

## 細分課題 9

### 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

新しい染色体研究法（分染法）を工夫改良して、さらに精度の高い有用な検査法を確立し、先天異常の成因、染色体異常と表現型との対応を究明し、診断と予防に役立てる。

#### 研究方法と研究成果

##### (1) Ethidium bromide (EB) による分染法

核酸合成阻害剤であるEBをヒトの培養リンパ球に投与すると、分裂前期から前中期の細胞が高頻度に蓄積されることを見出した。この時期の染色体は中期染色体よりもはるかに細長く伸展しているので、精細な分染パターンの分析には絶好である。EBの投与量と処理時間に関する予備実験により、次のような条件でトリプシンGバンド法を併用するときれいな分染像が得られることがわかった。

EB ( $2 \sim 20 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) を固定前1~5時間投与すると、分裂前期~前中期細胞が全分裂細胞の40~50%に達する。これにコルセミド処理を併用し、通常のトリプシン法によりGバンドを分染する。この方法によると、現在確立されている分染パターンよりもはるかに精細なバンドを検出することができる。染色体構造異常をより厳密に、かつ効率的に解析することができる。

##### (2) BrdU-AO法によるX染色体不活性化の研究

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ことは前年度報告したが、同様の現象がラットの卵黄膜にも見られることをBrdU-AO法により確認した。ラットのX染色体には多型がみられ、系統によって

短腕を有するもの（Xst）と短腕のないもの（Xt）とがある。Xst Xst × Xt YおよびXt Xt × Xst Yの交配によるXst Xt 胎仔（10.5日令）15例について、BrdU-AO法により異周期性Xの由来をしらべた結果、胚体そのものについては平均57%，卵黄膜については93%の細胞が父由来のものであった。

### (3) $H^3$ -TdRとBrdU-AOとの二重ラベル法によるX染色体分染とその応用

A/He × Cattanach 転座マウスの6.5～7.5日雌胚を用い、培養系において2周期に亘る細胞分裂を進行させ、最初のS期は $H^3$ -TdR ( $5\mu Ci/ml$ )で、2回目のS後期はBrdU ( $100\mu g/ml$ )でラベルし、オートラジオグラフィーおよびAO螢光法により、同じ細胞における異周期性Xの行動を転座Xを指標として追跡した。その結果、一度異周期化したXは次の分裂サイクルでも異周期性を示すことが確認された。このことは上述の胚体外膜における父由来Xの不活性化は異周期化の逆転によるものではないことを裏付けるものである。

## 考 察

EBによる分染法は新しい方法であり、実用上の価値が高い。前期～前中期の蓄積はG<sub>2</sub>から中期への移行が遅延するためと思われ、この過程を制御するRNA合成の存在が示唆される。他のRNA阻害剤についても検討中である。

胚体外膜における父由来Xの不活性化と不活性化の不可逆性に関する実験結果は、これらが胎児の発育や妊娠の成立と継続に重要な意義を有することを示唆するもので、今後は発生異常との関連を追究する予定である。また、 $H^3$ -TdRとBrdU-AOによる二重ラベル法は利用価値の高い新しい方法である。

## 要 約

EB前処理により精度の高いGバンド法を確立した。BrdU-AO法により、雌ラットの卵黄膜では父由来Xが選択的に不活性化することを認めた。 $H^3$ -TdR-BrdU二重ラベル法を考案し、X染色体不活性化の不可逆性を立証した。

## 発 表 論 文

- 1) Sasaki, M. (1976). A rapid staining technique for sister chromatid differentiation. Chrom. Inform. Serv. 20 : 26-27.
- 2) Ikeuchi, T., Kondo, I., Sasaki, M., Kaneko, Y., Kodama, S. and Hattori, T. (1976). Unbalanced 13q/21q translocation: A revised study of the case previously reported as 21-monosomy. Hum. Genet. 33(3) : 327-330.
- 3) Wake, N., Takagi, N. and Sasaki, M. (1976). Non-random inactivation of X-chromosome in the rat yolk sac. Nature 262(5569) : 580-581.
- 4) Kondo, I. and Sasaki, M. (1975). Karyotype phenotype and DNA replication patterns of structurally abnormal X chromosomes in two cases of Turner's syndrome, With English summary. La Kromosomo 100 : 3155-3161.
- 5) 佐々木本道 (1976). 羊水穿刺による診断, 染色体異常. 出生前の医学, 第2版, 医学書院.

**↓ 検索用テキスト OCR(光学的文書認識)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**

新しい染色体研究法(分染法)を工夫改良して、さらに精度の高い有用な検査法を確立し、先天異常の成因、染色体異常と表現型との対応を究明し、診断と予防に役立てる。