

細胞が標識されているのが認められた。この標識された細胞が果して単一種の細胞であるのか、またどの様な形態を持つのか、引き続き検討している。

サル大脳におけるプロテインキナーゼの機能と生理的役割

高橋 進(山口大・教養)

情報伝達において蛋白質リン酸化反応および Ca^{2+} の役割は重要であるが、 Ca^{2+} の関与するプロテインキナーゼは、大別して2種に分けられる。すなわち、Protein Kinase Cおよび Ca^{2+} /calmodulin 依存性プロテインキナーゼである。とりわけ後者に属する酵素のうち、Calmodulin 依存性で基質特異性の比較的広い多機能プロテインキナーゼが注目されている。両酵素ともに、脳組織には活性が高く、ネズミ、ウサギなどから酵素蛋白は純化されている。昨年度までに筆者らは、サル大脳よりいくつかのプロテインキナーゼ(A-Kinase, C-Kinase, CaM-PK)を見出し、その基質蛋白質を同定した。本年度はこれらのうち、高分子量をもつ多機能-カルモデュリン依存性プロテインキナーゼに着目して実験を行った。

酵素は、大脳の100,000 g上清のDEAE-セルロースクロマトグラフィー、硫酸分画(0-0.4飽和)、ハイドロキシルアパタイト、カルモデュリン-アガロース、セファローズC β -6Bなどのクロマトグラフィーにより純化に成功した。電気泳動的には均一である。分子量はほぼ50~60万であり、これまでに報告されている多機能性カルモデュリン依存性プロテインキナーゼと同一の酵素と考えられた。基質特異性は広く、シナプシン、チューブリン、などに対して活性が高く、各種ヒストン、プロタミン、ホスピチンに対しては低い基質特異性を示した。カゼインに対する活性はシナプシン1に対し $1/10$ 程度であった。脳内において60%は上清分画に、残りは顆粒分画に存在した。カルモデュリンに対する $K_{0.5}=70$ nMでありイヌ心臓、ラット脳などから得られた酵素とよく似ている。

本酵素の生体内基質をSDS-PAGE、オートラジオグラフィーにより検索した結果、350 K、170

K、80K、78K、50Kの4種の基質が同定できた。いずれも上清分画には存在しない。現在、これら基質の同定を行っている。

課題 7

等電点電気泳動法を用いたニホンザルの地域遺伝分化に関する研究

川本 芳(名大・農)

昨年度の共同利用研究で等電点電気泳動法によりニホンザルのビタミンD結合性タンパク(DBP)変異を検出できることが確認できた。今年度をこのDBP変異の地理的分布を明らかにすることを目的として、各地から収集され京大豊長研に保存されている血液試料の表現型を判定した。44地域集団(ホンダザル43群とヤクザル)計884個体について検索したところ、これまでに異なった等電点をもつ5種類のDBP分子が検出できた。また泳動により判別される表現型は単一バンド、二本バンドのいずれかであり、他生物で報告されている常染色体共優性遺伝子による支配が予想された。

変異の地理的な出現傾向は以下のようにまとめられる。

- ①他の血液タンパク多型の例と同様に、DBPにおいてもニホンザルにみられる変異型は地域集団全体に広く認められるタイプ(a型)と、いくつかの集団に限って検出されるタイプ(b, c, d, e)に大別できる。
- ②b型は中部・関東(房総群を除く)、東北地方の群れで検出され、大部分の近畿以西群では認められない。
- ③c型は近畿圏のいくつかの群れだけに集中分布する。

ニホンザルにおける従来のタンパク多型調査では、変異の著しい地域局在化傾向が観察され、ニホンザル祖先の日本列島侵入後の分布拡大と関連づけて議論できる標識タンパクは乏しい。今回DBPのb型で認められた分布傾向(上記まとめの②)は、列島内でニホンザル分布域が変化した過程を示唆する結果と考えられ、ニホンザルの進化を考察する上で興味もたれる。