

ンホーメーション多型を検出する RSCA 法を適用することにより、多コピー化した遺伝子配列の効率的な解析を行なうことに成功し(Tanaka-Takahashi Y, et al. 投稿準備中), Mamu-A, B ハプロタイプと SIV に対する宿主の応答との関連を見いだした。また同法はアカゲザルのみならず、ニホンザル、カニクイザルにおいても適用できる可能性があり、これらのマカク属の種においても MHC クラス I 遺伝子の多コピー化が生じていることが判った。

(2) 施設利用

1 酵母細胞を用いたサル肝 Microsomal aldehyde oxygenase 発現系の構築及び機能解析

渡辺和人, 舟橋達也, 山折大 (北陸大・薬・衛生化学)

対応者: 景山節

我々はニホンザル肝ミクロソームよりアルデヒドを対応するカルボン酸体へと酸化する酵素 (Microsomal aldehyde oxygenase, MALDO) を精製し、その N 末端アミノ酸配列から CYP2A 及び CYP2B 分子種であることを明らかにしてきた。そこで、本年度の研究ではニホンザル (雄・3 才) 肝臓より mRNA を抽出し、ヒト CYP2A6 cDNA の非翻訳領域を基に設定したプライマーを用いて RT-PCR 法により cDNA をクローニングした。その塩基配列を決定したところ、その推測されるアミノ酸配列はヒト CYP2A6 と 91.0 %, ヒト CYP2A13 では 92.3 % 一致した。クローニングした cDNA を発現用ベクターを用いて酵母に導入し、発現系の構築を試みた。ニホンザル CYP2A 発現酵母よりミクロソーム画分を調製し、ニホンザル MALDO 抗血清を用いて Western blotting を行ったところ、約 50 kDa の位置に単一のバンドが検出された。現在、発現酵母より調製したミクロソーム画分を用いて本酵素の酵素化学的な特性について検討している。

3 サル胚性幹細胞の肝細胞への分化と胎齢等を考慮した薬物動態試験への応用

松永民秀, 水上紗弥香, 百瀬泰行,
村井健太郎, 大森栄 (信州大・病院薬)

対応者: 景山節

【目的】サル胚性幹細胞 (ES 細胞) から肝細胞への分化誘導に関する研究はこれまでほとんど行われていない。本研究は、カニクイザル ES 細胞から肝細胞への分化と、分化過程から見出した新規シトクロム P450 (CYP) の mRNA 発現を明らかにすることを目的とした。

【方法】サル ES 細胞より作成した胚様体 (EB) をコラーゲン処理したプレートに接着させ、培養することにより分化した。

【結果・考察】EB 培養により肝細胞マーカーが検出されたことから、肝細胞へ分化していることが示唆された。また、薬物代謝型分子種の CYP1A1, CYP2C20, CYP2D17, CYP3A66, CYP3A8 の mRNA が検出された。さらに、ヒト胎児肝細胞に特異的に発現する CYP3A7 と高い相同性を有する新規 CYP (CYP3A7m) を EB 培養