

## 動物の染色体と核型

高井 明德\*

大阪信愛女学院短期大学

---

*Human and Environment* Vol. 9 (2016)

### Animal Chromosomes and Karyotypes

Akinori Takai

Osaka Shin-Ai College

染色体は DNA の担体であり、細胞分裂の中期に最も凝縮し、特有の形態を示す。中期染色体の形態的特徴に基づき染色体構成を示したものが核型である。核型は原則として種に固有のものである。従って核型研究は、進化系統学的研究において重要な役割を果たしてきた。動物の染色体研究の本格的な発展は 1956 年の Tijo と Levan による新しい染色体標本作製法によるヒトの染色体数  $2n = 46$  の解明に端を発している。新しい染色体標本作製法により明瞭な染色体像を得て正確な染色体数の算定が可能になり、核型も明確に示されるようになった。1970 年代に入り、Q-バンド染色をはじめとした染色体分染技術が開発され、染色体分析の精度は大きく向上した。最近では FISH 法による染色体分析が進み、DNA レベルでの新たな染色体研究が進展している。本稿では、進化系統学的研究を目的とする動物の染色体研究を行う上での基礎として、中期染色体の構造と形態的特徴、核型と核型変化、および関連事項について解説する。

---

### 1. はじめに

「染色体」(chromosome) は、遺伝子の化学的本体であるデオキシリボ核酸 (DNA) とヒストンを主とするタンパク質の複合体である。染色体は、細胞分裂期に凝縮し、観察可能な姿となって現れ、細胞分裂中期に最も凝縮し、特有の形態を示す。“chromosome” は細胞分裂時に現れる塩基性色素によく染まる物体として、1888 年 Waldeyer により命名された。

染色体の研究は 1800 年代後半から始まり、1882 年 Flemming により最初にヒトの染色体が報告された。1900 年代に入ると、配偶子形成時の染色体の挙動がメ

ンデルの法則に従うことから、染色体は遺伝子の担体であるとする「染色体説」が Satton により唱えられ、さらに Morgan 学派によりショウジョウバエの研究において遺伝子は染色体上に線状に配列していることが実証され (遺伝子説)、遺伝学における染色体研究の重要性が認識されるようになった。

ヒトの染色体数については、1912 年 de Winiwarter が 47 本説を出し、性染色体構成が XO/XX 型で、男性は 47 本、女性は 48 本であると推論した。1923 年 我国の小熊と木原も同様の結果を発表した。一方、同年 Painter は Y 染色体の存在を認め、XY/XX 型の 48 本説を出し、以後、47 本説と 48 本説の間で論争が続いた。

しかし、当時の固定切片法により作製された染色体標本では明瞭な染色体像を得ることは難しく、正確な染色体数の算定さえ容易ではなかった。そこで、固定切片法に替わる新しい染色体標本作製のための方法が模索され、1950 年前後に細胞培養法、コルヒチン処理法、低張処理法、押しつぶし法が開発された [1-6]。

---

\*大阪信愛女学院短期大学

〒538-0053 大阪市鶴見区鶴見 6-2-28

E-mail: takai@osaka-shinai.ac.jp

受付: 2016 年 1 月 20 日

©2016 大阪信愛女学院短期大学

1956年 Tijo と Levan は、これら一連の新しい染色体標本作製法を統合し、明瞭な染色体像を得て、ヒトの染色体数が  $2n = 48$  ではなく、 $2n = 46$  であることを解明した。新しい方法では細胞培養により多数の分裂細胞を得て、紡錘糸形成阻害剤のコルヒチン処理により細胞分裂中期の細胞を蓄積し、低張処理により細胞を膨化させ、押しつぶし法により分散した形態の明瞭な染色体像が得られた[7]。

これにより、染色体研究の新しい時代の幕が開かれた。以後、人類の染色体研究は急速に進み、ダウン症候群をはじめ染色体異常が原因の先天性疾患が次々と明らかにされるなど、臨床医学研究に染色体研究が重要な関わりをもつようになった。一方、動物全般にわたり染色体研究が進み、分類学や進化系統学の発展に大きく貢献した。これらの発展には押しつぶし法に替わる空気乾燥法や血液培養法等、標本作製法の改良開発も貢献した[2-6]。

1970年代に入り、Caspersson らにより開発された Q-バンド法に端を発し、染色体上に特定の縞模様であるバンドを染め出す染色体分染法（バンディング法）が次々と開発され、個々の染色体だけでなく、その部分的同定までも可能となり、染色体分析の精度が飛躍的に向上し、染色体研究は大きく発展した[2-6]。

1957年 岡田善雄らによりセンダイウイルスによる人為的細胞融合法が発見され、その応用により体細胞遺伝学や細胞工学等の分野が誕生し[8]、細胞融合法の応用による染色体の遺伝子マッピング等が進み、また、フローサイトメーターやセルソーターの発展により染色体の定量的な分析や染色体の分離が可能となり、染色体研究も新たな方向への発展が進んだ [5,6,8-10]。

1990年代になると、遺伝子やゲノムの染色体上へのマッピングを直接可能にする蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) 法の応用が進み、DNA レベル、分子レベルでの新たな染色体研究が進展している [5,6,10-24]。

染色体は元々細胞分裂時に現れる構造体に対して与えられた名称であり、長らく染色体研究の主な対象であったため、細胞分裂時の染色体、特に細胞分裂中期の「中期染色体」(metaphase chromosomes) が染色体として扱われてきた。現在、細胞分裂期に関わらず、真核細胞のゲノム DNA とタンパク質の複合体を染色体として扱うようになっている。さらにバクテリアやミトコンドリア等の DNA も含めることもある(バクテリアの場合は一般に核様体という) [1]。

中期染色体の形態的特長をふまえ、染色体構成を示したものが「核型」(karyotype) である。核型は原則として種において固有のものである。よって、核型は種を代表する一形質であり、核型研究は広く動植物で進められ、分類や進化系統関係の解明に重要な役割を果たしてきた[1,2,6,25-28]。

本稿では、進化系統学的研究を目的とする動物の染色体研究を行う上での基礎として、中期染色体の構造と形態的特徴、核型と核型変化、および関連事項について、ヒトを含む哺乳類を中心に解説する。本稿は、全般的に細胞遺伝学の基本的な内容を扱っているため、引用文献として主に原論文ではなく成書や総説を掲げた。詳細についてはそれらを参考にされたい。なお、染色体の構造や機能、細胞周期や細胞分裂のしくみと染色体の動態等に関する分子レベル・遺伝子レベルの研究が、ここ 20 年ほどの間に急速に進み、染色体研究の世界は一変した[11-24]。これらの内容については、本稿のテーマとの関わりで必要な部分のみ述べる。

## 2. 染色体の形態と構造

### 2.1. 細胞周期と染色体

細胞が増殖していくための基本プロセスが「細胞周期」(cell cycle) であり、染色体に含まれる莫大な量の DNA が正確に複製され、正確に分離し、同一の DNA を有す 2 つの娘細胞が形成される。細胞は細胞周期を繰り返し増殖していく。

細胞周期は、「G<sub>1</sub> 期」(G<sub>1</sub> phase)、「S 期」(S phase)、「G<sub>2</sub> 期」(G<sub>2</sub> phase)、「M 期」(M phase) に区分され、S 期は DNA 合成期 (DNA synthesis phase)、M 期は細胞分裂期 (Mitosis phase) で、G<sub>1</sub> 期は M 期と S 期の間の時期 [gap pahse] で DNA 合成の準備期、G<sub>2</sub> 期は S 期と M 期の間の時期で細胞分裂の準備期である。M 期はさらに、「前期」(prophase)、「中期」(metaphase)、「後期」(anaphase)、「終期」(telophase) に区別される。G<sub>1</sub>、S、G<sub>2</sub> 期は外見的には区別できず、細胞分裂期に対して「間期」(interphase) という。細胞周期より離れ、細胞分裂を行わない状態にある場合、「G<sub>0</sub> 期」(G<sub>0</sub> phase) という (図 1)。

染色体は細胞周期により変化する。図 2 に示すように、G<sub>1</sub> 期の染色体は 1 本で、内部に 1 本の二本鎖 DNA が存在する。S 期において DNA が複製され、2 本の染色体で構成される染色体が形成され、それぞれの染色体を「染色分体」(chromatid) といい、2 本の染色分体を「姉妹染色分体」(sister chromatids) という。

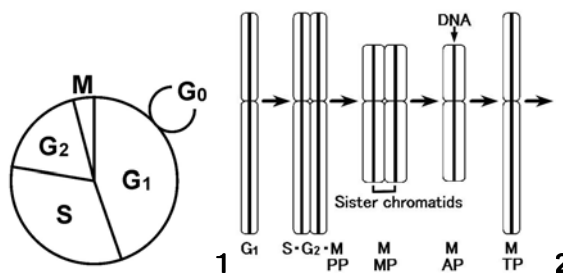


図 1・2 (1)細胞周期と(2)細胞周期における染色体の変化。PP：前期，MP：中期，AP：後期，TP：終期。

M期になると染色体は凝縮し(同時に核膜は消失し)、中期に最も凝縮する。その後、姉妹染色分体は分離し(後期)、染色体の凝縮が解け(同時に核膜で包まれ)(終期)、G<sub>1</sub>期と同じ状態の染色体に戻る[1-6,12]。細胞周期のしくみについては、1980年代後半より急速に研究が進み、詳細な理解がなされている[12]。

細胞周期は、ヒト培養細胞の場合、おおよそS期が8時間前後、G<sub>2</sub>期が4時間前後、M期が約1時間で、細胞の種類によりそれほど違いはない。よって細胞周期の時間の違いは一般にG<sub>1</sub>期の違いによる[5,6,12]。

## 2.2. 中期染色体と形態

中期染色体は、細胞分裂時に最も凝縮・短縮した状態にあり、その形態的特徴が明瞭に示される。

図3に示すように、中期染色体は、DNAの複製が終了した2本の染色体(染色分体)が接着している。染色分体が接着している部分を「セントロメア」(centromere)といい、明瞭なくびれを示し、「一次狭窄」(primary constriction)ともいう。セントロメアは、細胞分裂時に紡錘糸が付着する部分で、紡錘糸が付着する特別な構造の「キネトコア」(kinetochore)が存在する。セントロメアで区切られる染色体部分を「腕」(arm)といい、短い方の腕を「短腕」(short arm)、長い方の腕を「長腕」(long arm)という。染色体末端には、特別な構造があり「テロメア」(telomere)という。セントロメア以外にくびれが認められる場合があり、「二次狭窄」(secondary constriction)という。二次狭窄は染色体の端部付近に存在する 경우가多く、末端側の染色体部分が小さな球状として認められる場合、その球状部は「サテライト(付随体)」(satellite)という[1-6,9,10]。

セントロメアは、C-バンド染色により濃染する構成的ヘテロクロマチン部で、特有のDNA配列で構成される。ヒトでは「アルファ・サテライト」(α-satellite)とよばれる高度反復配列DNAが存在する。近年、セントロメア、キネトコアは多数の特有のタンパク質で構成されることが明らかにされ、詳細な構造が解明されつつある[1,5,6,11-14]。

キネトコアは多くの生物では一箇所に局在しているが、「全動原体染色体」(holocentric chromosome)といい、染色体の全体にわたってキネトコアが散在する「分散型動原体」(diffuse kinetochore, diffuse centromere)を有す染色体がある。この染色体ではくびれがない。動物では鱗翅目の昆虫(チョウとガの仲間)等に認められる[1,6]。

※「動原体」は、従来セントロメア、キネトコアを特に区別せず用いられてきたが、最近キネトコアを指す語として用いられるようになってきている[1,6,12,13](岩波生物学辞典[1]は第5版より)。本稿では、原則としてセントロメアとキネトコアの語を用い、慣例的に動原体の語が馴染んでいる場合には動原体を用いる。

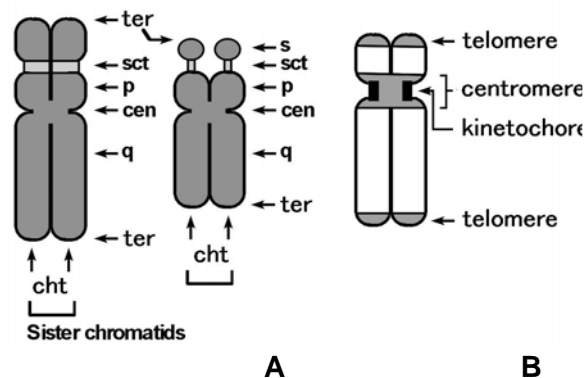


図3 中期染色体の形態(A)と内部構造(B)。  
p: 短腕, q: 長腕, cen: セントロメア, ter: 末端部, sct: 二次狭窄, cht: 染色分体(略号はISCN[13])。

テロメアは、比較的短い特定の塩基配列の繰り返し構造からなることが明らかにされ、進化的に保存性が高い。脊椎動物におけるテロメアの塩基配列は、(TTAGGG)<sub>n</sub>である。ヒトでは数百回の反復構造になっている。テロメアは細胞分裂時のDNA複製において完全に複製されないため、細胞分裂ごとに短縮し、細胞老化の原因とされている[1,5,6,11-14]。

二次狭窄は多くの場合、「核小体」(nucleolus)の形成に関わる「核小体形成部位」(nucleolus organizer regions、NORs)〔「核小体形成体」(nucleolus organizer)ともいう〕である。NORsを有する染色体を「核小体(NOR-)染色体」(NOR-bearing chromosome)という。核小体は「仁」ともよばれ、よって、核小体形成部は「仁形成部」、核小体染色体は「仁染色体」ともよばれる[1-6]。

核小体形成部位は、リボソームの主要構成成分の18S+5.8S+28S rRNAの遺伝子DNA、すなわち18S+5.8S+28S rDNAの染色体部位である。rDNAは単一の遺伝子としてではなく、重複して存在する。

ヒトのNORsは、Dグループ(No.13, 14, 15)およびGグループ(No.21, 22)の5対の染色体に存在し、半数体あたり合計350程度の反復配列構造になっている。

NORsは少なくとも1対の染色体に存在し、ヒトのように複数の染色体対に存在することも少なくない。核小体はNORsにおいてrRNAの合成(転写)が行われている部分である[1,5,6,11-14]。

二次狭窄がNORsであるかどうかはrDNAを用いたFISH法により正確に確認でき、N-band法やAg-NOR染色法によっても確認できる。Ag-NOR染色法では活性のあるNORsだけが染色される。この方法によると、NORsが存在しても必ずしもすべてのNORsが活性があるとは限らないことが示されている[5,6]。

表 1 染色体の形態分類 (Levan et al.[29])

名称		略号	腕比 (長腕/短腕)
Metacentric	中部型	M (m)	1~1.7
Submetacentric	次中部型	SM (sm)	1.7~3
Subtelocentric	次端部型	ST (st)	3~7
Acrocentric	端部型	A (t)	7~∞
Telocentric	末端部型	T (T)	短腕なし

略号：一般に使用されているもの。( )は原論文での表記。

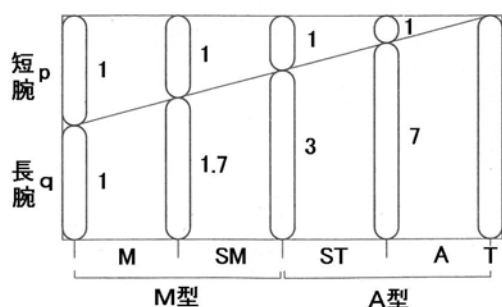


図 4 染色体の形態分類 (Levan et al. [29]).

### 2.3. 中期染色体の形態分類

中期染色体は、セントロメアの位置により多様な形態を示す。

セントロメアが中央付近にある染色体を「メタセントリック (中部動原体型) (metacentric、M)、セントロメアが中央よりやや端に寄っているものを「サブメタセントリック (次中部動原体型) (submetacentric、SM)、セントロメアが端に近いものを「サブテロセントリック (次端部動原体型) (subtelocentric、ST)、セントロメアが端にあるものを「アクロセントリック (端部動原体型) (acrocentric、A)、セントロメアが末端部にあるものを「テロセントリック (末端部動原体型) (telocentric、T) という [1,2,5,6]。

このような染色体の区分については、染色体の短腕に対する長腕の比率「腕比」(arm ratio) に基づき分類されるが、Levan et al. [29] によるに形態分類が広く用いられている (表 1、図 4) [2,6]。

染色体の形態分類は、大きく「両腕型」(bi-arm type) と「単腕型」(mono-arm type) に区別されることも多い。この場合、M と SM を両腕型とする場合と、M、SM と ST を両腕型とする場合がある。両腕型を M 型、単腕型を A 型として示すこともある。細胞分裂期に染色体が両極に移動するときの形態から、両腕型は V 形、単腕型は J 形、I 形ともよばれることがある [2]。

### 2.4. ヘテロクロマチン

染色体は、細胞分裂後、一般に凝縮した状態が解け、間期においては伸張し糸状になった状態で存在するが、凝縮したままの部分が存在し、「ヘテロクロマチン (異質染色質) (heterochromatin) という。一方、通常の伸長した部分は「ユークロマチン (真正染色質) (euchromatin) という。ユークロマチンは遺伝子が発現している部分、ヘテロクロマチンは遺伝子の発現が認められない部分とされる。

ヘテロクロマチンは 1928 年 Heiz により定義され、1966 年 Brown により 2 つのタイプ、「構成的ヘテロクロマチン」(constitutive heterochromatin) と「条件的ヘテロクロマチン」(facultative heterochromatin) に分類された。

構成的ヘテロクロマチンは、C-バンド染色 (3.2 項参照) による濃染部として示され、主に単純な塩基配列の繰り返し構造である「高度反復配列 DNA」(highly repetitive DNA) で構成され、遺伝子が存在しない部分とされる。DNA 複製は一般に S 期の後期に行われる。C-バンド染色によると、構成的ヘテロクロマチン部は主にセントロメア領域に存在し、染色体末端部や介在部にも存在する。構成的ヘテロクロマチン部は種間や種内、また個体内においても変異を示す。構成的ヘテロクロマチンを構成する反復配列 DNA は変異に富み一貫した特徴は認められていない。

一方、遺伝子は存在するが何らかの制御機構が働き、染色体は凝縮したままで遺伝子の発現が認められない場合があり、条件的ヘテロクロマチンという。その例が哺乳類における不活性化 X 染色体である。哺乳類の雌において、二本の X 染色体の内、ランダムに一本が不活性化し、間期においても凝縮したままで、遺伝子が発現していない (2.6 項参照)。

最近、ヘテロクロマチンにおける染色体凝縮や遺伝子の発現抑制に DNA やヒストンにおけるメチル化等の修飾の関与が明らかにされている [1,2,5,6,11-14]。

### 2.5. B 染色体 (過剰染色体)

基本的な染色体「A 染色体」に対し、それらに含まれない染色体を「B 染色体」(B chromosome) といい、「過剰染色体」(supernumerary chromosome) ともいう。

B 染色体は、微小な染色体である場合が多く、個体間や個体内において変異を示すことが多い。B 染色体は構造や行動において A 染色体とは異なる特徴を示す。B 染色体は構成的ヘテロクロマチンで構成されることが多く、この場合 C-バンド濃染部として示される。相同染色体と対合することはない。一般に遺伝的な影響はほとんどないと考えられている [1,2,25]。

2.6. 性染色体

染色体は、性の違いに関わらず同じ染色体構成を示す「常染色体」(autosomes) と性の違いにより異なる染色体構成を示す「性染色体」(sex chromosomes) に区別される。性染色体は通常二種類の形態的に異なる染色体で構成され、「異型性染色体」(heteromorphic sex chromosomes) という。

1891年ドイツの生物学者 Henking が、ホシカメムシの一種において精巣における減数分裂で相同染色体対を作らない特殊な染色体を見出し X 染色体と命名し、性染色体の発見となった[2]。

性染色体には、雄において異なる 2 種の性染色体 X と Y で構成される(雌は XX)「雄ヘテロ型の XX/XY 型」(図 5A)、雌において異なる 2 種の性染色体 ZW で構成される(雄が ZZ)「雌ヘテロ型の ZZ/ZW 型」がある。雄ヘテロ型では雄において、雌ヘテロ型では雌において性染色体の存在が確認される。雄ヘテロ型の雌 (XX)、雌ヘテロ型の雄 (ZZ) では、性染色体を常染色体から区別するのは難しい。形態的には相違が認められないが、バンド分析等によりヘテロクロマチン分布の相違等、内部構造的に相違が示される場合もある。

X 染色体や Y 染色体が複数存在することがあり、「複合性染色体」(multiple sex chromosomes) といい、 $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$  型 (図 5B) や  $XX/XY_1Y_2$  型等がある。複合性染色体は性染色体と常染色体の融合や性染色体の切断等により生じる。

ヒトを含むほ乳類はすべて  $XX/XY$  型で、鳥類は基本的に  $ZZ/ZW$  型である。しかし、性染色体が普遍的に存在するのはほ乳類と鳥類だけで、他の生物群では性染色体が認められる種は少ない。爬虫類では、ヘビ亜目のすべてが  $ZZ/ZW$  型の性染色体をもつが、ワニ目ではすべての種、ムカントカゲ亜目やカメ亜目では多くの種が温度依存性の性決定を行い、性染色体は存在しない。カメ目やトカゲ亜目の性染色体を持つ種には  $XX/XY$  型と  $ZZ/ZW$  型が混在している。両生類や魚類では、性染色体を有する種は少なく、 $XX/XY$  型と  $ZZ/ZW$  型が混在している[2,6]。

Ohno [30] によると、性決定に関わる遺伝子を含む常染色体が腕間逆位等の構造変化により形態的に分化し、異型性染色体が誕生したとされる。形態的に分化した性染色体は減数分裂で対合せず(末端でのみ結合)、その結果、性決定遺伝子の交換が妨げられるようになり、性決定遺伝子の安定した保存とそのため性染色体の進化が効果的に進んだと考えられている。

ヒトをはじめほ乳類の Y 染色体や鳥類の W 染色体は X 染色体や Z 染色体に比べ小型で、多量の構成的ヘテロマチンを含んでいるが、一旦性染色体の形態分化が起こると、さらに性染色体分化が進み、Y や W の小型化やヘテロクロマチン化が生じたと考えられている (図 6) [6]。

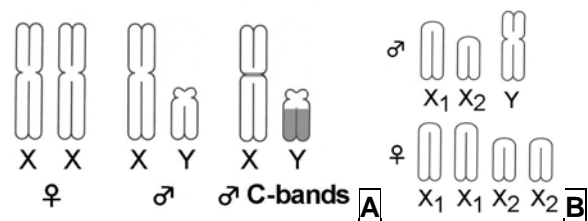


図 5 A:ヒトの性染色体 (♀XX・♂XY) と C-バンドパターン (♂XY). Y 染色体の長腕の大部分は C-バンドで濃染する構成的ヘテロクロマチンである. B: $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$  型複合性染色体. Y 染色体と常染色体の融合により生じる.

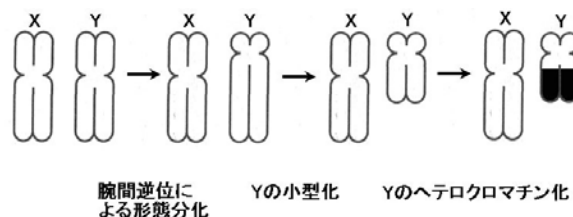


図 6 性染色体進化.

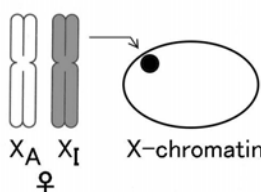


図 7 ライオニゼーション. メスの二本の X 染色体の内、一本はランダムに不活性化し ( $X_I$ ), 間期においては X-クロマチンとして観察される.

前述 (2.4.) の通りほ乳類の X 染色体は、雌では二本の X 染色体の内 1 本が不活性化され、この X 染色体の不活性化はランダムに起きている。この現象は、発見者 Lyon の名に因んで「ライオニゼーション」(Lyonization) とよばれ、雄と雌の間で遺伝子量を等しく保つための「遺伝子量補償」(dosage compensation) 現象とされる。不活性化された X 染色体は間期においても凝縮したままで、間期核において「X-クロマチン」(X-chromatin) として観察され (図 7)、S 期においては後期に複製される。ほ乳類では、単孔類と有袋類を除き X 染色体における遺伝子群の保存性は高く、生存に重要な多数の遺伝子を含んでいる。X 染色体の不活性化に関する遺伝子レベルでの研究は進んでいるが、ここでは特に述べない[2,6]。

性決定遺伝子については、1970年に Ohno が Y 染色体に「精巣決定遺伝子」(testis determining factor: TDF) が存在することを予言し、H-Y 抗原が TDF の産物とされたが[31]、TDF でないことが明らかになった。1990年、ほ乳類の性決定遺伝子として、Y 染色体

に存在する TDF が発見され、SRY と名付けられた。哺乳類に次ぐ TDF の発見は、2001 年メダカにおいてなされたが、TDF は SRY ではなく DMY であった。さらに DMY の性決定作用は魚類において普遍的なものではないことが示され、TDF はまだ不明な点が多い [6,32]。

### 2.7. 染色体の高次構造

真核細胞における染色体の高次構造については、長らく大きな謎であったが、徐々に解明が進み、二本鎖 DNA から中期染色体に至る何段階かの高次構造のモデルが考えられている [6,12,19]。図 8 は「細胞の分子生物学 第 5 版」に示されている図で、改訂ごとに最新の成果に基づく図として改変され、教科書等に最も多く引用されている [12,14,24]。

**二本鎖 DNA:** 二本鎖 DNA は二重らせん構造を形成する。この構造は 1953 年 Watson と Crick により明らかにされた有名なモデルである。二本のヌクレオチド鎖が逆方向に平行に並び塩基の部分で水素結合により結合し、右巻きらせんを形成している（他にわずかであるが左巻きらせん等も存在する）。幅は約 2nm、らせんが 1 回転する長さは 3.4nm で、その間に 10 対の塩基対が存在する。二本鎖 DNA における塩基の結合の組合せは、A と T、G と C である。A と T は二ヶ所で (A=T)、G と C は三ヶ所で (G≡C) 水素結合により結合している。加熱すると水素結合は切れ二本鎖は分離するが (DNA の変性)、水素結合の数の違いにより、G と C の含量が多いと融解温度  $T_m$  (50% の DNA が編成する温度、通常 70–90°C) は高くなる。

**ビーズ状構造:** 1974 年電子顕微鏡の観察によりクロマチンのビーズ状構造が発見され、後に「ヌクレオソーム」(nucleosome) と名付けられた。ヌクレオソームは、二重らせん構造の二本鎖 DNA がヒストンで構成される幅 10nm のヒストン・コアに巻き付き (左巻きに 1.7 回転)、ビーズ状を示す構造である。ヒストン・コアは 4 種類のヒストン、H2A、H2B、H3、H4 が 2 個ずつ、計 8 個のヒストンで構成される 8 量体構造のヒストンオクタマーとして存在する。ヌクレオソーム・コアをつなぐ DNA はリンカー DNA と呼ばれる。ヒストン H1 はリンカーヒストンと呼ばれ、リンカー DNA とヒストンコアに結合し、30nm クロマチン繊維の形成に重要な役割を果たしている。

**30nm クロマチン繊維:** ビーズ状構造は密に詰め込まれ幅 30nm の繊維を形成する。1976 年ビーズ状構造がらせん状に詰め込まれるソレノイドモデルが提唱されたが、その後詰め込まれ方の違いによりクロスリンカーモデルやジグザグ・リボンモデルが提唱されている。

**700nm 構造 (染色体腕):** hierarchal helical folding モデルによると 30nm クロマチン繊維は段階的にらせ

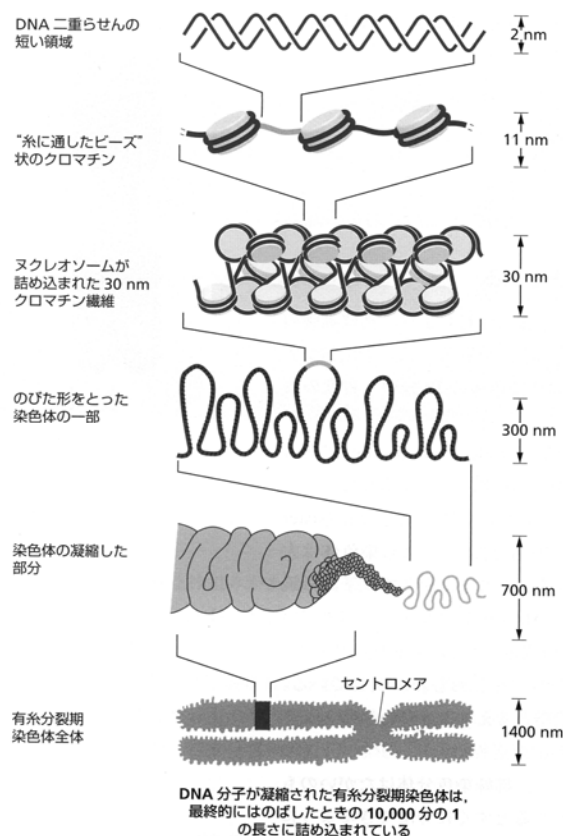


図 8 染色体の高次構造。「細胞の分子生物学 第 5 版」 p. 244. [12] より.

ん状に折りたたまれ徐々に太い構造となり (100-130nm ⇒ 200-250nm ⇒ 500-750nm)、中期染色体を形成する。最新の同モデルによるとコンデンシンが染色体の中心部に”のり”のように存在していると考えられている [14,33]。

「コンデンシン」(condensin) は、1994 年平野らにより発見された染色体の凝縮に関わるタンパク質複合体で、ほぼ同時期、姉妹染色体分体の接着に関わるタンパク質複合体「コヒーシン」(cohesin) が発見され、コンデンシン、コヒーシンを中心に染色体構造や細胞分裂時の染色体凝縮、染色体の分離等の分子レベルでの詳細な解明が急速に進んでいる。複製を終えた姉妹染色分体はコヒーシンの働きによりたがいに結合した状態を維持し、分裂期に入ると大部分のコヒーシンは染色体腕部から離れ、入れ替わるようにコンデンシンが結合し、染色体は凝縮する。

凝縮と接着の異なる役割を果たすコンデンシンとコヒーシンのコアサブユニットとして働いているのは、SMC (Structural maintenance of chromosomes) タンパク質と総称される ATPase で、両者は深く関わっている。SMC タンパク質は細菌や古細菌まで広く保存されている [14,24]。

### 3. 染色体バンド

#### 3.1. 染色体分染法の開発と発展

1960年代後半、Casperssonらは蛍光物質のキナクリン・マスタード (Quinacrine mustard : QM) で染色体を染色し、蛍光顕微鏡で観察すると、染色体に特有の縞模様が現れることを発見した。このような縞模様を「バンド」(bands)といい、1970年彼らはこの方法をヒトの染色体に応用し、現れるバンドにより全ての染色体の同定が可能であることを見出した。

バンドを生み出すことを「バンディング」「バンド染色」(banding)、又は「分染」(differential staining)といい(本稿では主に「分染」を使用する)、染色体分染にはQ-バンドやG-バンド、R-バンド等のように染色体の全体にわたりバンドを染め出し、染色体の同定や分析の精度を高めるものと、C-バンドやNOR-バンド、T-バンド等染色体の特定部位を染め出す部分分染法がある。さらに、前中期の染色体を用い、これらの分染法の精度を高める高精度分染法が開発がなされている[2-6]。

一方、チミジンのアナログである Bromodeoxyuridine (BrdU ; BUdR) を DNA に取り込ませ、染色体複製バンド、G-バンドやR-バンド類似のバンド、姉妹染色分体の分染を行う方法が開発された。BrdUを用いる方法により、放射性同位元素であるトリチウム ( $^3\text{H}$ ) を含む  $^3\text{H}$ -thymidine を用いたオートラジオグラフィ (Autoradiography) による分析と同等の分析が容易に高い精度で行えるようになった。また、特定の塩基に結合する蛍光色素や特定のDNA配列でDNAを切断する制限酵素のようにDNAに作用する薬品を用いて分染する方法が新たに開発された。これらの方法は、DNAレベルでの染色体研究を可能にする方法として、研究目的に応じて応用がなされている[5,6,9]。

#### 3.2. 主な染色体バンド[2-6,9]

**Q-バンド** : QM染色により生じるバンドは、「Q-バンド」(Q-bands)と名付けられた。Q-バンド濃染部分はA+T-rich (AとTが多い)部分、淡染部分はG+C-rich (GとCが多い)部分と一致する。ヒトではY染色体の長腕が濃染され、間期核においても小体として認められ、Yクロマチンとよばれる。Hoechst 33258によってもQ-バンドが生じる。ヒト等では、C-バンドも同時に染色される。

**G-バンド** : Q-バンドが開発されて後、化学薬品で処理した染色体をギムザ (Giemsa) 染色するとQ-バンドとほぼ同じバンド模様が現れることが発見され、ギムザ染色バンドとして、「G-バンド」(G-bands)と名付けられた。G-バンド分染は簡便に行え、再現性も高く、Q-バンドとは異なり光学顕微鏡で観察できるので急速に広まった。さまざまな化学薬品によりG-バンド

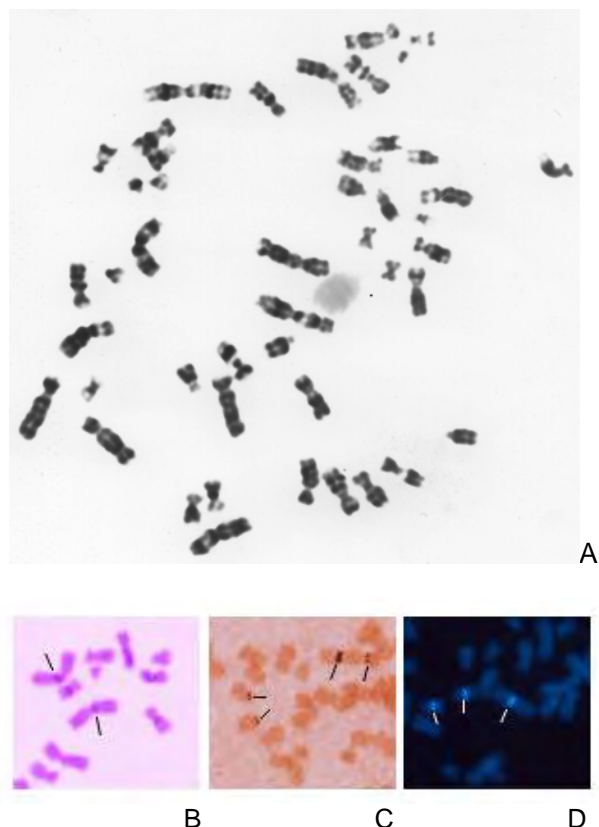


図9 ヒト染色体の各種バンド. A : G-バンド, B : C-バンド(棒印:No.1染色体のセントロメア部分のC-バンド), C : Ag-NORバンド(棒印: NOR-バンド, No.13-15, 21-22染色体に存在), D : DA/DAPIバンド(棒: No.1染色体等のセントロメア部分のDA/DAPI-バンド).

が出現するが、化学薬品の種類に関わらずバンドパターンは同じである。代表的な薬品処理として、trypsin、 $2\times\text{SSC}$ 、SDS、尿素がある。

**R-バンド** : G-バンドとは濃淡が逆のバンドが現れる方法が発見され、Reverse bandsとして、「R-バンド」(R-bands)と名付けられた。高温の塩類溶液中で処理し、ギムザ染色すると生じる。S期後期にBrdUを取り込ませた染色体で、再現性の高いR-バンドが得られる。R-バンドは染色体の末端部が明瞭に示されるので目的によってQ-バンドやG-バンドより重視される。

**C-バンド** : C-バンドは構成的ヘテロクロマチン部が濃染されるバンド (Constitutive heterochromatin bands)である。高度反復配列DNAを用いたin situ ハイブリダイゼーションの研究過程でセントロメア部分を特異的に染色する方法として発見された。大部分のセントロメア領域がC-バンド部として示される。他に染色体末端部や介在部に認められる場合がある。ヒトでは、No.1、No.9、No.16のセントロメア部分およびY染色体の長腕部はC-バンドのサイズも大きく顕著に示される。NaClやBa(OH) $_2$ 等でのアルカリ処理後、 $2\times\text{SSC}$ で加温処理し、ギムザ染色すると生じる。

**NOR-バンド**：核小体形成部位 (NORs) を特異的に染色する方法として N-バンド (N-bands) が開発された。一方、銀染色法の改良により銀染色による NORs の特異的染色法、Ag-NOR 染色法が開発され、簡便で再現性が高く広く用いられている。Ag-NOR 染色法は、NORs が発現しているときに生じるタンパク質を染めているため、活性のある NORs のみ検出される。一般に二次狭窄部が NORs であり、ヒトでは、D グループおよび G グループの 5 対の染色体の二次狭窄部 (短腕末端のサテライトとして観察される部分) が NORs で、NOR-染色法により染色される。

**高精度分染法**：前中期の完全に凝縮する前の伸長した状態の染色体を用い、G-バンド等の分析精度を大きく向上させる方法として「高精度分染法」(High resolution chromosome banding) が開発された。

通常の G-バンドでは一つのバンドであっても、高精度分染法では複数のバンドとして示される。半数体当たりの総バンド数による分類で、400、550、850 バンド期のあるものがある。限界は 1000 バンドとされる。高精度分染により、遺伝子の染色体上の位置を決める遺伝子マッピングも詳細にできるようになった。

### 3.3. BrdU を用いる染色体分染[5,6,9]

チミジンのアナログである Bromodeoxyuridine (BrdU; BUdR) を DNA に取り込ませ、BrdU が取り込まれた染色体部分とそうでない部分を濃淡のバンドで識別する方法が開発された。これにより、S 期において BrdU を取り込ませる時期を変えることによって、S 期の前期から後期にいたる染色体上の DNA の複製の変化を知ることが可能になった。BrdU を S 期の後期に取り込ませられる後期複製バンドのパターンは、G-バンドとほぼ一致する。染色方法により、BrdU が取り込まれた部分の濃淡が逆転するので、後期複製バンドを G-バンドや R-バンドとして用いることができ、R-バンドではこの方法が多用されている。この方法では、G-バンド等の分染が難しい種においても適用可能な場合も報告されている。

BrdU を 2 細胞周期にわたり染色体に取り込ませ、上記染色体複製バンドと同様の染色法により染色すると、姉妹染色分体の分染を行うことができ「姉妹染色分体分染 (SCD)」(sister chromatid differential staining) という。この方法により、姉妹染色分体の間に生じる染色体部分の交換「姉妹染色分体交換 (SCE)」(sister chromatid exchange) の検出が可能となった (図 10)。

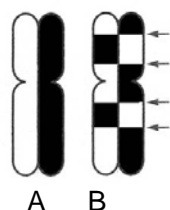


図 10 SCD と SCE (矢印)。

表 2 塩基特異蛍光染色 (カウンター染色法)

塩基	主染色	カウンター染色
[Enhanced Q-bands]		
AT/GC	Hoechst	Actinomycin D・CMA3
	DAPI	Actinomycin D・CMA3
[Enhanced R-bands]		
GC/AT	CMA3	DA・Methyl green
	Olivomycin	DA・Methyl green
	Mithramycin	Malachite green
[DA/DAPI bands]		
AT/AT	DAPI	DA・Methyl green
	Hoechst	DA・Methyl green

### 3.4. 新たなバンド[5,6,9]

**塩基特異蛍光染色バンド**：DNA を構成する塩基の内、A と T に特異的に結合する蛍光色素や、G と C に特異的に結合する蛍光色素で処理すると、Q-バンドや G-バンド、R-バンドと同等のバンドが現れることが発見された。この方法により染色体上の塩基の分布とバンドとの関係が明確になった。

A+T-rich (AT が多い) 部分は Q-バンド染色の濃染部分、G+C-rich (GC が多い) 部分は淡染部分と一致する。A+T に特異的に結合する蛍光色素として、Hoechst 33258、DAPI 等がある。G+C に特異的に結合する蛍光色素として、Chromomycin A3、Olivomycin、Mithramycin 等がある。表 2 に示すように、蛍光染色は主染色剤に加え、別の染色剤で染色する「カウンター染色法」(Counterstain-enhanced chromosome banding) により、蛍光色素の単独染色に比べ、明瞭なバンドを生じさせることができる。

Q-バンドや G-バンド、R-バンド以外の特徴的バンドとして、DA/DAPI バンドがある。ヒト染色体では、No.1・9・16 のセントロメア付近および No.15 の単腕、Y 染色体の長腕が濃染される。

**制限酵素バンド**：特定の DNA 配列で DNA を切断する酵素である「制限酵素」(restriction endonuclease) で染色体を処理すると制限酵素の種類により、C-バンドや G-バンドに相当するバンドが現れることが見いだされ、制限酵素バンドとよばれる。ヒト染色体では、AluI、DdeI、MboI、RsaI で、DA/DAPI バンドを含む C-バンド類似バンドが示される。HaeIII で G-バンドと C-バンド類似のバンドが示される。

**染色体とバンド**：前述のように、さまざまな分染法が開発されたが、染色体上に示されるバンド群は、基本的には G-バンド(≒Q-バンド)か R-バンドである。他に、C-バンド、T-バンド、NOR-バンドがある。G-バンドは A+T rich、R-バンドは G+C rich な部分である。また、G-バンドは後期複製バンドに相当する[6]。



#### 4. 蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH)

二本鎖 DNA を加熱すると二本鎖の結合(水素結合)が切れ二本鎖は分離し一本鎖になる。そのような状態にして、特定的一本鎖 DNA を混合し、冷却すると分離した DNA は元の二本鎖に戻るが、混合した特定的一本鎖 DNA は相同な DNA 部分で結合する。これを DNA-DNA hybridization (ハイブリダイゼーション) という。特定の DNA を何らかの標識をしておくと、結合した DNA 部位が検出できる。この方法を染色体標本等で行う方法が「*in situ* ハイブリダイゼーション (ISH)」(*in situ* hybridization) である[4,5,9]。

1960 年代後半より放射性同位元素であるトリチウム( $^3\text{H}$ )を含む  $^3\text{H}$ -thymidine を用いた *in situ* ハイブリダイゼーション法が開発され、サテライト DNA や rDNA のマッピングがなされた。しかし、放射性同位元素を用いるため簡単には行えず、また感度が低く、普及しなかった。

新たにビオチン化 dUTP による核酸標識法が開発され、マッピングに用いる特定の DNA 部分を蛍光染色により識別する「蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH)」(Fluorescence *in situ* hybridization) が開発され、1990 年代、DNA を扱う技術が普及する中、急速に応用が進み今日に至っている。

FISH は単一遺伝子のマッピングだけでなく、染色体レベルでの DNA のマッピングを行うゲノムマッピングにも応用され、「ゲノム *in situ* ハイブリダイゼーション (GISH)」(Genomic *in situ* hybridization) といい、染色体は絵の具を塗ったように染色されるので「染色体ペインティング」(Chromosome painting) とよばれている。

ヒトでは、セルソーターによりすべての染色体が分離でき、すべての染色体をそれぞれ標識して、異なる色付けで染色体を識別した核型表示、マルチカラー FISH による Spectrum karyotyping (SKY) がなされている。この方法を応用すると、種間での核型の相違が DNA レベルで示され、新たな核型研究法として注目されている。たとえばマウスとヒトでは全く核型が異なるが、マウスとヒトの核型の関係が明瞭に示される[5,6,9-14]。

### 5. 染色体異常

#### 5.1. 染色体異常とその種類[2-6,9,10,25]

生物には定まった構成の染色体セットが存在するが、何らかの原因で染色体の数や構造が変化することがあり、「染色体異常」(chromosomal aberration) といい、「数的異常」(numeral abnormality) と「構造異常」(structural abnormality) に大別される。数的異常には、生物固有の基本染色体セットの倍数を示す倍数性

と、染色体数が 1 から数本、多い又は少ない異数性がある。構造異常には、染色体の切断と融合により生じるさまざまな種類がある。

染色体異常は X 線等の電離放射線やある種の化学物質により誘発されることはよく知られる。染色体異常を引き起こす物質を「染色体異常誘発物質」(clastogen) という。Clastogen は構造異常を引き起こす「構造異常誘発物質」に限定して使用されることもある。異数性を引き起こす物質を「異数性誘発物質」(aneugen) という。染色体異常を含め遺伝子に与える毒性を「遺伝毒性」(genotoxicity) という。染色体異常試験は、遺伝毒性試験の一つとして、化学物質の遺伝毒性の検出に重要な役割を果たしている。

しかし、ヒトの疾患に認められる染色体異常や生物進化に認められる染色体変化は、一般に特定の化学物質によって生じるようなものではなく、さまざまな環境要因が複雑に関わっているものと考えられる。

#### 5.2. 数的異常[2-6,9,10,25]

前述の通り、数的異常には、「倍数性」(polyploidy) と「異数性」(aneuploidy) があり、倍数性を示すものを「倍数体」(polyploid)、異数性を示すものを「異数体」(aneuploid) という。

##### 1) 倍数性

有性生殖する動物は、両親由来の 2 組の同じ染色体セットを有し、このような状態を「2 倍性」(diploidy,  $2n$ ) という。一方、配偶子の卵子や精子は、1 組の染色体セットを有し、2 倍性を基本に考えると、それらは、「一倍性」又は 2 倍性の半分にあたるので「半数性」(haploidy,  $n$ ) という。2 倍性を示すものを「2 倍体」(diploid)、半数性を示すものを「半数体」(haploid) という。

これに対して、倍数性は、基本染色体セットを 1 組有す半数性 ( $n$ ) を基本に、その倍数の染色体セットが存在する状態をいい、3 倍の「三倍性」(triploidy,  $3n$ )、4 倍の「四倍性」(tetraploidy,  $4n$ ) 等があり、そのような状態のものを、それぞれ「倍数体」(polyploid)、「三倍体」(triploid)、「四倍体」(tetraploid) という。

三倍体は配偶子形成時又は受精時の異常においてのみ生じ、培養細胞や体細胞では生じない。三倍体が生じる原因として、①二倍体の卵子や精子が形成された場合、②受精時に極体が分離せず卵核に融合した場合、③2 つの精子が受精した場合 (二精子受精) があげられる。

四倍体は、染色体複製後に引き続く細胞分裂がおこらない場合に生じる。四倍体の個体は、受精卵の第一分割に先立ち、染色体の複製が完了したにもかかわらず、何らかの原因で第一分割が起こらなかった場合に生じる。第二分割以後に同様の現象が起きればモザイクとなる。

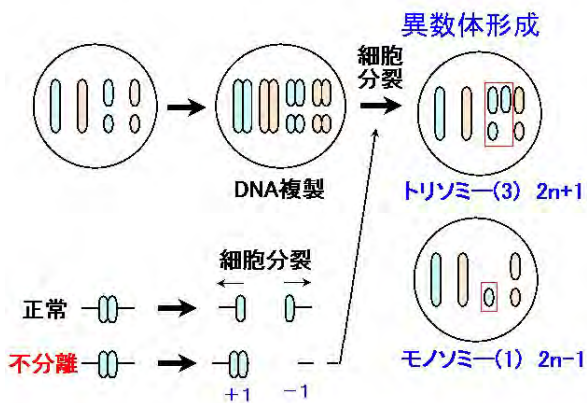


図 11 異数体の形成.

2) 異数性

異数性は、染色体数が 1 から数本多い高二倍性 (hyperdiploidy) と少ない「低二倍性」(hypodiploidy) がある。

異数性が生じる原因として、細胞分裂時における染色体の「不分離」(non-disjunction) があげられる。不分離は、細胞分裂時に本来分離すべき姉妹染色分体が分離せずに一方の極に移動する現象で、姉妹染色分体が移動した方の細胞は相同染色体が 3 本の「トリソミー」(trisomy) が生じ、他方の細胞は、相同染色体が 1 本の「モノソミー」(monosomy) が生じる (図 11)。よって、モノソミーとトリソミーは同時に生じる。モノソミーがあれば全体としては染色体数が 1 本減少し ( $2n-1$ )、低二倍性となる。トリソミーがあると全体として 1 本増加し ( $2n+1$ )、高二倍性となる。

5.3. 構造異常[2-6,9,10,25]

構造異常には、染色体の「切断」(breaks) と「交換」(exchanges) がある。交換は染色体の切断と再結合により生じ、さまざまなタイプがある。

構造異常の機構として、染色体の「切断—再結合説」、および「交換説」があるが、いまだ不明な点が多い。切断—再結合説では、まず染色体に切断が生じ、あるものは再結合し、交換型の異常を生じると考えられている。染色体の切断は DNA 二本鎖切断 (double strand break, DSB) により生じるが、一本鎖切断 (single strand break, SSB) であってもその後の DNA 損傷と修飾によって二本鎖切断に至ることもある。一方、交換説では最初に回復可能な損傷の相互作用があり、交換が生じ、切断は不完全な交換の結果生じると考えられている。

以下、構造異常についての説明は、切断—再結合説に基づき行う。

構造異常は「染色体型」(chromosome type) と「染色分体型」(chromatid type) に分けられる。染色体型は、 $G_1$  期において生じ、染色分体型は  $G_2$  期に生じる。

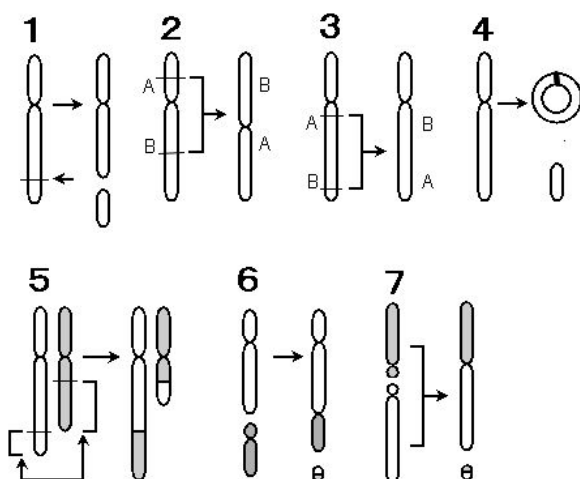


図 12 染色体構造異常. 1:切断 (小さい矢印) による欠失染色体と染色体断片の形成, 2:腕間逆位, 3:腕内逆位, 4:環状染色体と染色体断片の形成, 5:相互転座, 6:二動原体染色体の形成, 7:ロバートソン型転座 (動原体融合).

染色体型異常は次の細胞周期において染色体型の異常として現れ、「派生的染色体型」(derived-chromosome type) といわれ、本来の染色体異常型と区別できなくなる。

以下、染色体型異常について述べる。

ある染色体が切断すると、その染色体に「欠失」(deletion) が生じ、切断した動原体を持たない染色体部分は「無動原体断片、染色体断片」(acentric fragment) といい、より小さいものを「微小染色体」(minute) という (図 12-1)。

交換は 2 ケ所以上の切断と再結合により生じ、「染色体内交換」(intra-chromosomal exchange) と「染色体間交換」(inter-chromosomal exchange) がある。

染色体内交換に「逆位」(inversion) がある。逆位は、1 つの染色体の 2 ケ所で切断し、異なる切断部で再融合が生じた結果生じるもので、交換が生じた染色体部分の遺伝子配列が全く逆になる。逆位にはセントロメアを含む両腕間で生じる「挟動原体逆位 (両腕間逆位、腕間逆位)」(pericentric inversion) (図 12-2) とセントロメアを含まない一つの腕内で生じる「偏動原体逆位 (単腕内逆位、腕内逆位)」(paracentric inversion) (図 12-3) がある。腕間逆位では、一般にセントロメアの位置が変わり染色体の形態が変化するため、検出が容易であるが、腕内逆位は染色体の形態的な変化が生じないので、検出するためには、G-バンド等の染色体分染法の適用が必要である。他に「環状染色体」(ring chromosome) と無動原体断片の形成 (図 12-4) や欠失染色体と無動原体環状染色体の形成が挙げられる。

染色体間交換に「転座」(translocation)がある。転座は2本の染色体において切断が生じ、異なる染色体間で再融合した時生じる。2本の染色体において切断が生じ、動原体を含む部分と他の染色体の動原体を含まない部分が再融合した時、2本の染色体において切断部で染色体部分が相互に入れ替わり、「相互転座」(reciprocal translocation)という(図12-5)。動原体を含む部分同士が結合すると、二動原体染色体と無動原体断片が形成される(図12-6)。3ヶ所以上で切断—再融合が起きると三動原体染色体、挿入染色体等複雑な染色体異常が生じる。

上記の分類とは別に、個体レベルでの染色体異常としてよく知られるものに以下のものがある。

「同腕染色体」(isochromosome)：単腕と長腕が全く同じ染色体で、転座により生じることで説明される。

「ロバートソン型転座」(Robertsonian translocation)：2本の端部型染色体がセントロメア部分で融合し、大型の中部動原体型(又は次中部動原体型)染色体が形成される染色体異常。「ロバートソン型動原体融合」、単に「動原体融合」(centric fusion)ともいわれ、2本の端部型染色体においてセントロメア付近で生じる交換で説明される(図12-7)。

「ロバートソン型開裂(分裂)」(Robertsonian fission)：動原体部分で切断する染色体異常で、単に「動原体開裂(分裂)」ともいう。

ロバートソン型動原体融合と動原体開裂をまとめ、「ロバートソン型再配列」「ロバートソン型変異」(Robertsonian rearrangement)という。

「縦列融合」(tandem fusion)：1本の染色体の端部に端部型染色体の染色体トロメア部分が融合した染色体異常で、転座により生じることで説明される。

#### 5.4. 染色体異常の行方[2-6,9,25]

培養細胞に電離放射線を照射するとさまざまな染色体異常が観察される。しかし、しばらく分裂を繰り返す中で、早期に消失するものと長期にわたり存在するものがある。染色体異常は、安定型(Cs型、s:stable)と不安定型(Cu型、u:unstable)に分類される場合があり、不安定型は細胞分裂に障害が生じ早期に消失するもので環状染色体や二動原体染色体が属す。安定型は細胞分裂での障害はなく正常細胞同様生存し続ける[5]。

一方、個体レベルで見ると、生殖細胞や受精時に生じた染色体異常は、個体として生存可能な染色体異常のみが残る。培養細胞等で観察される染色体異常に比べると、個体レベルで観察される染色体異常はかなり限定される。

染色体異常が生じた時、異常の種類に応じて、その細胞の生存能が低下する。ヒトの流産胎児と新生児に

おける染色体異常の種類と頻度を比較すると、少なくともヒトにおける、染色体異常を生じた細胞や個体の生存能について知ることができる。一般的には生存能は、倍数体<低二倍体<高二倍体<構造異常の順で高くなる。体細胞レベルで生存が可能であっても、個体レベルになると多くは生存不能となる。染色体異常による生存能は高等動物になるほど低くなる。

倍数性：ヒトの流産胎児において倍数性は認められるが、新生児では認められない。このことは倍数体の細胞は生存可能であるが、個体発生においてはある段階までしか適応できず、致死的事であることを示している。しかし、魚類では自然倍数体が認められており、人為的に倍数体魚を作成することもなされている[28]。

異数性：ヒトの流産胎児と新生児における染色体異常を比較すると、新生児では染色体異常の染色体が21番目のトリソミーが大多数を占めるように、生存可能な染色体異常は、生存に影響の少ない染色体に限定され、せいぜい1本である。少なくとも染色体数が減少するモノソミーは性染色体異常(ターナー症候群のXO)を除き認められていない。女性のX染色体は2本のうち1本は不活性化しているためX染色体が1本でもそれほど支障がないと考えられる。ヒトの21番目と22番目の染色体は、最も小さな染色体で両者に大きさの違いはほとんどない。しかし、ゲノム計画で明らかにされたように、21番目の遺伝子数は22番目の半数程度である。この結果から、何故21番目のトリソミーが多く、22番目のトリソミーが認められないのかは明確である。2番目によく認められるトリソミーは18番目の染色体であるが、この染色体の遺伝子数は21番目に次ぎ少ない。遺伝子自体の重要性もあるが、単純に遺伝子数が少ない程、生存への影響が小さいと言える。

構造異常：切断が生じたときは、切断部分に遺伝子があれば、その遺伝子損傷が細胞の生存に影響する。遺伝子の損傷がなければ、影響はない(又は少ない)。切断により生じた動原体を持たない断片染色体は、細胞分裂の過程で安定に保持されることが難しく、消失した場合、細胞の生存に影響が及ぶ。

交換が生じた場合、染色体逆位や相互転座では細胞分裂を通じて、染色体を構成する遺伝子の増減はなく保持されるので、切断部分において遺伝子異常が生じなければ、生存に問題は生じない。しかし、配偶子形成過程(減数分裂)と受精時に問題が生じる。具体的には、交換を生じた染色体は減数分裂時に相同染色体間での正常な対合ができない。また、受精時に、交換を生じた染色体部分で過不足が生じる。構造異常が生じた後、全体としてゲノムが過不足のない状態に保たれた場合(均衡型)、正常に存続できるが、ゲノムに不均衡を生じた場合、また細胞分裂後に不均衡が生じた場合(不均衡型)、その状況に応じて生存能は低くなる。

## 6. 核型と核型変化

### 6.1. 核型と核型分析

細胞あたりの染色体の数、および構成する染色体は種に固有の特徴を示す。染色体の数と構成する染色体の形態的特長を示したものを「核型」(karyotype)といい、核型を明らかにすることを「核型分析」(karyotypic analysis)という。

核型分析は以下のような手順で行う。

①染色体数の算定と確定：染色体数は細胞間で変異しないので、重なりのおよぼない良好な中期染色体像を観察すると、染色体数は容易に算定、確定できる。取り敢えず中期染色体像を10個程度カウントすると多くは同じ値を示し、「最頻値＝染色体数」は明瞭に示される。最頻値から若干少ない染色体数の染色体像が多少認められるが、主に染色体標本作製時のエラー(染色体がどこかへ飛び散った)と考えられる。偶然、染色体異常を生じた細胞が混っている場合もあり、この場合は本来の染色体数から増減した値の染色体数が示される。

②染色体数の記載：二倍体生物では、大きさ・形態が同じ「相同染色体」(homologous chromosomes)が2本ずつ存在するので、2組の染色体セットが存在する。よって、二倍体生物では染色体数を二倍体染色体数で「 $2n = 46$ 」のように表す。精子や卵では、減数分裂の過程で、相同染色体は分離し、一組だけ存在するので、半数体染色体数で「 $n = 23$ 」のように表す。

③核型分析：染色体を形態や大きさに基づき分類、配列し染色体の構成をわかりやすく示す。核型分析には、できるだけ染色体の重なりがなく、染色体の形態が明瞭で、かつ染色体はあまり凝縮せず、大きな染色体から小さな染色体までサイズの違いが明瞭な中期像を選ぶ。

二倍体生物の核型分析では、相同染色体をまず組み合わせ、大きさ順、又は形態別に大きさ順で染色体を配列する。通常、単腕が上になるように配列する。

性染色体やB染色体が存在する場合は、常染色体と区別がつくように配列又は明記する。染色体の凝縮の程度は相同染色体で異なる場合があるので注意する。

核型分析は、染色体分染の応用により、より正確になされるようになってきている。G-バンドやQ-バンド、R-バンドが適用できる場合、バンドパターンに基づき核型分析を行う。ヒトをはじめとする哺乳類では、これらのバンドにより個々の染色体がほぼ完全に同定される。C-バンドやNORsのような特定の染色体部位のみを分染する部分分染バンドは情報量は限られるが、時として有用な情報を提供する。Q-バンドやG-バンド等の染色体分染の適用できる動物種は限られているので、摘要できない場合、C-バンド染色法やNOR-染色法を中心に、染色体分析を行う。

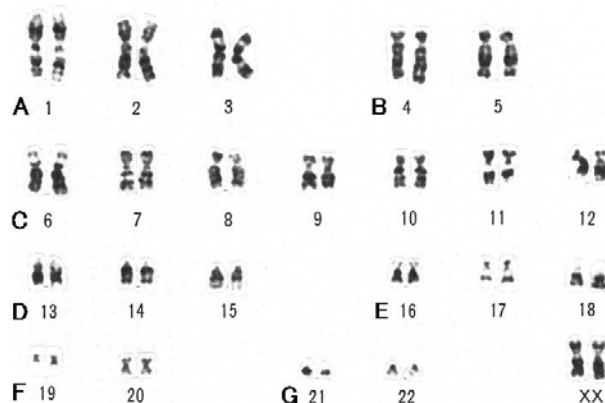


図13 ヒトのG-バンドによる核型(女性)。ヒトの核型はAからGまでのグループと性染色体に分けて表す。

核型構成をより明確に示すための指標として「基本数」(Fundamental Number, NF) 又は「腕数」(Arm Number, AN)がある。基本数は、両腕型の染色体が多いのか、単腕型の染色体が多いのかを知る手がかりとなる。「基本数＝染色体数」の場合はすべて単腕型の染色体で構成される。一方、「基本数＝染色体数×2」の場合はすべて両腕型の染色体で構成される。基本数は染色体数と併記されることが多い。

ヒトの染色体は $2n = 46$ で、22対の常染色体と1対の性染色体(♂XY、♀XX)で構成される。常染色体は大きさと形態の違いによりAからGグループに分類される。通常の染色ではグループ内の染色体の同定は難しいが、Q-バンドやG-バンド、R-バンド等によりグループ内の一つ一つの染色体が完全に同定できる(図13)。

### 6.2. 核型変化と種分化

ある種から新たな種が誕生することを「種分化」(speciation)という。近縁種間で核型を比較すると、一般に核型は類似しているが、何らかの相違が認められることが多い。これは、核型の変化、すなわち「核型変化」(karyotypic changes)が種分化の過程で生じた結果である。

種分化をもたらす要因の一つとして「生殖的隔離」(reproductive isolation)があげられ、核型変化は効果的な生殖的隔離をもたらす、種分化に重要な役割を果たすと考えられてきた。

核型変化は、生殖細胞や受精前後に生じた染色体異常が個体レベルで保持され、集団内に広がった結果生じる。核型変化により、同一種内において、異なる核型を持つ集団が生じたとき、異なる核型の個体間の交配で子孫が生じない、生じても生育しない、また妊性がない、あるいは弱い場合、核型変化は生殖的隔離をもたらす、2つの集団は別種として種分化していくことが考えられる。

核型変化が種分化に寄与するか否かは、議論の対象である。近縁種で必ずしも核型が異なるとは限らないので、核型変化は種分化の後に偶然生じたもので、種分化の要因とはならないという考えもある[6]。

しかし、核型が種分化に寄与する場合はあれば寄与しない場合もあると考えることは不自然ではない。少なくとも、核型の違いは別種であることを示すものである。

### 6.3. 核型変化のパターン

染色体異常は前述のようにさまざまなものが知られるが、核型変化に寄与する染色体異常は個体レベルにおいて生存可能で、変化後の核型が安定して保持されるものに限定され、動物種によっても異なる。

倍数体は植物では一般に認められ、重要な進化の要因になっているが、脊椎動物では、一部の魚類以外、ほとんど認められていない。「遺伝子重複による進化」で著名な Ohno [26] によると、哺乳類に至る脊椎動物の進化において、初期段階、すなわち魚類の段階で倍数化したとされる。しかし、それ以後の脊椎動物における核型変化の基本は構造変化に基づくものである。

核型変化に寄与する染色体の構造変化として、広く認められているものに、「腕間逆位」と「ロバートソン型融合」があげられる。これら以外では、「縦列融合」や「転座」もしばしば認められている。

一方、C-バンド分染法の応用により多くの種において構成的ヘテロクロマチンの染色体上の分布が明らかにされてきたが、通常の染色による核型の比較で相違が認められない場合において、C-バンドのサイズや分布に違いがある場合が多数報告されている。染色体の腕全体がすべて構成的ヘテロクロマチンで構成されている場合もある。このように、核型変化には、染色体の一般的な構造変化だけでなく、構成的ヘテロクロマチンの増幅や減少も伴っていることが明らかにされている[6,27,28]。

ヒトと類人猿（チンパンジー、ゴリラ、オランウータン）の染色体を比較すると、ヒトの染色体数は  $2n=46$  であるが、他の3種は  $2n=48$  である。両者を比較すると、ヒトの2番目の大型の両腕型染色体は、類人猿の2対の単腕型染色体がロバートソン型融合により形成され、その結果染色体数が減少したことが明確に示される。ヒトと類人猿の間では染色体上におけるG-バンドのバンドパターンはほぼ同じで、染色体の保存性は高いが、4種が共通の祖先種から種分化する過程で腕間逆位が生じていることが10対ほどで認められ、腕内逆位も認められている。転座は、ゴリラでのみ認められている。また、構成的ヘテロクロマチンの分布の違いも認められている。このように、ヒトと類人猿とでは染色体の保存性は高いが、細かな染色体変異は生じている[34]。

### 6.4. 核型進化と系統関係

核型が変化し新しい核型が生じることを「核型分化」(karyotypic differentiation)、核型が進化の過程で変化していくことを「核型進化」(karyotypic evolution) という。

ロバートソン型融合が起こると染色体数は減少する（基本数は同じ）。一方、単腕型染色体で腕間逆位が起こると両腕型染色体に変化し、基本数が増加する（染色体数は同じ）。ロバートソン型融合と腕間逆位により、染色体数が減少し、基本数が増加する核型進化の傾向がしばしば認められている。縦列融合が起こった時には、染色体数、基本数共に減少する。縦列融合による核型進化も知られている。一方、染色体数が増加する核型進化もあり、主にロバートソン型開裂によるものと考えられている[6,27,28]。

しかし、核型の比較から核型進化の方向性を類推し、系統関係を明らかにすることはそれほど簡単ではない。大局的には染色体数の減少、基本数の増加の傾向があっても、個々に見ると必ずしもそうはならない。

近年、DNA解析技術の発展に伴い、分子系統学が急速に進み、系統類縁関係が明瞭に示されるようになってきた。一般に分子系統の信頼性は高く、分子系統に基づき、核型進化がどのように生じているのか類推することで、核型進化の本質的なことも明らかにされていくのかもしれない。いずれにせよ、核型進化はそれほど単純ではないようである。

#### 3) 多型

同一種において、異なる核型を示す個体が混在している場合があり、「多型」(polymorphism) という。ロバートソン型融合による多型がよく知られる。B染色体の存在による多型も知られる[27,28]。

### 6.4. 核型記載法

ヒトの核型記載法は、国際規約 ISCN (International System for Human Cytogenetic Nomenclature) [35] により定められている。マウス等いくつかの動物種では独自に国際規約が定められている。それら以外の動物群については原則として、ヒトやマウス等の国際規約に従うのが望ましい。

ISCN は、パリ会議 (1971) およびその補足 (1975) による記載法を継ぐものとして、1978年に制定され、以来改定が繰り返され、最新版は2013年版である。

ISCN 以前に遡ると、1960年に開かれたデンバー会議で最初のヒト核型記載の基礎が築かれた。1963年のロンドン会議では、AからGグループの分類がなされ、1966年のシカゴ会議では、染色体異常記載の基礎が築かれた。1971年パリ会議で染色体分染に関わる記載法が決められた。

## 7. 染色体研究法

染色体標本作製法及び染色体分染法について、基本的な方法のみ紹介する[2,3,5,36]。

### 7.1. 染色体標本作製法

中期染色体標本作製するためには、細胞分裂が活発な細胞が必要とされる。培養細胞は染色体研究に最も適した細胞である。生体内の細胞を直接用いることも可能であり(直接法)、造血細胞等細胞再生系の細胞を用いる。哺乳類では骨髄、魚類では腎臓が用いられている。細胞分裂促進剤を用いる血液の短期培養法は、簡便で確実に染色体標本が作製できる。

染色体標本は、細胞培養法や直説法により得られた細胞にコルヒチン等の分裂阻害剤を一定時間作用させた後、低張処理、酢酸アルコール固定を行い、空気乾燥法(エアドライ法)により作製する。

#### 1) 血液培養法

- ① 血液を約 5mL 採取し、氷中に放置する。
- ② 血球と血漿がある程度分離したところで、血球と血漿の境界付近の白く濁った白血球・リンパ球の層を約 1mL 採取し、フラスコに入れる。
- ③ フラスコに 10%牛胎児血清を含む培養液\*1 を約 4mL 入れ、さらに PHA-M\*2 を加える。
- ④ 3 日間培養し、培養終了後の 2 時間前にコルヒチン\*3 を 0.2µg/mL 加える。

\*1: RPMI1640 (浮遊培養、血液培養用)、Eagle's MEM (最も標準的な培養液) 等を用いる。

\*2: PHA-M (Phyto-hemagglutinin) はリンパ球の細胞分裂促進剤 (Mitogen) で T 細胞に作用する。他に、Pokeweed mitogen (PWM)、concanavalin A (ConA) 等がある。

\*3: コルセミドの方が毒性が低く、染色体の短縮も少ないので望ましい。

#### 2) 染色体標本作製法(空気乾燥法・エアドライ法)

- ① コルヒチン等分裂阻害剤で処理を行った細胞を遠心管 (10ml) に移す。
- ② 遠心分離器 (スウィング式) で 1000 rpm で 5 分間の遠心分離を行う。
- ③ 上澄みを捨てて、低張液 (0.075M KCl) を加える。低張液は、まず少量 (約 1ml) を加え、単一の細胞浮遊液になるよう、よくピペッティングする。次に、低張液を 10ml 加え、よくピペッティングする。室温で 20 分間放置し低張処理を行う。5 分間隔位でよくピペッティングを行う。
- ④ 遠心分離器で 1000rpm、5 分間の遠心分離を行う。
- ⑤ 上澄みを捨てるが、少量の低張液(1ml)を残し、十分ピペッティングを行う。

- ⑥ 固定液 (酢酸:メチルアルコール=1:3) を 1 滴加えると同時に十分ピペッティングを行う。さらに、数滴固定液を加え十分ピペッティングを行う。最後に適当な細胞濃度になるように固定液を加えピペッティングを行う。
- ⑦ 1000 rpm、5 分間で遠心分離し、上澄みを捨て、適量の固定液を加え十分ピペッティングを行う。
- ⑧ ⑦の操作 (固定液の交換) を 2-3 回繰り返す。
- ⑨ よく磨いたスライドガラス上に 1 滴滴下し、自然乾燥する (空気乾燥法)。
- ⑩ pH5.8 の 1/15M リン酸緩衝液で希釈した 2% ギムザ(Giemsa) 液で 10 分間染色し、顕微鏡観察を行う。
- ⑪ 良好な染色体像が観察されたら、⑦の操作をもう 1 度行い、⑨の要領で必要な量の標本作製する。  
\*観察された染色体像が良くなければ、良好な像が得られるまで ⑧⑨⑩の操作を繰り返す。

### 7.2. 染色体分染法

#### 1) G-バンド染色法

- ① トリプシン法 (Seabright, 1970): 標本を 0.025% trypsin 溶液に数秒浸した後、水洗、乾燥させ、2% Giemsa 液 (pH6.8 のリン酸緩衝液で希釈) で、10 分間染色する。
- ② S S C 法 (Sumner, 1971): 標本を、60°C の 2×SSC (0.3M NaCl + 0.03M sodium citrate) 中で 1 時間処理した後、水洗し、乾燥させ、上記 2%Giemsa 液で染色する。
- ③ S D S 法 (Yosida と Sagai, 1973): 標本を、0.01% SDS 溶液 (2×SSC に溶かす) に数分浸した後、水洗、乾燥させ、2%Giemsa 液で染色する。

#### 2) C-バンド染色法

BSG(Barium/Saline/Giemsa)法 (Sumner, 1972) が再現性がよく広く用いられている。

標本を、0.2N HCl で 1 時間処理、50°C の水酸化バリウム飽和水溶液で 30-120 秒処理、水洗し、60°C の 2×SSC (上記) 中で 1 時間処理後、水洗し、乾燥、10-20 分 4%Giemsa 液で染色する。

#### 3) Ag-NOR 染色法

one-step 法 (Howell と Black, 1981) が、簡便で再現性が高く広く用いられている。

現像液 (ゼラチン 1g を 50ml の脱イオン水に溶解、ギ酸 0.5ml を加える) と Ag 液 (50w/v% AgNO<sub>3</sub>) を準備する。標本を 70°C のホットプレート上に置き、現像液と Ag 液を等量、標本上に滴下し、カバーガラスをかける。現像が進み茶色になると水洗、乾燥させる。NORs が濃茶色に、染色体は薄茶色に染色される。

## 最後に

本稿は、最初に述べたように、進化系統学的研究を目的とする動物の染色体研究を行う上での基礎として必要な内容を網羅的に解説したもので、この分野で研究を始めようとした時、一読すれば全体像がおおよそ掴めるものとした。引用文献についても主に成書や総説・解説を挙げ、また日本語、あるいは洋書では日本語訳のあるものを基本とした。個々の内容の詳細については、引用文献等で確認していただければと思う。

文献について少し述べると、1970年代中頃までの染色体研究の状況については歴史的な部分を含め、日本における動物染色体研究の創始者ともいえる牧野佐二郎先生の「染色体」[2]において網羅されている。この書では2500編以上の原論文が引用されており、染色体研究の百科事典のような位置づけにもなっている名著である。この書に先立ち牧野先生は英文の書「Human Chromosomes」[37]を刊行し、世界的な評価をうけている。「染色体」と同時期に、外村晶先生の編集による「染色体異常」[3]が出版され、染色体研究を行う上での重要な知識が網羅され、出版された当時注目された。これらの書は現在なお、染色体・核型研究を行う上での基本的知識を得るための必携のものである。「臨床染色体診断法」[4]は、その後の研究発展を含めた大部の書で、上記の書の改定版ともいえる。染色体分染法法の発展に貢献した Sumner 先生の「クロモソーム」[5]は分子レベルでの最新の成果を取り入れた内容で、染色体を学ぶ者にとって重要な書である。DNAの扱いが比較的容易にできるようになり、染色体研究も FISH 法の適用等により、分子レベルでの解析が可能となり、染色体の構造や細胞分裂のしくみ等も分子レベルで詳細に解明されるようになり、大きく変貌している。それらの状況の概要は、標準的な教科書[12,13]において知ることができる。

いずれにせよ、本稿が動物の染色体・核型研究の入門書となれば幸甚である。また、本稿がこの分野に関心を持つきっかけの書になればさらに幸甚である。

筆者は関西学院大学理学部の小嶋吉雄先生の細胞遺伝学の研究室に入門して以来、40年が経過した。入門当時、染色体分染法の応用が哺乳類以外の動物にも応用が進められつつある時代で、筆者は魚類において研究を進め興味深い成果も多々得られた。研究は研究法の開発により大きく変わるが、ここ20年程の間に FISH 法を中心に新しい研究法により染色体研究は大きく変貌した。しかし、従来からの研究も基礎的な部分として尚果たす役割が大きいと考える。今、筆者の約40年の研究生活を振り返ると、自分自身のことだけでなく、染色体研究全体の発展に感慨深いものがある。

稿を終えるにあたり、恩師 故小嶋吉雄先生に改めて感謝申し上げたい。

## 文献

- [1] 生物学辞典 第5版. 岩波書店 (2013)
- [2] 牧野佐二郎: 染色体—人類の細胞遺伝. 医学書院, 東京 (1979)
- [3] 外村晶(編著): 染色体異常—ヒトの細胞遺伝学. 朝倉書店 (1978)
- [4] 染色体をめぐって. 医学の歩み Vol.121 No.9, 523-830 (1982)
- [5] 古庄敏行(監編), 吉田迪弘他(編): 臨床染色体診断法. 金原出版 (1996)
- [6] A.T. サムナー: クロモソーム 構造と機能 (福井希一監訳). 大阪公立大学共同出版会 (2006)  
原版: Sumner A.T.: Chromosomes — Organization and Function. Blackwell Science Ltd., UK (2003).
- [7] Tijo JH, Levan A: The chromosome number of man. *Hereditas* 42, 1-6 (1956)
- [8] 山根績, 岡田善雄, 堀川正克, 黒木登志夫(編): 体細胞遺伝学. 理工学社 (1981)
- [9] 染色体研究の新たな展開. 蛋白質核酸酵素 Vol. 31 No. 13 (1986)
- [10] 阿部達生, 藤田弘子: 新染色体異常アトラス. 南江堂 (1997)
- [11] ヒト染色体 分子生物学から遺伝子医学へ. 蛋白質核酸酵素 1996年11月号増刊 Vol.41 No.15 (1996)
- [12] 細胞の分子生物学 第5版 (中村桂子, 松原謙一監訳). Newton Press (2010)  
原版: Alberts B et al.: Molecular Biology of the Cell 5th Ed. Garland Science, UK (2008)
- [13] ヒトの分子遺伝学 第4版 (村松正實, 木南凌監訳). メディカルインターナショナル (2011)  
原版: Strachan T, Read A: Human Molecular Genetics 4th Ed. Garland Publishing, UK (2010)
- [14] 平岡泰, 原口徳子(編): 染色体と細胞核のダイナミクス: DNA を操る細胞の仕組み. DOJIN BIOSCIENCE SERIES, 化学同人 (2013)
- [15] 細胞核研究の最先端. 蛋白質核酸酵素 Vol.44 No.12 (1999)
- [16] 特集 染色体運動の制御起点. 蛋白質核酸酵素 Vol.49 No.12 (2004)
- [17] 特集 細胞核とクロマチン. 蛋白質核酸酵素 Vol.51 No.4 (2006)
- [18] 細胞核の世界. 蛋白質核酸酵素 Vol.51 No.14 (2006)
- [19] 染色体サイクラー複製・分配・組換え・修復・クロマチン制御のメカニズム. 実験医学増刊 Vol.25 No.5 (2007)

- [20] 平岡泰(編)：細胞核－遺伝情報制御と疾患. 実験医学増刊 Vol.27 No.17 (2009)
- [21] 正井久雄, 渡邊嘉典(編)：染色体サイクル. 蛋白質核酸酵素 Vol.54 No.4 (2009)
- [22] 渡邊嘉典(監修)：特集 細胞分裂・染色体分配の新常識－鍵を握る動原体の制御. 細胞工学 Vol.29 No.9 (2010)
- [23] 杉本亜砂子(監修)：特集 細胞分裂－131 年目の真実. 細胞工学 Vol.32 No.3 (2013)
- [24] 平野達也(企画)：特集 フレミングが夢見た染色体の核心. 実験医学 Vol.31 No.10 (2013)  
平野達也：コンデンシンとコヒーシン. 同誌 2548-2554
- [25] B.ジョン：集団細胞遺伝学(森脇和郎, 今井弘民約). 朝倉書店 (1980) 原版：John B : Population Cytogenetics. Edward Arnold, London (1976)
- [26] S.オオノ：遺伝子重複による進化. 岩波書店 (1977) 原版：Ohno S : Evolution by Gene Duplication. Springer-Verlag (1970)
- [27] 特集 脊椎動物の核型進化と種の分化. 遺伝 Vol.33, No.8 (1978)
- [28] 小島吉雄：魚類細胞遺伝学. 水交社 (1982)
- [29] Levan A, Fredga K, Sandberg AA : Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52, 201-220 (1964)
- [30] Ohno S : Sex chromosomes and Sex-linked Genes. Springer-Verlag (1967)
- [31] Ohno S : Major Sex Determining Genes. Springer-Verlag (1979)
- [32] 諸橋憲一郎(監修)：みと♀のバイオロジー. 細胞工学 Vol.25 No.4 (2006)
- [33] 前島一博：染色体 生命を担う驚異の構造. 蛋白質核酸酵素 Vol.50, 1620-1629 (2005)
- [34] 数藤由美子・平井百樹：ヒトと類人猿の染色体レベルの違い. 特集 人類の起源と進化を DNA レベルで探る. 蛋白質核酸酵素 Vol.45 No.16, 2596-2603 (2000)
- [35] ISCN 2013 (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature 2013). Karger, USA (2013)
- [36] Verma B, Babu A : Human Chromosomes: Principles and Techniques, Second Edition. (1994)
- [37] Makino S : Human Chromosomes. IGAKU-SHOIN Ltd., Tokyo (1975)

---

論文集「人と環境」Vol. 9 (2016)  
大阪信愛生命環境総合研究所編

---