

霊長類を含む各種哺乳類のDNA傷害修復酵素の比較生化学的研究

井上 正(国立遺伝研)

イオン化放射線は極めて多種多様の傷害をDNAにもたらすことが知られており、修復酵素一般を検索するのに最適の agent である。我々はこのような多種の傷害を認識し、これを修復する酵素の新しい定量法を開発し、既にバクテリアより複数の修復酵素を分離・精製することに成功している。

一方、ヒトを含む高等動物細胞に於けるDNA修復酵素に関する研究は、その重要性にもかかわらず、極めて少ない。そこで上記修復酵素定量法をヒト、ウサギ、イヌ、ラット及びマウスの胎盤抽出液に適用したところ、ヒト以外の動物の修復酵素活性はヒトのその数十分の一しかなかった。ヒトに於けるこのような高い修復酵素活性が霊長類一般の性質であるかどうかを検討する為に、数種のサル胎盤抽出液について酵素活性を測定した。用いたサル胎盤は *Macaca fuscata fuscata* (2 個体)、*M. mulatta* (2 個体) 及び *M. fuscata yakui* (1 個体) より正常分娩後、数時間～十数時間で採取した。測定された修復酵素の蛋白当りの比活性は、5つの試料間で大巾に異なり(約10倍)、サル胎盤の当該酵素活性については、結論を得ることができなかった。試料間の大きな変動は、調べた他の動物種では観察されず、サルのみで観察されたが、この原因については不明である。尚、同時に測定した alkaline phosphatase 活性にも、サルの場合のみ、試料間で大きな変動が見られたが、これら二種の酵素活性の大小には平行関係は存在しなかった。

ヒトの血球膜、Hb、アルブミンの種属特異性に関する法医免疫学的研究

原 三郎、井上徳治
秋山和子、大島美奈子
津田亮一(久留米大・医)

法医鑑識領域における人・獣血鑑別検査では、ヒトのヘモグロビン(Hb)、赤血球膜、血清蛋白(とくにアルブミン)が検査の指標となるが、昨年に引き続いて、Hbと赤血球膜について、

次のような実験を行った。

(1) ヒトHb

ヒト成人、胎児をはじめ、一般動物11種、真猿17種、原猿4種の各①未処理Hb溶液、②PCMB処理Hb溶液、について薄層PAG等電点分画法を行い、抗血清を用いない人・獣血鑑別検査を試みた。

その結果、ヒト胎児及び一般動物の①、②は、ヒト成人のそれとは異なる分画像を示し、ヒト成人Hbとの鑑別は容易であった。

次に、猿類の①、②はヒト成人のそれに近似するものが多かったが、チンパンジーを除き、ヒト成人Hbとの鑑別可能で、とくに②では一層容易であった。なお、カニクイ、ベニカオ、ブタオ、キツネ、ガラゴ、ツパイでは①にてもヒト成人のそれと明らかに異なる分画像を示した。また、原猿類以下の②は、真猿類のような α 、 β 鎖解離パターンを示さなかったが、これは人・獣鑑別上の重要な目安になる点と考えられた。

(2) ヒト赤血球膜

ヒト赤血球膜より分離、精製したPAS-1糖蛋白(グリコホリン)をウサギに adjuvant 免疫することによって、昨年報告した赤血球の静注免疫の場合と同じく高力価のヒト特異凝集素血清が得られることを実証した。

他方、このPAS-1糖蛋白のヒト特異活性は、プロナーゼあるいはシアリダーゼ消化によって失活し、またカルボキシル基の修飾によって失活した。

以上より、ヒト赤血球膜におけるヒト特異活性は、PAS-1が主として担っており、しかもPAS-1のヒト特異活性は、シアル酸含有糖鎖のシアル酸と、その糖鎖を支える一定の蛋白構造とに依存するものと推定された。

霊長類における赤血球内アルギナーゼの研究

大浦敏明、藤本昭栄
菅森徳蔵(砂子療育園)

霊長類の赤血球内アルギナーゼの測定を昭和54年度より開始し、ヒト新生児108、ヒト成人8、その他19種、171頭に達した。アルギナーゼは乾燥血液濾紙を試料とする Nayror らの方法、一部全血および赤血球内塩基性アミノ酸はオルトフタ

ールアルデヒドによる螢光法で測定した。

赤血球内アルギナーゼは、一般的に見て高等なもの程活性が高く、下等なもの程低いことが知られた。しかし、マカク属のブタオザルはヒト新生児に匹敵する程活性が高く、チンパンジーはヒトよりもさらに高値であった。

ヒト成人8人の平均値は、アルギナーゼ 0.715 ± 0.108 mmoles urea/g Hb/hr., 赤血球内オルニチン 1.55 mg/dl, リジン 1.77 mg/dl, アルギニン検出不能であった。チンパンジー4頭の平均値は、アルギナーゼ 1.690 ± 0.455 , オルニチン 21.02 , リジン 38.55 , アルギニンはヒト同様検出不能であった。オナガザル科は一般にヒトより低く、ニホンザル82頭のアルギナーゼは 0.188 ± 0.166 , オルニチン 0.87 , リジン 10.93 , アルギニン 15.08 であった。原猿亜目のコモンツパの活性値は 0.041 , ワオキツネザル2頭は、 0.024 と検出不能とで、いずれも0に近かった。スローロリス、オオガラゴ、ワタボウシタマリンも活性の検出できないものが数多く発見された。

以上のことから、霊長類は進化の段階に応じて尿素サイクルの機能が変化したことが想像される。

野生ニホンザルの集団に関しては、嵐山、箕面に引続き、他の集団についても測定中である。

霊長類における s-GPT の研究

植田信太郎 (東大・理)

Glutamic-Pyruvic Transaminase (GPT) は糖代謝とアミノ酸代謝の橋渡しを行う重要なアミノ基転移酵素である。一昨年度の共同利用研究により、霊長類の赤血球 GPT 活性は種間に非常に著しい差異が存在することが判明した。すなわち、ニセザル、新世界ザルの多くはヒトよりも高い GPT 活性を示すが、低い値を示す種も存在している。一方、ヒトでは弱いながらも GPT 活性が認められるにもかかわらず、近縁種である類人猿、旧世界ザルでは活性が著しく低かった。以上の結果より、赤血球 GPT は霊長類において系統発生的に極めて特異的な分布を示すことが明らかとなった。更に、昨年度の研究から、霊長類の赤血球 GPT 活性にみられた種間変異は、酵素タンパクの turnover number などの質的な差でなく、主に赤血球中の GPT 酵素量の差によると考えら

れた。

本年度は、この量的な差の原因を検討する為に、GPT 活性に対する赤血球の aging の影響を調べた。原猿、新世界ザル、旧世界ザル、類人猿から各1種ずつを選び、遠心法により younger cells を分離し GPT 活性を測定したが、先に赤血球 GPT 活性の認められなかった旧世界ザル、類人猿では活性を検出できなかった。従って、更に幼若な赤血球である網状赤血球中の GPT 活性について検索する為に、ニホンザル4頭にフェルニールヒドラジンを投与し貧血を起こさせ、網状赤血球を得た。うち2頭は、GPT の誘導物質として知られるハイドロコチゾンも合わせて投与した。各検体とも網状赤血球数の割合は最大90%以上を示したが、その前後の経時的変化を追っても GPT 活性は全く検出することはできなかった。

従って、霊長類の赤血球 GPT 活性にみられた種間変異は、酵素タンパクの崩壊速度の変異によるものではなく、赤血球系において合成された GPT 酵素量の変異によるものと推測された。

スピラベル法による霊長類赤血球膜構造の研究

吉田 政幸, 渡部 徳子
中山 伸一 (東大・理)

霊長類種間差異の研究における、スピラベル法の利用を検討した。昨年度はヘモグロビンに対してスピラベル法を適用し、その結果は本報第10巻においてすでに報告した。本年度は赤血球膜に対してスピラベル法を適用し、種間差異研究への可能性を検討した。

各種霊長類から得た赤血球に、脂溶性スピラベル試薬を挿入し、その運動性の温度変化に対する挙動を検討した。旧世界ザルであるニホンザル、ミドリザルは 24°C 付近で著しい変曲点があらわれるなどよく類似した温度変化のパターンを示した。新世界ザルであるクモザル、パンシェは 20°C 付近の低いところの変曲点温度はいくらか違っているが、 50°C 付近に変曲点があるなど、比較的類似した温度変化のパターンを示した。なおこれら二種のパターンは類似性がある。一方、ヒトは以上のような霊長類とは違ったパターンを示し、 30°C と 46°C 付近に変曲点があらわれた。さらに原猿類で