

染色体バンド特異的描画法の開発 — 染色体構造異常の診断への応用 —

(分担研究：遺伝性疾患をもつ小児の生活管理・指導に関する研究)

新川詔夫、吉浦孝一郎、

鄧漢湘、R.W.Dirks

要約：染色体バンド特異的描画法を開発した。特定染色体バンド部分を顕微鏡下にマイクロ切断しPCR法にて染色体DNAを増幅後、蛍光in situハイブリダイゼーション(FISH)を行った。全X染色体および全Y染色体からのPCR産物はそれぞれの染色体全般にわたってhybridシグナルを示し、8q24.1部分からのPCR産物は同バンド部分のみにシグナルを示した。本法は種々の染色体異常症の診断に応用できる。

見出し語：染色体描画、染色体診断、染色体マイクロ切断、蛍光in situ hybridization

【目的】

由来不明の染色体（マーカー染色体）をもつ先天異常患者をみることがある。従来の染色体検査法ではこの種のマーカー染色体の同定は困難であり、賭的に既知のDNAプローブを用いたサザン法による量的解析が唯一可能な同定法であった。これらのマーカー染色体や構造異常染色体の同定・診断を細胞遺伝学的に行うため染色体バンド特異的描画法(chromosome band-specific painting)を開発するのが本研究の目的である。

【材料と方法】

(1)Microdissection：ヒト中期核板を用意し、全X染色体、全Y染色体、8番染色体q24.1、および15番染色体q11.2バンド部分を倒立顕微鏡下でガラス針を用いて物理的に切り出し(microdissection)、同一染色体あるいは同一バンド部分5個を集め、1mlのproteinase Kで消化し、phenol/chloroform法でDNAを抽出後、universal primerを用いてPCRを行った。

(2)蛍光in situ hybridization (FISH)：PCR産物をbiotinated dUTPでラベルし、total human genomic DNAをcompeti

長崎大学医学部原爆後障害医療研究施設先天異常（遺伝学）部門；

Department of Human Genetics, Nagasaki University School of Medicine

torとしてhybridizationを行い、染色体標本上で再びhybridizationを行った。次いで、avidin-FITCを結合させ、DAPIまたはPIでcounter染色した。

[結果と考察]

全Y染色体のPCR産物はY染色体長腕部分のみに強度のシグナルを示した。これはQFQ分染のパターンに一致した。全X染色体由来のPCR産物はX染色体全体以外にY染色体短腕先端にもシグナルを示した。このことは、このPCR産物は偽常染色体性DNAを含んでいることを示す。いずれも産物も性染色体異常症の診断に有効と考えられる。

15q11.2由来PCR産物は、1,9,15,16番染色体およびY染色体の着糸点付近に強度の蛍光シグナルを示した。このパターンはDM/DAPI分染のそれと類似していた。これは15q11.2のディセクションの際に着糸点を含んで切断したため、PCRで着糸点由来DNA断片が選択的に増幅したためか、あるいは、繰り返し配

列が多い着糸点付近が選択的にhybridizeしたのかも知れない。この15q11.2由来プローブは15番染色体の構造異常解析に有効と思われる。

8q24.1由来のPCR産物は同バンド部分にシグナルを示した。即ち、バンド特異的であった。このことはヒトhaploid set中にみられる約400バンド全ての特異的プローブの作製が可能であることを示唆する。バンド特異的プローブは、染色体異常の診断のみならず、遺伝子mappingにも大いに貢献できると考える。

[文献]

1. 陣野吉廣、新川詔夫：PCRを用いた染色体特定領域からの直接クローニング -microdissection-microcloning 法-、実験医学 8: 1052-1057,1990
2. Jinno Y, Yoshiura K, Niikawa N: Use of psoralen as extinguisher of contaminated DNA in PCR. Nucleic Acids Res 18:6739, 1990



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



要約：染色体バンド特異的描画法を開発した。特定染色体バンド部分を顕微鏡下にマイクロ切断し PCR 法にて染色体 DNA を増幅後、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション(FISH)を行った。全 X 染色体および全 Y 染色体からの PCR 産物はそれぞれの染色体全般にわたって hybrid シグナルを示し、8q24.1 部分からの PCR 産物は同バンド部分のみにシグナルを示した。本法は種々の染色体異常症の診断に応用できる。