

自由 32

B ウイルス感染に対する遺伝子免疫技術の開発

安倍明弘 (名古屋大・医)

今年度は B ウイルス遺伝子免疫 (DNA ワクチン) の効率的なサルへの遺伝子導入用ベクターおよび導入条件について検討し以下の成績を得た。

遺伝子導入条件・ベクターの比較検討のために、ハイブリッドカチオニックリボソーム (VSVG/リボソーム/ポリブレン混合ミセル; リボソームと略)、アテロコラーゲンを基材にしたミニベレットおよび遺伝子銃を用い、レポーター遺伝子 (GFP; pCI-EGFP plasmid) をマカクサルに投与した。3 者の内、リボソームが調製の簡便性に加え GFP 遺伝子の効果的な導入を示した。リボソームベクター投与部位での GFP タンパク質の発現は、免疫染色で調べると 2 週間後まで続いた。この時、樹状細胞、マクロファージ、血管内皮細胞、および繊維芽細胞で GFP タンパク質が認められ、特に、表皮下の基底膜に沿った細胞に強い発現性が見られた。興味深いのは、投与部位から離れた部位の細胞にも弱いながら GFP タンパク質の発現が観察され、リボソームベクターではリンパ液や血液を介して、導入遺伝子が遠位輸送されることが示唆された。一方、リボソームベクター投与部位の組織損傷やそこへの白血球浸潤は見られなかった。また、炎症サイトカインの TNF および CRP の血中上昇、血小板や白血球の変動および組織因子発現なども認められず、炎症反応や細胞・組織障害の無いことが確認された。

なお、本研究は中村 伸、平野 真、光永総子、清水慶子 (京大霊長類研究所)、恵美宣彦 (名大医学部)、今村隆寿 (熊大医学部)、植田昌宏 (SRL) らとの共同研究。

自由 33

サル網膜の形態学的・分子生物学的研究

高田雄一郎 (慈恵医大)

ヒト網膜には、光受容器である視細胞が存在する。視細胞は、形態学的に錐体と桿体の 2 種類に分類され、その外節には、波長特異的な光受容蛋白「視物質」が存在し、網膜から始まる視覚情報処理の開始点となっている。今回、ヒト類似の色覚を有する旧世界ザル網膜の、視物質蛋白及び mRNA の発現を、分子生物学の方法を用いて形態学的に検討した。

ニホンザルの網膜より RNA を抽出して錐体と桿体視物質に特異的なプライマーを用いて RT-PCR を行い、網膜中の mRNA の発現を確認した。これを用いてジゴキシゲン標識プローブを作成した。一方、サル眼球を 4% パラホルムアルデヒドで固定してパラフィン包埋したのち通常の操作で薄切りした。この標本を用いて、以前に当教室で作成した視物質特異抗体による免疫組織化学を行うとともに、ジゴキシゲン標識視物質プローブをもちいて mRNA の In situ hybridization を行った。

二種の視物質は錐体と桿体の視細胞において、それぞれ mRNA 及び蛋白として発現していることが二重染色法を用いた形態学的な観察により確認された。

自由 34

ヤクシマザルのフンによって散布された種子の発芽促進機能の解明

大谷達也 (森林総研・東北)

屋久島西部林道川原地域において、複数のヤクシマザル個体からフンを採集し、ハマヒサカ