

PLOS ONE § 掲載論文

「HPRT 遺伝子座に部分重複と GFP 付加体を持つ組換えマウスの作製：個体内の細胞で起こる復帰型突然変異の GFP 発現による in situ 検出」

野田朝男、末盛博文、平井裕子、濱崎幹也、児玉喜明、三谷啓志、Reid D. Landes、中村 典

“Creation of mice bearing a partial duplication of HPRT gene marked with a GFP gene and detection of revertant cells in situ as GFP-positive somatic cells”

PLOS ONE (August 21, 2015); 10(8): e0136041.

(doi: 10.1371/journal.pone.0136041)

今回の調査で明らかになったこと

マウス個体を構成するすべての細胞で起こり得る突然変異を in situ (組織内) で可視化して検出する遺伝子組換えマウス (HPRT-dup-GFP knock-in mouse) を作製した。このマウスでは肝臓や膵臓、小腸、大腸、肺、甲状腺、精巣などで起こる突然変異細胞の検出が可能となった。しかし、体細胞の突然変異頻度には個体間差が大きく、これが放射線による突然変異誘発の検出を困難にしていた。放射線影響研究では、このバックグラウンド変異の抑制が今後の課題である。

1. 調査の目的

放射線の遺伝影響、つまり放射線誘発性の突然変異を体細胞や生殖細胞で簡単に検出できるマウスを作製する。このマウスでは、突然変異細胞が生きたまま緑色に光る (GFP 陽性となる)。このモデルマウスを用い、被ばくの影響で体内のどこに突然変異細胞が現れてどのように増殖するかを観察する。放射線の遺伝影響を個体レベルでモニターできる実験システムを確立する。

2. 調査の方法

マウス発生工学 (マウス胚の遺伝子操作技術) を用い、X 染色体上の HPRT 構造遺伝子 (核酸合成関連遺伝子のひとつ) の部分重複と GFP 遺伝子 (緑色蛍光蛋白質遺伝子) の付加を行い、遺伝子組換えマウスを作製した。このマウスを構成する全身細胞は HPRT 遺伝子の部分重複からの復帰変異 (遺伝子活性の復活) によって HPRT-GFP 融合蛋白質を発現し、細胞が緑色になる。

放射線照射後のマウス組織細胞の突然変異頻度を蛍光観察により測定して被ばくの影響を評価する。

3. 調査の結果

- (1) マウス ES 細胞 (マウス初期胚由来の全能性細胞) を用いた 2 度の遺伝子 knock-in (染色体中の特定の位置に遺伝子を挿入する操作) により遺伝子組換えマウス (HPRT-dup-GFP マウス) の作製に成功した。このマウスの HPRT-dup-GFP 遺伝子座においては、標準的な相同組換え型修復を介した遺伝子欠失により復帰突然

変異が起こることを確認した。実際に起こる体細胞突然変異は、脳以外のすべての組織で緑色細胞として観察することができたが、自然突然変異頻度は組織ごとに異なっていた。

- (2) 放射線照射を受けていないマウス個体群においても体細胞突然変異頻度は相当な個体間差が認められ、約1%の頻度で測定不可能なほどに突然変異頻度が高いマウスが出現した。これらは「びっくりマウス (extreme jackpot mutation)」と名付けられた。マウス個体間の大きな変異頻度差は、マウスの発生と成長期のどのタイミングで突然変異細胞が現れるかによると考えられる。つまりマウス個体レベルでの突然変異の彷徨試験（自然突然変異の揺らぎ検定）を行っている状態と解釈された。
- (3) 放射線被ばくのモデル実験として、3 Gy 被ばくで3カ月後のマウスについて各種組織の体細胞突然変異頻度を観察した。その結果ほとんど変異頻度の上昇が認められない組織（膵臓、リンパ球）や2倍程度の上昇が観察された（肝臓、小腸など）組織もあった。

今回の調査の意義

今回、突然変異が生じると細胞が生きたまま光るマウスの作製には成功した。しかし放射線の影響を評価するためには、自然突然変異によるバックグラウンドを低下させる技術開発が次のステップとして必要となった。一方で、今回の結果は、我々の体を構成する体細胞は多くの異なった体細胞突然変異をすでに有しており、モザイク化（遺伝子型の異なる細胞の集合化）していることが強く示唆された。

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60年以上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。

§ *PLOS ONE* 誌は、非営利団体 Public Library of Science が発行する国際的な査読学術誌であり、オープンアクセスのオンラインジャーナルである。科学および医学のあらゆる分野の原著論文を掲載している。（2014年のインパクト・ファクター：3.53）