

## P-067

## Analysis of de novo germline mutations in Msh2 deficient mice

Mizuki Ohno<sup>1</sup>, Noriko Takano<sup>1</sup>, Fumiko Sasaki<sup>1</sup>, Kyoko Hidaka<sup>1,2</sup>, Yoshimichi Nakatsu<sup>1</sup>, Teruhisa Tsuzuki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biophysics and Radiation Biology, Faculty of Medical Sciences, Kyushu University, <sup>2</sup>Center for Fundamental Education, The University of Kitakyushu

To understand the molecular mechanism of genome integrity in germline cells is important for the evaluation of genetic risks of environmental mutagens. The mismatch repair (MMR) is greatly contributing to the accurate DNA replication as well as DNA polymerase fidelity.

To clarify the role of MMR on mammalian germline mutation rate, we analyzed *de novo* germline mutations by whole exome sequencing using parents-child sample sets of *Msh2* deficient mice. We detected increased mutation frequency, such as base substitution mutations and insertions/deletions at simple repeat sequences. These results indicated that *Msh2* is required for the stable transmission of genetic information to the next generation.

## P-068

## Analyses of ENU-induced germline mutation spectrum detected by mouse whole exome sequencing

Kenichi Masumura<sup>1</sup>, Akiko Ukai<sup>1</sup>, Naomi Toyoda<sup>1</sup>, Yoichi Gondo<sup>2</sup>, Takehiko Nohmi<sup>3</sup>, Masamitsu Honma<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Genetics and Mutagenesis, National Institute of Health Sciences (NIHS), <sup>2</sup>RIKEN BioResource Center, <sup>3</sup>Biological Safety Research Center, NIHS

To investigate trans-generational genotoxic effects, inherited mutations were detected by whole exome sequencing. *N*-ethyl-*N*-nitrosourea (ENU)-treated male mice were mated with untreated female mice and offspring were obtained. Single nucleotide variations (SNVs) were analyzed in the ENU-treated and control families and *de novo* mutations in the offspring were detected. Inherited mutation frequency in the ENU-treated group was 17-fold higher than that of control. Three mutations in the control and 123 mutations in the ENU group were confirmed by Sanger DNA sequencing. In the ENU group, base substitutions at A:T bps (73%) were predominantly observed. Major types were A:T to G:C (42%) and A:T to T:A (27%). On the other hand, *gpt* mutation spectrum in bone marrow of ENU-treated mice showed that A:T to T:A (28%) and G:C to A:T (28%) was frequently observed. The results may indicate the difference between endogenous and exogenous target sequences and between sequence-based and phenotype-based detection methods.

## ミスマッチ修復欠損マウスにおける生殖細胞ゲノム変異の解析

大野みずき<sup>1</sup>、鷹野典子<sup>1</sup>、佐々木史子<sup>1</sup>、日高京子<sup>1,2</sup>、中津可道<sup>1</sup>、續輝久<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九州大学 大学院医学研究院 基礎放射線医学分野、<sup>2</sup>北九州市立大学 基盤教育センター

生殖細胞突然変異の発生と抑制に関する分子メカニズムを理解することは、放射線や化学物質等の環境ストレスの遺伝性影響を効率的に解析・評価する系を確立する上でも重要である。1世代あたりの突然変異率は、DNA複製時のエラー頻度と細胞の分裂回数から概算できる。従ってDNAポリメラーゼの忠実度と並んで、ミスマッチ修復(MMR)の効率は新規生殖細胞突然変異の発生率を決める重要な因子となる。

今回我々は、ほ乳類の次世代ゲノム情報の維持におけるMMRの貢献度を知るために、*Msh2* 遺伝子欠損マウスの親と仔を用いて、その世代で新たに発生したゲノム変異の検出を試みた。リピート配列の変異、塩基置換型変異、染色体レベルでの変異等が増加する傾向を認めたのでその解析結果を報告する。さらに、*Msh2* 遺伝子欠損マウスを利用した「汎用性のある次世代影響の評価法」の可能性を議論する。

## マウス全エクソーム解析による ENU 誘発生殖細胞変異スペクトルの解析

増村健一<sup>1</sup>、鶴飼明子<sup>1</sup>、豊田尚美<sup>1</sup>、権藤洋一<sup>2</sup>、能美健彦<sup>3</sup>、本間正充<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部、<sup>2</sup>理化学研究所バイオリソースセンター、<sup>3</sup>国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター

遺伝毒性の経世代的影響を評価するため、次世代シーケンサーを用いて次世代個体のゲノム変異を検出した。雄 *gpt delta* マウスにエチルニトロソ尿素 (ENU) を腹腔内投与した後、無処理の雌と交配して子を得た。全エクソームシーケンス解析によって検出した塩基多型 (SNVs) の親子間比較によって、次世代個体の *de novo* 変異を選択した。ENU 処理群の経世代遺伝子突然変異頻度は対照群と比較して約 17 倍に増加した。対照群の F1 個体から 3 個、ENU 投与群の F1 個体から 123 個の突然変異が得られた。ENU 誘発経世代突然変異の特徴は A:T 塩基対の変異 (73%) であり、A:T to G:C (42%) および A:T to T:A (27%) が多かった。一方で、ENU 投与マウス骨髄の *gpt* 変異スペクトルにおいては、A:T to T:A 変異 (28%) および G:C to A:T 変異 (28%) が多かった。こうした変異スペクトルの違いは、ゲノム中の内在性遺伝子群と外来遺伝子における変異蓄積の差、および変異検出法の差 (表現型による選択と直接シーケンシングによる検出) などを反映している可能性が考えられた。