

Radiation Research[§]掲載論文

「放射線によりマウスの精原細胞に生じた欠失型突然変異の特徴は、サイズが 200 kb 以上と大きく、再結合部に相同的な塩基配列がほとんどないことである」

小平美江子、浅川順一、中村 典

“Radiation-induced deletions in mouse spermatogonia are usually large (over 200 kb) and contain little sequence similarity at the junctions”

Radiat Res 2017 (June); 187(6):722-31

(doi: 10.1667/RR14660.1)

今回の調査で明らかになったこと

放射線被曝により生殖細胞に突然変異が誘発されることは古くから知られていたが、その突然変異の DNA レベルでの特徴はほとんど調べられていなかった。

今回我々は、放射線を照射されたマウスをオス親とする仔と、照射されていない親から生まれた仔について DNA 解析を行い、33 個の新規突然変異（27 個の欠失型突然変異と 6 個の重複型突然変異）を発見した。これらについて塩基配列レベルでの解析を行った。

その結果、欠失型突然変異は「欠失サイズ」と「DNA が再結合した部分における相同的な塩基配列の長さ」によってほぼ三つのグループに分けられることが明らかになった（1 個の欠失はこれらの分類に合致せず）。

1 番目のグループ：9 個の欠失は、サイズが 1,000 塩基対（1 kb）から 2,000 kb（2 Mb）と広い範囲にわたり、かつ再結合部に 200 bp 以上の長い相同的な塩基配列があった（減数分裂における誤った相同的な組み換えと思える）。

2 番目のグループ：5 個の欠失は、サイズが 200 kb よりも小さく、かつ再結合部に短い相同的な塩基配列（0-7 bp）が見られた（短い共通の塩基配列を利用した組み換え）。

3 番目のグループ：12 個の欠失は、サイズが 200 kb 以上と大きく、しかも再結合部に相同的な塩基配列がほとんどなかった（0-2 bp）。

これらのうち、1 番目のグループは、照射されたゲノムと照射されていないゲノムの両方に生じており、2 番目のグループの大半は照射されていないメスのゲノムのものであった。そして 3 番目のグループは、大半が照射されたオス親のゲノムに生じたものであった。

以上のことから、3 番目のグループこそが放射線によって生じた欠失型突然変異であろうと考えられた。なお、重複型突然変異では、放射線照射との関連性を示唆する特徴は認められなかった。

解 説

放射線は様々な DNA 損傷を誘発するが、その中で生物にとって最も有害な損傷は DNA 二重鎖切断（DSB）である。細胞には DNA に生じた DSB を修復する機構が備わ

っており、それらは大きく分けて 2 種類ある。ひとつは相同組み換え homologous recombination (HR) と呼ばれ、同一または類似した塩基配列を修復時の鋳型として利用するので誤りを生じにくい修復として知られる。他方は非相同末端結合 non-homologous end joining (NHEJ) と呼ばれ、生じた切断端を無理やり結合する修復機構なので誤りを生じやすい。HR 経路による修復は NHEJ 経路による修復ほどには突然変異を誘発しないと考えられるので、放射線によって誘発される欠失型突然変異の多くは NHEJ による修復の結果であろうと予想される。

当研究室では、以前に DNA の 2 次元電気泳動法によりマウス当たり約 1,000 個の遺伝子を対象として、放射線照射された親から生まれた仔における欠失型突然変異の検索を行った。更に最近では、マウスゲノムの情報を利用したマイクロアレイを用いて、比較ゲノムハイブリダイゼーション CGH (Comparative Genomic Hybridization) によるゲノムの 100 万カ所以上の部位を対象にした検索も行ってきた。こうして得られた 27 個の欠失型突然変異と 6 個の重複型突然変異について、マウスゲノムの情報と照らし合わせることで突然変異を生じた部位を塩基対レベルで調査できた。欠失を生じる発端となった DNA 切断が再結合した結果どのように変化したかも推定できた。

調査結果

27 個の欠失型突然変異のうち 12 個は、欠失が 200 kb 以上と大きく、しかも DNA の再結合点で見られた相同的な塩基配列は 0-2 bp と短かった。これらは NHEJ の修復によって生じた放射線誘発突然変異と推定された。この特徴は、対照群のマウスゲノムに生じた欠失型突然変異やヒトゲノムにある遺伝的多型としての欠失における再結合点の特徴とは異なっている。今回の結果は、欠失サイズが大きく (>200 kb)、切断再結合点での相同塩基配列がほとんどないことが、マウスの精原細胞における放射線誘発欠失型突然変異の特徴 (hallmark) であることを示唆している。

今回の調査の意義

今回の研究結果から、欠失型突然変異には自然に生じるものと、放射線によって生じるものとの間に質的な違いがあることが明確になった。具体的には、放射線によって生じる欠失は 200 kb 以上と大きく、再結合点における相同塩基配列は 0~2 塩基と短い。他方、自然に生じる欠失には、200 kb 以下の小さいもの（再結合部位に数個の共通塩基配列がある）と色々なサイズのもの（数 kb から 1,000kb 以上にわたるが再結合部位に 200 塩基以上の長い相同塩基配列を伴う）がある。従って、新しく見つかった欠失型突然変異が、放射線誘発性かどうかを検定するためには、欠失サイズだけでは不十分で DNA 再結合部位における塩基配列の情報も必要である。

放射線影響研究所は、広島・長崎の原爆被爆者および被爆二世を 70 年近くにわたり調査してきた。その研究成果は、国連原子放射線影響科学委員会 (UNSCEAR) の放射線リスク評価や国際放射線防護委員会 (ICRP) の放射線防護基準に関する勧告の主要な科学的根拠とされている。被爆者および被爆二世の調査協力に深甚なる謝意を表明する。

§**Radiation Research**誌は、放射線影響学会（Radiation Research Society）の公式月刊査読学術誌であり、物理学、化学、生物学、医学の領域における放射線影響および関連する課題の原著と総説を掲載している。（2015年のインパクト・ファクター：3.022）