

## 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 - Analysis of Germ Cell Mutation -

小倉 啓司, 藤川 勝義, 田中 聡, 田中 イグナシヤ, 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 TANAKA,  
Kazuaki ICHINOHE, Yoichi OGISO, 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) of the progeny of mice exposed to radiation, progenies of male C57BL/6J mice continuously exposed to LDR (20 mGy/22 h/day) gamma-rays for 400 days (total dose: 8000 mGy) were analyzed. Using oligo-microarray CGH (Agilent Technologies), we have, so far, analyzed a total of 333 genomes (111 progenies from 20 pairs of parents in the LDR-irradiated group and 140 progenies from 21 pairs of parents in the non-irradiated group). The results indicate that progenies from LDR-irradiated mice had significantly higher frequencies of genomic aberrations than progenies from non-irradiated mice (21.6% vs 12.1%). Mice containing more than five mutations were found only in the LDR-irradiated group.

#### 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マウスへの低線量率放射線長期連続照射が仔マウス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/日の低線量率で $\gamma$ 線を400日間連続照射した後、非照射メスマウスC57BL/6J Nrsマウス（メスマウス）と交配して仔（以後、仔マウス）を得、終生飼育を行った（この群を20 mGy/日照射群と呼ぶ）。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法による変異解析を行い、仔マウスゲノムに新たに生じた変異をスクリーニングした。オス親マウスとメス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、オス親マウスやメスマウスの変異と仔マウスの変異のゲノム上での位置を比較することで、仔マウスだけに見つかる変異（新規突然変異）を検出した。この新規突然変異のう

ち、PCR法で増幅可能なものについて塩基配列の決定を行って変異がどのようにして起きたかを推定した。

### 3. 成果の概要

遺伝子変異解析では第1～5回の照射実験で死亡したマウスのうち859匹分の凍結保存した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20 mGy/日照射群のオス親、非照射メス親各20匹とその仔マウス111匹、非照射対照群のオス親、非照射メス親各21匹とその仔マウス140匹、合計333匹分のゲノムについてオリゴマイクロアレイ

CGH法による遺伝子変異解析を行い、仔マウスゲノムに新たに生じた変異のスクリーニングを終了した。その結果、20 mGy/日照射群の仔マウス111匹中24匹、非照射対照群の仔マウス140匹中17匹で新規変異の可能性が高い領域を検出した (Table 1, Tables 2)。つまり、新規変異候補の観察頻度は20 mGy/日照射群では1世代100匹当たり21.6匹、非照射対照群では1世代100匹当たり12.1匹となり、20 mGy/日照射群で有意に高かった ( $p < 0.01$ )。このうち、20 mGy/日照射群では高頻度の変異を起こしたマウスが見つかったが、非照射群ではそのような変異を示すマウスは見つからなかった。

Table 1 Results of the genomic aberrations analysis using the oligo-microarray CGH

	No. of analyzed F1 mice	No. of mice with aberrations	No. of loci with aberrations
20 mGy/22h/day irradiated group	111	24 (21.6 %)	93 (Ave. 0.84 loci /generation)
Non irradiated group	140	17 (12.1 %)	21 (Ave. 0.15 loci /generation)
		P = 0.03	P < 0.01



1. Mutation frequency in the 20 mGy/22h/day irradiated group is significantly higher than the non-irradiated group.
2. Multiple aberrations were found only in the 20 mGy/22h/day irradiated group.
3. Increase in copy number aberrations (CNAs) were less frequent than decreases.

Table 2 *De novo* genomic aberrations found in F1 mice

P	F1	ID	Copy	Chr	Start	size	IM	244K	♀♂	Tg
OH	5	A_67_P07597258	d	12	41196414	146136	22		♂	175
OK	5	A_67_P07881467	d	13	55020816	25412	12		♀	819
OG	2	A_67_P04226288	d	1	114741818	72062	10		♂	930
OH	5	A_67_P00568664	d	2	177113983	688713	6		♂	175
OK	4	A_67_P04816742	d	3	5533449	34160	5	72	♀	1778
OE	4	A_53_P142487	i	8	125951601	1535	1	13	♀	551
OV	2	A_67_P02587942	d	12	100883086	486	1	4	♂	1952
OG	5	A_67_P06783170	i	9	49529393	412	1	3	♀	1156
OP	3	A_67_P00830676	d	4	22048320	230	1	3	♂	2188
OF	5	A_67_P06477612	i	8	37019826	68	1	2	♀	907
OG	2	A_67_P04434755	d	2	13957250	346	1	2	♂	930
OH	1	A_67_P06382618	d	7	142916412	98	1	2	♂	1177
OH	1	A_67_P06671121	d	8	125525315	594	1	2	♂	1177
OI	3	A_67_P02693109	d	13	53303865	89	1	2	♂	2157
OL	6	A_67_P07000727	d	10	22555501	86	1	2	♀	1495
ON	5	A_67_P04221500	i	1	111527682	66	1	2	♀	1211
OO	7	A_67_P04007022	d	1	7313469	153	1	2	♀	2110
OP	3	A_67_P06620732	d	8	105555233	93	1	2	♂	2188
OP	7	A_67_P03082883	i	15	81575653	71	1	2	♀	1484
OO	2	A_67_P08008520	d	13	117033940	66	1	2	♂	2834
OV	2	A_67_P04682955	d	2	126501011	461	1	2	♂	1952

P	F1	ID	Copy	Chr	Start	size	IM	244K	♀♂	Tg	
20I	5	A_67_P02200316	d	10	98677432	744874	91		♀	1903	
20E	5	A_67_P05889421	i	6	48005970	305969	58		♀	807	
20R	1	A_67_P04942632	d	3	69594066	192812	43		♂	1310	
20E	1	A_67_P01942010	d	9	57473630	234921	31		♂	1431	
20L	5	A_67_P07898663	d	13	63501120	1E+07	19		♂	1714	
20L	4	A_67_P01456795	d	6	138658494	32881	8		♂	1737	
20L	2	A_67_P08087383	d	14	38727785	23540	5		♂	1839	
20N	4	A_67_P05880760	d	6	34882670	10224	4	25	♂	1764	
20A	1	A_67_P06933980	d	9	113994878	133572	3	18	♂	147	
20G	2	A_67_P08093213	d	14	41807207	3286	2	15	♂	1703	
20T	2	A_67_P08110650	d	14	52008939	11986	2	4	♀	787	
20N	4	A_67_P05233855	d	4	50554508	2367	1	18	♂	1764	
20G	7	A_67_P053131294	d	4	89899132	1878	1	17	♀	1069	
20G	5	A_67_P04083311	d	1	44861301	948	1	9	♀	1581	
20I	4	A_67_P02060678	d	10	8393959	460	1	4	♂	2190	
20B	5	A_67_P02151317	d	10	68882829	1040	1	3	♀	342	
20J	4	A_67_P06860168	d	9	81442835	327	1	3	♀	2020	
20B	3	A_67_P05197589	d	4	33730804	94	1	2	♀	1533	
20B	5	A_67_P07398579	d	11	74609783	175	1	2	♀	342	
20E	3	A_67_P00341736	d	2	34273487	100	1	2	♂	1190	
20G	4	A_67_P04259545	d	1	131185842	617	1	2	♀	1069	
20J	4	A_67_P00912069	d	4	81088876	122	1	2	♀	2020	
20L	4	A_67_P05080618	d	3	133586473	428	1	2	♂	1737	
20Q	4	A_67_P06111306	d	6	149168000	108	1	2	♀	705	
Multiple aberrations											
20A	2	35 loci								♂	509
20F	5	15 loci								♀	951
20H	6	10 loci								♀	1964
20L	1	5 loci								♂	1062

Mice with two *de novo* genomic aberrations are marked in red. Type of aberrations are indicated as d (deletion) or i (increase). Multiple aberrations (more than five aberrations in one mouse) are shown in the lower left side.