

かにされた C^3 の分布は、Kawamoto らの知見を支持すると考えられる。

今回の研究で、 α_1 -AT は IEF による分析でより有効な遺伝標識として利用できると考えられた。

計画11-2:

マカカ属におけるAHSG型とORM型の遺伝様式に関する研究

湯浅 勲 (鳥取大)

昭和63年度共同利用研究以来、種々の霊長類における血清タンパク AHSG 型と ORM 型の変異性について等電点電気泳動法を用いて調査し、多くの種が高度の多型性を示すことを明らかにしてきた。本研究では、ORM 型でもっとも高い多型性を示したカニクイザル (*M. fascicularis*) を用いてこれらの形質の遺伝性を調べた。

東南アジア諸国から採取・繁殖されている親子関係のわかっている3世代を含む91個体を既報にしたがって分析した。

ORM 型は陽極側の薄いバンドと陰極側の濃いバンドからなる泳動パターンが、登録ミスとおもわれる1個体を除いて、共優性的に親から子へ遺伝しており、ダブルバンドパターンを呈するのはヒトの ORM と比較して、シアリダーゼに対して抵抗性があるためと考えられた。マカカ属で24個の対立遺伝子が観察されているが、今回のサンプルでさらに4例の新しい対立遺伝子がみつきり、カニクイザルで認められたのは合計19個となり、極めて多数の遺伝子によって構成されていた。

AHSG 型はカニクイザル特異的な AHSG・3 と多くの種に認められた AHSG・2 との2つの遺伝子で構成されている。今回のサンプルで3個体の親ザルがヘテロ型で、その子ザルにも同じヘテロ型が観察された。

ヒトの ORM 型は密に連鎖した2つの構造遺伝子座に支配されており、両座とも共優性遺伝をすることが知られているが、他種もカニクイザルと同様の泳動パターンを示したので、マカカ属は単一座位によって支配されていると考えられる。他のオナガザル科も基本的にはマカカ属と同様のパターンを示すことから、霊長類の進化の過程で ORM 遺伝子が重複したのはヒト上科の分化以後と考えられ、現在、チンパンジーにおける遺伝を

調査中である。AHSG 型はヒト同様に、常染色体共優性遺伝と矛盾なく、マカカ属共通の性質と思われる。タイワンザルはタイワンザル特異的な AHSG・1 と上述の AHSG・2 からなり、ニホンザルには見られない。しかも、null 遺伝子の存在は示唆されなかったもので、これらの識別に AHSG 型も有効な標識遺伝子になりうると考えられる。

計画11-3:

マカカ属サルの種内、種間変異に関する研究—とくに構成脂肪酸パターンによる変異の定量化—

中野益男 (帯広畜産大・生物資源化学)

霊長類の種内、種間の遺伝学的変異性の定量化は、これまで血液タンパクの構造を支配する遺伝子の変異やミトコンドリア DNA の多型を標識として行われていた。しかし最近の研究から、動物体の脂質を構成する脂肪酸の組成には化学的特徴があり、安定して保持されることが明らかにされている。従って、脂肪酸の構成パターンは、種間関係を解明する標識になると考えられる。今年度は霊長類の骨、臓器の脂質を構成する脂肪酸を系統的に調べ、その構成パターンから、遺伝学的変異の定量化を試みた。

霊長類の原猿類のツバイ科、新世界ザルのオマキザル科、マーモセット科、旧世界ザルのオナガザル科、類人猿のオランウータン科等の頭骨、椎骨、大腿骨、脛骨および胎盤201試料の構成脂肪酸を調べた。脂肪酸組成を重回帰分析により、パターン化し、相関行列距離を基にしたクラスター分析から種内、種間の変異関係の定量化を試みた。

椎骨を除く頭骨、大腿骨、脛骨の脂肪酸組成は種ごとに特徴のある脂肪酸パターンを持っていた。新世界ザルと旧世界ザルでは種間に明確な距離が観察された。オナガザル科のうち、ニホンザルとマントヒヒは相関距離にして0.025の近似値を持つのに対して、ニホンザルとバタスモンキー、グリーンモンキーのそれは0.245の遠い距離にあり、系統的に明確な変異がみられた。ニホンザルの地域集団では、いずれも0.02~0.03の相関距離の範囲に分布していて集団内で変異はみられなかった。しかし、亜種のヤクザルや他のマカカ属との間には0.05~0.3の相関距離の範囲で変異を認めた。胎盤の全脂質および糖脂質の脂肪酸パ

ターンは、新世界ザルと旧世界ザルとで0.12の相間距離で変異していた。しかし、新世界ザルおよび旧世界ザルのそれぞれの種間では全脂質でみられたほどに大きな変異を示さなかった。また胎盤中の主要な糖脂質のガングリオシド G-1, G-2, G-3, G-4 は旧世界ザルと新世界ザルで分布に大きな変異が観察された。旧世界ザルで G-1, G-2 相当するガングリオシドが欠損しているものもある。

これらの結果は、脂肪酸のパターンにより種内、種間の変異を定量化できることを示している。

課 題 12

計画12-1:

ニホンザルのスギ花粉症に関する研究

橋本道子(日獣畜大・野生動物)
峰澤 満(農水省・農業試験場)

ニホンザルのスギ花粉症について。疫学調査、および末梢血中の好塩基球を用いた実験を行なった。

1. 全国の動物園・野猿公苑への自然発症に関するアンケート調査では、今年度は14ヶ所から、花粉症様の症状を示すサルが居るとの回答が寄せられた。そのうち5ヶ所で、捕獲・採血を実施し、スギ特異的 IgE 抗体を調べた。

2. 即時型アレルギー反応に重要な役割を担う細胞として、ヒスタミンなどのケミカルメディエーターを遊離する、組織中の肥満細胞 (mast cell) や末梢血中の好塩基球 (basophil) が知られている。これらのアレルギー担当細胞について、血中または組織中の組成、分布特性、細胞1個当りの抗原特異的なヒスタミン遊離能を明らかにすることで、アレルギー反応に関する細胞レベルでの種間比較が可能となる。既に、好塩基球の白血球分率については、白血球画分を Microcell counter と May-Gruenwald/Giemsa 染色した塗抹標本を用いて検討し、ニホンザルの好塩基球分率は、ヒトのそれに比べ6分の1で、約0.07%の分率であることを明らかにした。現在、抗原特異的ヒスタミン遊離能等、好塩基球の機能性について解析している。

計画12-2:

ニホンザルにおけるスギ花粉特異的 IgE 抗体測定法の確立

今岡浩一・阪口雅弘・井上 栄
(国立公衆衛生院)

サルにおけるスギ花粉症の実態を把握するため、また、サルの花粉症がヒトのモデルになりうるか検討するために、サル血清中のスギ特異的 IgE 抗体の測定を試みた。しかし、サル IgE に対する抗体試薬はまだなく、抗ヒト IgE を代用したがサル IgE に対する特異性が低いため、効果的なツールとならなかった。そこで、我々はサル IgE に対する単クローン抗体を作出することにし、まず、免疫原に用いるサル IgE の精製を以下のような手順で行ったので報告する。なお、IgE は、血清中に IgG の約 1/10000 (約 1~2 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の割合で存在する。

- 1) サル血清に硫酸アンモニウムを33%になるように加え、その上清に対して、50%になるように硫酸を加え、IgG を減少させた沈殿を集めた。この方法で血清680mlを処理した。
- 2) IgG 除去のため、この分画に対して、プロテインGを処理し、吸着しない部分を集めた。
- 3) 抗ヒト IgG アフィニティーカラムを作成して、上記分画をカラムに吸着後、酸により IgE を溶出した。この反応を2回繰り返す、濃縮器を用いて、IgE を主成分とする分画6mlを得た。しかし、まだ IgG・IgM・IgA がかなり混入していた。
- 4) IgA 除去のため、抗ヒト IgA アフィニティーカラムを作製し、上記分画を処理し、吸着しない部分を集めた。この処理を2回繰り返した。
- 5) さらに混入している IgG を除去するため、プロテインGを処理した。
- 6) セファクリル S-300 のカラムを用いて、ゲル濾過を行った。各フラクションについて、タンパク量と、IgG・IgE・IgA・IgM の活性を測定した。その結果、タンパクのピークは3か所に認められ、それぞれ、IgM・IgE・IgG であった。また、IgE のピークにおける IgG・IgA・IgM の活性は低かった。
- 7) そこで、上記の IgE のピーク (収量は約700 μg) を集め、抗サル IgE 単クローン抗体作出のための免疫原として用いることにした。