

するものであったが、*M. ochreata* が *M. hecki* と近くなるなど、検討すべき点も残った。

計画：12-3

FISH法を用いた霊長類の核型進化に関する研究および霊長類細胞株作成の試み

田辺秀之・水澤 博

(国立衛試・変異遺伝・細胞バンク)

霊長類ゲノムの再配列、核型進化について考察することを目的として、染色体バンディング法とFISH (Fluorescence In Situ Hybridization) 法とを組み合わせることにより、免疫グロブリンIgE遺伝子(Cε1)の比較マッピングを行なった。材料として、ヒト上科および旧新世界ザル各種の末梢血を提供していただき、PHM-MまたはCom-Aをマイトジェンとして3日間培養の後、染色体標本を作製した。QまたはGバンド法による染色体像の写真撮影の後に、同スライドを用いてヒトCε1遺伝子(染色体上の位置はヒトでは14番染色体上のterminal領域、つまり14q32.33である)をプローブDNAとしたFISH法を行なった。プローブDNA(16kb)はニックトランスレーションによりビオチン標識し、蛍光シグナルは抗ビオチン抗体およびFITC標識した2次抗体を用いて検出した。その結果、現在までに得られている各種霊長類の同遺伝子の位置は、チンパンジー15gter, シロテテナガザル17gter, アジルテナガザル17gter, ニホンザル7gter, カニクイザル7gter, セレベスマカク7gterである。チンパンジー、シロテテナガザルおよびニホンザルに関しては、既にヒト染色体特異的DNAライブラリーをプローブとした染色体ペインティング法による他の報告があり、それによるとチンパンジーの15番染色体、シロテテナガザルの17番染色体およびニホンザルの7番染色体の長腕部分がヒト14番染色体に対応している。このことから、上記の種におけるCε1遺伝子は、ヒトの14番染色体に相当する染色体上のterminal領域、つまりヒトCε1遺伝子と相同な領域に位置しており、この遺伝子とその周辺部には核型進行上、染色体間あるいは染色体内の大きな変化が見られなかったものと考えられる。また、低張処理した末梢血をTCGFを添加した培地で培養し、霊長類細胞株の作成を試みた。一過的な細胞増殖が数例確認できたが、複数種類の

細胞が混在した状態であり、現在その性状を解析中である。

計画：12-4

カニクイザルのα-グロビン遺伝子領域に見いだされた未知プロセスト遺伝子について

竹中晃子(名古屋文理短大・食物栄養)

カニクイザルのα-グロビン遺伝子間領域に、117個のアミノ酸をコードする領域がプロセスト遺伝子として挿入されていることを見いだしP117と名づけた。このP117と相同の配列を持つm-RNAが肝、腎、肺および脳で発現していることが明らかになったので本来の機能を有するタンパク質がこれらの器官で発現している可能性がある。データベースで検索した結果P117の塩基配列および推定されたアミノ酸配列と相同の物は見いだされなかった。82番目から99番目のアミノ酸は疎水性が高くそれ以降には塩基性アミノ酸が多く含まれていることから、膜に関係したタンパク質の可能性が示唆された。

ヒト、チンパンジーのα-グロビン領域にはP117が存在していない。カニクイザルと近縁のマカカ属サルにおける挿入頻度を検討した。P117の塩基配列には制限酵素BamHIの切断部位が存在するため、α-グロビン遺伝子間領域のBamHI切断部位の有無をサザンハイブリダイゼーション法により検討し、P117の存在比を求めた。カニクイザルではインドネシア産(13頭)0.11、フィリピン産(21頭)0.05、タイ産(114頭)0.19、タイワンザル(2頭)0.25、ブタオザル(4頭)0、ボンネットザル(3頭)0.17、ベニガオザル(3頭)0.67、ニホンザル(64頭)0、セレベスマカク(12頭)0.06であった。カニクイザルおよびセレベスマカクにおけるα-グロビン遺伝子の多重複の地域変異とP117の地域変異との間に相関性は認められなかった。

マカカ属以外のサルのDNAのP117をPCR法により増幅し、サザンハイブリダイゼーションを行なったところヒト、チンパンジー、アジルテナガ、シロテテナガ、コモンマーモセット、リスザル、ロリス、ツパイで明瞭なバンドが得られ、オランウータン、ワタボウシタマリン、キツネザルではバンドが得られなかった。これらの結果からP117はプロセスト遺伝子として霊長類に広く存