

唾腺染色体の観察

【上級編】染色体異常の観察

筑波大学生物学類 進化遺伝学実験
 2014年11月20日
 © 新井健太 初版 2014年9月14日
 第二版 2015年5月27日

導入

染色体異常とは、染色体に欠失、重複、転移、逆位が起こることです。これらの突然変異は、唾腺染色体上のバンドの順番に変化をもたらすので、その情報をもとに発見することができます。しかし、バンドの特徴や順番を同定するには熟練を要します。そこで本実習では、欠失と逆位が唾腺染色体上にループ構造を作ることを利用して発見、観察を行います。ここで、ループ構造ができるしくみを解説します。欠失 (Deficiency, 記号は *Df*) は染色体の一部が失われたものです (図1b)。

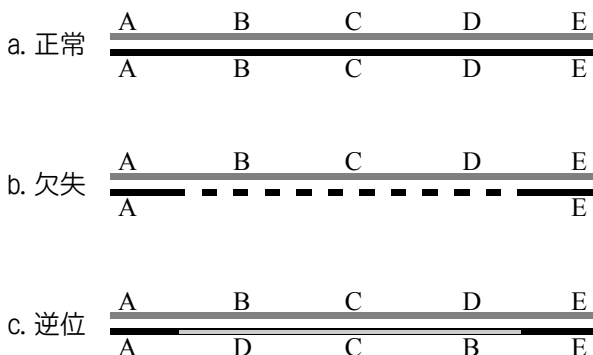


図1 染色体構造変異の概念図

二本一對の線は相同染色体の模式図。ABCDEのアルファベットは染色体領域の順番を表す。a. 正常な相同染色体。b. 一方の相同染色体で、BCD領域が失われている。c. 一方の相同染色体で、BCD領域が逆位となり、DCBへと変化している。

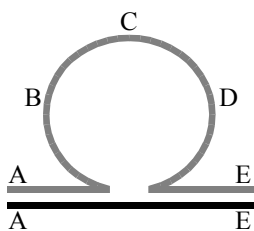


図2 正常染色体と欠失染色体の対合
 灰色は正常染色体で、すべての領域ABCDEをもつ。黒色で示した欠失染色体はBCD領域がなくなり、AEのみとなっている。

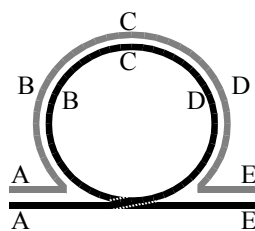


図3 正常染色体と逆位染色体の対合
 黒色で示した逆位染色体はBCD領域が逆転して、ADCBEの順になっている。図中ではDBCの順に左回りで対合し、ループ構造をなしている。

遺伝子がなくなっているため、基本的に劣性致死となります。相同染色体は、相同な部分同士が対合していきます。よって、欠失のある染色体 (*Df*) と正常な野生型染色体 (+) のヘテロ接合 (*Df/+*) では、+のほうが長く余ってしまいます (図2)。この余った部分が、唾腺染色体のループ構造として観察されるのです。

逆位 (Inversion, 記号は *In*) は染色体の一部が逆転したものです (図1c)。*In/+*において相同な部分同士がむりやり対合して図3のようになり、ループ構造として観察されるのです。

以上を踏まえ、本日の実習の目的を次のとおり設定します。

1. 押しつぶし法による、唾腺染色体の観察テクニックを復習 (→【初級編】を参照)
2. 染色体異常をループ構造として観察

材料

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) の三齢幼虫を用い、唾腺染色体を観察します。本日の観察に用いる系統は、インバージョントワーエルアルエスエムワン / インバージョントワーエルアル プラム です。欠失や逆位をもつ系統の多くは、平衡致死という特殊なヘテロ接合状態で系統維持されています。例えば、有名な *Curly/Plum* 系統は次のような遺伝子型です。

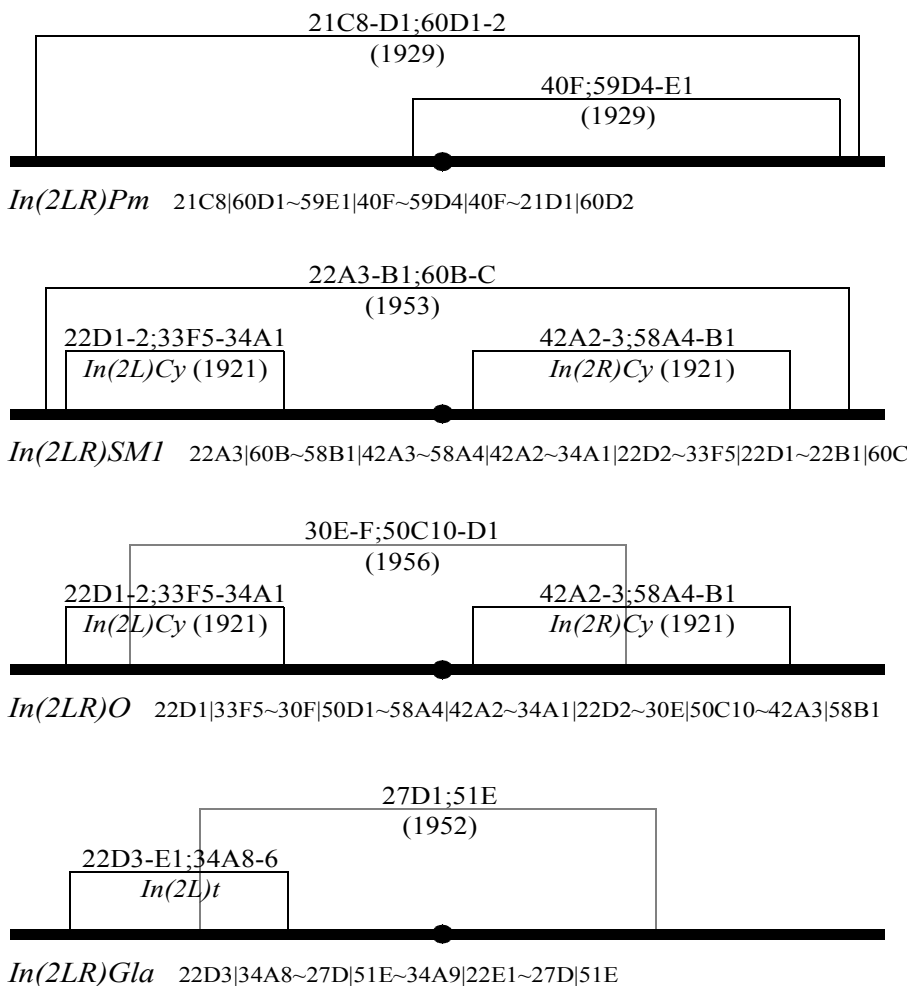
インバージョントワーエルアルエスエムワン / インバージョントワーエルアル プラム
In(2LR)SM1/In(2LR)Pm

In が逆位 (Inversion) であることを示し、(2LR)はこの逆位が第二染色体 (2nd) の左腕 (left arm) から右腕 (right arm) にまたがっていることを示します。*SM1* や *Pm* はその逆位の愛称です。この遺伝子型の唾腺染色体を観察することもできますが、染色体異常の構造がきわめて複雑なため、絡みあって唾腺染色体がうまく開かなかったり、構造を理解するのが難しかったりします。欠失や逆位は、野生型染色体とのヘテロ接合にすることで観察しやすくなります。例えば、下記のように交配すれば、 F_1 の唾腺染色体は格段に観察しやすくなります。

$P \text{ ♀♀ } In(2LR)SM1/In(2LR)Pm \times +/+ \text{ ♂♂}$
 $F_1 \quad In(2LR)SM1/+ \quad +/In(2LR)Pm$

付録1 雑種の唾腺染色体

キイロショウジョウバエの近縁種にオナジショウジョウバエ (*Drosophila simulans*) がいます。この二種を小瓶に閉じ込めて飼育すると、まれに雑種を得ることができます。雑種の唾腺染色体を観察すると、染色体の末端が二股に分かれることが知られています。しかし、雑種をつくるのはたいへんです。うれしいことに、キイロショウジョウバエの第二染色体の左端だけがオナジショウジョウバエのものに置き換わった染色体（記号は Introgression の意味で *Int(2L)D*）が作出されています (K. Sawamura, A. W. Davis and C. I. Wu. 2000. PNAS 97: 2652-2655)。この染色体を使えば、第二染色体の左端だけが雑種状態になり、お手軽に二股を観察できます。よく利用される系統として、*Int(2L)D+S/In(2LR)O* があります。この系統の唾腺染色体を観察すれば、二股と逆位の両方が観察できます。なぜ、雑種で染色体が対合しない領域があるのでしょうか。生物進化の視点から考えてみましょう。



付録2 第二染色体の複合逆位

逆位の内部で一回の乗換え (crossing over) が起きると、大きな欠失や重複が生じます。これらは有害なため、組換え体は羽化してきません。こうして、結果的に組換え (recombination) が抑制されます。一本の染色体上にたくさんの逆位が乗っているものを、複合逆位といいます。染色体の全長にわたって複数の逆位が存在し、組換えをほとんど抑制できる染色体をバランサー染色体といいます。下図では、第二染色体の代表的なバランサー染色体の構造を図示しました。黒棒が染色体、黒丸が動原体、細線は逆位領域を示します。黒棒の下には複合逆位名と、その配列 (new order) を記してあります。それぞれの逆位には、細胞学的地図上の位置を記しました。第二染色体の細胞学的地図は、21-60 までの領域に等分され、それぞれの領域は特徴的なバンドを目印にして A-F の副領域に分けられています。例えば、21C8 ならば 21 領域の C 副領域内にある 8 番目のバンドを指します。年号はその逆位が生じたとみなせる西暦で、Q. Araye and K. Sawamura. 2013. Fly

7: 184-186 の方式に則った、発見年もしくは初出典年です。ただし、*In(2L)t* は野外由来のため無明記です。*In(2L)Cy* と *In(2R)Cy* についても、発見の経緯に鑑みれば人為突然変異ではなく、L. E. Mettler, R. A. Voelker, and T. Mukai. 1977. Genetics 87: 169-176 の観察は野外由来の可能性を示しています。バランサー染色体は基本的に優性可視突然変異を目印としてもち、ホモ接合で致死です。バランサー染色体の登場は、劣性致死変異・劣性不妊変異の系統化や、組換えを無視した交配実験を可能としました。このような性質により、キイロショウジョウバエの遺伝学発展に重大な貢献を果たしてきたのです。それぞれのバランサー染色体がどのようなループ構造になるのか模式的に描画し、実際の唾腺染色体と照合してみましょう。