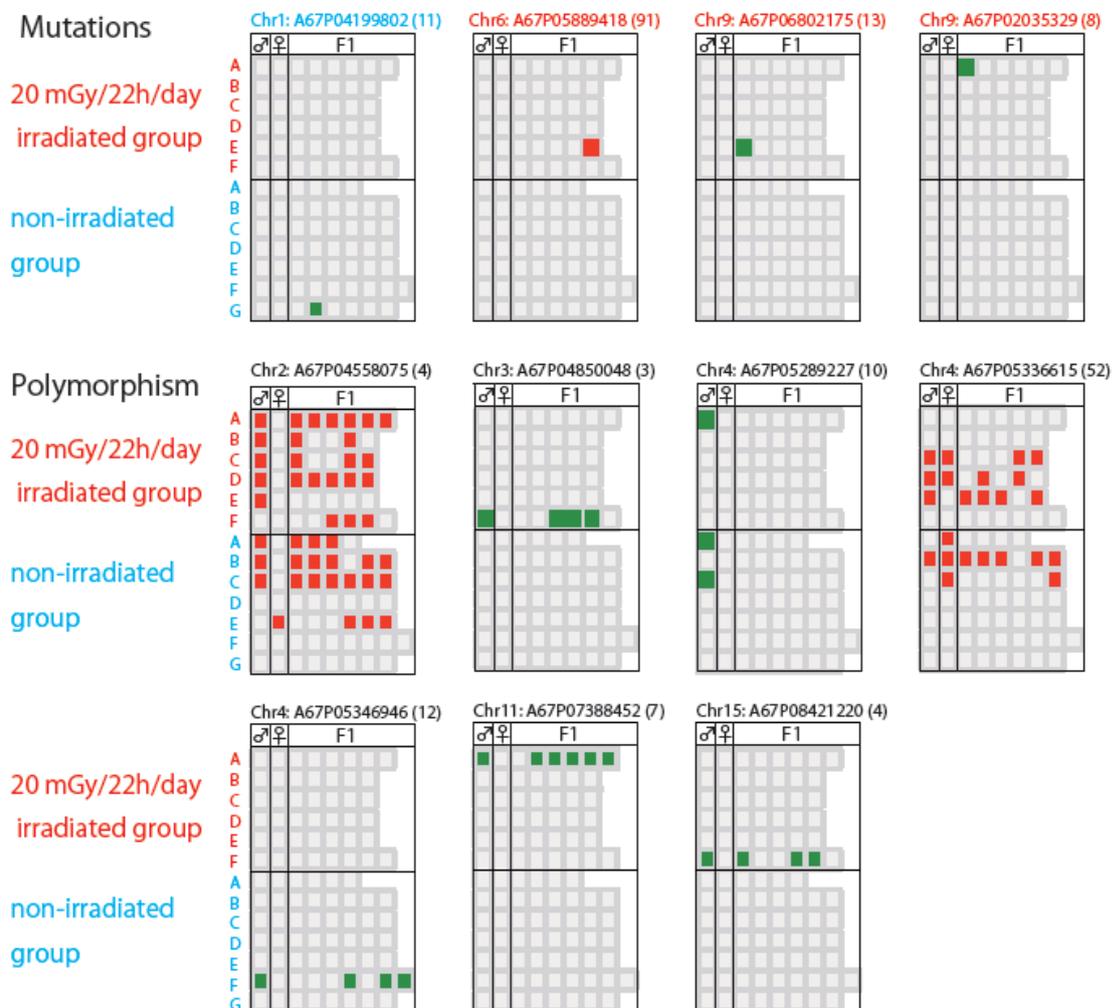


Fig. 1 Summary of the 4 mutations and 7 polymorphisms detected as CNAs using oligo-array CGH screening. The top of each panel identifies the chromosome, location and probe width where the aberrations were observed. The results of the oligo-array CGH screening in each family (20mGy/22h/day irradiated group A–F, non-irradiated group A–G) are indicated by red, green or gray squares to indicate increased, decreased or no change, respectively, in copy number.