

3중 염색체 probe를 이용한 FISH(fluorescence *in situ* hybridization)기법으로 분석한 정상인의 염색체이상빈도

정해원¹⁾ · 김수영 · 신은희

서울대학교 보건대학원

(1998. 7. 3 접수)

Frequency of Chromosome Aberrations Detected by Fluorescence *In Situ* Hybridization Using Triple Chromosome-Specific Probes in a Healthy Korean Population

Hai Won Chung, Su Young Kim, and Eun Hee Shin

School of Public Health, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

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 chemical and physical agents. 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 use the FISH method as a biodosimeter for monitoring human population exposed to various chemical and physical agent, baseline level of chromosome rearrangement was established. Blood from forty four healthy adults were collected and analysed with whole chromosome-specific probes by human chromosome 1, 2 and 4. The frequencies of stable translocation were 2.45 per 100 cell equivalent and those of insertion, color junction, acentric and dicentric were 0.32, 3.28, 0.23 and 0.27 per 100 cell equivalent respectively. The frequencies of chromosome rearrangements increased with age in both sexes except for dicentric. From above result, stable aberrations accumulate with age and it may reflect integrated lifetime exposure of adverse environment.

Key words : Fluorescence *in situ* hybridization (FISH), triple chromosome-specific probe, chromosome rearrangement, PAINT system, human population

서 론

각 염색체에 특이한 DNA probe를 이용하는 FISH기법은 염색체의 구조적 변화를 측정하는 매우 효과적인 방법으로써 염색체의 손상을 평가하는 새로운 분자독성학적 방법으로 그 활용성이 증가되고 있다(Pinkel *et al.*, 1988, Cremer *et al.*, 1990, Natarajan *et al.*, 1992, Bauchinger *et al.*, 1993, Nakano *et al.*, 1993, Schmid *et al.*, 1994, Natarajan *et al.*, 1994, Chung *et al.*, 1996a).

현재까지 널리 이용되고 있는 염색체이상 분석 방법은 주로 불안정한 교환형의 염색체이상인 이동원염색체를 측정하는데(IAEA, 1986) 이를 지닌 세포는 불안정하여 세포 분열을 거듭함에 따라 치사하게 되기 때문에(Buckton *et al.*, 1978, Bauchinger, 1968, Awa *et al.*, 1978) 안정한 염색체 교환형인 상호전좌를 측정하는 것이 만성적으로 장기간 유해환경에 노출된 정도를 평가하는데 적합하다(Au, 1991).

FISH기법에 의해 관찰되는 염색체재배열은 기존의 염색

¹⁾To whom correspondence should be addressed.

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업 연구비로 수행되었음

체이상 분류방법과는 차이가 나게 되는데 1995년에 Tucker 등에 의해 제안된 PAINT(Protocol for Aberration Identification and Nomenclature Terminology)분류체계에 따르면 안정한 염색체이상인 상호전좌(translocation)와 삽입(insertion)이 측정가능하며 이들은 세포분열을 거듭하더라도 안정적으로 유지되기 때문에 유해물질에 만성적으로 노출되는 경우에 축적되어 나타난다. 또한 염색체배열의 복잡성을 나타내주는 color junction도 관찰될 수 있으며 이동원염색체, 환상염색체등 일반 염색체이상 분석시 나타나는 염색체배열도 더욱 구체적으로 관찰이 가능하다.

일반적으로 염색체이상 중 이동원염색체의 빈도는 연령 증가에 따른 차이가 없다고 알려져 있지만(Anderson *et al.*, 1988, Bender *et al.*, 1988, Kourakis *et al.*, 1992, Chung *et al.*, 1996b) 유해물질에 노출되어 나타난 상호전좌 및 삽입과 같은 안정된 염색체배열이 누적되어 나타난다면 연령에 따라 증가되어 나타날 수 있다.

특히 집단내에 속한 각 개인은 음식물 및 대기오염 등과 같은 유해환경(Abbott, 1992, Tucker *et al.*, 1986, Morris *et al.*, 1992)에 노출되는 정도가 상이하기 때문에 FISH를 이용해 염색체배열의 정상치 즉 baseline 빈도를 파악하는 것이 산업장등 유해물질에 노출된 집단을 평가할 때 매우 중요하다.

본 연구에서는 유해물질에 노출된 집단을 감시하기위한 생물학적 선량계로서 FISH기법을 활용하기 위해 우선 이 기법을 이용하여 일반인을 대상으로 염색체배열의 baseline 빈도를 구하고자 한다. 즉 우리나라 사람들의 흡주, 흡연 그리고 음식물 섭취등의 생활습관에 따라 염색체 손상 정도에 차이가 나타날 수 있기 때문에 연령, 성 및 기타 여러 변수에 따른 염색체배열의 빈도를 구하고자 한다.

재료 및 방법

혈액채취 및 배양

건강한 성인 44명을 대상으로 말초 혈액 1 ml씩을 뽑은 후 48시간 배양하여 염색체 표본을 작성하였다.

이들에 대해서 연령, 흡연력, 흡주력, 질병력 및 유해물질에 노출여부등에 관한 정보를 얻었다.

FISH(fluorescence *in situ* hybridization)

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

1) Chromosome Slide 준비

준비된 슬라이드를 2×SSC(Sodium chloride, Sodium citrate)용액에 37°C에서 15분씩 2번 방치한 후 상온의 70%, 85%, 100% Ethanol에 각각 2분씩 탈수과정을 했다. 탈수된 슬라이드는 72±1°C에서 5분간 70% formamide/

2×SSC 용액에서 변성(Denaturation)시킨 후 찬 70%, 85%, 100% ethanol에서 각 2분씩 거친 후 상온에서 말렸다.

2) DNA probe 준비

염색체 1, 2, 4번이 동시에 Spectrum Orange로 표지된 DNA probe (WCP 1, 2, 4 Probe Spectrum Orange Single Color Probe, Vysis) 2 μl를 WCP hybridization buffer 7 μl와 1 μl 증류수에 섞어 만든 hybridization mix를 어두운 상태에서 73±1°C에서 5분간 변성시킨 후, hybridization시키기 전까지 45~50°C의 slide 건조기에 놓아두었다.

3) Hybridization

준비된 슬라이드에 probe를 10 μl를 점적한 후 22 mm×50 mm cover glass의 가장자리에 rubber cement(BORDEN)를 적용하여 수분증발을 막도록 한 다음 수분이 유지되는 상자(Humidity box)에 넣어 충분히 hybridization되도록 37°C의 배양기에서 16시간동안 방치하였다.

4) 세척

슬라이드를 꺼내 Rubber cement를 조심스럽게 제거하고 슬라이드를 72°C의 0.4×SSC(AMRESCO)에 5분간 담궈둔 후 꺼내어, 2×SSC(AMRESCO)에 50 μl 0.5% NP-40를 넣은 용액에 담가 2분간 세척하였다.

그 다음, slide를 말리고 DAPI(4,6-diamidino-2-phenylindole, Vysis)로 대조 염색(counterstain)한 후, -20°C에서 보관하였다.

5) 관찰 및 사진 촬영

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. 사진촬영을 위해서는 KODAK Ektachrome 400 slide film을 사용하였다.

염색체이상 측정방법

본 연구에서는 Tucker 등(1995a)에 의해 제안된 명명법인 PAINT(Protocol Aberration Identification and Nomenclature Terminology)system에 근거하여 염색체이상을 분류하고자 하였다. 이 분류체계는 염색체형 염색체이상만을 대상으로 하는데 염색체이상의 종류를 translocation(t), dicentric(dic), insertion(ins), acentric fragment(ace), 그리고 ring(r)으로 구분하는데, 일반적인 염색체 이상 분류방법과는 차이가 난다. 즉, dicentric이나 ring에 수반되는 acentric fragment도 별도로 분류하게 되며 acentric ring은 ring에 포함하여 분류하게 된다. 특히, insertion은 PAINT 분류체계에서만 분류가 가능하다.

염색체이상 빈도는 painting된 특정 염색체에서만 나타나기 때문에 이 염색체가 전체 genome상에서 차지하는 비율을 계산(Mendelsohn *et al.*, 1973, Lucas *et al.*, 1992)하여 보정하게 되면 전체 genome에서의 염색체이상 빈도를 계

산할 수 있다(Lucas *et al.*, 1989, Tucker *et al.*, 1993).

결 과

통계분석

SAS 통계패키지를 이용하여 성별, 연령 그룹간의 염색체이상 빈도는 Mann-Whitney 검정법 및 t-test로 분석하였으며, 연령, 흡연 등 혼란변수의 영향을 파악하기 위해 다중회귀분석을 실시하였다.

Table 1. General Characteristic of study population with respect to age, sex, smoking and alcohol intake

	Male		Female		Total	
	No. of person	%	No. of person	%	No. of person	%
Age						
20-29	8	28	8	53	16	36
30-39	10	35	4	27	14	32
40-49	5	17	3	20	8	18
50-59	3	10	0	0	3	7
60+	3	10	0	0	3	7
Smoking Status						
No	13	45	14	93	27	61
Yes	16	55	1	7	17	39
Alcohol intake						
No	9	31	7	47	16	36
Yes	20	69	8	53	28	64
Total	29		15		44	

건강한 성인 남녀 44명의 특성은 표 1에서 보는 바와 같다. 본 연구대상자의 평균 염색체재배열의 빈도는 100 cell equivalent 당 상호전좌는 2.45, 삼입 0.32, color junction 3.28 무동원염색체 0.23 및 이동원염색체 0.27로 나타났다.

연령별, 성별 염색체재배열의 빈도는 그림 1, 그림 2, 표 2, 표 3과 같은데 상호전좌, 삼입 그리고 color junction 은 연령에 따라 뚜렷하게 증가하는 경향을 보여 주고 있으며, 이동원염색체 및 무동원염색체는 증가하는 경향을 보여주고 있지만 확실치는 않다. 이는 50-59세 및 60세 이상의 표본수가 각각 3명씩으로 다른 연령층에 비해 상대적으로 적기 때문으로 판단된다.

성별 차이는 표 3에서 보는 바와 같은데 남녀 모두 연령에 따라 각종 형태의 염색체재배열이 증가되는 것을 볼 수 있었으며 50대 이상의 여성이 없음을 감안하여 20-49세 까지만을 대상으로 성별 차이를 분석한 결과 상호전좌는 남성에서 100 cell equivalent 당 1.46으로 여성의 1.43과 비교해 약간 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었으며 삼입은 각각 0.34, 0.39이며, color junction은 각각 2.28, 2.40으로 약간 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

흡연자와 음주자수가 남자에게서만 나타나기 때문에 대상은 20-39세의 남자로 한정하여 흡연 및 음주에 따른 염색체재배열 빈도를 분석한 결과는 표 4, 표 5와 같다.

표 4에서 보는 바와 같이 흡연자군에서 상호전좌 및 color junction의 빈도가 각각 1.12 및 1.57로 비흡연자의

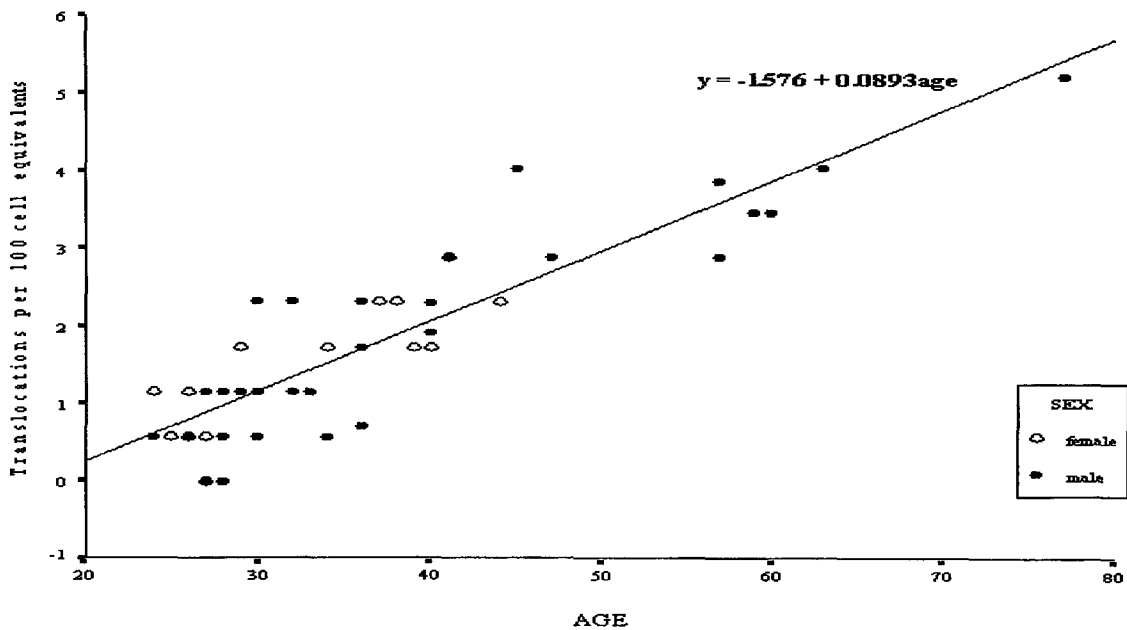


Fig. 1. The frequency of stable translocations by age. The solid line represents the least-squares regression fit to the data ($R^2=0.76548$, $p<0.00001$).

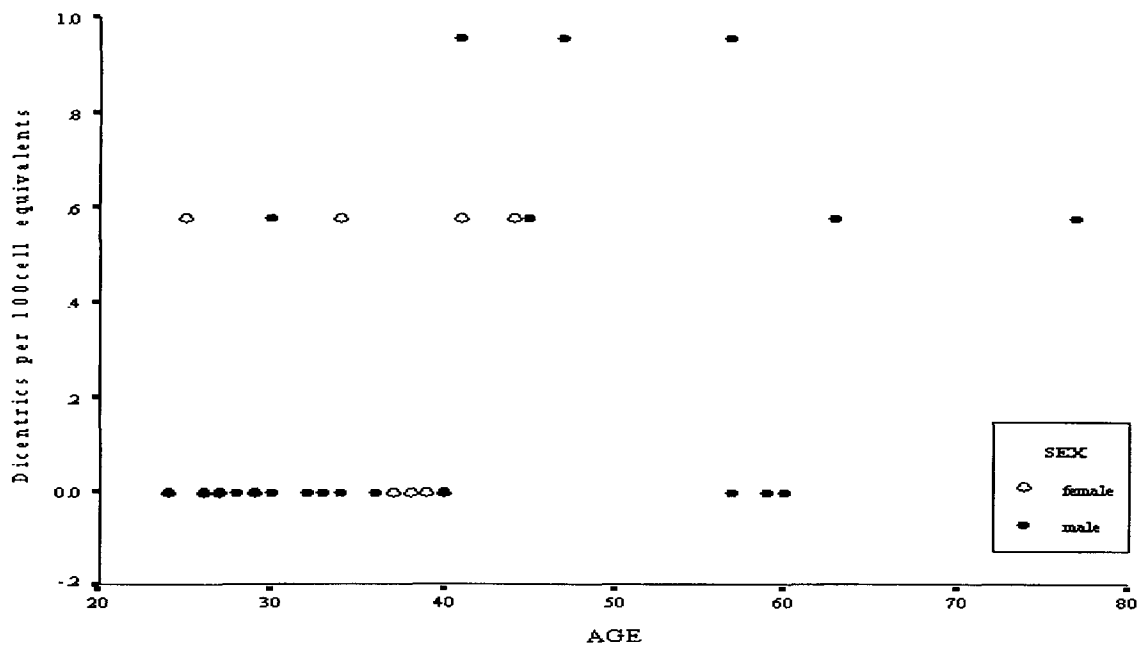


Fig. 2. The frequency of dicentrics by age.

Table 2. Age and frequency of chromosome rearrangement identified by FISH with the DNA probes for chromosome 1, 2 and 4

Age group	No. of persons	No. of cells scored	No. of cell equivalents	Mean No. of stable aberrations per 100 cell equivalents			Mean No. of dicentrics per 100 cell equivalents	Mean No. of acentric fragments per 100 cell equivalents	Mean No. of color junctions per 100 cell equivalents
				Translocations	Insertion	Total			
20-29	16	8000	2752	0.73±0.03	0.22±0.02	0.95±0.03	0.04±0.01	0.04±0.01	1.16±0.05
30-39	14	6900	2373.6	1.59±0.05	0.23±0.03	1.82±0.06	0.12±0.02	0.08±0.02	2.05±0.07
40-49	8	3150	1083.6	2.26±0.14	0.27±0.07	2.53±0.17	0.46±0.05	0.32±0.06	3.15±0.22
50-59	3	1100	378.4	3.43±0.14	0.32±0.24	3.75±0.10	0.32±0.00	0.32±0.00	4.40±0.34
60+	3	1500	516	4.26±0.36	0.58±0.24	4.84±0.55	0.39±0.14	0.39±0.14	5.65±0.90
Total	44	20650	7103.6	2.45±0.05	0.32±0.01	2.78±0.03	0.27±0.01	0.23±0.01	3.28±0.04

Table 3. Sex and frequency of chromosome rearrangement

sex	age group	No. of persons	No. of cells scored	No. of cell equivalents	Mean No. of stable aberrations per 100 cell equivalents			Mean No. of dicentrics per 100 cell equivalents	Mean No. of acentric fragments per 100 cell equivalents	Mean No. of color junctions per 100 cell equivalents
					translocations	insertions	total			
male	20-29	9	4500	1548	0.65±0.06	0.15±0.04	0.80±0.07	0.00±0.00	0.00±0.00	0.94±0.09
	30-39	19	4900	1685.6	1.41±0.08	0.26±0.05	1.73±0.10	0.12±0.03	0.12±0.02	1.93±0.12
	40-49	5	1650	567.6	2.21±0.29	0.42±0.13	2.67±0.36	0.50±0.11	0.34±0.12	3.53±0.44
	50-59	3	1100	378.4	3.43±0.20	0.32±0.23	3.75±0.09	0.32±0.23	0.32±0.23	4.40±0.32
	60+	3	1500	516	4.26±0.36	0.58±0.24	4.85±0.55	0.39±0.14	0.39±0.14	5.62±0.90
Total	29	13650	4695.6	2.39±0.05	0.35±0.02	2.76±0.06	0.27±0.01	0.23±0.01	3.28±0.07	
female	20-29	8	4500	1548	0.80±0.07	0.29±0.04	1.02±0.07	0.07±0.03	0.07±0.03	1.38±0.10
	30-39	4	2000	688	2.04±0.10	0.15±0.08	2.18±0.09	0.14±0.08	0.14±0.08	2.33±0.14
	40-49	3	1500	516	2.33±0.24	0.00±0.00	2.33±0.24	0.39±0.14	0.18±0.14	2.52±0.37
	50-59	0	0	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	60+	0	0	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Total	15	7000	2408	1.03±0.06	0.09±0.02	1.12±0.05	0.12±0.02	0.08±0.02	1.25±0.06	

Table 4. Smoking and frequency of chromosome rearrangement per 100 cell equivalents in male aged from 20 to 39

Smoking status	No. of persons	No. of cells scored	No. of cell equivalents	Mean No. of stable aberrations per 100 cell equivalents			Mean No. of dicentric per 100 cell equivalents	Mean No. of acentric fragments per 100 cell equivalents	Mean No. of color junctions per 100 cell equivalents
				translocations	Insertions	total			
smoking	10	5000	1720	1.12±0.08	0.17±0.03	1.40±0.09	0.12±0.03	0.06±0.02	1.57±0.11
nonsmoking	8	3900	1341.6	0.89±0.09	0.25±0.07	1.22±0.12	0.00±0.00	0.00±0.00	1.40±0.15

Table 5. Drinking and frequency of chromosome rearrangement per 100 cell equivalents in male aged from 20 to 39

Drinking status	No. of persons	No. of cells scored	No. of cell equivalents	Mean No. of stable aberrations per 100 cell equivalents			Mean No. of dicentric per 100 cell equivalents	Mean No. of acentric fragments per 100 cell equivalents	Mean No. of color junctions per 100 cell equivalents
				translocations	Insertions	total			
drinking	14	7000	2408	1.20±0.05	0.17±0.02	1.37±0.06	0.04±0.01	0.04±0.01	1.54±0.07
nondrinking	4	1900	653.6	0.62±0.16	0.36±0.24	0.98±0.20	0.15±0.10	0.00±0.00	1.34±0.53

0.89 및 1.40보다 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

표 5에서 보는 바와 같이 음주에 따른 차이도 음주군에서 상호전좌 및 color junction의 빈도가 1.20 및 1.54로 비음주군의 0.62 및 1.34보다 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

흡연력, 음주력, 성 및 연령이 염색체재배열에 독립적으로 미치는 효과를 분석하기 위해 다중회귀분석을 시행한 결과는 표 6, 표 7과 같은데 연령만이 상호전좌와 이동원염색체에서 유의한 관계를 나타내어 주었다.

토 의

건강한 성인을 대상으로 1, 2, 4번 염색체 Probe를 이용

Table 6. Regression of reciprocal translocations on Age, Sex, Smoking and Drinking

Variables	β^a	S.E. ^b	t	p
Age	0.091	0.007	12.435	0.000*
Sex	0.042	0.0033	0.557	0.580
Smoking	-0.006	0.0032	-0.084	0.933
Drinking	0.077	0.028	1.046	0.302

^aRegression coefficient

^bStandard error

*p<0.00001

Table 7. Regression of dicentric on Age, Sex, Smoking and Drinking

Variables	β^a	S.E. ^b	t	p
Age	0.01	0.004	12.435	0.016*
Sex	0.065	0.017	2.520	0.562
Smoking	0.104	0.107	0.967	0.399
Drinking	-0.102	0.092	-1.114	0.272

^aRegression coefficient

^bStandard error

*p<0.05

하여 염색체재배열을 분석한 결과 연령이 증가함에 따라 상호전좌의 빈도가 증가하는 양상을 보이고 있다. 20대 상호전좌 빈도의 평균을 기준으로 하여 볼 때 30대, 40대, 50대, 60대 이상은 20대보다 각각 2.18, 3.1, 4.7, 5.18배 더 높았다. 성별로 구분하여 여성과 남성 각각에서 연령이 증가함에 따라 상호전좌의 빈도가 증가하는 추세를 보이고 있었으며, 같은 연령층의 남성군과 여성군의 상호전좌의 빈도를 통계분석해 비교해 본 결과 유의한 차이가 없었다.

Tucker 등(1994)도 본 연구에서 사용한 1, 2, 4번 염색체 probe로 정상인의 염색체재배열을 조사하였는데 상호전좌 및 이동원염색체의 빈도 모두 연령에 따라 증가하였다고 보고하였고 Tucker(1996)가 시행한 그 후의 연구에서도 연령에 따라 상호전좌의 빈도가 증가한다고 보고하여 본 연구결과와 같은 양상을 보여주고 있다.

본 연구에서 얻어진 자료를 회귀분석한 결과 $Y = -1.1576 + 0.0893age$ 의 일차방정식으로 나타낼 수 있는데 이는 Tucker 등 (1994)이 구한 $Y = 0.06154 + 0.000304 age^2$ 의 2차방정식과는 차이가 난다.

Tucker 등은 이차방정식으로 나타난 결과를 고연령군에서 DNA 손상회복 능력이 급격히 감소하기 때문이라고 설명하고 있다.

그래서 본 연구의 경우 60세 이상의 연령군이 Tucker 등의 연구와 비교해 훨씬 적으며, 특히 방정식의 곡선부분을 설명해줄 수 있는 70대 이상의 고연령군은 거의 없기 때문에 1차방정식으로 나타난 것으로 설명이 가능하지만 각 개인의 유해환경에의 노출의 차이, 유전적 차이 등도 관여하기 때문에 연령증가에 따른 DNA 손상회복능력이 감소한다는 가설만으로 설명할 수는 없다.

“PAINT 명명법”을 따를 때 대두되는 새로운 개념으로 color junction이 있는데 염색체 이상의 복잡성을 나타내 주는 지표가 된다. 이 지표 또한 상호전좌가 연령이 증가함에 따라 증가하는 결과와 같이 연령이 증가함에 따라 증가하는 추세를 보이고 있다. 그러나, 불안정한 염색체 이상인 이

동원 염색체의 빈도는 연령이 증가함에 따라 일정한 증가 양상을 보이고 있지 않았다. 몇몇연구에서는 이동원염색체의 빈도가 연령에 따라 증가한다고 보고하고 있지만 (Galloway *et al.*, 1986, Bender, 1988) 많은 연구에서는 연령 증가에 따른 차이를 보고하고 있지 않고 있다. 연령증가에 따른 염색체이상빈도가 증가하는 원인으로서 연령증가에 따른 DNA 손상회복 능력의 감소(Wei *et al.*, 1993) 및 약물 복용과 의료용 방사선에 노출되는 횟수가 많았기 때문이라고 설명하고 있지만 DNA 손상회복 능력의 연령이 증가함에 따른 감소 여부는 논쟁의 소지가 있다(King *et al.*, 1997).

본 연구의 결과에서 연령이 증가함에 따른 상호 전좌의 빈도가 20대보다 60대 이상이 5.18배 높다는 것은 시간이 증가함에 따른 위해 요인의 만성적 폭로 효과의 누적 양상을 보여준다고 할 수 있다.

흡연 및 음주 여부에 따른 상호전좌 및 이동원염색체의 빈도의 차이는 통계적으로 유의하지 않았으며 성별차이도 나타나지 않았다. 또한 흡연, 음주, 성 및 연령을 함께 고려한 다중회귀분석결과 연령만이 유의한 변수로 나타났다.

즉 연령이 증가함에 따라 유해물질에 노출될 기회가 증가되어 이로인한 DNA상해가 염색체재배열로 나타나게 되는데, 이동원염색체를 지닌 세포는 불안정하여 치사하게 되어 연령에 따라 증가되지 못하지만 상호전좌를 지닌 세포는 안정하기 때문에 연령증가에 따라 축적되어 나타나는 것으로 설명할 수 있다. 그러나 상호전좌와 이동원염색체를 형성하게 되는 과정에서 DNA의 회복시 오류가 나타나게 되는데 이과정의 기전이 서로 상이하다는 보고(Natarajan *et al.*, 1994, Knehr *et al.*, 1994)도 있으므로 결과의 해석에는 신중을 기해야 할 것이다.

흡연은 염색체이상에 영향을 준다는 보고가 있지만 (Galloway *et al.*, 1986) 그렇지 않다는 보고도(Bender *et al.*, 1989, Chung *et al.*, 1996b) 있다.

FISH 기법을 이용한 염색체재배열을 조사한 연구에서는 흡연에 따른 차이를 보고하지 않았으며(Tucker *et al.*, 1994, Zaire *et al.*, 1996) 또한 성별차이도 없다고 보고하여 (Tucker *et al.*, 1994) 본 연구와 같은 결과를 보여주고 있다.

연령이 증가함에 따라 유해물질에 폭로될 기회가 많기 때문에 본 연구에 상호 전좌의 빈도가 증가하는 사실은 일반인의 “정상 생활 습관”에서 발생할 수 있는 환경내의 유해물질에 만성적 폭로의 결과를 반영한다는 것을 시사해 주고 있다. 따라서 정상인을 대상으로 FISH 기법을 이용한 본 연구의 염색체이상빈도 분석 결과는 앞으로 유해물질에 노출된 인간집단을 감시하기 위한 생물학적 선량계로서 활용하기 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것이다.

참고문헌

Abbott, P.J., (1992): Carcinogenic chemicals in food:

Evaluating the health risk, *Food Chem. Toxicol.*, **30**, 327-332.

Anderson, D., P.C. Jenkinson, R.S. Dewdney, A.J. Francis, P. Godbert and K.R. Butterworth, (1988): Chromosome aberrations, mitogen-induced blastogenesis and proliferative rate index in peripheral lymphocytes from 106 control individuals of the U.K. population, *Mutation Res.*, **204**, 407-420.

Au, W.W., (1991): Monitoring human population for effects of radiation and chemical exposures using cytogenetic techniques, *Occupational Med.*, **6**, 4, 597-611.

Awa, A., Sofuni, T., Honda, T., Itoh, N., Heriishi, S. and Otake, M., (1978): Relationship between the radiation dose and chromosome aberrations in atomic bomb survivors of Hiroshima and Nagasaki, *J. Radiat. Res.*, **19**, 126-140.

Bauchinger, M., E. Schmid, H. Zitzelsberger, H. Braselmann, and U. Nahrstedt, (1993): Radiation-induced chromosome aberrations analysed by two-color fluorescence in situ hybridization with composite whole chromosome-specific DNA probes and a pancentromeric DNA probe, *Int. J. Radiat. Biol.*, **64**, 2, 179-184.

Bender, M.A., R.J. Preston, R.C. Leonard, B.E. Pyatt, P.C. Gooch and M.D. Shelby, (1988): Chromosome aberrations and sister-chromatid exchange frequencies in peripheral blood lymphocytes of a large human population sample, *Mutation Res.*, **204**, 421-423.

Bender, M.A., R.J. Preston, R.C. Leonard, B.E. Pyatt, P.C. Gooch, (1989): Chromosome aberrations and sister-chromatid exchange frequencies in peripheral blood lymphocytes of a large human population sample II. Extension of age range, *Mutation Res.*, **212**, 149-154.

Buckton, K., Hamilton, G., Paton, L. and Langlands, A., (1978): Chromosome aberrations in irradiated ankylosing spondylitis patients, *Mutagen-Induced chromosome damage in Man*, edited by H. Evans and D. Lloyd (Edinburgh: Edinburgh university Press), pp. 142-150.

Chung H.W., E.H. Sohn, H.S. Kee and S.W. Ha, (1996a): Radiation induced chromosome aberration in human lymphocyte detected by fluorescence *in situ* hybridization, *Environ Mutagen & Carcinogen*, **16-2**: 88-96.

Chung H.W., E.K. Ryu, Y.J. Kim and S.W. Ha, (1996b): Chromosome aberrations in workers of nuclear-power plants, *Mutation Res.*, **350**, 307-314.

Cremer, T., S. Popp, P. Emmerich, P. Lichter and C. Cremer, (1990): Rapid metaphase and interphase deletion of radiation-induced chromosome aberrations in human lymphocytes by chromosomal suppression *in situ* hybridization, *Cytometry*, **11**, 110-118.

Galloway, S.M., P.K. Berry, W.W. Nichols, S.R. Wolman, K. A. Soper, P.D. Stolley and P. Archer, (1986): Chromosome aberrations in individuals occupationally exposed to ethylene oxide in a large control population, *Mutation Res.*, **170**, 55-74.

- IAEA, (1986): Biological dosimetry: chromosomal aberration analysis for dose assessment, STI/DOC/10/10/260 IAEA vienna.
- King CM, Bristow-Craig HE, Gillespie ES, Barnett YA, (1997): *In vivo* antioxidant status, DNA damage, mutation and DNA repair capacity in cultured lymphocytes from healthy 75-to 80-year-old humans, *Mutation Res.*, **377**, 137-147.
- Knehr, S., H. Zitzelsberger, H. Braselmann and M. Bauchinger, (1994): Analysis for DNA-proportional distribution of radiation-induced chromosome aberrations in various triple combinations of human chromosomes using fluorescence *in situ* hybridization, *Int. J. Radiat. Biol.*, **65**, 683-690.
- Kourakis, A., M. Mouratidou, G. Kokkinos, A. Barbouti, A. kotsis, D. Mourelatos and J. kozi-Vassiliades, (1992): Frequencies of chromosomal aberrations in pesticide sprayers working in plastic green houses, *Mutation Res.*, **279**, 145-148.
- Lucas, J. N., A Awa T. Strauma, M. Poggensee, Y.kodama, M. Nakano, K. Ohtaki, H-U. Weier, D. Pinkel, J. Gray, and G. Littlefield, (1992): Rapid translocation frequency analysis in human decades after exposure to ionization, *Int. J. Radiat. Biol.*, **62**, 53-63.
- Lucas, J.N., T. Tenjin, T. Straume, K. Pinkel, D. Moor, M. Litt, and J. W. Gray, (1989): Rapid human chromosome aberration analysis using fluorescence *in situ* hybridization, *Int. J. Radiat. Biol.*, **56**, 35-44.
- Nakano, M., E. Nakashima, D.J. Pawell, Y. Kodama, and A. Awa, (1993): Frequency of reciprocal translocation and dicentric induced in human blood lymphocyte by X-irradiation as determined by fluorescence *in situ* hybridization, *Int. J. Radiat. Biol.*, **64**, 5, 565-569.
- Mendelsohn, M.L., B.H. Mayall, E. Bogart, D.H. Moore II, and B.H. Perry, (1973): DNA content and DNA based centromere index of the 24 human chromosome, *Science*, **179**, 1126-1129.
- Morris, R.D., A.-M. Auet, I.F. Angelillo, T.C. Chalmers and F. Mosteller, (1992): Chlorination, chlorination by-products and cancer: A meta-analysis, *Am. J. Publ. Health*, **82**, 955-963.
- Natarajan, A.T., A.S. Balajee, J.J. Boei, S. Chatterjee, F. Darroudi, M. Grigorova, M. Noditi, H.J. Oh, P. Slijepcevic and S. Vermeulen, (1994): Recent developments in the assessment of chromosomal damage, *Int. J. Radiat. Biol.* **66**, 615-623.
- Natarajan, A.T., R.C. Vyas, F. Darroudi and S. Vermeulen, (1992): Frequencies of X-ray induced chromosome translocations in human peripheral lymphocyte as detected *in situ* hybridization using chromosome-specific DNA libraries, *Int. J. Radiat. Biol.*, **61**, 199-203.
- Pinkel D., J. Lamdegent, C. Collons, J. Fuscoe., R. Segraves, J. Lucas and J. Gray, (1988): Fluorescence *in situ* hybridization with human chromosome-specific libraries: detection of trisomy 21 and translocation of chromosome 4, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **85**, 9138-9142.
- Schmid E., Salassidis K., Peter R. U., Braselmann H., Bauchinger M., (1994): Dicentric and translocation analysis for retrospective dose estimation in humans exposed to ionising radiation during the chernobyl nuclear power plant accident, *Mutation Res.*, **311**, 39-48.
- Tucker, J.D., j. Xu, J. Stewart, P.C. Baciuc and T.M. Ong (1986): Detection of sister chromatid exchanges induced by volatile genotoxicants, *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.*, **6**, 15-21.
- Tucker, J.D., M.J. Ramsey, D.A. Lee, and J.L. Hinkler, (1993) : Validation of chromosome painting as a biodosimeter in human peripheral lymphocytes following acute exposure to ionizing radiation *in vitro*, *Int. J. Radiat. Biol.*, **64**, 27-37.
- Tucker J.D., Denise A.L., Marilyn J.R., Briner J., Olsen L., Dan H. Moore II, (1994): On the frequency of chromosome exchanges in a control population measured by chromosome painting, *Mutation Res.*, **313**, 193-202.
- Tucker, J.D., W.F. morgan, A.A. Awa, M. Bauchinger, D. Blakey, M.N. Cornforth, L.G. Littlefield, A.T. Natarajan, and C. Shasere, (1995a) : A proposed system for scoring structural aberrations detected by chromosome painting, *Cytogenet. Cell Genet.*, **68**, 211-221.
- Tucker J.D., (1996): The importance of age and smoking in evaluating adverse cytogenetic effects of exposure to environmental agents, *Environ. Health Persp.*, **104**, Issue 3, 489-500.
- Wei, Q., G.M. Matanoski, E.R. Farmer, M.A. Hedayati and L. Grossman, (1993) : DNA repair and aging in basal cell carcinoma: Molecular epidemiology study, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**, 1614-1618.
- Zaire R., Griffin C.S., Simpson P.J., Papworth D.G., Savage J.R.K., Armstrong S., Hulstein M.A., (1996): Analysis of lymphocytes from uranium miners in Namibia for chromosomal damage using fluorescence *in situ* hybridization, *Mutation Res.*, **371**, 109-113.