

2.1.2 低線量率ガンマ線連続照射オス親マウスの子孫への影響

–生殖細胞突然変異の検索–

Transgenerational Effects in the Progeny of Mice Exposed to Acute High and Chronic Low Dose-rate Gamma-rays – Germ Cell Mutation Analyses–

小倉 啓司, 藤川 勝義, 田中 聡, 小村 潤一郎
生物影響研究部

Keiji OGURA, Katuyoshi FUJIKAWA, Satoshi TANAKA, Jun-ichiro KOMURA
Department of Radiobiology

Abstract

Transgenerational effects of continuous low dose-rate (LDR) γ -ray irradiation of male mice have not been well studied. We have been analyzing the incidence of copy number aberrations (CNAs) in the progeny of male C57BL/6J mice continuously exposed to LDR (20 mGy/day, 1mGy/day, 0.05mGy/day) γ -rays for 400 days (total dose: 8000 mGy, 400 mGy, 20 mGy) and to high dose-rate (HDR, 770 mGy/min) γ -rays (total dose: 3000 mGy). This year, we analyzed 24 progenies from 4 pairs of parents in the 3000 mGy HDR irradiated group using oligo-microarray CGH (Agilent Technologies), and found two mice with Type L genomic aberrations. We also verified by the TaqMan® Copy Number Assay the aberrations in the 20 mGy/day irradiated group and non-irradiated group as "real new mutations".

1. 目的

低線量率放射線長期連続照射及び高線量率放射線急照射したオスマウスと非照射メスマウスとを交配し、その仔を得、これらのマウスより採取された尾組織試料を用いて、DNAの欠失・挿入等ゲノムの変化を網羅的に高い精度で解析することにより、オス親マウスへの低線量率放射線長期連続照射及び高線量率放射線急照射が子孫に及ぼす影響と線量率による影響の違いを明らかにすることを目的とする。

2. 方法

オスC57BL/6Jマウスに高線量率(770 mGy/分)ガンマ線を総線量3000 mGyまで照射し、照射10週間後に非照射メスC57BL/6Jマウスと交配して得られた仔マウスについて、これらの尾組織から抽出したゲノムDNAを用い、オリゴマイクロアレイCGH法によって仔マウスゲノムに新たに生じた欠失等の変異を

スクリーニングした。1次スクリーニングは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(1枚のスライド上に約60塩基長のオリゴヌクレオチド約100万種類が配置されている)によって行い、2次スクリーニングは1次スクリーニングで異常値が観察されたプローブ全てに対して、それぞれのプローブの隣接領域に高密度にプローブを設計して行った。このようにしてスクリーニングで検出された「異常値領域」は、便宜的に「1次スクリーニングで異常値が観察された複数のプローブ」が並んで見つかった「Type L異常値領域」、それ以外の「異常値領域」を「Type S異常値領域」に区別した。

また、昨年までに低線量率20 mGy/日(総線量8000 mGy)照射群と非照射対照群からオリゴマイクロアレイCGH法で検出された「異常値領域」について、オリゴマイクロアレイCGH法とは原理が全く異なる

る定量PCR法の1種であるTaqMan Copy Number Assayによる検証を行った。

3. 成果の概要

本年度に行ったオリゴマイクロアレイCGH法による解析では、高線量率770 mGy/分（総線量3000 mGy）照射群のF1マウス24匹中Type L異常値領域を持つマウス2匹が検出された。Table 1にこれまでに行ったオリゴマイクロアレイCGH法によるType L異常値領域の解析結果をまとめた。非照射群に比較し高線量率770 mGy/分照射群では異常値領域を持つ仔マウスの数が多い傾向が見られた。

また、昨年度は20 mGy/日（総線量8000 mGy）照射群及び非照射群のオリゴマイクロアレイCGH解析によるスクリーニングで見つかったType L異

常値領域についてTaqMan Copy Number Assayによる検証を行い、すべてが変異を含んでいたことを示した。本年度は偽陽性が含まれていると考えられるType S異常値領域についてTaqMan Copy Number Assayによる検証を行った。その結果、20 mGy/日（総線量8000 mGy）照射群由来の仔マウスに見つかった10か所の異常値領域中4か所、非照射群由来の仔マウスに見つかった17か所の異常値領域中4か所の変異が確認された。残りは偽陽性である可能性が高いと判断した。以上の結果から、Type S異常値領域についてはTaqMan Copy Number Assayによる検証作業が必要であると考えられる。Table 2にこれまでに行ったTaqMan Copy Number Assayによる解析結果をまとめた。

Table 1 Mice with aberrations detected by oligo-microarray CGH

		No. of mice examined using oligo-microarray assay	No. of mice with type L aberrations	
20 mGy/day (Total dose 8000 mGy)	Female	48	3	6.3 (%)
	Male	63	8	12.7(%)
	TOTAL	111	11	9.9 (%)
1 mGy/day (Total dose 400 mGy)	Female	24	2	8.3 (%)
	Male	21	3	14.3(%)
	TOTAL	45	5	11.1(%)
0.05 mGy/day (Total dose 20 mGy)	Female	21	1	4.7 (%)
	Male	25	0	0.0 (%)
	TOTAL	46	1	2.1 (%)
770 mGy/day (Total dose 3000 mGy)	Female	14	0	0.0 (%)
	Male	10	2	20.0(%)
	TOTAL	24	2	8.3 (%)
Non-irradiated	Female	73	2	2.7 (%)
	Male	67	2	3.0 (%)
	TOTAL	140	4	2.8 (%)

Table 2 Results of aberration verification by TaqMan® Copy Number Assay

No. of probes with aberrations		No. of aberrations detected by oligo-microarray CGH		No. of aberrations verified by TaqMan® Copy Number Assay	
		Non-irradiated	20 mGy/day	Non-irradiated	20 mGy/day
Type L		5	11	5	11
Type S	≥ 5	2	3	2	3
	4	1	2	0	0
	3	2	2	1	1
	2	12	3	1	0
Total		17	10	4	4
TOTAL (Type L + S)		22	21	9	15