

遅延性 DNA 損傷の誘発と遺伝的不安定性

鈴木 啓司^{1*}, 児玉 靖司², 渡邊 正己¹

¹長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線生物学研究室

〒852-8521 長崎県長崎市文教町 1-14

²大阪府立大学先端科学研究所

〒599-8570 大阪府堺市学園町 1-2

Delayed DNA damage and radiation-induced genomic instability

Keiji Suzuki¹, Seiji Kodama² and Masami Watanabe¹

¹Division of Radiation Biology, Graduate School Biomedical Sciences, Nagasaki University
1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan

²Research Institute for Advanced Science and Technology, Osaka Prefecture University,
1-2 Gakuen-cho, Sakai, Osaka 599-8570, Japan

Summary

Ionizing radiation induces genomic instability, which is transmitted through many generations after irradiation in the progeny of surviving cells. We have hypothesized that radiation-induced large deletion causes potentially unstable chromosome regions, which are involved in delayed induction of radiation-induced genomic instability. Using phosphorylation-specific antibodies against ATM and histone H2AX, whose phosphorylation is induced by DNA double strand breaks, we detected delayed induction of phosphorylated ATM and H2AX foci in the progeny of X-ray-surviving cells, which indicated delayed induction of DNA double strand breaks. Furthermore, we found delayed chromosomal instability in X chromosomes in clones which contain large deletion involving the HPRT loci. It is suggested that large deletion involving ~Mb region causes unstable chromatin structure, and it results in delayed rearrangement of chromosomes involved. These findings provide the possibility that manifestation of radiation-induced genomic instability results from delayed DNA breaks, i.e., the breaks lead to delayed chromosome rearrangements, delayed cell death etc., many generations after irradiation.

Keywords: radiation, genome, instability, DNA damage, chromatin

緒 言

放射線照射による遅延性影響として遅延性染色体異常あるいは遅延性突然変異の誘導が報告され、放射線照射生存細胞において何世代にもわたって受け継がれるゲノム不安定性の存在が明らかになってきた。この放射線に

より誘発される遺伝的不安定性は、生存細胞にゲノム変異を蓄積する原因となることから、放射線発がんのプロセスを促進するメカニズムとして注目されている。しかしながら、放射線照射による遺伝的不安定性誘導のメカニズムに関しては未だ明らかにされていない点が多い。我々は、“放射線照射生存細胞における遅延性DNA二重鎖切断の誘発が種々の遅延性影響の発現に関与する”との仮説をもとに、遅延性影響の発現メカニズムを解明すべく正常ヒト培養細胞系を中心に研究を行ってきた。

* E-mail: kzsuzuki@net.nagasaki-u.ac.jp

受付: 2004 年 12 月 21 日 受理: 2004 年 12 月 21 日

©日本環境変異原学会

本稿は第33回日本環境変異原学会、第18回日本動物実験代替法学会合同学術会議、JEMS & JSAAE 合同シンポジウム2「ゲノム不安定性と環境」で発表された。

This paper was presented to the JEMS & JSAAE combination symposium 2 “Genome instability and environments” at the 33rd JEMS annual meeting and the 18th JSAAE annual meeting, 2004.

1. 放射線発がん過程における 遺伝子突然変異の関与

細胞のがん化に発がん因子によるがん遺伝子やがん抑制遺伝子の突然変異が関与することは疑いようのない事実である。しかしながら、放射線発がんについては、広島・長崎の被爆者の解析結果から、とりわけ固形腫瘍の発症において放射線照射により誘発された遺伝子突然変異が発がんに関与するとは考えにくいという結論が得られている(Pierce et al., 1996)。たとえば、被爆者における固形腫瘍発生頻度は線量の一次関数で増加することが明らかにされており、またその潜伏期は非被爆者と比較して短縮は認められなかったが、もし放射線発がんに関与する複数の突然変異の蓄積が必要であるならば、線量に応じたがん発症頻度はその個数 n に応じた n 次関数で上昇するはずであるし、その潜伏期も突然変異の数に応じて短縮するはずである。以上の結果は、放射線が発がんにつながる遺伝子突然変異を直接誘導するのではなく、間接的に長期間に渡って突然変異頻度を上昇させ、その結果蓄積した突然変異が発がんに関与するという可能性を示唆するものである(Little, 2000)。

また、培養細胞を用いた試験管内発がん系による実験でも、放射線による遺伝子突然変異が発がんに関与するとは考えにくい現象が報告されている。たとえば、ゴールデン/シーリアンハムスター胎児由来初代培養細胞と同様に発がん評価系として用いられてきたマウス由来の不老化細胞であるC3H10T1/2細胞に放射線を照射するとがん細胞からなるフォーカス出現するが、たとえば300個のC3H10T1/2細胞にX線を照射して13回程度分裂するまで培養し、その後段階希釈してさらに数週間培養してフォーカス形成を行うと、最大1万分の一まで希釈したのにもかかわらず出現するフォーカスの数は希釈率にかかわらずほぼ同程度であった。放射線により誘発された遺伝子突然変異が直接このがん化に関与しているのであれば、希釈によりがん化の頻度が減少するはずであることから、放射線照射により何らかのゲノム不安定性が誘導され、その結果蓄積した突然変異が細胞がん化に関与しているのではないかと考えられた(Kennedy et al., 1980)。さらに、ラットの乳腺上皮幹細胞を用いた実験でも同様の結果が得られ、体外において培養され照射を受けて再度宿主に移植された幹細胞は、場合によっては約100個に1個の割合でがん化することが確認された(Kamiya et al., 1995)。このような高い発がん頻度は、照射により直接誘発される遺伝子突然変異頻度ではとうてい説明できず、放射線により誘導されたゲノム不安定性の関与を考慮せざるを得ない。

2. 放射線による遺伝的不安定性の誘発

放射線がその生存細胞にある種のゲノム不安定性を誘

導することは古くから報告されてきた。放射線によるゲノム不安定性の誘導は遅延性影響の誘導によって検出され、たとえば放射線照射後数世代経た後に見られる遅延性の細胞死や、二動原体染色体などの不安定型染色体異常の遅延性誘導、あるいは遅延性の突然変異の誘導などが確認されている(Little, 2003; Morgan, 2003; Suzuki et al., 2003)。

まず、放射線照射生存細胞は放射線によって誘発された致命的な損傷であるDNA二重鎖切断を修復できた細胞であることから、その子孫細胞は全て非照射細胞と同様の生存率を示すと予想される。しかしながら、生存細胞からなる一次コロニーを再回収し、再度コロニー形成を行い細胞の生存率を評価すると、実際にはこの二次コロニーにおいて線量に応じて生存率の減少が観察された(Gorgojo and Little, 1989; Seymour et al., 1986)。さらに、放射線照射生存細胞からなる二次コロニー内には、細胞増殖死の指標である巨大細胞を高頻度で含む場合が認められた(Trott et al., 1998)。以上の結果により、放射線照射によって照射生存細胞の子孫細胞に遅延性の細胞死が引き起こされることが確認された。次に放射線照射生存細胞で染色体ギャップや染色体切断が高頻度で起こっていることが報告された。さらに、遅延性の染色体異常として同一染色体内に2つの動原体を持つ二動原体染色体も出現することが確認された。これら染色体異常は、一般的には細胞分裂を経て娘細胞に分配されることはないと考えられることから、放射線照射後何回も分裂してから遅延的に新たに出現した染色体異常であると結論された(Marder and Morgan, 1993)。また、同一の生存細胞由来の子孫細胞中に複数の異なる種類の染色体異常が多数出現することも、遅延性の染色体不安定性の誘導を支持するものである(Grososky et al., 1996)。さらに、二次コロニー由来細胞においてHPRT遺伝子の変異を6-チオグアニン耐性を指標に検討すると、放射線照射生存細胞において自然突然変異頻度の上昇が認められ、遅延性の突然変異生成が確認された(Romney et al., 2001)。遅延性突然変異は、放射線照射が直接関与しないことから非標的突然変異(NontargetedもしくはUntargeted mutagenesis)と呼ばれている。マウスを用いた実験では経世代的な非標的突然変異が報告されているが、ヒトにおいてはそのような事実は確認されていない(Niwa, 2003; Dubrova, 2003)。

我々は、上述の研究の多くがV79などのげっ歯類細胞を用いて行われていたのに鑑み、野生型p53機能を保持している正常ヒト二倍体細胞を用いて放射線による遺伝的不安定性の誘発を検討していた。その結果、正常ヒト二倍体細胞においても遅延性細胞増殖死や遅延性染色体異常などの代表的な遅延性形質の誘導を確認した(Roy et al., 1999; Suzuki et al., 1998)。興味深いことにげっ歯類を用いた実験では分裂を経ても長期間ゲノム不安定性

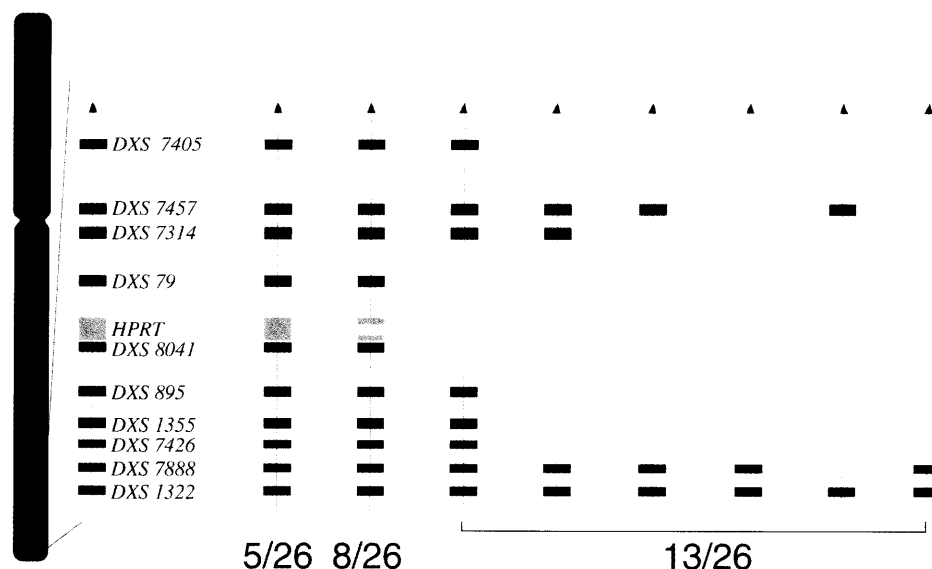


Fig. 1 Multiplex/STS-PCR analysis of 6-thioguanine resistant clones. Mutation spectrum was examined by multiplex PCR amplifying total nine exons of the HPRT gene, and by sequence tagged site (STS) PCR. Each boxes represent STS markers present in the clones. Thirteen out of 26 clones indicate loss of one or more STS markers, indicating large deletion.

が持続することが報告されているが、正常ヒト二倍体細胞の場合には分裂回数が増加するにつれて遅延性形質の誘発頻度が減少していくことが明らかになった。

以上のような遅延性影響の出現は、放射線照射生存細胞にある種のゲノム不安定性が誘導されてそれが子孫細胞に遺伝された結果であると考えことができ、ここに放射線誘発遺伝的不安定性の存在が証明された。

放射線による遺伝的不安定性の誘導は、酵母から哺乳類細胞に至るまで様々な動物種において確認されていることから、極めて普遍的に起こる現象であると解釈することができる (Brennan and Schiestl, 2001)。しかしながら、1)どのような分子機構で遺伝的不安定性が誘導され、2)どのような分子機構で子孫細胞に遺伝され、3)どのような分子機構で遅延性形質が発現するのか、については未だ十分に解明されているとは言い難い。我々は、“放射線照射により誘発されたDNA二重鎖切断がその修復過程において潜在的に不安定なクロマチン領域を誘導し、この不安定領域が細胞分裂を介して子孫細胞に受け継がれ、不安定領域に起因する遅延性DNA二重鎖切断の誘発が種々の遅延性影響の発現に関与する”との仮説をもとに (Suzuki, 1997)、遅延性影響の発現メカニズムを解明すべく正常ヒト培養細胞系を中心に研究を行ってきた。

3. 放射線による遺伝的不安定性の誘発および伝達機構

近年、ミスマッチ修復遺伝子の変異に代表されるような遺伝子変異がゲノム不安定化を誘導することが明らかになってきた。放射線により誘導される遺伝的不安定性

は、これら特定の遺伝子変異にもとづくゲノム不安定性とは異なり、遺伝子の変異によらない非遺伝性 (エピジェネティック) 機構が関与していると予想されている (Nagar et al., 2003)。これまでの研究から、放射線生存細胞に誘導されるゲノム不安定性の特徴は、その発現の非クローン性と高い誘発頻度にある。まず、遅延性影響の発現は単一の生存細胞由来の子孫細胞で等しく観察されるわけではないことが報告されており、また培養された生存細胞由来細胞において、ある継代期では高頻度に遅延性影響が誘導されていたのに同じ子孫細胞が次の継代期では全く不安定性を示さないという結果はよく観察される現象で、このような遅延性形質の非クローン性の発現は特定遺伝子の変異によっては説明しうるものではない。一方、遅延性形質の誘発に関しては、すでに述べた発がん実験の例も含め放射線生存細胞由来の子孫細胞中で場合によっては 10^{-2} 以上の頻度で起こることが報告されている (Kamiya et al., 1995)。このような高い頻度での遅延性形質の発現も、ゲノム安定性を制御している遺伝子の変異では説明がつかない。このようなことから、放射線照射によりゲノム内に生じた何らかのエピジェネティックな変化が放射線による遺伝的不安定性の原因、ひいては放射線発がんの原因になっていると考えることができる (Mendonca et al., 1993)。

これまでの研究で、遺伝的不安定性は放射線やブレオマイシン、ネオカルチノスタチン、制限酵素など、DNAに二重鎖切断を誘導するような処理により誘発されることが明らかにされており、細胞核が放射線による遺伝的不安定性誘導の標的であるとされている (Chang and Little, 1992; Kaplan and Morgan, 1998; Limoli et al.,

Table 1 Delayed chromosomal aberrations in 6-TG resistant clones

No. clones	No. metaphase counted	No. aberrations (%)
No detectable aberration		
5	250	2(0.8)
Partial deletion		
8	400	7(1.8)
Total deletion		
13	650	72(11.1)

Delayed chromosomal aberrations were examined ~ 15 PDN after isolation of 6-thioguanine (TG) resistant colonies.

1997; Limoli et al., 1999). DNA二重鎖切断は非相同末端結合修復(Non homologous end joining: NHEJ)や単鎖アニーリング(Single strand annealing: SSA),あるいは相同組換え修復(Homologous recombination: HR)などにより修復されるが,我々は,放射線により誘導されるDNA二重鎖切断の修復過程を介してゲノムの欠失が生じ,本来ヒトのゲノムには存在しないような不安定なクロマチン構造が誘導され,それが生存細胞の子孫に代々遺伝されるのではないかと予想した(Suzuki, 1997).そこで,この不安定クロマチン領域を同定するために,放射線によりDNA二重鎖切断がおき,修復によってゲノムの欠失が生じた部位として, X染色体上に位置するHPRT遺伝子に着目して, HPRT 遺伝子座に欠失を有する細胞をクローン化した. 実際には, 3 GyのX線を照射後, 6-チオグアニン(6-TG)抵抗性を指標にHPRT遺伝子変異細胞を単離した. その結果, Multiplex PCR法により単離した6-TG耐性クローンのうち50%でHPRT遺伝子の全欠失が観察された(Fig. 1). また, 31%のクローンで部分欠失が, 残りの19%のクローンでは点突然変異と思われる変異が生じていた. さらに, STS-PCR法により全欠失を示したクローンでは, HPRT 遺伝子座周囲の数百 kb から数 Mb にも及ぶ領域が欠失していることが明らかになった. HPRT 遺伝子座で生じたゲノム欠失が不安定なクロマチン領域を構成するか否かを遅延性染色体異常の誘発を指標に検討したところ, Table 1に示すように, 全欠失を有するクローンの遅延性染色体異常誘発頻度は, 点突然変異を起こしていると思われるクローンや部分欠失を示すクローンと比べて明らかに高かった. 欠失領域が遅延性染色体異常の原因になっているか今後さらに詳細な検討が必要ではあるものの, 以上の結果は大規模なゲノム欠失が放射線による遺伝的不安定性の原因になるという可能性を支持するものと考えられる.

4. 放射線照射生存細胞における遅延性影響の誘導機構

放射線により遺伝的不安定性を誘導した細胞では, 放射線により直接誘導されるような数々の形質が遅延性影

Table 2 Frequency of phospho-ATM foci positive cells 30-35 PDN postirradiation

Cells	No. of cells with foci positive cells		No. cells counted
	0 ~ 5	6 ~ 10 ^a	
Control	2	0	1100
6 Gy	31***	14***	945

^a Number of foci per nucleus, ***p<0.01

響として発現する. このことは, 遅延性形質の発現に放射線により直接誘発されるようなDNA損傷が関与する可能性を示す. そこで, 生存細胞の子孫細胞では遅延性にDNA二重鎖切断が生じているのではないかと考え, 近年明らかになったDNA損傷チェックポイント蛋白質のリン酸化を指標にその可能性を検討した(Suzuki et al., 2003). まず, X線照射生存細胞における遅延性DNA損傷の誘発をDNA二重鎖切断により誘導されるATM蛋白質のセリン1981のリン酸化およびヒストンH2AXのセリン139のリン酸化を指標にした免疫蛍光染色法により検討した. その結果, 6 GyのX線照射後30回以上分裂した正常ヒト二倍体細胞において, 核内でのリン酸化ATMあるいはリン酸化H2AXの斑点状のシグナル(フォーカス)を持つ細胞の出現頻度が有意に上昇することを見いだした(Table 2). これらリン酸化蛋白質のフォーカスはDNA二重鎖切断と一致することから(Paull et al., 2000; Bakkenist and Kastan, 2003), 遅延性のDNA損傷の誘発が証明された. さらに, 遅延性に誘導されるDNA損傷が遅延性のゲノム不安定性に関与する損傷としてチェックされるかどうかを明らかにするために, 照射生存細胞におけるDNA損傷チェックポイントの活性化をp53蛋白質の転写因子としての活性化を指標に検討した(Suzuki et al., 2003). まず, p53応答性*LacZ*遺伝子発現レポータープラスミドを作製しヒト線維肉腫であるHT1080細胞に導入した. 導入細胞にX線を照射後, 生存細胞による一次コロニーを形成させ, さらに回収した一次コロニー由来細胞において二次コロニーを形成させ, 各二次コロニーにおける*LacZ*遺伝子発現陽性細胞の出現を観察した. その結果, 20%以上の生存細胞由来の二次コロニーでコロニー中の細胞の数%に*LacZ*遺伝子の発現を認め, 照射生存細胞において遅延性のDNA損傷チェックポイントの活性化が起こっていることが確認された. 以上の結果から, 照射生存細胞では遅延性のDNA二重鎖切断が誘導されていること, また放射線照射生存細胞で誘発される遅延性DNA二重鎖切断が遅延性のp53機能の再活性化を誘導していることを明らかにした. 照射生存細胞における遅延性のDNA損傷の誘発は, 遅延性の細胞死の原因になると同時に遅延性の染色体異常や遅延性の遺伝子変異の原因になるとも予想されることから, 遅延性のp53機能の再活性化は, 放射線照射直後と同様にゲノムの守護神として発がんの抑制に極

めて重要な役割を果たしていることを再認識させる。

結 語

放射線照射による遺伝的不安定性の誘導は多くの動物種で観察される普遍的現象であるがそのメカニズムに関しては不明な点が多い。今回我々の研究から、放射線によって誘発されたDNA二重鎖切断の修復にもとづく大規模なゲノム欠失が不安定なクロマチン領域として放射線照射生存細胞の中に分裂を経ても遺伝され、同領域が遅延性にDNA二重鎖再切断を誘発して様々な遅延性形質を誘導する可能性が示された。しかしながら、放射線誘発遺伝的不安定性の誘導にはゲノム内に遺伝される原因以外にも、恒常的なラジカルレベルの上昇が関与するとの報告もあり(Lorimore and Wright, 2003)、複数のメカニズムが関与すると考えるべきであろう。さらに不安定クロマチン領域が引き金となって遅延性のDNA損傷が誘発されるという過程はエピジェネティックな機構によるものであると考えられるが、どのような細胞内の状況が遅延性のDNA損傷の誘発につながるか明らかにする必要がある。いずれにせよ、放射線による遺伝的不安定性の誘発には従来予想だになかったエピジェネティックなメカニズムが関与しており、今後の研究の進展が放射線のみならず化学発がん剤などでの細胞がん化の理解にも多大な貢献をすると期待される。

参考文献

- Bakkenist, C.J. and M.B. Kastan (2003) DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation, *Nature*, 421, 499-506.
- Brennan, R.J. and R.H. Schiestl (2001) Persistent genomic instability in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* induced by ionizing radiation and DNA-damaging agents, *Radiat. Res.*, 155, 768-777.
- Chang, W.P. and J.B. Little (1992) Evidence that DNA double strand breaks initiate the phenotype of delayed reproductive death in Chinese hamster ovary cells, *Radiat. Res.*, 131, 53-59.
- Dubrova, Y.E. (2003) Radiation-induced transgenerational instability, *Oncogene*, 22, 7078-7093.
- Gorgojo, L. and J.B. Little (1989) Expression of lethal mutations in progeny of irradiated mammalian cells, *Int. J. Radiat. Biol.*, 55, 619-630.
- Grosovsky, A.J., K.K. Parks, C.R. Giver and S.L. Nelson (1996) Clonal analysis of delayed karyotypic abnormalities and gene mutations in radiation-induced genetic instability, *Mol. Cell. Biol.*, 16, 6252-6262.
- Kamiya K., J. Yasukawa-Barnes, J.M. Mitchen, M.N. Gould and K.H. Clifton (1995) Evidence that carcinogenesis involves an imbalance between epigenetic high-frequency initiation and suppression of promotion, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 1332-1336.
- Kaplan, M.I. and W.F. Morgan (1998) The nucleus is the target for radiation-induced chromosomal instability, *Radiat. Res.*, 150, 382-390.
- Kennedy, A.R., M. Fox, G. Murphy and J.B. Little (1980) Relationship between x-ray exposure and malignant transformation in C3H10T1/2 cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 7262-7266.
- Limoli, C.L., M.I. Kaplan, J.W. Phillips, G.M. Adair and W.F. Morgan (1997) Differential induction of chromosomal instability by DNA strand-breaking agents, *Cancer Res.*, 57, 4048-4056.
- Limoli, C.L., J.J. Corcoran, J.R. Milligan, J.F. Ward and W.F. Morgan (1999) Critical target and dose and dose-rate responses for the induction of chromosomal instability by ionizing radiation, *Radiat. Res.*, 151, 677-685.
- Little, J.B. (2000) Radiation carcinogenesis, *Carcinogenesis*, 21, 397-404.
- Little, J.B. (2003) Genomic instability and bystander effects: a historical perspective, *Oncogene*, 22, 6978-6987.
- Lorimore, S.A. and E.G. Wright (2003) Radiation-induced genomic instability and bystander effects: related inflammatory-type responses to radiation-induced stress and injury? a review, *Int. J. Radiat. Biol.*, 79, 15-25.
- Marder, R.A. and W.F. Morgan (1993) Delayed chromosomal instability induced by DNA damage, *Mol. Cell. Biol.*, 13, 6667-6677.
- Mendonca, M.S., R.J. Antoniono and J.L. Redpath (1993) Delayed heritable damage and epigenetics in radiation-induced neoplastic transformation of human hybrid cells, *Radiat. Res.*, 134, 209-216.
- Morgan, W.F. (2003) Is there a common mechanism underlying genomic instability, bystander effects and other nontargeted effects of exposure to ionizing radiation? *Oncogene*, 22, 7094-7099.
- Nagar, S., L.E. Smith and W.F. Morgan (2003) Characterization of a novel epigenetic effect of ionizing radiation: The death-inducing effect, *Cancer Res.*, 63, 324-328.
- Niwa, O. (2003) Induced genomic instability in irradiated germ cells and in the offspring; reconciling discrepancies among the human and animal studies, *Oncogene*, 22, 7078-7086.
- Paull, T.T., E.P. Rogakou, V. Yamazaki, C.U. Kirchgessner, M. Gellert and W.F. Bonner (2000) A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage, *Curr. Biol.*, 10, 886-895.
- Pierce, D.A., Y. Shimizu, D.L. Preston, M. Vaeth and K. Mabuchi (1996) Studies of the mortality of atomic bomb survivors. Report 12, Part I. Cancer: 1950-1990, *Radiat. Res.*, 146, 1-27.
- Romney, C.A., J.D. Paulauskis, H. Nagasawa and J.B. Little (2001) Multiple manifestations of X-ray-induced genomic instability in Chinese hamster ovary (CHO) cells, *Mol. Carcinogenesis*, 32, 118-127.
- Roy, K., S. Kodama, K. Suzuki and M. Watanabe (1999) Delayed cell death, giant cell formation, and chromosome instability induced by X-irradiation in human embryo cells, *J. Radiat. Res.*, 40, 311-322.
- Seymour, C.B., C. Mothersill and T. Alper (1986) High yields of lethal mutations in somatic mammalian cells that survive ionizing radiation, *Int. J. Radiat. Biol.*, 50, 167-179.
- Suzuki, K. (1997) Multistep nature of X-ray-induced neoplastic transformation in mammalian cells: Genetic alterations and instability, *J. Radiat. Res.*, 38, 55-63.
- Suzuki, K., R. Takahara, S. Kodama and M. Watanabe (1998) In situ detection of chromosome bridge formation and delayed reproductive death in normal human embryonic cells surviving X irradiation, *Radiat. Res.*, 150, 375-381.
- Suzuki, K., M. Ojima, S. Kodama and M. Watanabe (2003) Radiation-induced DNA damage and delayed induced genomic instability, *Oncogene*, 22, 6988-6993.
- Suzuki, K., S. Yokoyama, S. Waseda, S. Kodama and M. Watanabe (2003) Delayed reactivation of p53 in the progeny of cells surviving ionizing radiation, *Cancer Res.*, 63, 936-941.
- Trott, K.R., M. Jamali, L. Manti and A. Teibe (1998) Manifestation and mechanisms of radiation-induced genomic instability in V-79 Chinese hamster cells, *Int. J. Radiat. Biol.*, 74, 787-791.