

京都府立医科大学

阿部達生

研究目的

キナクリン染色をはじめとする染色体分染法の進歩で、ヒトの染色体は微細な部分まで識別できるようになった。しかし、これらの方法をもってしても同定の困難な染色体異常にそう遇することも稀でない。この点を考慮し、染色体同定の精度を高める目的で、BUdRで細胞を前処理する方法について研究を進めてきた。今回、BUdRを取り込ませた細胞についての種々の分染法で得られた成績とその応用について報告する。

研究方法

末梢リンパ球を型の如く培養，固定前の種々の時間に，終濃度 $100r/ml$ のBUdR(5-ブロモデオキシリジン)を4時間作用させ，その後数回Hanks液を用いて洗滌，終濃度 $100r/ml$ のサイミジンを含む培地に移しかえる。コルヒチン処理後，標本を作成するが，従来の火焰固定によらず，予めフリーザーの中で冷却しておいたスライド・ガラスに細胞液を滴下， $70^{\circ}C$ の温風ですみやかに乾燥させるようにした(Abeら，1975)。この標本を(i) $100r/ml$ のアクリジンオレンジ(A. O.)で4分間染色，(ii) $0.5r/ml$ の33258ヘキストで10分間染色，いずれも水洗後水で封入，暗所に4～5時間放置後蛍光顕微鏡による観察。(iii) 33258Hoechstで上述の如く染色後蛍光灯照射と引き続きギムザ染色(FPG法)，(iv) 通常のQ-染色をほどこし，写真撮影後脱色，同一標本にC-染色を施す。これら染色法で得られた所見は通常の方法で得たR-バンドや我々の報告したヘキストバンドと比較し考察した。

研究成果

- (1) DNA複製バンド

アクリジンオレンジ、33258ヘキストのいずれを用いても、暗く染色される部分はBUdRが取り込まれる部位であり、明るく染まる部分はサイミジンによる複製の行なわれた部分である。S'期のはじめにBUdRを作用させるとQ-バンドにはほぼ一致した分染像が得られた。したがって、早期複製部位はnegative Q-バンドに一致することが知られた。S'期の終りにBUdRを作用させると、R-バンドにはほぼ一致した分染像の得られたことから、後期複製部位はpositive Q-bandsに概ね一致することがわかった。BUdRがS期の半ばで取り込まれると、個々の染色体でQ-バンドを示す部位と、R-バンドを示す部位が同時に観察され、複製が非同調的に進行している所見を得た。それ故、中期の複製を解析するに際してはA、O、或いはヘキスト染色を一度脱色し、同一標本でQ染色を施し、個々の染色体を同定する必要があった。

(2) DNA複製バンドの染色体同定への応用

S'期の終りに大量のBUdRを作用させると、R-バンドが得られると同時に後期複製する着糸点近傍のヘテロクロマチンはdespiralizationをおこし、著明に伸展する。本法と我々が先に報告したC-染色法(Sumner, 1972)の変法を用いて、通常のQ-, C-, G-染色法では同定不能であった染色体がNo 9染色体の短腕と長腕の一部が関与するiso-dicentric染色体であることを突き止めた。すなわち、多発疇型を有する患児にみられた1個の過剰染色体はC-群染色体に酷似し、monocentricな形態を示したが、バンドはいずれの染色体とも一致をみなかった。C-染色をほどこしたところ、濃染部位が異常に大きかったが、それ以上の情報は得られなかった。ところがC-変法を用いたところ、この濃染部位は2個に分かれ、中心に微小なeuchromatinがそう入されている所見を得た。あらためてBUdRを取り込ませた分裂中期細胞を、A O-, 33258ヘキストで染色すると、この染色体は微小なeuchromatinを中心に対称的な形態を示し、先程のC-band regionは染色陰性で、著明に伸展していた。このような所見から、No 9染色体の短腕と長腕の一部(2次狭窄部)の関与するイソ染色体が示唆された。最終的に、Q-染色とC-染色のdual karyo typeを作成することによりtdic(9)(9pter → 9q2101)と同定した。通常の染色で、monocentricな形態を示したのはおそらく一方のcentromereが不活性を受けたためでないかと考えている。

考 察 と 結 論

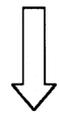
培養細胞にBUdRを導入したときの種々の分染法について検討した知見を中心にのべた。以下要約すると、①DNA複製はnegative Q-bandsにはじまりpositive Q-bandsに終ることが知られた。これは現在も不明の部分が多い分染の機序を知る上で興味ある知見といえる。②DNA複製の研究は従来、専ら、オートラジオグラフィーによってきたが、本法を用いることで複製の推移をはるかに高い精度で調べることが可能になった。ただこの場合、染色体個々の同定が必要になり、A. O., ヘキスト染色標本を蛍光顕微鏡で観察後脱色、改めてQ-染色をほどこすという手技で可能になることを確かめた。FPG法の場合、このような後染色に依る同定法がない点に問題が残される。③BUdRの作用時間を適当に設定することで複製バンドはR-或はQ-(G-)バンドとして同定法に充分応用され得ることを確かめた。熱処理や蛋白分解酵素処理が不要で、きわめて有用と考えられる。④BUdRがS期の終りに取り込まれると後期複製部位がdespiralizationをおこし、著明に伸展するため、通常分染法で同定困難な場合にも有力な解析手段となる。なおQ-染色をほどこすと上述の利点はあるが、濃淡バンドはBUdRを加えない標本に較べ不鮮明になる。⑤BUdR処理をしない標本をヘキストで染色するとQ-バンドと同時にC-バンドが描出される。すなわち、ヘキストバンド(Q+Cバンド)の逆がR-バンドという関係が得られる。

発 表 論 文

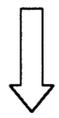
- 1) Abe, T., Morita, M., Sawai, K., Ogawa, H., Misawa, S., and Chishiro, H. 1976. Trisomy 9p found in two sibs resulting from maternal translocation. *Jap. J. Human Genet.* 21, 169-175.
- 2) Abe, T., Morita, M., Kawai, K., Misawa, S., Takino, T., Hashimoto, H., and Nakagome, Y. 1977. Partial tetrasomy 9(9pter → 9q2101) due to an extra iso-dicentric chromosome. *Ann. Genet. (Paris)* 20, 111-114.

- 3) Misawa, S., Takino, T., Morita, M., Abe, T., and Ashihara, T. 1977. Staining properties of a benzimidazol derivative "33258 Hoechst" and a simplified staining method for chromosome banding. *Jap. J. Human Genet.* 22, 1-9.
- 4) Nakano, S., Okuno, T., Hojo, H., Misawa, S., and Abe, T. 1977. 18p- syndrome associated with hemivertebrae, fused ribs and micropenis. *Jap. J. Human Genet.* 22, 27-32.
- 5) Kameyama, J., Tsuruuawa, M., Nakano, H., Shimizu, S., Okuda, R., Morita, M., and Abe, T. 1977. Trisomy for the long arm of the chromosome 18 due to de novo 18/21 translocation. *Jap. J. Human Genet.* 22, 11-15.
- 6) Misawa, S., Takino, T., Morita, M., and Abe, T. 1977. Sister chromatid exchanges in vivo and in vitro. *J. Kyoto Pref. Univ. Med.* 86, 113-120, 1977.
- 7) 阿部達生, 森田益次, 三沢信一, 1977. 慢性骨髄性白血病, 臨床科学 13 (2), 142-150.
- 8) 阿部達生, 三沢信一, 1977, 血液疾患と染色体異常診断, 予後判定・病気の進展とのかかわり, 臨床血液 18 (6), 771-776.
- 9) 森田益次, 阿部達生, 川井啓市, 沢井公和, 三沢信一, 滝野辰郎, 1977. 京府医大誌 86 (3), 202-204.
- 10) 三沢信一, 沢井公和, 井出透, 藺田精昭, 竹村周平, 滝野辰郎, 森田益次, 阿部達生, 神崎光也, 1977, 慢性骨髄性白血病の慢性期におけるDCMP療法とPhiladelphia 染色体陽性細胞の変動, 臨床血液 18 (9), 1121-1127.
- 11) 大塚(浦野)俊子, 杉本徹, 中尾浩二, 沢田淳, 島田司己, 楠智一, 山口希, 阿部達生, 安芸宏信, 沢井公和, 1977. ataxia-telangiectasia の兄弟例-臨床所見の異同と病因について-. 日児誌 81 (9) 754-762.
- 12) 藺田精昭, 沢井公和, 三沢信一, 滝野辰郎, 阿部達生, 岡部英俊, 1977. 急性骨髄性白血病の1例にみられた尿酸性腎症, 臨床血液 18 (10), 1241-1245.

- 13) 沢井公和, 藺田精昭, 大熊誠太郎, 三沢信一, 滝野辰郎, 増田正典, 森田益次, 宮岡孝幸, 阿部達生, 川井啓市, 奥田 三, 大川原康夫, 中元俊夫, 1977. フトラフル坐剤とピシバニールの併用による進行癌の免疫化学療法, 日癌治誌, 12(3), 328-335, 1977.
- 14) 沢井公和, 三沢信一, 藺田精昭, 大熊誠太郎, 井出透, 門野昭博, 滝野辰郎, 森田益次, 阿部達生, 1977. 油性ブレオマイシンによる悪性リンパ腫, 肺癌の化学療法, Chemotherapy 25(8), 2332-2337.



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

キナクリン染色をはじめとする染色体分染法の進歩で、ヒトの染色体は微細な部分まで識別できるようになった。しかし、これらの方法をもってしても同定の困難な染色体異常にそう遇することも稀でない。この点を考慮し、染色体同定の精度を高める目的で、BUdR で細胞を前処理する方法について研究を進めてきた。今回、BUdR を取り込ませた細胞についての種々の分染法で得られた成績とその応用について報告する。