112 染色体の異数化を測定する実験系の確立とその応用

阿部 拓也

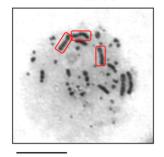
【目的】通常ヒトの二倍体細胞は、22 対の常染色体と 1 対の性染色体、計 46 本の染色体を持っており、染色体数が増減しないように制御されている。この恒常性の破綻、つまり染色体の異数化はダウン症(21 番染色体トリソミー)やエドワーズ症候群(18 番染色体トリソミー)で見られるようにヒトの遺伝病の原因となる他、多くの癌細胞で染色体の異数化が観察される。このため細胞がどのように染色体数の恒常性を保っているのかを明らかにすることは、ヒトの病気の原因解明や新たな治療法の開発につながる可能性がある。現在、染色体の異数化を定量的に評価する良い実験系が存在しないことから、本研究では染色体の異数化を検出する新たな系の構築とその応用を目指した。

【方法】ニワトリBリンパ球、DT40 細胞は核型が比較的安定な細胞株であるが、2番染色体がトリソミーになっている。本研究ではこの2番染色体のうちの一つに HSV-TK 遺伝子や Ecogpt 遺伝子などのネガティブセレクションマーカーをノックインした細胞を作製した。これらの細胞において薬剤セレクションを行い、得られたクローンの染色体を解析した。またダイソミーである22番染色体に Ecogpt をノックイン後、薬剤セレクションを行い、モノソミーとなった細胞が得られるかどうか検討した。

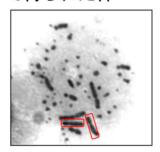
【結果】薬剤セレクションの結果得られたクローンでは HSV-TK と Ecogpt どちらを用いた場合でも 90%以上の確率で 2 番染色体を失っていた。これはネガティブセレクションマーカーに機能不全となる変異が入るよりも遥かに高い確率 で 2 番染色体を失ったことを意味している。この結果から、本実験系を用いることで染色体の異数化を引き起こす薬剤 や遺伝子変異のスクリーニングなどが可能であると考えられる。また同様の実験を通常のダイソミーである 22 番染色体 で行ったところ、22 番染色体がモノソミーとなった細胞を得た。このため、本実験系は染色体の異数化を測定するだけでなく、人工的に染色体の数を変化させるための手法として広く活用できると考えられる。

ネガティブセレクションの前後における染色体数の変化

DT40親株



ネガティブセレクション で得られた株



10 μm

│ 2番染色体