

〈方法〉 a) 各種霊長類より採血し, b) Blue-Sepharose にて Albumin を抽出し, c) 2.5% Glutaraldehyde にて重合し, d) Sepadex G-200 にて elution, e) 1st-peal を bead に吸着し, f) 既知 AR を反応させ, g) HB の抗体結合 peroxidase と反応させ, h) OPD にて発色し, i) 分光光度計にて測定し, j) 人又はチンパンジーの反応量との相対比で決定する。

〈対象〉 シロテテナガザル, チンパンジー, アジルテナガザル, ニホンザル, アカゲザル, ベニガオザル, ミドリザル, マントヒヒ, フサオマキザル, チュウベイクモザル, ヨザル, リスザル, ワタボウシタマリン, シルバーマーモセット, ワオキツネザル, オオガラゴの各 1 頭全例 male である。

〈成績〉 上記対象種より採血が済み, 現在方法 d) にて elution 中であるが, シロテテナガザルのみ測定が終了し, 人間比 $15 \pm 3\%$ とやや反応性を示すようである。

〈考察〉 一般にウイルス感染は, Receptor 説にて説明される。それは標的細胞上に特異的に Receptor が存在し, この Receptor を介して標的細胞と各種ウイルスの感染が成立するとされている。しかし, HBV 感染では, この Receptor が肝細胞上には発見出来ず不明であったが, Imai は, HBV 上に Albumin と反応する Receptor が存在し, まず Albumin と HBV がこの AR を介して結合しこの Albumin が肝細胞に取り込まれる時に HBV の感染が成立する可能性を, HBV の感染が成立する人とチンパンジーの Albumin だけが, AR と反応するということから示した。そこで我々は, この AR の定量系を開発しこの定量系で, 各種霊長類の Albumin と既知 AR を対応させることで, 各種霊長類の系統と進化を調べるのであるが, 現在まで抽出したシロテテナガザルに一部反応性があることは大きな成果である。今後更に頭数, 種類を増加して詳細に検討を加えたい。

霊長類ゲノムにおける反復配列の成立と進化に関する研究

榎 佳之 (九大・医)

我々はヒトゲノム中に約 1 万回反復する配列 Kpn I ファミリーの存在を明らかにした。この配列

の詳細な構造を 2 次元アガロースゲル電気泳動で解析したところ, この反復配列は 5-6 kb の大きさを持ち, ゲノム中に分散して存在すること, 及び制限酵素の切断パターンからいくつかのサブファミリーに分類できることが明らかとなった。この反復配列の進化上の分布を調べたところ, マウス, ニワトリ, ウシには存在しなかったが, ミドリザル, ヒヒには存在した。そこで, この Kpn I ファミリーの出現を更に詳しく知るため, 各種の霊長類における分布, 存在様式を調べた。

まず, 各種の霊長類より採血を行い, 白血球をデキストラン法で分離し, これに SDS-プロテアーゼ処理, フェノール・クロロホルム処理を加えて DNA 分離した。収量は 10 ml の血液当たり 30-80 μ g であった。この DNA を各種の制限酵素で切断し, その切断パターンを比較した結果, 原猿 (ワオキツネ, スローロリス, ギャラゴ) には Kpn I 配列はほとんど検出できなかったが, 新世界ザル (ヨザル, リスザル, ノドジロオマキ, フサオマキ, クモザル) では Hind III により 1.9 kb, 旧世界ザル (ミドリザル, ゲラダヒヒ等の 14 種) では Hind III で 2.3 kb, Kpn I で 1.6 及び 2.8 kb に切断されるファミリーが主ファミリーとして存在し, ヒトを含む類人猿 (チンプ, シロテテナガ) の主ファミリー (Hind III で 1.9 kb, Kpn I で 1.6, 2.8, 3.6, 4.8 kb) とは異なるものであった。この結果は Kpn I ファミリーは特定のマスターコピー様の配列をもとにして増幅したこと, 及びマスターコピーは新世界ザル, 旧世界ザル, 類人猿でそれぞれ異なることを示唆している。現在, この増幅機構について更に詳しい検討をしている。

課題 15

サルに見られる成人 T 細胞白血病ウイルスに関する研究

三好勇夫・吉本静夫・藤下雅敏 (高知医大)

1. ニホンザルにおける C 型ウイルスの水平感染
ATLA 抗体陽性ザルと陰性ザルの雌雄一対を同居させ, ウイルスの水平感染が起こるか否かを観察した。その結果抗体陽性の雄ザルと同居させた雌ザルでは約 2 か月後に抗体が陽性化した。

抗体陽性の雌ザルと同居させた雄ザルでは約半年の観察期間中抗体の出現は認められなかった。この実験は極めて予報的であるとはいえ、サルにおけるウイルスの自然感染を示唆する。

2. ニホンザルからのC型ウイルスの分離

ヒト由来のATLVとニホンザルのC型ウイルスが共通の抗原と同一の形態を有していることが明らかとなった。それではこれら両ウイルスはタンパクや核酸合成の点でも同一であろうか。この疑問に答えるためにはサルのウイルスが分離されることが必要である。そこで私達はATLA抗体陽性の雌ザルと抗体陰性の雄ザルの末梢血リンパ球を混合培養することにより、サルのC型ウイルス産生細胞株(Si-2)を樹立した。Si-2はATLA陽性で、多数のC型ウイルス粒子を持続的に産生する。この細胞株は染色体分析により、雄ザル由来であることがわかったので、雌ザルのリンパ球の中に潜んでいたC型ウイルスが混合培養中に雄ザルのリンパ球に感染し、これをtransformさせたものと解される。Si-2はEロゼットを形成し、Leu-5と高率に反応することからT細胞であると考えられる。

3. ニホンザル由来のC型ウイルスによるヒトリンパ球のtransformation

上記Si-2より産出されるウイルスがヒトのリンパ球に感染し、これをtransformさせるか否かを観察した。ATLA抗体陰性健康人の末梢リンパ球と致死量のレントゲンを照射したSi-2細胞を混合培養した。約2か月後にヒト由来の細胞株が樹立された。この細胞株はT細胞とB細胞の混合状態が続いているが、常に数%の細胞がATLA陽性で、電顕的にもC型ウイルス粒子を認める。

成人T細胞白血病(ATL)のサルにおける垂直感染について

平山宗宏・宮原 忍・小室敦美(東大・医)

ヒト成人T細胞白血病(ATL)は原因ウイルスとしてATLVが分離されているが、ATLVの感染様式、ATLVによる癌化の過程等は未だ解明されていない。感染様式については、血清疫学調査によりATLV保有者の家族集積性が報告され、垂直感染が疑われている。一方、サルにおいてATLV又はこれに極めて近縁のウイルス

の自然感染が報告され、ヒトにおけるATLVの感染様式・癌化過程を解明するモデルとしてサルを用い得ることが示唆された。そこで我々はサルにおけるATLVの垂直感染の有無を実験的に証明することを試みた。

霊長研大島教授が使用されている抗ATLV抗体陽性の妊娠ザル5頭(ニホンザル3頭、アカゲザル2頭)の妊娠末期に帝王切開を行い、臍帯血・胎盤・胸腺・骨髄・脾・肝・腎・肺の各胎児組織及び羊水を採取した。これらにつき細胞培養を行い、抗ATLV抗体陽性ヒト血清及び抗ATLVモノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法によりATLV抗原の検出を行ったが、いずれの場合にも、ATLV抗原は検出されなかった。

一方、異なる条件下で培養を行なった国立予防衛生研究所筑波霊長類センターのカニクイザル臍帯血リンパ球においてATLV抗原陽性例が検出されたことから、カニクイザルにおいてはATLVの垂直感染が証明できた。

ATLV抗原の検出は種々の条件により左右される困難な仕事であるため、霊長研において行ったニホンザル及びアカゲザルの場合も、胎児組織にATLV抗原が存在していながら検出し得なかった可能性が残る。そこで、カニクイザルの経験を参考に培養条件を改良し、再度これらのサルにおけるATLVの垂直感染の証明を試みたいと考えている。

サルに見られる成人T細胞白血病ウイルスに関する研究①

日沼頼夫・山本直樹*・岡田守久(京大・ウイルス研)・竹中 修(京大・霊長研)

*共同実験者

種々のサルにヒトの成人T細胞白血病ウイルス(ATLV)と同じ抗原性を有するウイルスが感染していることがATLV抗体検出法によって最近判明した。我々はATLV抗体陽性のサルはヒトの場合と同様に、このウイルスのキャリアであろうと推定して、サルの末梢血リンパ球培養によってATLVを保有する培養細胞株の樹立を計画した。このATLV陽性培養細胞株の樹立によって、サルにおけるATLV研究を推進することができるからである。