

値(特に成分I)は高い相関関係を示したことから、同時に胃液分泌機能検査としても利用できることが示唆された。

ヒト成分を指標とした霊長類間の系統関係の研究は、ニホンザル、カニクイザルを用いて基礎的な解析を進めた。現ラジオイムノアッセイ法は極めて鋭敏であり、I成分では、ニホンザルで約15倍量、カニクイザルで約25倍量がヒト成分と等価であり、両者はよく区別された。他のマカク類について現在検討を進めている。

## 課 題 14

### 免疫グロブリン遺伝子からみた霊長類の系統と進化

植田信太郎(東大・理)

組換えDNA実験法を含む種々の分子生物学的手法の発展により、遺伝情報物質本体であるDNAの直接的解析が近年可能となっている。霊長類の進化に関する分子レベルからの研究も、グロビン遺伝子や核外遺伝子であるミトコンドリアDNAに関してこれらの手法を用いた研究がなされてきている。

一方、免疫グロブリンIgEのH鎖定常部を支配するC<sub>ε</sub>遺伝子はヒトのゲノム中に少なくとも3つ存在することが知られているが、このうち2つは正常遺伝子と塩基配列の上では類似性がありながら、その本来の機能を失なった擬遺伝子である。これら擬遺伝子は祖先型C<sub>ε</sub>遺伝子の欠失やprocessed gene化により生じたものであり、点突然変異以外の大きな変化(動的進化)をとげたものとして興味深い。更に、ヒトとマウスの発現されるC<sub>ε</sub>遺伝子の一次構造の比較から求められた進化速度は、C<sub>ε</sub>遺伝子が今日までに知られている核内遺伝子の中では最も進化速度の速い遺伝子の1つであることを示している。

前年度共同利用研究ではC<sub>ε</sub>擬遺伝子の問題を中心に研究を進めてきたが、本年度は発現されるC<sub>ε</sub>遺伝子の問題を中心に研究を進めた。すなわち、発現されるC<sub>ε</sub>遺伝子の進化速度が速い点を利用し、DNA一次構造の比較から霊長類とくにヒトおよび類人猿の間の系統関係を明らかにすることを目的とした。

ヒトの発現されるC<sub>ε</sub>遺伝子の全一次構造は既に明らかにしているが、今回、チンパンジーおよびオランウータンの末梢血リンパ球より抽出した高分子DNAを制限酵素BamHIにて完全分析し、Charon 28をベクターとして組換え体を作製、それぞれのC<sub>ε</sub>遺伝子のクローニングを行った。現在、これらのDNA一次構造の決定を進めると共に、同様の方法にて更にゴリラのC<sub>ε</sub>遺伝子のクローニングを進めている。

### 霊長類ヘモグロビンの一次構造分析

毎田徹夫、渡辺文治(長崎大・医)

ヘモグロビン(Hb)の分子進化に興味をもち、その一次構造の分析を行ってきた。本年度の共同利用研究では主として、3種のマカク属(アッサムモンキー、ベニガオザル、トクモンキー)について分析した。これらのHbには、 $\alpha$ 鎖の多様性が認められ、アッサムモンキーの3種、ベニガオザルの2種、トクモンキーの2種の $\alpha$ 鎖の全構造を決定した。その結果、アッサム $\alpha_1$ と $\alpha_3$ 鎖はベニガオ $\alpha_1$ と $\alpha_2$ 鎖にそれぞれ一致していた。アッサム $\alpha_1$ 鎖と $\alpha_3$ 鎖の違いは、N末端より15番目でGlyとAspの違いのみであった。これに対して、 $\alpha_2$ 鎖と $\alpha_3$ 鎖では8番目と78番目で2箇所の変異であった。また、トクモンキーの $\alpha_1$ 鎖と $\alpha_2$ 鎖は12番目でAspとAlaの違いが認められるだけであった。一方、 $\beta$ 鎖には多様性は認められなかった。 $\beta$ 鎖については現在までにアッサムモンキーについてのみ全構造分析が終っており、他の2種については、分析中である。

### HBウイルス上のAlbumin Receptorの反応性から見た霊長類の系統と進化

溝上雅史(名市大・医)・竹中 修\*(京大・  
霊長研) \*共同実験者

〈目的〉 HBウイルス(HBV)には、Albuminと結合するsite(Albumin Receptor)(AR)が存在し、このARは、人とチンパンジーのみに反応するといわれるが、他の霊長類は、未調査であり、このARとの反応性をみることで霊長類の系統と進化につき調査する。

〈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  $\mu$ 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。