

### 9・3 各種分染法の開発とその応用に関する研究—3歳前及び5歳前の子供の

染色体異常の診断に際しての意義を明らかにし、その臨床的意義を明らかにする。

研究機関 国立遺伝学研究所 前橋市本庄1-1-1

中 込 弥 男

研究期間 昭和57年度～昭和58年度

研究の目的 本年度の研究の目的は、(1)本年度の目標は、

本年度の目標は1)本態のはっきりした分染法の開発及び、2)分染法の応用により新しい染色体異常症候群を分離独立させることの2点である。従来の分染法は分染の機構やバンドの本態が不明である事実をふまえ、バンドの本態がはっきりした方法を用いれば一歩進んだ分析が可能となることから、目標1)が設定された。当面はS期の最初の5分間に合成されるDNAの分布に基づく分染法(E-Rバンド)の開発が目標である。2)の意義は、新しい染色体異常の独立により先天異常のうちから原因不明のグループが減少することはもち論、この方向での研究が進むと9pトリソミーや7p末梢部のモノソミーなどという診断をダウン症や18トリソミーなどの場合と同様に臨床的に下すことが実現すると予想されることにある。これは先天異常の診療、研究にとり大きな進歩であろう。またルーチン的な染色体分析は臨床的にピックアップされた症例の確認などの場合のみに必要となり、生じた余力はより新しい疾患やより新しい応用を求めての研究に振り向けることができる。

(2)本年度の目標は、(1)本年度の目標は、(2)本年度の目標は、

研究の方法 (1)本年度の目標は、(2)本年度の目標は、

(1) S期の最初の5分間に合成されるDNAの分布を知るためには、(a)G-1とS期の境界に高度に同調した細胞集団を集めること、(b)それらが一斉にS期に入ること、(c)最初の5分以内とそれ以後に合成されたDNAとを確実に精度良く識別する、などの条件が満たされなければならない。(a)と(b)の目的には薬品、温度、機械的な方法など種々な同調法及びその組み合わせを検討した。(c)の目的には、従来のオートラジオグラフィは分析精度が不十分と考えられたので、DNA複製に際して種々なアナログを加えその分布を染色体レベルで検出する方法を検討した。

(2)の目的には、既知の染色体異常症候群に属さない先天異常の症例に対して、

昨年までに開発した改良トリブシン法を中心に、Q、C、R、Cdバンド法などによる検討を加え、異常を認めた例については表現型と染色体所見の対応関係樹立を目的に、詳細な臨床的な検索を行なった。

## 研 究 成 果

(1) G1とS期の境界を目標とする同調法としては、線維芽細胞に対する分裂期細胞の選択的剝離とFUdRによるDNA複製の阻止の組み合わせが、2重サイミジンブロックと並んで、良好であった。特に前者は少量のサイミジン投与によりブロックを瞬間的に解除できる点から、本研究の目的に最適であった。開始5分以内に複製されたDNAの識別には、サイミジン投与5分後にBUdRを加え、BUdRを含むDNAと含まぬ部分を分染する方法によった。但し姉妹染色分体を識別するFPGなどの既存の技術は、本来DNAの2本鎖の内1本のみBUdRを含むものと2本共含むものを染め分ける方法であるため、そのままでは使用できなかった。本研究の目的には全くBUdRを含まぬDNAと1本含む部分を識別する必要があるが、これはBUdRの濃度を50ないし100倍増すなどの改良を加えることにより達成した。本法はS期の最初の5分間に合成されたDNAを指標とするので、ER (early replicating) バンドと命名した。

ERバンド陽性(強染または蛍光を発する)部の内多くは、Gバンド法により淡染するバンドと大きさ形などが完全に一致していることが分った。これは染色体上のバンドがDNA複製の開始の調節にあたりそれぞれ単位をなしていることを示す。女性のX染色体の内1本は全体として複製の開始が遅れているため、分裂中期核板中で容易に指摘可能であったが、長腕にER法で陽性のバンドが観察された。Xの不活性化(Lyonization)が不完全である可能性を合せ考えると、きわめて興味深い知見であり、今後追求を続ける予定である。常染色体については、総てのバンドが複製の単位となっているのか、構造異常の発生に際して個々のバンドの複製のタイミングと切断の起りやすさの関係などについて、今後検討を続ける予定である。

(2) 原因不明の先天異常症候群の症例に対する分染法による検討の結果の内特記すべき成果を記すと、まず染色体の同一の区間についてモノソミーの細胞

とトリソミーの細胞を合せ持つモザイクの同定に成功したことが挙げられる。これは著者の知る限りでは従来の文献に例がない。r(9)については、9p-を主とする群とこれと異なる臨床像を示す症例と2種が実際に存在することを明らかにした。また9pter からq21までの区間のテトラソミー、4p-, 9p-などのトリソミーなどの同定にも成功した。タンドム転座を持つ例の切断点の同定から、21q22バンドの完全なトリソミーは定型的なダウン症の発生における必要条件ではないことも明らかにした。

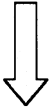
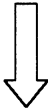
### 要 約

S期の最初の5分間において複製されるDNAの分布に基づくERバンド法を開発した。この方法はX及び常染色体の構造異常、Xの不活性化の問題などの解析にきわめて有力な手段となることがわかった。また著者の改良トリブシン法を用いて、幾つかの新しい染色体異常症候群を分離独立させることに成功した。

### 発 表 論 文

- 1) Nakagome, Y., Kobayashi, H. (1975), Trisomy of the short arm of chromosome 10. *J. Med. Genet.* 12(4), 412-414.
- 2) Nakagome, Y., Chiyo, H. (1976). Nonrandom distribution of exchange points in patients with structural rearrangements. *Amer. J. Hum. Genet.* 28(1), 31-41.
- 3) Chiyo, H., Nakagome, Y., Matsui, I., Kuroki, Y., Ono, K. (1975). Two cases of 8p trisomy in one sibship. *Clin. Genet.* 7(4), 328-333.
- 4) Chiyo, H., Kuroki, Y., Matsui, I., Yanagida, K., Nakagome, Y. (1975). A 6p trisomy detected in a family with a 'giant satellite'. *Humangenet.* 30(1), 63-67.
- 5) Iinuma, K., Nakagome, Y., Higurashi, M. (1975). A de novo translocation t(6q+;15q-) in a boy with trisomy 21. *Jap. J. Hum. Genet.* 20(2), 147-151.

- 6) Iinuma, K., Ohzeki, T., Ohtaguro, K., Higashihara, E., Tanae, A., Nakagome, Y. (1975). Y-chromatin positive cells in the smear preparations of the gonad from an XX male. Humangenet. 30(2), 193-196.
- 7) 中込弥男(1975). 染色体領域における最近の進歩, 分染法による染色体異常の整理と新しい症候群の独立. 先天異常, 15(3), 139-149.
- 8) 中込弥男(1975). 新しい染色体異常症候群, 医学のあゆみ, 95(8), 310-312.
- 9) 中込弥男(1975). ヒト染色体の分染, 分染のメカニズムを中心に, 遺伝, 29(6), 36-42.
- 10) 中込弥男(1975). 染色体異常の出生前診断. 第19回日本医学会総会誌, 8-28, 773-774.
- 11) 中込弥男(1975). 染色体異常の出生前診断. 産科と婦人科, 42(5), 675-682.

 **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

本年度の目標は 1)本態のはっきりした分染法の開発及び、2)分染法の応用により新しい染色体異常症候群を分離独立させることの2点である。従来の分染法は分染の機構やバンドの本態が不明である事実をふまえ、バンドの本態がはっきりした方法を用いれば一歩進んだ分析が可能となることから、目標 1)が設定された。当面はS期の最初の5分間に合成されるDNAの分布に基づく分染法(ERバンド)の開発が目標である。2)の意義は、新しい染色体異常の独立により先天異常のうちから原因不明のグループが減少することはもち論、この方向での研究が進むと9pトリソミーや7p末梢部のモノソミーなどという診断をダウン症や18トリソミーなどの場合と同様に臨床的に下すことが実現すると予想されることにある。これは先天異常の診療、研究にとり大きな進歩であろう。またルーチン的な染色体分析は臨床的にピックアップされた症例の確認などの場合のみに必要となり、生じた余力はより新しい疾患やより新しい応用を求めての研究に振り向けることができる。