

Analysis of Chromosome aberrations by fluorescence *in situ* hybridization using triple chromosome-specific probes in human lymphocyte exposed to radiation

Hai-Won Chung, Su-Young Kim, and Sung-Whan Ha*

School of Public Health, Seoul National University

*Collegy of Medicine, Seoul National University

3중 DNA probe를 이용한 FISH(fluorescence *in situ* hybridization)기법으로 방사선에 의한 염색체 이상 분석

정 해 원 · 김 수 영 · 하 성 환*

서울대학교 보건대학원, *서울대학교 의과대학

(1999년 2월 27일 접수, 1999년 5월 28일 채택)

Abstract - Fluorescence *in situ* hybridization with chromosome-specific probe has been shown to be a valid and rapid method for detection of chromosome rearrangements induced by radiation. This method is useful for quantifying structural aberrations, especially for stable ones, such as translocation and insertion, which are difficult to detect with conventional method in human lymphocyte. In order to apply FISH method for high dose biological dosimetry, chromosomal aberrations by radiation at doses of 1, 3, 5, and 7Gy were analysed with whole chromosome-specific probes by human chromosome 1, 2 and 4 according to PAINT system. The frequencies of stable translocation per cell equivalent were 0.04, 0.33, 1.22, 2.62, and 5.58 for the lymphocyte exposed to 0, 1, 3, 5, and 7Gy, respectively, and those of dicentric were 0.00, 0.06, 0.52, 1.19 and 2.44, respectively. Significantly more translocation of t(Ab), a translocated chromosome with a piece of painted acentric matrial 'b' attached to unpainted piece containing centromere 'A', than reciprocal chromosome t(Ba) was observed. The frequencies of all type of chromosome rearrangements increased with dose. From above result, FISH seemed to be useful for radiation biodosimetry by which the frequencies of various types of stable aberrations in human lymphocyte can be observed more easily than by conventional method and so will improve our ability to perform meaningful biodosimetry.

Key words : Fluorescence *in situ* hybridization(FISH), chromosome rearrangement, PAINT(Protocol for Aberration Identification and Nomenclature Terminology)system

요약 - 각 염색체에 특이한 DNA probe를 이용하는 FISH기법은 방사선에 의해 유발된 상호전좌 및 삽입 등의 염색체의 구조적 변화를 측정하는 매우 효과적인 방법으로서 그 활용성이 증가되고 있다. 본연구는 방사선 피폭시 생물학적 선량측정법으로서 FISH기법을 활용하기 위하여 사람의 1, 2, 4번 염색체에 특이한 probe를 이용하여 고선량 단일 피폭시 유발된 각종 염색체 이상빈도를 관찰하고 이를 PAINT분류체계에 의해 분석하였다. 방사선 조사에 의한 염색체 이상빈도는 상호전좌(t)와 이동원염색체(dic)의 수가 선량 증가에 따라 같이 증가하는 것을 알 수 있으며 color junction의 수도 선량에 따라 증가하는 것을 알 수 있었다. 상호전좌의 빈도는 이동원 염색체의 빈도보다 상대적으로 높게 나타났다. 삽입(ins), 무동원염색체(ace), 및 환상염색체(r)의 수도 선량 증가에 따라 같이 증가하는 것을 알 수 있었다. 기존의 염색체재배열 분석방법과 비교해 볼 때 FISH기법은 다양한 형태의 염색체재배열을 보다 쉽게 관찰할 수 있게 하며 생물학적 선량계로서 중요한 역할을 할 것이라 기대된다.

중심어 : Fluorescence *in situ* hybridization(FISH), 염색체 재배열, 방사선, PAINT

서론

사람의 림프구에 방사선을 조사할 경우의 염색체 이상과 방사선 사고에 의하여 피폭된 경우를 비교하여 보면 방사선에 대한 반응양상이 아주 비슷하다. 이는 체외에서 림프구에 방사선을 조사하여 얻어진 선량-반응관계를 이용하여 실제 피폭선량을 추정할 수 있음을 말해 준다.

현재까지 널리 이용되고 있는 염색체이상 분석 방법은 주로 교환형의 염색체이상인 이동원염색체를 측정하는데 이를 지닌 세포는 불안정하여 세포 분열을 거듭함에 따라 치사하게 되기 때문에[1] 안정한 염색체 교환형인 상호전좌를 측정하는 것이 만성적으로 장기간 방사선에 노출된 정도를 평가하는데 적합하다[2]. 따라서 각 염색체에 특이한 DNA probe를 이용하는 FISH기법은 염색체의 구조적 변화를 측정하는 매우 효과적인 방법으로 염색체의 손상을 평가하는 새로운 분자독성학적 방법으로 그 활용성이 증가되고 있다[3-7]. 그러나 FISH기법을 이용하여 염색체 이상을 분석할 때는 일부 염색체만 대상으로 이 염색체가 전체 genome 상에서 차지하는 비율을 감안하여 전체 염색체이상으로 보정하기 때문에 분석되지 않는 나머지 염색체에서의 이상을 제대로 반영하여 주는가에 대해서는 많은 논란이 되고 있다[8-10]. 또한 최근의 연구에서 각 염색체마다 방사선에 대한 감수성이 차이가 많이 보고되고 있으며 단일 염색체의 DNA probe를 이용하였을 때는 사용한 염색체에 따라 나타난 염색체이상 빈도는 실제 방사선량을 제대로 반영해 주지 못한다는 주장이 대두되고 있다. 그래서 많은 연구자들은 특정한 염색체 하나만을 이용하기 보다는 둘 또는 세개의 다중염색체 probe를 포함하여 전체 genome에서의 비율을 더 높임으로써 전체 염색체상에서 보정되는 염색체이상 빈도의 정확도를 향상시키고자 하고 있다[11]. 염색체의 조합은 각 염색체내의 DNA가 전체 염색체상에서 차지하는 비율을 감안하여 사용되고 있는데 1, 2, 4번 염색체 조합의 3중DNA probe가 많이 이용되고 있다. FISH기법을 이용하여 방사선 피폭의 생물학적 선량계로 활용하고자 할 때 나타나는 또 다른 문제점은 비교적 낮은 선량인 2Gy이하에서 기존의 염색체분석 방법으로부터 나온 결과와 비교적 일치하고 있지만 높은 방사선량에서는 선량-반응관계를 확정짓는데 어려움이 있다. 이러한 이유로서는 높은 선량의 방사선에 의해 여러 가지 형태의 염색체 이상이 동시에 존재하는 경우 활용의 문제가 있을 수 있

며 또한 상호전좌가 완전하게 일어나 두 염색체에 염색된 부위와 염색안된 부위의 염색체가 동시에 관찰되어 완전한 상호전좌로 인정되는 경우, 한 쪽 염색체에만 염색된 부위와 염색안된 부위의 염색체가 존재하여 불완전하게 관찰되는 경우 그리고 상호전좌가 한 염색체에 복합적으로 나타나 상호전좌의 수를 측정하기가 힘들 경우 등 각기 다른 형태로 존재할 때 분류의 문제점 등을 들 수 있다[12, 13].

따라서 본 연구에서는 사람의 1, 2, 4번 염색체가 포함된 3중 DNA probe를 이용한 FISH기법으로 고선량 단일 피폭시 유발된 각종 염색체 이상 빈도를 관찰하고 이를 PAINT분류체계에 의해 분석, 선량-반응 곡선을 작성하여 방사선 피폭시 생물학적 선량측정법을 이용한 방사선량 추정에 필요한 기초 자료로 삼으려 한다.

재료 및 방법

방사선 조사 및 염색체 표본작성

건강한 사람의 말초혈액을 선형 전자 가속기(LINAC, Vnrian 6/100)로 에너지 6MV photon을 1, 3, 5, 및 7Gy 조사(dose rate: 2.00Gy/min)하였다. 방사선 조사된 말초혈액 1ml을 PHA 및 1% 우태아 혈청이 포함된 RPMI배지 9ml에 넣고 5% CO₂가 공급되는 배양기에서 48시간 배양하였다.

FISH(fluorescence *in situ* hybridization)

본 실험에서는 Spectrum Orange가 표지된 1, 2, 4번 염색체의 WCP probe(Vysis)를 이용하여 직접법에 의해 FISH를 수행하였다.

Chromosome Slide 준비

준비된 슬라이드를 2 × SSC(Sodium chloride, Sodium citrate)용액에 37°C에서 15분씩 2번 방치한 후 상온의 70, 85 및 100% Ethanol series에서 각각 2분씩 탈수과정을 거치도록 했다. 탈수된 슬라이드는 73 ± 1°C에서 5분간 70% formamide / 2 × SSC 용액에서 변성(Denaturation)시킨 후 -20°C의 70, 85 및 100% ethanol에서 각 2분씩 거친 후 상온에서 건조하였다.

DNA probe 준비

1, 2, 4번 염색체를 동시에 Spectrum Orange로 표지된 DNA probe (WCP 1, 2, 4, Vysis) 2μl를 WCP hybridization buffer 7μl 와 1μl 증류수에

섞어 만든 hybridization mix를 어두운 상태에서 $73 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 5분간 변성시킨 후, hybridization 시키기 전까지 $45\text{-}50^\circ\text{C}$ 의 slide warmer에 놓아둔다.

Hybridization

준비된 슬라이드에 probe를 $10\mu\text{l}$ 를 점적한 후 $22\text{mm} \times 50\text{mm}$ cover glass의 가장자리에 rubber cement(BORDEN)를 적용하여 수분증발을 막도록 한 다음 수분이 유지되는 상자(Humidity box)에 넣어 충분히 hybridization되도록 37°C 의 배양기에서 16시간 동안 방치하였다.

세척

슬라이드를 꺼내 rubber cement를 조심스럽게 제거하고 슬라이드를 72°C 의 $0.4 \times \text{SSC}$ (AMRESCO)에 5분간 담궈둔 후 꺼내어, $2 \times \text{SSC}$ (AMRESCO)에 $50\mu\text{l}$ 0.5% NP-40를 넣은 용액에서 2분간 세척하였다. 그 다음, slide를 말리고 DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole, Vysis)로 대조 염색(counterstain)한 후, -20°C 에서 보관하였다.

현미경 관찰

형광 현미경(NIKON, Biophot)을 이용하여 triple band filter인 D/F/TXRD(DAPI/FICT/Texas Red, Chroma Technology Corp. 61002)로는 Spectrum Orange 및 DAPI를 동시에 관찰하였으며, UV-2A filter(NIKON, DM400)로는 DAPI를 관찰하였다.

염색체 이상 측정방법

본 연구에서는 Tucker 등[14]에 의해 제안된 명명법인 PAINI(Protocol Aberration Identification and Nomenclature Terminology) system에 근거하여 염색체이상을 분류하고자 하였다. 염색체이상 빈도는 painting된 특정 염색체에서만 나타나기 때문에 이 염색체가 전체 genome상에서 차지하는 비율을 계산[15-16]하여 보정하게 되면 전체 genome에서의 염색체이상 빈도를 계산할 수 있다 [17]. 본 연구에서 사용한 염색체 1, 2, 4번의 경우 전체 genome 상에서 차지하는 DNA의 비율이 22.4%, 전체교환형중 34.4%가 관찰되는 것으로 나타난다.

통계분석

SPSS 7.5 통계패키지를 이용하여 상호전좌 및 이동원염색체 빈도의 선량-반응 곡선을 추정하였다.

결 과

방사선 조사에 의한 염색체 이상빈도는 표1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5, 그림 1 및 그림 2와 같다. 본 실험에서는 1, 2, 4번 염색체의 probe를 동시에 이용하였으므로 1, 2, 4번 염색체가 전체 genome상에서 차지하는 비율을 감안하여, 전체 세포수로 환산하였다. 표 1에서 보는 바와 같이 상호전좌(t)와 이동원염색체(dic)의 수가 선량 증가

Table 1. Radiation-induced chromosome rearrangement identified by FISH with the DNA probe for chromosome 1, 2 and 4; numbers and frequencies of color junctions, translocations and dicentric chromosomes.

Dose (Gy)	No. of cells scored	No. of cell equivalents	No. of aberrant cells	No. of color junctions	No. of translocation	No. of cells with translocation	No. of dicentrics	No. of cells with dicentrics	t/dic
0	500	172	7	8 (0.0465)	7 (0.0407)	6	0 (0.0000)	0	.
1	471	162.024	62	72 (0.4444)	54 (0.33328)	41	10 (0.0617)	10	5.4
3	100	34.4	52	66 (1.9186)	42 (1.221)	31	19 (0.5233)	18	2.33
5	100	34.4	79	150 (4.3604)	90 (2.6163)	56	41 (1.1919)	30	2.20
7	100	34.4	98	375 (10.9012)	192 (5.5814)	88	84 (2.4419)	62	2.29

* The Number in parenthesis indicate No. per cell equivalent.

Table 2. Radiation-induced chromosome rearrangement identified by FISH with the DNA probe for chromosome 1, 2 and 4; numbers and frequencies of insertions, acentric fragments and ring chromosomes.

Dose (Gy)	No. of cells scored	No. of cell equivalents	No. of acentric fragments	No. of cells with acentric fragments	No. of insertions	No. of cells with insertion	No. of rings	No. of cells with rings
0	500	172	0 (0.0000)	0	1 (0.0058)	1	0 (0.0000)	0
1	471	162.024	9 (0.0556)	8	7 (0.0432)	7	0 (0.0000)	0
3	100	34.4	18 (0.5233)	17	5 (0.1454)	4	6 (0.1744)	5
5	100	34.4	42 (1.2209)	32	12 (0.3488)	12	9 (0.2616)	8
7	100	34.4	132 (3.8372)	68	12 (0.3488)	12	10 (0.2907)	8

* The Number in parenthesis indicate No. per cell equivalent.

Table 3. Numbers and frequencies of translocations induced by Radiation using FISH with the DNA probe for chromosome 1, 2 and 4.

Dose (Gy)	No. of translocations											
	total	t(Ab)	t(Ba)	t-t(bAb)	t-t(aBa)	t(bAA)	t-t (AbA)	t-t (bAA)	dic-t (BAb)	dic-t (BBa)	t-dic-t (aBBa)	tri (BAB)
0	7 (0.0407)	3 (0.0174)	4 (0.0233)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)
1	54 (0.3333)	34 (0.2099)	18 (0.1111)	0 (0.000)	2 (0.0123)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)
5	42 (1.2210)	18 (0.5233)	17 (0.4942)	0 (0.000)	3 (0.0872)	1 (0.0291)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)
3	90 (2.6463)	36 (1.1047)	38 (0.8333)	0 (0.000)	2 (0.0581)	4 (0.1163)	4 (0.1163)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)
5	192 (5.5814)	98 (2.8488)	54 (1.5698)	2 (0.0581)	10 (0.2907)	4 (0.1163)	0 (0.000)	2 (0.0581)	2 (0.0581)	2 (0.0581)	2 (0.0581)	2 (0.0581)

* The Number in parenthesis indicate No. per cell equivalent.

에 따라 같이 증가하는 것을 알 수 있으며 color junction의 수도 선량에 따라 증가하는 것을 알 수 있다. 이중 방사선에 의한 상호전좌와 이동원 염색체의 생성은 linear-quadratic 관계(상호전좌: $Y = 0.1416 - 0.0228X + 0.1125X^2$, $R^2=0.995$, $P=0.0047$, 이동원염색체: $Y = 0.0089 +$

$0.0102X + 0.0476X^2$, $R^2=0.998$, $P=0.0018$)를 나타내주고 있었다. t/dic은 1Gy에서는 5.4, 3Gy에서는 2.33, 5Gy에서는 2.20, 그리고 7Gy에서는 2.29로서 상호전좌의 빈도가 이동원 염색체의 빈도보다 상대적으로 높게 나타났다. 표 2에서 보는 바와 같이 삽입(ins), 무동원염색체(ace) 및 환상염색

Table 4. Numbers and frequencies of dicentrics induced by Radiation using FISH with the DNA probe for chromosome 1, 2 and 4.

Dose (Gy)	No. of dicentrics							
	total	dic(BA)	dic(BB)	dic-t(BBa)	dic-t(BAb)	r-dic(BA)	tri(BAB)	t-dic-t(aBBa)
0	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)
1	10 (0.0617)	2 (0.0123)	8 (0.0494)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)	0 (0.000)
3	19 (0.5233)	11 (0.3198)	8 (0.2326)	0 (0.0000)	0 (0.0000)	0 (0.0000)	0 (0.0000)	0 (0.0000)
5	41 (1.1919)	22 (0.6395)	18 (0.5233)	0 (0.0000)	0 (0.0000)	1 (0.0291)	0 (0.000)	0 (0.000)
7	84 (2.4419)	44 (1.2791)	30 (0.872)	2 (0.0581)	2 (0.0581)	1 (0.0291)	1 (0.0291)	2 (0.0291)

* The Number in parenthesis indicate No. per cell equivalent.

Table 5. Radiation-induced chromosome rearrangement identified by FISH with the DNA probe for chromosome 1, 2 and 4.

Dose (Gy)	No. of cells scored	No. of cell equivalents	No. of aberrant cells	No. of t(Ab)	No. of t(Ba)	No. of t(Ab)+t(Ba)	No. of Dic	T/Dic
0	500	172	7	2 (0.0116)	3 (0.0174)	1 (0.0058)	0 (0.0000)	.
1	471	162.024	62	22 (0.1358)	6 (0.037)	12 (0.0741)	10 (0.0617)	4
3	100	34.4	52	12 (0.3488)	13 (0.3779)	5 (0.1454)	19 (0.5523)	1.58
5	100	34.4	79	22 (0.6395)	34 (0.9884)	6 (0.1744)	41 (1.1919)	1.51
7	100	34.4	98	51 (1.4830)	10 (0.2907)	41 (1.1919)	84 (2.4419)	1.21

* The Number in parenthesis indicate No. per cell equivalent.

T : t(Ab)+t(Ba)+[t(Ab)+t(Ba)]

Dic : grand total number of dicentrics

체(r)의 수도 선량 증가에 따라 같이 증가하는 것을 알 수 있다.

나타난 상호전좌 및 이동원염색체를 PAINT 명명법에 따라 유형별로 분류한 결과는 표 3과 표 4와 같다. 다양한 형태의 상호전좌와 이동원염색체를 관찰

할 수 있었으며 분류되어진 상호전좌와 이동원염색체중 t(Ab)와 t(Ba), dic(BA)와 dic(BB)가 주로 관찰되었다. 상호전좌 중 t(Ab)와 t(Ba)보다 더 많이 관찰되었으며 상호전좌와 이동원염색체 역시 선량이 증가함에 따라 같이 증가하는 것을 알 수 있다.

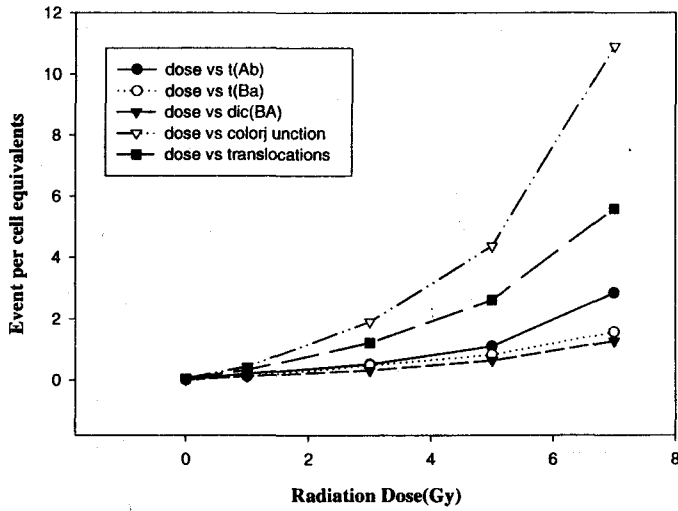


Fig. 1. Dose-response curves of different types of translocations, total translocations, dicentric chromosomes and color junctions induced by radiation.

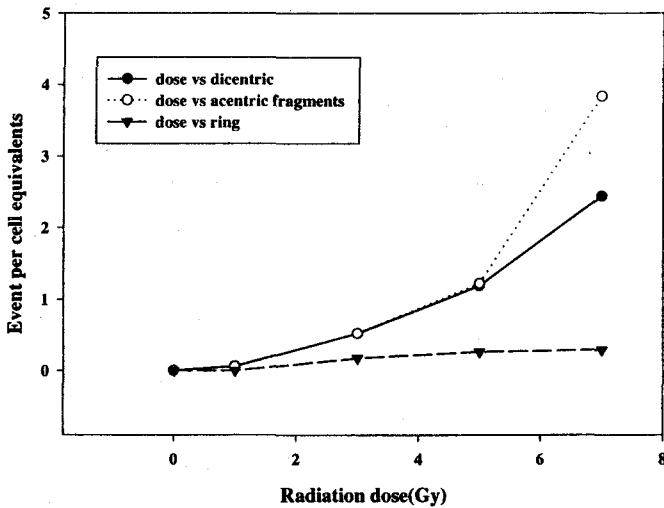


Fig. 2. Dose-response curves of different types of dicentric chromosomes, rings, and acentric fragments induced by radiation.

일반적으로 상호전좌를 측정할 때는 염색이 안 된 부위에 centromere가 있는 t(Ab)와 염색부위에 centromere가 있는 t(Ba)로 구분하였을 때 이를 한 개의 상호전좌로 표시하게 되지만 PAINT 명명법에서는 t(Ab)와 t(Ba)를 각각의 상호전좌로 표시하기 때문에 표 1에서 보여주는 상호전좌의 빈

도는 일반적으로 측정하는 상호전좌의 빈도보다 2 배 이상 된다는 점을 고려하여 t(Ab)와 t(Ba) 그리고 t(Ab)와 t(Ba)가 동시에 쌍으로 나타나는 경우를 비교한 결과는 표 5와 같다. 상호전좌와 이 동원염색체의 비 T/Dic는 1Gy에서는 4, 3Gy에서는 1.58, 5Gy에서는 1.51, 그리고 7Gy에서는 1.21

기법으로 방사선에 의한 염색체 이상 분석

로 나타나 선량이 증가함에 따라 상호전좌와 이동원염색체의 출현빈도가 거의 비슷하였다.

고 찰

본 연구는 1, 2, 4번 염색체 probe를 이용한 FISH기법을 통해 고선량 단일 피폭시 유발된 각종 염색체 이상빈도를 관찰하고 이를 PAINT분류 체계에 의해 분석하여 선량-반응 곡선을 구하여 방사선의 생물학적 선량측정계로서 활용하고자 시행되었다.

FISH기법을 이용하여 측정된 방사선에 의한 염색체 이상빈도는 2Gy이하의 낮은 선량에서는 복잡한 형태의 염색체이상이 복합적으로 나타나지 않기 때문에 기존의 염색체 분석방법에서의 결과와 큰 차이가 없지만 높은 방사선에 의해 생성되는 염색체이상을 분석시에는 복잡한 형태의 염색체이상이 나타나기 때문에 FISH기법시의 분류체계로 분석한 결과는 기존의 분석 결과와 크게 차이가 날 수 있다. 즉 FISH기법에서는 기존의 염색체이상분석에서는 관찰되지 않는 상호전좌, 삼입 및 color junction등도 분석의 대상이 되기 때문에 선량-반응 곡선을 구하는 것이 생물학적 표지자로서 이용할 때 매우 중요하다.

본 연구에서는 1-7Gy의 방사선에 의해 나타나는 각종 형태의 염색체재배열 즉 상호전좌, color junction, 이동원염색체, 환상염색체, 삼입 및 무동원염색체의 빈도가 선량에 비례적으로 증가되는 것을 확인하였다. 본 연구결과 염색체이상 빈도 중 상호전좌 이동원염색체의 비(t:dic)는 선량에 따라 점차 줄어들어 1Gy에서 1:5.4, 3Gy에서 1:2.33 그리고 7Gy에서 1:2.99로 나타나 PAINT 분류체계에서 상호전좌된 형태 각각을 상호전좌로 분류하는 점을 감안할 때 1:1로 근접되는 경향을 보여 주고 있다.

이온화방사선 및 Bleomycin을 이용한 대부분의 연구결과에서도 상호전좌의 빈도가 이동원염색체보다 언제나 크게 나타나는 것으로 보고되고 있지만 선량 및 용량이 증가함에 따라 그 차이는 감소하는 것으로 보고되고 있으며 특히 최근의 연구에서는 상호전좌:이동원염색체의 비는 이론치와 마찬가지로 1:1로 나타난다는 결과도 다수 보고되고 있다[18]. 그러나 최근의 연구에서 각 염색체마다 방사선에 대한 감수성 즉 절단의 빈도가 염색체내에 포함된 DNA양과 비례하지 않는다는 연구가 다수 보고되고 있는데 Johnson 등[13]은 상염색체 중 14개(1, 4-8, 10-13, 17-20번) 염색체는

DNA 양에 비례하여 절단면이 발생하지만 나머지 8개의 상염색체 및 성염색체에서는 기대치와 차이가 난다고 보고하였다.

또한 Knehr 등[8]의 연구에서도 3Gy의 x-ray에 의해 나타나는 t:dic의 비가 1번 염색체의 경우 1.58, 2번은 1.08, 그리고 4번은 1.81로 보고하였으며 Boei 등 [19]도 2Gy의 x-ray에 의해 1번 염색체의 경우 1.12, 4번 염색체는 2.09로 나타났음을 보고하였다. 그러므로 많은 연구결과에서 상호전좌가 이동원염색체보다 많이 관찰되는 현상은 이론적으로 상기 형태의 염색체 이상을 유발하기 위한 DNA상의 절단 빈도가 같아도 이들이 회복되는 과정에서 상호전좌와 이동원염색체를 형성하는 확률이 다른 것이라는 것을 추정해 볼 수 있다.

Natarajan 등[5]은 DNA 손상회복 억제제인 3-Aminobenzamide(3AB)와 ara-C를 이용한 연구 결과 이들 억제제를 처리했을 때 방사선에 의한 상호전좌의 빈도는 차이가 있었으나 이동원염색체의 빈도가 증가되었음을 보고하여 이들이 회복되는 기전에 서로 상이한 것이라는 점을 지적하였다.

본 연구는 1, 2, 4번 염색체 probe를 이용한 결과로서 이들 염색체내의 DNA양은 전체 genome의 22.4%로서 교환을 일으킬 수 있는 절단이 genome상에 무작위적으로 분포하고 특정 염색체 쌍끼리 나타나는 교환이 없다고 가정하면 전체 genome 중의 염색체 교환의 34.4%를 관찰할 수 있다. 즉 표에서 나타나는 cell equivalent는 실제 측정된 세포수에 34.4%를 곱해 산출한 값이기 때문에 한 개의 염색체 probe를 사용했을 때보다 적은 수의 세포를 측정하더라도 효과를 얻을 수 있는 장점이 있는 반면 같은 색깔의 probe이기 때문에 이들 염색체 사이에 나타난 교환은 찾아낼 수 없다.

상호전좌의 경우 t(Ab)의 빈도가 t(Ba)보다 더 높게 관찰되었는데 Tucker 등[12]의 연구나 Finnon 등[18] 그리고 정 등[20]에서도 같은 양상을 보고하고 있다. 이러한 이유로서는 t(Ba)의 염색안된 부위는 현미경 관찰시 누락되는 경우가 있지만 t(Ab)의 염색된 부위는 관찰이 용이하기 때문에 t(Ab)의 빈도가 더 높게 나타날 수 있다는 것으로 설명된다.

즉 Tucker는 방사선에 민감한 부위로 알려진 telomeric sequence 부위에 절단이 나타날 때 이 부위의 크기가 11-14Mb이하인 경우[21]는 FISH 기법으로 관찰이 용이하지 않기 때문에 염색안된 염색체의 telomere 부위(a)와 염색된 염색체(B) 사

이에서 일어난 경우의 상호전좌의 형태인 t(Ba)는 a가 관찰되지 못하는 경우가 많기 때문에 t(Ab)가 상대적으로 더 많이 관찰될 수 있다고 보고하였다 [12].

본 연구결과는 상호전좌와 이동원염색체의 선량 증가에 따라 linear-quadratic 관계로 증가하는 선량-반응 관계를 보여주고 있으며 추정식의 수치에는 차이가 있으나 Schmid 등 [7] 과 Lucas 등 [15] 의 연구결과와 유사한 결과를 보여주고 있다. 상호전좌의 경우 $Y = 0.1416 - 0.0228X + 0.1125X^2$ (이때 $R^2=0.995$, $p=0.0047$, $Y=cell\ equivalent$ 당 상호전좌의 빈도, $X=선량$), 이동원염색체의 경우 $Y = 0.0089 + 0.0102X + 0.0476X^2$ (이때 $R^2=0.998$, $p=0.0018$, $Y=cell\ equivalent$ 당 이동원염색체의 빈도, $X=선량$)로 추정된 식은 각각의 선량-반응 곡선을 잘 설명하고 있다.

FISH기법을 이용한 선량-반응 곡선의 확립은 생물학적 선량계로서 중요한 역할을 할 것이라 생각되며 본 연구에서 추정된 선량-반응 곡선은 고선량의 방사선 사고시 발생할 수 있는 염색체이상의 추정자료로 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업 연구비로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. A. Awa, T. Sofuni, T. Honda, T. Honda, N. Itoh, S. Heriishi and M. Otake, "Relationship between the radiation dose and chromosome aberrations in atomic bomb survivors of Hiroshima and Nagasaki," *J. Radiat. Res.*, 19, 126-140(1978).
2. W.W. Au, "Monitoring human population for effects or radiation and chemical exposures using cytogenetic techniques," *Occupational Med.*, 6(4), 597-611(1991).
3. M. Bauchinger, E. Schmid, H. Zitselsberger, H. Braselmann and U. Nahrestedt, "Radiation-induced chromosome aberrations analysed by two-colour fluorescence *in situ* hybridization with composite whole chromosome-specific DNA probes and a pacentromeric DNA probe," *Intenational Journal of Radiation Biology*, 64, 179-184(1993).
4. M. Nakano, E., Nakashima, D.J. Pawell, Y. Kodama and A. Awa, "Frequency of reciprocal translocation and dicentrics induced in human blood lymphocyte by X-irradiation as determined by fluorescence *in situ* hybridization," *Int. J. Radiat. Biol.*, 64(5), 565-569(1993).
5. A.T. Natarajan, A.S. Balajee, J.J.W.A. Boei, S. Chatterjee, F. Darroudi, M. Grigorova, M. Noditi, H.J. Oh, P. Slijepcevic and S. Vermeulen, "Recent developments in the assessment of chromosomal damage," *Int. J. Radiat. Biol.*, 66(5), 615-623(1994).
6. A.T. Natarajan, R.C. Vyas, F. Darroudi and S. Vermeuler, "Frequencies of X-ray induced chromosome translocations in human peripheral lymphocyte as detected *in situ* hybridization using chromosome-specific DNA libraries," *Int. J. Radiat. Nial.*, 61, 199-203(1992)
7. E. Schmid, H. Zitzelsberger, H. Braselmann, J.W. Gray and M. Bauchinger, "Radiation-induced chromosome aberrations analysed by fluorescence *in situ* hybridization with a triple combination of composite whole chromosome-specific DNA probes," *Int. J. Radiat. Biol.*, 62(6), 673-678(1992).
8. S. Knehr, H. Zitzelsberger, H. Braselmann, U. Nahrstedt and M. Bauchinger, "Chromosome analysis by fluorescence *in situ* hybridization: future indications for a non-DNA-proportional involvement of single chromosomes in radiation-induced structural aberration," *Int. J. Radiat. Biol.*, 70(4), 385-392(1996).
9. C. Lindholm, S. Luomahaara, A. Koivistoinen, T. Itus, A. A. Edwards and S. Salomaa, "Comparision of dose-response curves for chromosomal aberrations established by chromosome painting and conventional analysis," *Int. J. Radiat. Biol.* 74(1), 27-34(1998).
10. J.J.W. Boei, S. Vemeulen and A.T. Natarajan, "Differential involvement of chromosome 1 and 4 in the formation of

- chromosomal aberration in human lymphocytes after χ -irradiation," *Int. J. Radiat. Biol.*, 72(2), 139-145(1997).
11. S. Ellard, E.M. Parry and J.M. Parry, "Use of multicolor chromosome painting to identify chromosomal rearrangements in human lymphocytes exposed to bleomycin : A comparison with conventional cytogenetic analysis of giemsa-stained chromosomes," *Environ and Mol. Mutagenesis*, 26, 44-54(1995).
 12. J.D. Tucker, K.A. Lee and K.H. Moore, "Validation of chromosome painting. II : A detailed analysis of aberrations following high doses of ionizing radiation *in vitro*," *Int. J. Radiat. Biol.*, 67(1), 19-28(1995).
 13. K.L. Johnson, D.J. Brenner, J. Nath, J.D. Tucker and C.R. Greard, "Review Radiation-induced breakpoint misrejoining in human chromosomes: random or non-random?," *Int. J. Radiat. Biol.*, 75(2), 131-141(1999).
 14. J.K. Tucker, W.F. Morgan, A.A. Awa, M. Bauchinger, D. Blakey, M.N. Cornforth, L. G. Littlefield, A.T. Natarajan and C. Shaserre, "A proposed system for scoring structural aberrations detected by chromosome painting," *Cytogenet. Cell Genet.*, 68, 211-221(1995).
 15. J.N. Lucas, A. Awa, T. Straume, M. Poggensee, Y. Kodama, M. Nakano, K. Ohtaki, H.-U. Weier, D. Pinkel, J. Gray and G. Littlefield, "Rapid translocation frequency analysis in humans decades after exposure to ionizing radiation," *Int. J. Radiat. Biol.*, 62(1), 53-63(1992).
 16. M.L. Mendelsohn, B.H. Mayall, E. Bogara, D.H. Moore II and B.H. Perry, "DNA content and DNA based centromere index of the 24 human chromosome," *Science*, 179, 1126-1129(1973).
 17. J.N. Lucas, T. Tenjin, T. Straume, K. Pinkel, D. Moor, M. Litt and J.W. Gray, "Rapid human chromosome aberration analysis using fluorescence *in situ* hybridization," *Int. J. Radiat. Biol.*, 56, 35-44(1989).
 18. P. Finnon, D.C. Lloyd and A.A. Edwards, "Fluorescence *in situ* hybridization detection of chromosomal aberrations in human lymphocytes: applicability to biological dosimetry," *Int. J. Radiat. Biol.*, 68(4), 429-435(1995).
 19. J.J.W. Boei, S. Vemeulen and A.T. Natarajan, "Differential involvement of chromosome 1 and 4 in the formation of chromosomal aberration in human lymphocytes after χ -irradiation," *Int. J. Radiat. Biol.*, 72(2), 139-145(1997).
 20. H.W. Chung, E.H. Sohn, H.S. Kee and S.W. Ha, "Radiation induced chromosome aberration in human lymphocyte detected by fluorescence *in situ* hybridization," *Environ, Mutagen & Carcinogens*, 16(2), 88-96(1996).
 21. Y. Kodama, N. Nakano, K. Ohtaki, R. Delongchamp, A.A. Awa and N. Nakamura, "Estimation of minimal size of translocated chromosome segments detectable by fluorescence *in situ* hybridization," *Int. J. Radiat. Biol.*, 71(1), 35-39(1997).