

染色体検査技術の水準向上とその応用に関する研究

9・1 各種分染法の開発とその応用に関する研究—1

北海道大学理学部

佐々木 本 道

研 究 目 的

最近数年間に発達した新しい染色体研究法(分染法)を工夫改良して、さらに精度の高い検査法を確立し、各種先天異常における染色体異常と表現型との対応を明確化し、診断の基準とすることを目的とする。

研 究 方 法

(1) 通常のQ, G, Rバンド法によって検出困難な微小なバンドパターンの異同を識別するために、BrdU前処理アクリジンオレンジ蛍光法による前中期染色体のRバンドを分析する方法を改良し、相互転座の検出に応用した。

(2) ヒトおよびチャイニーズハムスターの培養細胞にBrdU ($1.0 \mu g/ml$)を2細胞周期に相当する時間投与した後、染色体標本を作製し、それを1Mリン酸緩衝液(pH 8.0~8.1)に $2.5 \mu g/ml$ の33258 Hoechstを混じた液中で3分間処理($90 \pm 1^\circ C$)し、ギムザ染色することにより、姉妹染色分体を簡単に染め分けることに成功した。

(3) BrdU-アクリジンオレンジ蛍光法により雌性細胞における不活性X染色体を分染する方法を利用して、構造異常を示すX染色体を有するターナー症におけるX染色体不活性化と表現型との相関を追究した。また、この方法をX-常染色体転座系マウスの初期胚に適用し、不活性化の起こる時期、由来などについて追究した。

研究成果および考察

(1) BrdU (5.0 ~ 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で固定前8時間処理を行なうと、それが染色体の後期複製部位にとり込まれ、中期染色体は細長く伸展するので、アクリジンオレンジ蛍光法で観察すると微小なバンドが明瞭に識別できる。この方法により21モノソミーと判定された1例が実際には13/21の転座であり、13q-に相当することが判明した。このことは従来報告におけるG群モノソミーの臨床像の多様性に対して核学的再検の必要性を示唆する重要な知見と考えられる。

(2) 姉妹染色体分染法には種々の方法があるが、従来の方法はBrdU処理標本を長時間光線に露出させるか、蛍光法によって観察する必要があり、実用上の不便さがあつた。ここに開発した新法はきわめて短時間に再現性の高い永久標本を作ることができるという長所がある。この方法により、姉妹染色体交換率を指標として、変異原性物質の検索をすることが可能である。

(3) 構造異常Xを有するターナー症では異常Xのみが選択的に不活性化されることがXq-, r(X)などの例で確認された。これらの表現型は45, X⁻ターナー症とは必ずしも一致せず、不完全な不活性化と正常細胞とのモザイクによる影響が考えられる。

雌マウスにおけるX染色体の不活性化は発生初期(40~50細胞期)に、父または母由来Xのどちらか一方に起こるが、転座系マウスを用いて6.5~8.5月胚についてしらべた結果、卵膜、卵黄嚢などの胚体外膜では父由来Xが選択的に不活性化されることが明らかになった。但し、父由来のXが不活性化されなかった1例の例外では胚仔が形態異常を示していた。同様の現象はおそらく人間にも存在すると考えられるが、不活性化が胎児の発育や妊娠の成立または継続に関して重要な役割を果たすことを示唆する。とくに、胚体外膜における選択的不活性化の意義、機構などについては今後の研究が必要である。

要 約

染色体検査技術の水準向上を目的として、BrdUアクリジンオレンジ蛍光法の改良による微小なバンドパターンの分染法、簡単にして再現性の高い姉妹染色体分染法などを開発した。これらの技術を2, 3の染色体異常の分析に利用

して、新知見を得た。また、雌マウスの胚体外膜では父親由来のX染色体が選択的に不活性化されるという新事実を見出し、その機構が胎児の発育などに重要な役割を果す可能性を示唆した。

発 表 論 文

- 1) 佐々木本道：染色体分染法，東京医学83(4)：272-287，1975。(8月1日発行)
- 2) Funaki, K., Matsui, S. and Sasaki, M. (1975). Location of nucleolar organizers in animal and plant chromosomes by means of an improved N-banding technique. *Chromosoma(Berl.)* 49(4), 357-370.
- 3) Yoshida, M. C., Ikeuchi, T. and Sasaki, M. (1975). Differential staining of parental chromosomes in interspecific cell hybrids with a combined quinacrine and 33258 Hoechst technique. *Proc. Japan Acad.* 51(3), 184-187.
- 4) Kaneko, Y., Ikeuchi, T., Sasaki, M., Satake, Y. and Kuwajima, S. (1975). A male infant with monosomy 21. *Humangenetik* 29(1), 1-7.
- 5) Takagi, N. and Sasaki, M. (1975). Preferential inactivation of the paternally derived X chromosome in the extraembryonic membranes of the mouse. *Nature(Lond.)* 256(5519), 640-642.

↓ **検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

研究目的

最近数年間に発達した新しい染色体研究法(分染法)を工夫改良して,さらに精度の高い検査法を確立し,各種先天異常における染色体異常と表現型との対応を明確化し,診断の基準とすることを目的とする。