

第2回日本動物生理学シンポジウム

9) サル胎盤性オキシトチナーゼに関する研究

林 基治, 大島 清

第53回日本生理学会 (1976)

10) ニホンザル大脳アミノアシルアリルアミダーゼの精製と性質

林 基治, 大島 清

第49回日本生化学学会 (1976)

11) 生殖生理研究モデルとしてのニホンザルの意義

麻生武志, 大島 清, 松林清明

第75回日本不妊学会関西支部集談会 (1976)

生化学研究部門

高橋健治・竹中 修

景山 節・中村 伸

浅岡一雄¹⁾

研究概要

1) 蛋白質および酵素の構造, 機能, 進化に関する基礎的研究

高橋 健治

蛋白質および酵素の構造と機能およびその相関性と分子進化に関する比較生化学的基礎研究を酸性プロテアーゼ, リボヌクレアーゼを含む数種の蛋白質について継続している。タンパク質中のアルギニン残基の特異的の化学修飾およびアミノ基の新しい可逆的の化学修飾に関する基礎研究と応用を進めた。また, 酵素の不溶化誘導体の調製をリボヌクレアーゼ T₁ について試み, 安定な誘導体を得, その性状を調べた。

2) 霊長類ドーパミンβ-水酸化酵素の性状と動態

高橋 健治

前年度に引き続き, 各種霊長類血中の本酵素活性の検索を進めた²⁾。

3) 霊長類の解毒酵素の精製と性質

浅岡一雄・高橋健治

霊長類の解毒酵素の性状と特性に関する研究を続行している。アカゲザル肝臓より得たグルタチオンS-アシル転移酵素について, それの構成する2個のサブユニットが同一であることを支持する知見を得た。また, 化学修飾法による活性部位残基の検索を進め, アルギニン残基の重要性を示唆する知見を得た。種々の基質に対する5種のアイソザイムの基質特異性を調べ, 相互に同一ではないが定性的には類似しており, ネズミの場合よりむしろヒトの場合に近いことを示した。また, AF-2を含むニトロ化合物に対する活性検索を進めた。

4) 霊長類の組織中の蛋白質分解酵素の性状の研究

十川和博¹⁾・高橋健治

霊長類の各種組織中の蛋白質分解酵素の性状に関する研究を続行した。ニホンザル肝臓に見出した新しいタイプの中性プロテアーゼの諸性状の解明を進めるとともに, 比較の目的でネズミ肝臓についても本酵素を検索し, その存在を明らかにした。また, 超遠心分画法によりその細胞内分布を検索するとともに, 性状の解明を進めた。さらに, 蛍光性試薬を用いる, 組織微量中性プロテアーゼの高感度かつ簡便な活性測定法を開発し, その応用を試みた。

5) 霊長類の組織酸性プロテアーゼの精製と性質

森山昭彦²⁾・高橋健治

霊長類の各種組織中の酸性プロテアーゼに関する研究を続行した。ニホンザル肺に見出した新しいタイプの酸性プロテアーゼの精製と性状の解明を更に進めた。本酸性プロテアーゼは, Macaca 属および周辺の霊長類には存在するが, 下等な霊長類やネズミなどには存在せず, 比較的進化した霊長類の肺に特異的に存在する可能性がある。また, 肺以外の組織には現在までのところ見出されない。アミノ酸組成等は胃粘膜のペプシノーゲンCと酷似しており, 分子進化上の関連が示唆された。

6) 霊長類の高地適応に関する研究

竹中 修

エチオピア高原に棲息するゲラダヒヒ等広く霊長類の高地適応を明かにすることを目的とした研究の一環として, ゲラダヒヒ, ドグエラヒヒ, マントヒヒのヘモグロビンを精製し, 酸素親和性を調べた。この結果, 上記の順で酸素に対する親和性は高かったが差異は僅少であった。ゲラダヒヒの高地に対する適応は, 赤血球内代謝あるいは赤血球数の増加等のより高次なレベルによると推測せざるを得ない。

7) ニホンザル新生児期における血液成分の動態

竹中晃子³⁾・竹中 修

4頭のニホンザルについて, 誕生後半年に渡って最初は週2回, 後に週1回採血し, ヘモグロビンは等電点ゲル電気泳動法により胎児型ヘモグロビン2種の減少と成体型ヘモグロビンの増加について定量的に調べた。また, 血漿タンパク質についてはリボプロテイン, ハプトグロブリン等についてディスク電気泳動法により各成分の変化を調べた。

8) ニホンザル異常ヘモグロビンの構造決定

竹中 修・中村 伸・高橋健治

伊豆半島波勝崎および湯河原の群れに発見されたニホンザルの異常ヘモグロビンについて, 置換したアミノ酸

1) 教務職員

2) 永津俊治ら(東工大・生命科学)との協同研究。

1) 大学院生

2) 大学院生

3) 研修員

を調べた。まず異常ヘモグロビンを精製後、 α 鎖と β 鎖に分離し、電気泳動法、フィンガープリント法で検討した結果、 β 鎖でアミノ酸置換が生じていることが判明した。 β 鎖のトリプシン消化物をカラムクロマトグラフ法とペーパークロマトグラフ法によりそれぞれのペプチドに分離し、それらのアミノ酸組成分析から β 鎖のアミノ末端から83番目のグリシン(通常はニホンザル)がシステインに置換していることが判明した。この異常ヘモグロビンをHbIzu (Macaca) β 83 (EF 7) Cysと命名した。

9) 霊長類のペプシノーゲン、ペプシンの精製と、構造及び機能に関する研究

景山 節・高橋健治

胃粘膜からのペプシノーゲンの精製はニホンザルで確立された。本年度は、糖を含むペプシノーゲンについて、糖ペプチドを分離、精製し、糖組成並びにペプチド部分のアミノ酸配列順序を決定した。糖鎖はペプチド鎖中の唯1ヶ所でアスパラギン残基と結合しており、フコースが多い特徴的な組成を有し、血液型物質と類似していることが知られた。また、種属間の比較のため、カタイザルよりペプシノーゲンの精製を行ない、電気泳動法、アミノ酸分析などにより性質を検討した。これらのペプシノーゲンとニホンザルのそれとの間にはわずかながら違いが見られた。ニホンザルを中心にした構造解析の研究を続行中である。

10) 酸性プロテアーゼの活性部位の比較生化学的研究

中村 伸・高橋健治

酸性プロテアーゼの活性部位の性状の比較生化学的研究の一環として、*Rhizopus chinensis*の酸性プロテアーゼの活性部位カルボキシル基を親和性標識試薬1,2-エポキシ-3-(*p*-ニトロフェノキシ)プロパンで標識し、標識ペプチドを単離してそのアミノ酸配列を決定した。この結果、アスパラギン酸残基が特異的に修飾されており、その必須アスパラギン酸残基近傍のアミノ酸配列は、ブタペプシンおよびコウシレンニンの場合と相同性が極めて高いことが判明した。

11) 霊長類フィブリノーゲンおよびフィブリノペプチドに関する比較生化学的研究

中村 伸・竹中 修・高橋健治

霊長類の種の分岐、進化を分子レベルで明らかにする目的で、各種サル血漿よりフィブリノーゲンを精製し、ヒトフィブリノーゲンに対する抗原性を調べ、その種間差異を定量比較することにより、種の近縁関係を推定する。また、フィブリノペプチドについて、そのアミノ酸配列順序を決定し、種間で検出されるアミノ酸置換を指標にして、その分子進化の様相を解析するとともに、種の分岐年代を推定する。現在、原猿類(ワオキツ

ネザル、オオギャラゴ)、真猿類(ニホンザル、マントヒヒ)、類人猿(チンパンジー)について上述の研究を進めている。

12) 血液凝固機構に関する比較生化学的基礎研究¹⁾

中村 伸・高橋健治

霊長類を含む高等哺乳動物の血液凝固因子と凝固機構について、各種動物の場合と対比し、その知見に基づいて生物進化の様相を解析する目的で、現在、節足動物カブトガニの凝固因子に関する基礎的研究を進めている。カブトガニのゲル前駆体タンパク質(coagulogen)のゲル化機作は、高等動物フィブリノーゲンのそれと同一であった。また、そのN末端部分および凝固酵素で限定分解される部位のアミノ酸配列は、霊長類フィブリノーゲンのそれらと相同配列を示した。さらに、凝固酵素の基質特異性と各種阻害剤に対する挙動は、高等動物の凝固因子FactorXaと酷似していた。このような霊長類を含む高等哺乳動物との著しい類似は、凝固系の進化の道筋を考察する上で重要な知見と考えられる。

論 文

- 1) van Eerd, J-P and K. Takahashi (1976): Determination of the complete amino acid sequence of bovine cardiac troponin C. *Biochemistry*, 15, 1171-1180.
- 2) Takahashi, K., W-J. Chang and K. Arima (1976): The structure and function of acid proteases. IV. Inactivation of the acid protease from *Mucor pusillus* by acid protease-specific inhibitors. *J. Biochem.*, 80, 61-67.
- 3) Kato, T., K. Ikuta, T. Nagatsu and K. Takahashi (1976): Changes in dopamine β -hydroxylase activity of monkey plasma with age. *Experientia*, 32, 834.
- 4) Takahashi, K. and W-J. Chang (1976): The structure and function of acid proteases. V. Comparative studies on the specific inhibition of acid proteases by diazoacetyl-DL-norleucine methyl ester, 1,2-epoxy-3-(*p*-nitrophenoxy) propane and pepstatin. *J. Biochem.*, 80, 497-506.
- 5) Nishikawa, K. and K. Takahashi (1976): Ribonucleases from porcine brain. Partial purification and properties. *J. Biochem.*, 80, 767-776.
- 6) Chang, W-J., S. Horiuchi, K. Takahashi, M.

1) 岩永貞昭(阪大蛋白研)、丹羽 允(大阪市大・医、細菌)との協同研究

- Yamasaki and Y. Yamada (1976): The Structure and function of acid proteases. VI. Effects of acid protease-specific inhibitors on the acid proteases from *Aspergillus niger* var. *macrosporus*. *J. Biochem.*, 80, 975-981.
- 7) Takahashi, K. (1976): Specific modification of arginine residues in proteins with ninhydrin. *J. Biochem.*, 80, 1173-1176.
 - 8) Oshima, H. and K. Takahashi (1976): The structure and function of ribonuclease T₁. XX. Specific inactivation of ribonuclease T₁ by reaction with tosylglycolate. *J. Biochem.*, 80, 1259-1265.
 - 9) Takahashi, K. (1976): The Structure and function of ribonuclease T₁. XXI. Modification of histidine residues in ribonuclease T₁ with iodoacetamide. *J. Biochem.*, 80, 1267-1275.
 - 10) Sogawa, K. and K. Takahashi (1976): A novel neutral protease(s) from monkey liver. *J. Biochem.*, 80, 1443-1446.
 - 11) Oshima, H. and K. Takahashi (1977): Studies on thermolysin. II. Effects of chemical modifications on the activity of thermolysin. *J. Biochem.*, 81, 65-70.
 - 12) Takahashi, K. (1977): The reactions of phenylglyoxal and related reagents with amino acids. *J. Biochem.*, 81, 395-402.
 - 13) Takahashi, K. (1977): Further studies on the reactions of phenylglyoxal and related reagents with proteins. *J. Biochem.*, 81, 403-414.
 - 14) Takahashi, K. and N. Inoue (1977): The structure and function of ribonuclease T₁. XXII. Tryptic cleavages of the single lysyl and arginyl bonds in ribonuclease T₁. *J. Biochem.*, 81, 415-421.
 - 15) Sogawa, K. and K. Takahashi (1977): The structure and function of acid proteases. VII. Distribution and some properties of acid proteases in monkey tissues. *J. Biochem.*, 81, 423-429.
 - 16) Takahashi, K. (1977): The Structure and function of ribonuclease T₁. XXIII. Inactivation of ribonuclease T₁ by reversible blocking of amino groups with *cis*-aconitic anhydride and related dicarboxylic acid anhydrides. *J. Biochem.*, 81, 641-646.
 - 17) Ito, H., M. Hagiwara, I. Ichikizaki and K. Takahashi (1977): A highly stable water-insoluble derivative of ribonuclease T₁. *Chem. Lett.*, 215-216.
 - 18) Takenaka, O., A. Takenaka and Y. Inada (1976): Sodium trichloroacetate-induced helical conformation of poly(L-lysine). *Biochim. Biophys. Acta*, 439, 302-309.
 - 19) Takenaka, O. and H. Morimoto (1976): Oxygen equilibrium characteristics of adult and fetal hemoglobin of Japanese monkey (*Macaca fuscata*). *Biochim. Biophys. Acta*, 449, 457-462.
 - 20) Kageyama, T. and K. Takahashi (1976): Pepsinogen c and pepsin c from the gastric mucosa of Japanese monkey. Purification and characterization. *J. Biochem.*, 80, 983-992.
 - 21) Kageyama, T. (1976): Pathways of carbohydrate metabolism in the eggs of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect. Biochem.*, 6, 507-511.
 - 22) Takahashi, S. Y., T. Kageyama and E. Ohnishi (1976): Malic enzyme from silkworm eggs—purification and characterization. *Comp. Biochem. Physiol.*, 55B, 479-482.
 - 23) Kageyama, T. and K. Takahashi (1977): The carbohydrate moiety of Japanese monkey pepsinogens—its composition and site of attachment to protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 74, 789-795.
 - 24) Nakamura, S., S. Iwanaga, T. Harada and M. Niwa (1976): Clottable protein (coagulogen) from amoebocyte lysate of Japanese horseshoe crab (*Tachypleus tridentatus*). *J. Biochem.*, 80, 1011-1021.
 - 25) Nakamura, S., T. Takagi, S. Iwanaga, M. Niwa and K. Takahashi (1976): A clottable protein (coagulogen) of horseshoe crab hemocytes. Structural change of its polypeptide chain during gel formation. *J. Biochem.*, 80, 649-652.
 - 26) Nakamura, S., T. Takagi, S. Iwanaga, M. Niwa and K. Takahashi (1976): Amino acid sequence studies on the fragments produced from horseshoe crab coagulogen during gel formation. Homologies with primate fibrinopeptide B. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 72, 902-908.
 - 27) Nakamura, S., S. Iwanaga, M. Niwa and T. Harada (1977): A clottable protein (coagulogen) from hemocyte lysate of Japanese horseshoe

crab (*Tachypleus tridentatus*) *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 30, 74-77.

- 28) Nakamura, S. and K. Takahashi(1977): Amino acid sequences around 1,2-epoxy-3-(*p*-nitrophenoxy)propane-reactive residues in *Rhizopus chinensis* acid protease. Homology with pepsin and rennin. *J. Biochem.*, 81, 805-807.
- 29) Nakamura, S., T. Morita, S. Iwanaga, M. Niwa and K. Takahashi (1977): A sensitive substrate for the clotting enzyme in horseshoe crab hemocytes. *J. Biochem.*, 81, 1567-1569.

学会発表

- 1) 霊長類グルタチオン S-転移酵素の多様性と性質
浅岡一雄・高橋健治
日本生化学会第49回大会札幌 (1976)
- 2) ニホンザル肝臓の中性プロテアーゼの性状
十川和博・高橋健治
日本生化学会第49回大会札幌 (1976)
- 3) サル肺酸性プロテアーゼの精製と性質
森山昭彦・高橋健治
日本生化学会第49回大会札幌 (1976)
- 4) ニホンザルの糖を含むペプシンノーゲン
景山 節・高橋健治
日本生化学会第49回大会札幌 (1976)
- 5) サル血漿ドーパミン- β -水酸化酵素活性の年齢による変化
加藤 武・生田敬子・永津俊治・高橋健治
日本生化学会第49回大会札幌 (1976)
- 6) Bovine plasma factor XIII: its molecular structure and function.
Iwanaga, S., S. Nakamura and K. Suzuki. The 16th International Congress of Hematology (Kyoto) (1976).
- 7) Bovine cold-insoluble globulin: purification, properties and biological function.
Suzki, K., S. Nakamura and S. Iwanaga. The 16th International Congress of Hematology (Kyoto) (1976).
- 8) Fibrinogen "Mitaka": A hereditary hypodysfibrinogenemia. Muraki, H., Y. Ando, S. Matsuda, M. Kikuchi, M. Hasegawa, F. Ono, M. Yamamoto, M. Suzuki, S. Nakamura and S. Iwanaga. The 16th International Congress of Hematology (Kyoto) (1976).
- 9) カプトガニゲル化反応のメカニズムと精製 coag-

ulogen の性質

中村 伸・岩永貞昭
丹羽 允・原田敏枝

第23回毒素シンポジウム (伊東) (1976)

- 10) カプトガニの血液凝固因子 (coagulogen) の蛋白化学的性状およびそのゲル形成反応の分子的作用
中村 伸・高木 尚・岩永貞昭
丹羽 允・高橋健治
第27回蛋白質構造討論会 (札幌) (1976).
- 11) カプトガニ coagulogen の一次構造とゲル形成
高木 尚・中村 伸
岩永貞昭・丹羽 允
笠岡シンポジウム: カプトガニの医学への貢献 (笠岡) (1976)
- 12) カプトガニの血液凝固系: エンドトキシン感受性凝固酵素の精製と、その基質特異性
中村 伸・森田隆司・岩永貞昭
丹羽 允・高橋健治
日本薬学会第97年会 (東京) (1977)

系統研究部門

江原昭善・野上裕生
相見満・瀬戸口烈司

研究概要

- 1) 霊長類各分類群の形質特徴の比較形態学的・系統発生的研究
江原昭善
1. 頭部支持機構の比較形態学的研究 (継続中)
 2. ヒトを含む霊長類下顎角の発達と機能の形態学的分析 (継続中, 江原・茂原)
 3. ヒトを含む霊長類の爪の組織学的研究 (継続中, 江原・松本・Rothe)
- ゲッティンゲン大学に在学している各国の学生, 日本国内で飼育されている各種のサル類, 新世界ザルなどの爪について, メラニン色素顆粒の分布と密度の比較研究をおこなった。
- 2) 熱帯アジアにおけるヤセザル類の形態学的な系統研究
江原昭善
- 1976年7月3日より10月29日まで, おもにメンタウエ諸島のシブルット島において, 小型テナガザル, メンタウエイヤセザル, シンバナザルとブタオザルの形態学的研究をおこない, 東南アジア各地に分布する各分類群との比較検討をこころみることにより, 系統関係の解明につとめた。なお, シブルット島において, 上記4種