

# PROCEEDINGS

18th JAPANESE ASSOCIATION FOR DEVELOPMENTAL  
& COMPARATIVE IMMUNOLOGY

Hiroshima, Japan

August 24 to 25, 2006

---

## 日本比較免疫学会 第18回 学術集会講演要旨

---

会期：2006年8月24日（木）～25日（金）

会場：県立広島大学 広島キャンパス

学術集会会長：藤井 保（県立広島大学）

学術集会事務局長：増山悦子（県立広島大学）



日本比較免疫学会

—2006—



# Contents

---

	ページ
目次	1
(Contents)	
日本比較免疫学会学術集会日程	2
(Meeting Schedule of JADCI)	
参加者へのご案内	3
(Information for Participants)	
役員名簿	7
(Officers of JADCI)	
講演プログラム (和文)	8
(Programme in Japanese)	
講演要旨	12
(Abstract)	
学会会則	45
(Constitution & Bylaws of JADCI)	
英文役員名簿・会則等	47
(Officers, Constitution & Bylaws of JADCI)	
講演発表者名簿	50
(Author Index)	
協賛企業・団体	52
(Contributors)	

---

# 日本比較免疫学会 第18回 学術集会

(2006年度)

会期：2006年8月24日(木)～25日(金)

場所：県立広島大学 広島キャンパス (広島市)

学術集会会長：藤井 保 (県立広島大学)

## 学術集会日程表

	時間	プログラム内容
第1日目 (24日)	8:00～	受付
	9:00～	開会の辞、一般演題 (20 演題；ポスター発表のみ)
	10:30～	一般演題の要約発表 (セッションA&B：11 演題)
	13:00～	総会
	13:45～	古田賞大賞受賞者講演
	14:15～	一般演題の要約発表 (セッションC&D：9 演題)
	15:45～	教育講演 「ゲノムが語る自己非自己識別システムの歴史」 笠原 正典 (北大院・医)
	16:55～	特別講演 「補体系の進化」 野中 勝 (東大院・理)
	18:00～	懇親会 (会場；学生食堂)
第2日目 (25日)	9:00～	シンポジウム「円口類：生命科学への発信」
		『ヤツメウナギの発生から見た顎口類の進化』 倉谷 滋 (理研・発生)
		『スタウナギ魚類の染色体放出に関する分子遺伝学的解析』 久保田宗一郎、藤川典子、河野晴一 (東邦大・理)
		『ヤツメウナギにおける黒色素胞刺激ホルモン-β エンドルフィン共通前駆体の特殊な構造』 高橋明義 (北里大・水産)
		『ヤツメウナギの補体制御因子と Toll 様受容体』 石井秋宏、松尾 綾、松本美佐子、瀬谷 司 (北大院・医)
		『ヤツメウナギに見る補体古典的経路の起源』 松下 操 (東海大・工)
		『ヤツメウナギにおける抗原受容体遺伝子の再構成と多様化の分子機構』名川文清 (東大院・理)
		『MHC 領域の起源と脊椎動物におけるゲノム進化：スタウナギゲノムからの示唆』 笠松 純 <sup>1</sup> 、鈴木隆志 <sup>2</sup> 、春田千晶 <sup>2</sup> 、石島淳子 <sup>3</sup> 、松田洋一 <sup>3</sup> 、笠原正典 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 北大院・医、 <sup>2</sup> 総研大・先端科学、 <sup>3</sup> 北大・創成科学)
		総合討論
		14:00

第18回学術集会関連特別企画「高大連携講座：体験！免疫学フロンティア」

主催：学術集会会長

協賛：財団法人マツダ財団

概要：高校生が実験実習を含む事前学習の後、教育講演と特別講演に参加します。

## 参加者へのご案内

学術集会会場：県立広島大学 広島キャンパス（教育研究棟2）

連絡先：〒734-8558 広島市南区宇品東1-1-71

県立広島大学人間文化学部健康科学科内 第18回学術集会事務局 増山悦子

Tel & Fax : 082-251-9841, E-mail : masuyama@pu-hiroshima.ac.jp

受付：会場（教育研究棟2）の1階エントランスホールにて、8月24日（木）午前8時00分より開始致します。ネームプレートを用意致しますので着用して下さい。なお、ネームプレートは学術集会終了後に必ずご返却願います。  
学会への入会手続き、年会費の納入受付も併せて行います。

参加費：3,000円（会員、非会員）、学生2,000円。但し、シンポジウムのみ参加費は1,000円、教育講演、特別講演のみ参加は無料です。

懇親会：第1日目（8月24日）午後6時より、学生食堂にて軽食と飲み物を準備します。  
会費は3,000円です。当日の参加申込も受け付けます。

### 一般講演の発表

発表方法：すべてポスター発表のみで実施します。

ポスター展示：24日午前9時までに展示作業を終えてください。翌日25日の午前中まで継続展示し、昼の12時以降に撤去をお願いいたします。ご都合上、25日の撤去が難しい場合は、お申し出いただければ、学術集会事務局が展示物を撤去し、後日郵送・返却します。ポスター展示用パネルは90cm×180cmですが、展示物は幅80cm、縦120cmの範囲に収まるように、ご準備ください。演題番号のご準備は不要です。

要約発表：口頭での要約発表の時間を設けます。発表時間は3分以内で、それぞれ5分以内の質疑応答の時間があります。発表責任者（代表者）の方は、指定された時間帯に必ず講演会場にお越しください。

発表用メディアとして、資料提示（書画）装置（Nikon Hyper Imager HI 500E）を使用します。スライド、パワーポイントは使用できません。資料提示装置は遠隔講義システムに対応しており、投影画質は良好です。ただし、印字面積はA4サイズ以下とし、文字のフォントは、見やすいように大きいもの（A4横置き全面表示で16ポイント以上、できれば20ポイント程度が良好）を使われますようにご留意ください。

提示用資料の使用は、研究目的と方法、その結果、その意義をごく簡潔にまとめた資料2枚以内に止めてください。ポスター内容を単になぞって短くするというのではなく、発表される研究の結果とその意義を強調して述べるようにしてください。聴衆は既にポスターを見て来ていますので、要約発表の時間は実質的な質疑応答を中心にしたいと思います。

昼食用のお弁当：8月24日（木）の昼食用の弁当（お茶込み）を斡旋します。当日の朝、8時30分から9時30分までの間、会場内に業者による「弁当受付」を設置しますので、現金（700円）と引き換えに予約券をお受け取りください。

喫 煙：建物内は全て禁煙です。キャンパス内も基本的には禁煙ですが、指定の1ヶ所（会場内建物配置図を参照）のみで喫煙を容認しています。ご協力をお願いします。

会場へのアクセス [ ] 内は所要時間

(1) 広島駅から

【市内電車】⑤ 広島港（宇品）行きにて、「県病院前」下車〔約20分〕、徒歩7分。

【バ ス】広島バス「31号（翠町）循環線」にて、「県立広島大学前」下車〔約20分〕、徒歩3分。

(2) バスセンター（紙屋町）から

【市内電車】① ③ 広島港（宇品）行きにて、「県病院前」下車〔約20分〕、徒歩7分。

(3) 広島港から

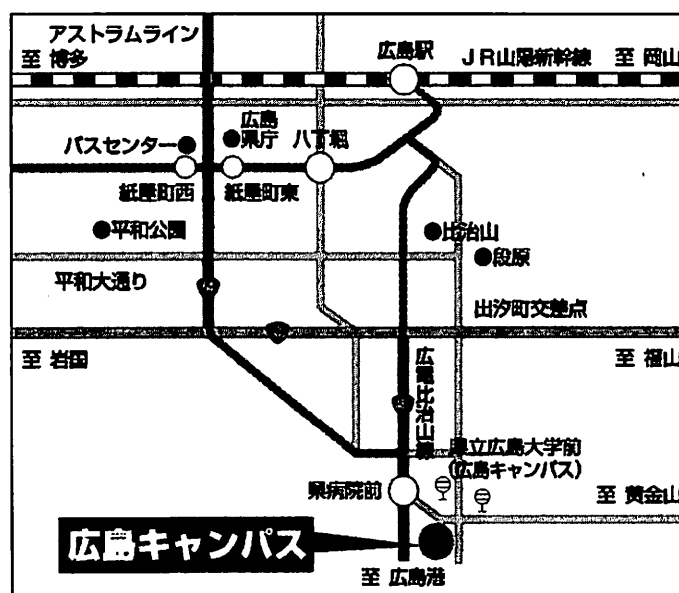
【市内電車】① ⑤ 広島駅行き、③ 広電西広島（己斐）行きにて、「県病院前」下車〔約10分〕、徒歩7分。

(4) 八丁堀（天満屋前）から

【バ ス】広電バス「12号（仁保沖町行き）線」にて、「県立広島大学前」下車〔約20分〕、徒歩1分。

\* 自家用車でのご来場は、ご遠慮ください。但し、やむを得ない理由により自家用車での来場を希望される場合は、駐車場を確保しますので、その旨を学術集会事務局に連絡してください。

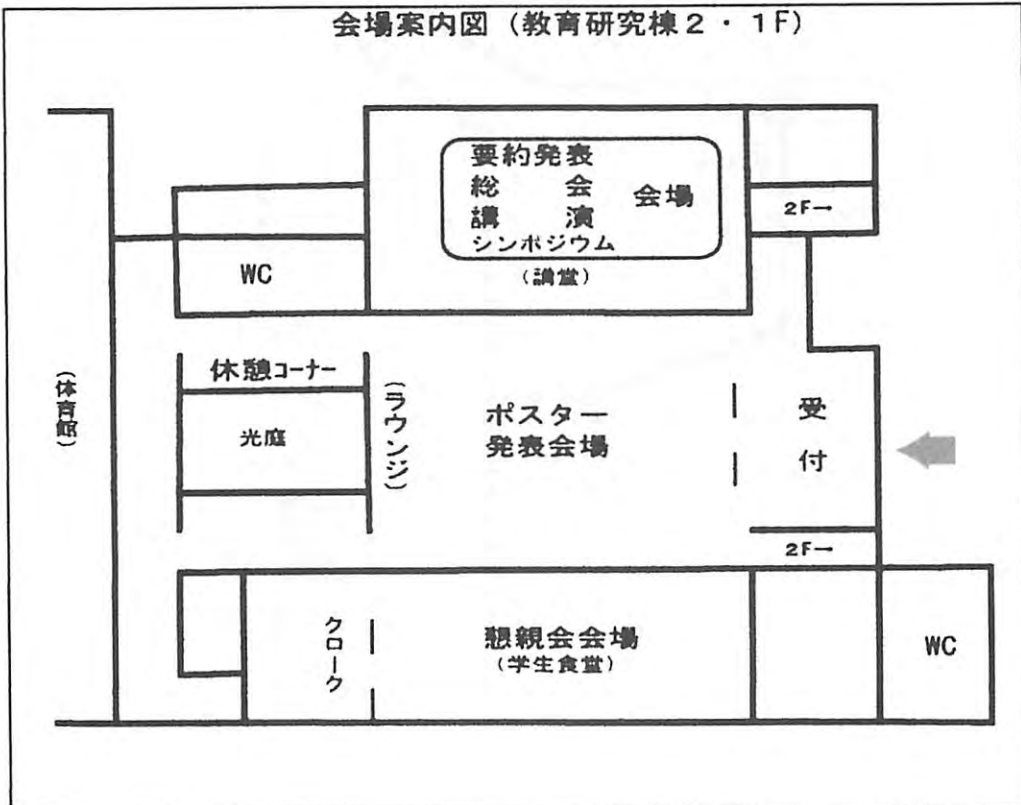
\* 既にご案内の通り、「県立広島大学」は、広島県立3大学を統合し平成17年4月に発足した新大学です。なお、広島キャンパスには既存の「県立広島女子大学」の学生が本年度も在学していますので、現在、同キャンパスには2大学が並存していることとなります。広島のガイドマップ等では、女子大の表記が多数残っていますので、ご留意ください。また、「広島女子大学」は「県立広島女子大学」の旧名称です。



県立広島大学 広島キャンパス案内 (建物配置) 図



会場案内図 (教育研究棟2・1F)



## Information for Overseas Participants

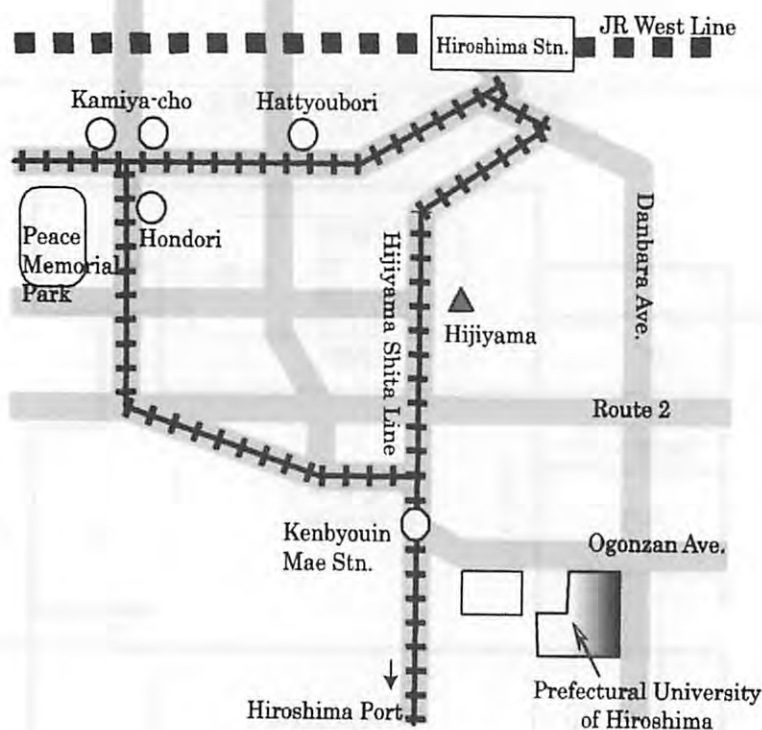
The 18<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Association for Developmental and Comparative Immunology (JADCI) will be held at the Hiroshima Campus of the Prefectural University of Hiroshima, Japan.

### Access to the Hiroshima Campus of the Prefectural University of Hiroshima:

- Approximately 50 minutes from Hiroshima Airport to Hiroshima Station (JR West) by highway bus.
- About 15 minutes from Hiroshima Station to the Hiroshima Campus of the Prefectural University of Hiroshima by taxi. (cf. The map below.)

### For Poster Presentation (General Lecture Session)

- **Poster Size:** 80cm width X 120cm height.
- **Short Oral Presentation and Discussion:** A 3-minute oral presentation of abstract to be followed by a discussion for 5 minutes.



# 日本比較免疫学会・役員名簿

(2006年度)

会 長	吉田 彪	ライフケア互酬研究会
副 会 長	川畑 俊一郎	九州大学
庶務・会計	中尾 実樹	九州大学
学術集会担当	中村 弘明	東京歯科大学
抄録委員	飯島 亮介	帝京大学
会計監査	友永 進	昇陽学院
	和合 治久	埼玉医科大学短期大学
ホームページ委員	広瀬 裕一	琉球大学

学会事務局：〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

九州大学大学院農学研究院

TEL:092-942-2894

FAX:092-942-2897

E-mail: jadci2@agr.kyushu-u.ac.jp



# 第18回学術集会プログラム

第1日目 8月24日(木)

## 一般演題(ポスター発表)

### Session A 生体防御関連細胞の形態と機能(座長:友永 進)

#### A1 鰓脚甲殻類の血球

○近藤昌和<sup>1</sup>、稲川裕之<sup>1</sup>、友永 進<sup>2</sup>、高橋幸則<sup>1</sup> (<sup>1</sup>水産大学校・生物生産、<sup>2</sup>昇陽学院)

#### A2 羊空腸及び回腸パイエル板リンパ濾胞内B細胞のダイナミクス

○保田昌宏<sup>1, 2</sup>、Craig N. Jenne<sup>2</sup>、Laurie J. Kennedy<sup>2</sup>、John D Reynolds<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>宮大・農・家畜解剖、<sup>2</sup>カルガリー大・医・免疫)

#### A3 ラット胸腺初代培養系におけるNotchシグナル阻害剤の影響

○澤田知夫<sup>1</sup>、林田梨沙<sup>1</sup>、安達泰弘<sup>1</sup>、徳田信子<sup>1</sup>、福本哲夫<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>山口大院・医・器官解剖、<sup>2</sup>武久病院)

### Session B 各種成分・遺伝子のクローニング(座長:野中 勝、中尾 実樹)

#### B1 日本産カブトガニ *Tachypleus tridentatus* の補体系因子のcDNAクローニングと機能解析

○有木 茂、尾崎 彩、福岡貴彰、小柴琢己、川畑俊一郎 (九大院・理・生物科学)

#### B2 トラフグの転写抑制因子BCL-6遺伝子の調節領域

○大谷真紀、宮台俊明 (福井県大・海洋生物資源・臨海研究センター)

#### B3 肝臓EST解析による無顎脊椎動物ヤツメウナギ補体系遺伝子の網羅的単離

○木村鮎子、野中 勝 (東大院・理・生物科学)

#### B4 *PSMB8*を指標としたメダカMHCクラスI領域の種内多型解析

○塚本健太郎、野中 勝 (東大院・理・生物科学)

#### B5 ギンブナT cell receptor $\gamma$ 鎖遺伝子のcDNAクローニング及び発現解析

○木部蓉子<sup>1</sup>、荒木亨介<sup>2</sup>、乙竹 充<sup>3</sup>、森友忠昭<sup>1</sup>、中西照幸<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日大・生物資源科学・獣医、<sup>2</sup>日大・動物医科学研センター、<sup>3</sup>水研センター・養殖研)

#### B6 ギンブナinterferon- $\gamma$ 遺伝子におけるアイソタイプの構造及び発現解析

○江角真梨子<sup>1</sup>、荒木亨介<sup>2</sup>、佐藤匡浩<sup>1</sup>、乙竹 充<sup>3</sup>、森友忠昭<sup>1</sup>、中西照幸<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日大・生物資源科学・獣医、<sup>2</sup>日大・動物医科学研センター、<sup>3</sup>水研センター・養殖研)

#### B7 コイの新奇補体制御因子のcDNAクローニング

○吉田大志、杉本智軌、加藤陽子、中尾実樹 (九大院・農・水族生化学)

## B 8 円口類ヌタウナギ補体成分 MASP-3 遺伝子の同定

- 藤井 保<sup>1</sup>、高宗和史<sup>2</sup>、近藤昌和<sup>3</sup>、稲川裕之<sup>3</sup>、高橋幸則<sup>3</sup>、菅原芳明<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>県立広島大・人間文化、<sup>2</sup>熊本大院・自然科学、<sup>3</sup>水産大学校)

## Session C 生体防御機構 (座長：大竹 伸一)

### C 1 オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* の鶏マラリア *Plasmodium gallinaceum* に対する自然免疫機構の一つメラニン化作用について

- 佐々木年則<sup>1</sup>、磯部 尚<sup>2</sup>、齋藤典子<sup>3</sup>、星野啓太<sup>1</sup>、伊澤晴彦<sup>1</sup>、澤邊京子<sup>1</sup>、小林睦生<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>国立感染症研・昆虫医科学、<sup>2</sup>(独)農業・生物系特定産業技術研、<sup>3</sup>国立感染症研・電頭)

### C 2 マボヤの血リンパのフェノール酸化酵素(P0)に関する研究 3

- 石井照久<sup>1</sup>、大竹伸一<sup>2</sup>、澤田知夫<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>秋田大・教文・生物、<sup>2</sup>日大・医・生物、<sup>3</sup>山口大院・医・機能統御)

### C 3 アロ抗原により感作したギンブナにおける CD8<sup>+</sup>T リンパ球の増加

- 戸田秀明<sup>1</sup>、小池拓人<sup>1</sup>、瀧澤文雄<sup>1</sup>、荒木亨介<sup>1</sup>、杣本智軌<sup>2</sup>、末武弘章<sup>3</sup>、鈴木 譲<sup>3</sup>、乙竹充<sup>4</sup>、森友忠昭<sup>1</sup>、中西照幸<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日大・生物資源科学・獣医、<sup>2</sup>九大院・農、<sup>3</sup>東大院・農、<sup>4</sup>水研センター・養殖研)

### C 4 トラフグ CD4 様分子の比較解析

- 末武弘章、松永貴芳、赤津可南子、菊池 潔、鈴木 譲 (東大院・水産実験所)

### C 5 C型肝炎ウイルス (HCV) 感染における宿主初期免疫応答

- 井上洋子<sup>1</sup>、片山恵子<sup>2</sup>、吉澤浩司<sup>2</sup>、菅野雅元<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>広島大院・医歯薬・免疫、<sup>2</sup>疫学疾病制御)

## Session D 生体内物質 (座長：中西 照幸)

### D 1 シアル酸 (*N*-acetylneuraminic acid) の抗酸化的作用

- 飯島亮介、来生 淳、山崎正利 (帝京大・薬・医療生命化学)

### D 2 タツナミガイ由来抗腫瘍性蛋白の作用機序

- 時任 剛、来生 淳、飯島亮介、山崎正利 (帝京大・薬・医療生命化学)

### D 3 ゼブラフィッシュ MIF (macrophage migration inhibitory factor) 遺伝子の初期発生における発現動態および機能解析

- 伊藤かな子<sup>1</sup>、吉浦康寿<sup>2</sup>、乙竹 充<sup>2</sup>、中西照幸<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>日大・生物資源科学・獣医、<sup>2</sup>水研センター・養殖研・病害防除部)

### D 4 安定形質転換した昆虫細胞からの組換えトラフグ IL-12 の産生

- 吉浦康寿<sup>1</sup>、伊藤かな子<sup>2</sup>、乙竹 充<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>水研センター・養殖研・病害防除部、<sup>2</sup>日大・生物資源)

**要約発表「午前の部」：一般演題 (A1～B8)** 10:30～12:00

昼食 12:00～13:00

学会総会 13:00～13:45

**古田賞大賞受賞者講演** (座長：吉田 彪) 13:45～14:15

**要約発表「午後の部」：一般演題 (C1～D4)** 14:15～15:35

【休憩：10分】

**教育講演** (座長：藤井 保) 15:45～16:45

EL: 『ゲノムが語る自己非自己識別システムの歴史』

笠原 正典 (北海道大学大学院・医学研究科)

【休憩：10分】

**特別講演** (座長：中尾 実樹) 16:55～17:55

SL: 『補体系の進化』

野中 勝 (東京大学大学院・理学系研究科)

写真撮影

懇親会 18:00～ 学生食堂

第2日目 8月25日(金)

## シンポジウム 「円口類：生命科学への発信」

(座長：藤井 保)

- S0 9:00～ はじめに 藤井 保(県立広島大)
- S1 9:10～『ヤツメウナギの発生から見た顎口類の進化』 倉谷 滋(理研・発生・再生科学)
- S2 9:40～『ヌタウナギ魚類の染色体放出に関する分子遺伝学的解析』  
久保田宗一郎、藤川典子、河野晴一(東邦大・理・生物)
- S3 10:10～『ヤツメウナギにおける黒色素胞刺激ホルモン-β エンドルフィン共通前駆体の  
特殊な構造』 高橋明義(北里大・水・海洋分子)
- S4 10:40～『ヤツメウナギの補体制御因子と Toll 様受容体』  
石井秋宏、松尾 綾、松本美佐子、瀬谷 司(北大院・医・病態解析学)
- 11:10～ コーヒーブレイク (軽食)
- S5 11:40～『ヤツメウナギに見る補体古典的経路の起源』 松下 操(東海大・工・生命化学)
- S6 12:10～『ヤツメウナギにおける抗原受容体遺伝子の再構成と多様化の分子機構』  
名川文清(東大院・理・生物化学)
- S7 12:40～『MHC 領域の起源と脊椎動物におけるゲノム進化:ヌタウナギゲノムからの示唆』  
笠松 純<sup>1</sup>、鈴木隆志<sup>2</sup>、春田千晶<sup>2</sup>、石島淳子<sup>3</sup>、松田洋一<sup>3</sup>、笠原正典<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大院・医、<sup>2</sup>総研大・先端科学、<sup>3</sup>北大・創成科学)
- 13:10～ 総合討論 (14:00 までに終了予定)

一般演題 : A1 ~ A3

B1 ~ B8

C1 ~ C5

D1 ~ D4



近藤 昌和<sup>1</sup>、稲川 裕之<sup>1</sup>、友永 進<sup>2</sup>、高橋 幸則<sup>1</sup>

<sup>1</sup>水産大学校・生物生産学科、<sup>2</sup>昇陽学院

### Hemocytes of Branchiopoda (Crustacea)

Masakazu Kondo<sup>1</sup>, Hiroyuki Inagawa<sup>1</sup>, Susumu Tomonaga<sup>2</sup>, Yukinori Takahashi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University, <sup>2</sup>Shyoyou Academy

#### 【目的】

現在、甲殻類（甲殻亜門）の血球に関する研究の多くは、高位群である十脚目（軟甲綱真軟甲亜綱）に集中している。我々は、これまでに十脚目を含み、多種類の甲殻類について血球形態を調べてきた。その結果、低位群である鰓脚綱（ブラインシュリンプとハウネンエビ（サルソストラカ亜綱無甲目）、アジアカプトエビ（カルマノストラカ亜綱背甲目）およびトゲカイエビ（双殻亜綱貝甲目））や顎脚綱（チョウ（鰓尾亜綱））では、血球は1種類であり、顆粒を有していることが明らかとなった。また、同綱鞘甲亜綱のエボシガイとアカフジツボでは血液中の血球は少なかったが、存在する血球には顆粒とともに、偽足が観察された。また、アカフジツボでは、蔓脚上皮表面に、血球と同様の細胞が存在し、アメーバ様運動が認められた。さらに、同綱カイアシ亜綱のシオダマリミジンコでは循環する血球は認められなかったが、組織表面にアメーバ様運動をする細胞が観察された。このように多様な血球形態を示す甲殻類において、系統進化上の傾向を明らかにするには、さらに多くの種類について調べる必要があると考えられる。本報告では、ミジンコ *Daphnia pulex*（双殻亜綱枝角目）の血球形態について調べた。

#### 【材料と方法】

水産大学校の屋外水槽で、淡水魚類の初期餌料用として通年繁殖させているミジンコを実験に用いた。ミジンコを Davidoson 液（エタノール：ホルマリン：氷酢酸：蒸留水＝66：44：23：67）で固定後、定法にしたがってパラフィン切片を作製した。切片に各種染色を施して光学顕微鏡で観察した。

#### 【結果】

顕微鏡下でミジンコ生体を観察したところ、円形または卵円形の血球が少数、循環していた。また、観察中に、循環血球数の増加が認められた。循環血球が背甲上皮表面に付着して偽足を伸張する像や、付着部位から遊離して循環する像も観察された。メイグリュンワルド染色標本観察によって、血球は、1種類であり、多数の顆粒を有していることが明らかとなった。顆粒は小型円形（直径 0.5 μm 以下）であり、pH5～8 のいずれのリン酸緩衝液（<sup>1</sup>/<sub>15</sub>M）を用いても、難染性であった。また、顆粒はエオシンには染まらなかった。核はやや偏在し、円形、楕円形、ソラメ型と多様であり、オイクロマチンが豊富で、ヘテロクロマチンは核膜近縁に接して観察された。

#### 【結論】

ミジンコの属する枝角目は、貝甲目から派生したと考えられているが、血球形態は、トゲカイエビとは異なっていた。トゲカイエビ血球の顆粒は、塩基性色素にも、酸性色素にも染色される両染性であるのに対して、ミジンコ血球の顆粒は難染性であった。このことは、ミジンコとは異なる亜綱のハウネンエビやアジアカプトエビと同様であった。また、ハウネンエビと同じ目のブラインシュリンプでは、大型のエオシン好性顆粒と、小型の難染性顆粒が血球中に観察されている。難染性顆粒は、チョウ、エボシガイおよびアカフジツボにも認められている。したがって、血球が難染性顆粒を有することは、甲殻類の下位群における主たる傾向であり、ブラインシュリンプやトゲカイエビに見られる変異は、そこから派生した形質ではないかと考えられる。

## A2 羊空腸及び回腸パイエル板リンパ濾胞内 B 細胞のダイナミックス

保田 昌宏<sup>1, 2</sup>, Craig N. Jenne<sup>2</sup>, Laurie J. Kennedy<sup>2</sup>, John D Reynolds<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>宮崎大学・家畜解剖学講座, <sup>2</sup>カルガリー大学・医学部・免疫学研究グループ

### Dynamics of B-cell within sheep jejunal and ileal Peyer's patch single follicle.

Masahiro Yasuda<sup>1, 2</sup>, Craig N. Jenne<sup>2</sup>, Laurie J. Kennedy<sup>2</sup>, John D Reynolds<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Vet Anatomy, University of Miyazaki, <sup>2</sup>Immunological Research Group, University of Calgary

#### 【目的】

反芻動物には空腸及び回腸領域にパイエル板があり、前者が局所免疫を担う二次リンパ器官で、後者は B 細胞が分裂増殖しプライマリーレパトリーを形成する一次リンパ器官であるとされている<sup>[1]</sup>。しかしながら、胎生中期にまず二次リンパ器官である空腸パイエル板が形成され、胎生後期に一次リンパ器官である回腸パイエル板が形成される<sup>[2]</sup>。今回は胎生期における両パイエル板リンパ濾胞内 B 細胞のクローナリティやレパトリーの比較解析を実施するとともに、出生後にリンパ濾胞内のそれらがどのように変化あるいは進化していくかについて解析した。

#### 【材料と方法】

胎生期（胎齢約 100 日、120 日～135 日）から出生後 8 週齢までの羊空腸および回腸パイエル板から実体顕微鏡下でリンパ濾胞を単離し、単一濾胞から mRNA あるいは DNA を精製し RT-PCR あるいは PCR によって組み換え抗体遺伝子鎖の可変領域（V）と J 鎖を増幅した。さらに PCR 産物をクローニング後、その塩基配列を決定した。

#### 【結果】

胎齢 100 日（この時期一次リンパ器官である回腸パイエル板リンパ濾胞は観察されない）の空腸パイエル板リンパ濾胞内 B 細胞はオリゴクローナルであったが、胎齢 120 日～135 日および出生後ではポリクローナルとなった。いっぽう回腸パイエル板で

は個体発生を通して濾胞内 B 細胞はオリゴクローナルであった。胎生期の両パイエル板リンパ濾胞内 B 細胞で点突然変異が観察され、出生後では特に V の CDR 領域にそれが蓄積されていた。

#### 【結論】

結論は以下に要約される。①一次リンパ器官である回腸パイエル板が形成される以前に空腸パイエル板リンパ濾胞内で B 細胞レパトリーが形成されている。②リンパ濾胞内でのレパトリーはそれぞれの濾胞特異的に形成される。③胎生後期より空腸パイエル板リンパ濾胞内 B 細胞はポリクローナルとなり、回腸パイエル板リンパ濾胞内ではオリゴクローナルであり両パイエル板リンパ濾胞内のクローナリティは異なる。

#### 【参考文献】

1. Reynaud CA et al., Cell 64:995-1005, 1991.
2. Yasuda M., et al., Vet Res., 37: 401-415, 2006.

## A3 ラット胸腺初代培養系における Notch シグナル阻害剤の影響

澤田知夫<sup>1</sup>, 林田梨沙<sup>1</sup>, 安達泰弘<sup>1</sup>, 徳田信子<sup>1</sup>, 福本哲夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>山口大学医学系研究科・器官解剖学分野, <sup>2</sup>武久病院

### Effects of Notch inhibitor on rat thymus primary culture.

Tomoo Sawada<sup>1</sup>, Risa Hayashida<sup>1</sup>, Yasuhiro Adachi<sup>1</sup>, Nobuko Tokuda<sup>1</sup>, Tetsuo Fukumoto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Organ Anatomy, Yamaguchi University School of Medicine, <sup>2</sup>Takehisa Hospital

#### 【目的】

胸腺での T リンパ球分化にはいろいろな段階で Notch シグナルが重要と言われる<sup>1,2</sup>。また、マウス T 前駆細胞においては、Notch リガンドを発現させた培養細胞との共培養のみで、CD4/CD8DP ステージまでの分化を誘導できるという報告もある。しかし、ラット胸腺細胞に関する研究は少なく、in vitro 系での研究はほとんど無い。そこで胸腺初代培養系を用いて、ラット胸腺細胞の分化・生存における Notch シグナルの重要性の検討を試みた。Notch シグナル伝達に必要な  $\gamma$ -secretase を阻害する<sup>1,3</sup> N-[N-(3,5-Difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine-butyl ester (DAPT) が、初代培養系にどのような影響を与えるかを、生存率と表面抗原などについて検討した。

#### 【材料と方法】

ラット (DA 系、♂、5-8 週) 胸腺から細胞懸濁液を作成し、シャーレ及び 24 穴プレートにて培養した (培養液 10%FCS-RPMI1640 で)。培養下の形態変化について日を追って観察し、trypan blue 染色で生細胞数を、FDA 染色とフローサイトメトリーにより生存率を検討した。HE 染色、ギムザ染色、免疫染色による観察も行った。さらに、この胸腺初代培養系に DAPT を異なる濃度で加え、培養 7 日目に回収した細胞の表面抗原などについてフローサイトメトリーによる解析を行った。

#### 【結果】

初め胸腺細胞は培養液に浮遊しているが、3 日目頃から大型細胞や顆粒を持つ細胞が現れ、シャーレ底に付着し始めた。5 日目以降浮遊細胞の割合が減少し、シャーレ底の伸展した細胞や大型細胞、顆粒を持つ細胞が増加した。DAPT1  $\mu$ M の条件下でも同様の形態変化が見られたが、DAPT が無い control に比

べて壊れた細胞が多く見られた。

DAPT 0.1~10  $\mu$ M 7 日間培養後の胸腺細胞分画では、DAPT 0.5  $\mu$ M 以上で生存率低下が見られた。また control では 24 穴プレート培養中の胸腺細胞分画の割合が 7 日目で 40% だったのに対し、DAPT1  $\mu$ M では 2% と低下した。胸腺細胞分画の CD4/CD8 発現では、DAPT 添加で、DN と DP 及び DP 前段階の CD8 low という未熟な分画が増加した。

#### 【結論】

Notch リガンドは上皮細胞に存在するといわれる。本研究の初代培養系では、付着伸展した細胞の多くが CD11b 陽性でマクロファージ系と示唆されたが、ケラチン陽性の上皮様細胞も少数確認された。上皮細胞と接触した胸腺細胞がごく少数であった可能性も考えられる。その上で DAPT 添加により成熟細胞の割合が減り、未熟細胞の割合が増加したことは、ラット初代培養系での T 細胞分化にも Notch シグナルが関与することを示唆した。また、DAPT 添加による生存率低下は Notch シグナルを受けない細胞が分化できずに死んだのではないかと考えた。

#### 【参考文献】

- 1) Germain, R. N. T cell development and the CD4-CD8 lineage decision. *Nat. Rev. Immunol.* 2002, 2:309-322
- 2) Brandt, J. et al. Inhibition of Notch signaling biases rat thymocyte development towards the NK cell lineage. *Eur. J. Immunol.* 2004, 34:1405-1413
- 3) Doerfler, P. et al. Presenilin-dependent  $\gamma$ -secretase activity modulates thymocyte development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, 98:9312-9317

## B1 日本産カブトガニ *Tachypleus tridentatus* の補体系因子の cDNA クローニングと機能解析

有木茂、尾崎彩、福岡貴彰、小柴琢己、川畑俊一郎  
九州大学大学院理学府生物科学

**cDNA cloning and functional analysis of complement factors in Japanese horseshoe crab *Tachypleus tridentatus*.**

Shigeru Arika, Aya Ozaki, Takaaki Fukuoka, Takumi Koshihara, Shun-ichiro Kawabata  
Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University

### 【目的】

補体系は、哺乳類の生体防御において重要な役割を果たしている。これまで、補体系のタンパク質は後口動物からのみ同定されていたが、最近になり、東南アジア産カブトガニの体液から補体因子 C2/Bf および C3 が同定された (Zhu, Y. *et al.* EMBO J. 24, 382-394, 2005)。本研究では、日本産カブトガニにおいて補体因子を同定することを目的とする。また、カブトガニ補体系の活性化メカニズムを解析し、カブトガニの生体防御における補体因子の役割を解明するために C3 因子の精製を行なった。

### 【材料と方法】

日本産カブトガニの肝臓から作製した cDNA を鋳型として RT-PCR を行ない、補体因子 C2/Bf、C3 のホモログ (それぞれ TtC2/Bf、TtC3) の cDNA 全塩基配列を決定した。また、採取したカブトガニ体液を遠心し、血球細胞および主要成分であるヘモシアニンを取り除いた。遠心後の血漿を用いたイオン交換クロマトグラフィーにより TtC3 を精製し、生化学的な解析を行なった。

### 【結果】

TtC2/Bf は 864 アミノ酸からなるタンパク質で、そのドメイン構造は、補体因子に特徴的にみられるドメインである CCP ドメインが 5 つ、VWF ドメイン、セリンプロテアーゼドメインからなっていた。TtC3 は 1716 アミノ酸からなるタンパク質で、そのドメイン構造は 2 つの  $\alpha$ 2M ドメイン、補体因子に

特徴的に含まれるアナフィラトキシンドメイン、C345C ドメインからなっていた。

イオン交換クロマトグラフィーによる精製では、約 220ml のカブトガニ血漿から、約 100mg の TtC3 を得た。精製した TtC3 の電気泳動パターン、および、アミノ酸配列から、このタンパク質は三本鎖構造をとっていると推定された。

哺乳類 C3 はトリプシン様の酵素活性により活性化される。TtC3 をトリプシンで処理したところ、哺乳類 C3 が活性化される際に切断を受ける部位に相当する部分が切断された。したがって、TtC3 はトリプシン様の酵素によって活性化されると考えられる。

### 【結論】

TtC2/Bf および TtC3 は、そのアミノ酸配列の特徴から、哺乳類の補体因子と同様の機能を果たすと予想される。TtC3 が血漿中に高濃度で存在すること、また、日本産カブトガニと東南アジア産カブトガニの補体因子が 90%以上という高い類似性を示したことから、補体系はカブトガニの生体防御において重要な役割を果たしていると考えられる。カブトガニ補体因子 C2/Bf、C3 のアミノ酸配列はすでに報告されているが、精製タンパク質を用いた機能解析は全く行なわれていない。現在、TtC2/Bf の精製を試みるとともに、精製した TtC3 を用いて機能解析を進めている。

大谷 真紀、宮台 俊明  
福井県立大学・海洋生物資源臨海研究センター

Regulatory region of transcriptional repressor BCL-6 gene in torafugu (*Takifugu rubripes*)

Maki Ohtani, Toshiaki Miyadai  
Research Center for Marine Bioresources, Fukui Prefectural University

【目的】

B cell lymphoma-6 (BCL-6)はB細胞の後期分化を制御する重要な転写抑制因子の一つであり、哺乳類では二次リンパ組織における胚中心形成を誘導することが知られている。トラフグからクローニングした BCL-6 も B 細胞で発現していたことから、魚類 B 細胞の分化制御に関係することが推測される。哺乳類 BCL-6 は分化段階特異的な発現調節を受けることが知られており、発現誘導には STAT1 $\alpha$  (Signaling transducers and activators of transcription-1 $\alpha$ )が関与する<sup>[1]</sup>。一方で、BCL-6 は自己抑制によって発現を制御することも報告されている<sup>[2]</sup>。しかし、魚類 BCL-6 の制御機構に関する報告は無い。そこで、本研究ではトラフグ BCL-6 遺伝子の調節領域について解析を行った。

【材料と方法】

トラフグ BCL-6 遺伝子の翻訳開始点から上流 6.0 kb をプロモーター解析ソフト MAR-Wiz ([http:// www.futuresoft.org/MAR-Wiz/](http://www.futuresoft.org/MAR-Wiz/))を用いて解析した。また、BCL-6 の抑制因子である Blimp-1 (B lymphocyte induced maturation protein-1)や、その他の転写因子の認識配列を探索した。さらに、BCL-6 遺伝子調節領域の制御機能を明らかにするため、レポーターアッセイを行った。ルシフェラーゼ遺伝子をコードする pTK-Luc ベクターに BCL-6 遺伝子の調節領域を導入してレポーターベクターとした。また、トラフグの BCL-6, Blimp-1 を pcDNA3.1 に導入して発現ベクターを作製し、エフェクターベクターとした。エフェクターベクターとレポーターベクターをコイ上皮由来細胞株 EPC に同時に導入し、48 時間後に細胞を回収してルシフェラーゼ活性を

測定した。

【結果】

翻訳開始点から上流約 3.0 kb までの BCL-6 調節領域にはマウス Blimp-1 の認識配列と相同性の高い配列が 4 ヶ所存在した。さらに、STAT 認識配列 (GAS) が 8 ヶ所存在し、そのうち 6 ヶ所は BCL-6 認識配列と一致した。また、AP-1 の認識配列も 2 ヶ所存在した。調節領域に Blimp-1 認識配列を含むレポーターのルシフェラーゼ活性は Blimp-1 によって 50%程度に抑制された。さらに、GAS 配列を含むレポーターは BCL-6 によって 20%程度まで抑制された。

【結論】

本研究により、トラフグの BCL-6 遺伝子は哺乳類 BCL-6 と同様に、GAS 配列を介した自己抑制による発現抑制機構を持つことが示唆された。さらに、Blimp-1 も Blimp-1 認識配列を介して BCL-6 の転写抑制に関与するようであるが、その程度についてはさらなる検討が必要と思われる。一方で、STAT や AP-1 は転写活性化因子として BCL-6 遺伝子の発現誘導に関与することが推測された。

【参考文献】

1. Zhou G, Ono SJ (2005) *Exp Mol Pathol*, 78:25-35
2. Pasqualucci L, Migliazza A, Houldsworth J, Chaganti RSK, Dalla-Favera R (2003) *Blood*, 101:2914-2923



## 肝臓 EST 解析による無顎脊椎動物ヤツメウナギ補体系遺伝子の網羅的単離

木村 鮎子、野中 勝  
 東京大学大学院理学系研究科・生物科学専攻

## The complement system of lamprey, a jawless vertebrate, revealed by liver EST analysis

Ayuko Kimura, Masaru Nonaka  
 Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo

## 【目的】

血清中に存在する補体系因子群は、異物を認識して標識し、食食作用の促進・細胞膜障害・炎症の誘導によりこれを排除する、重要な自然免疫系分子群であるとともに、獲得免疫系との橋渡しの役割も担っている。近年の研究により、少なくとも尾索動物/脊椎動物の分岐以前には既に揃いの補体系遺伝子が完成しており、その後さらに脊椎動物の系統の初期段階で複数回の重複が起こったことにより、哺乳類型のより複雑な補体系が形成されてきたことが分かってきた。<sup>[1]</sup>しかし、特に無顎脊椎動物の補体系遺伝子全般についての情報不足のため、遺伝子重複の具体的な時期は未だ明確でない。そこで本研究では、無顎脊椎動物ヤツメウナギの肝臓 EST 解析を行い、補体系遺伝子の網羅的探索を行った。

## 【材料と方法】

ヤツメウナギの肝臓から CsCl 密度勾配遠心および Oligo dT カラムにより精製した mRNA を元に、cDNA library Construction Kit (STRATAGENE)を用いて Non-normalized cDNA ライブラリを作成し、また、cDNA Normalization Kit (TRIMMER)を用いて各転写産物の出現頻度を平均化した Normalized-cDNA を合成して pCR2.1 TOPO-TA Vector (Invitrogen) に挿入し、Normalized cDNA library を作成した。両ライブラリから、計約 9,000 クローンのプラスミドを精製して塩基配列を解読し、DDBJ の BlastX 解析により遺伝子を同定した。補体系遺伝子については RACE-PCR により全長配列を決定し、分子系統解析を行った。

## 【結果】

遺伝子重複により生じた補体系遺伝子ファミリー C3/C4/C5・Factor B/C2・MASP/C1r/C1s のうち、ライブラリから見つかったのは C3 遺伝子 2 種、B 因子遺伝子 2 種、MASP 遺伝子 1 種のみで、C4、C5、C2、C1r、C1s 遺伝子は見つからなかったことから、これらの重複が有顎脊椎動物以降の系統で起こったことが示唆された。膜傷害分子遺伝子ファミリーに関しては、尾索動物ホヤで原始的な遺伝子が単離されているが、ヤツメウナギからは EST 解析・Degenerate-PCR のいずれでも単離できなかった。また、補体系因子同士の相互作用に関わる FIM ドメインをもつ遺伝子として、有顎脊椎動物より分岐の古い動物で初めて、I 因子遺伝子を単離した。さらに、異物認識に関わる C1q 遺伝子 2 種、MBL 遺伝子 1 種その他、SCR ドメインの繰り返しからなる複数の補体系制御因子遺伝子を単離した。

## 【結論】

脊椎動物の系統で起こり、哺乳類補体系の進化に貢献した主な補体系遺伝子の重複は無顎脊椎動物の系統でまだ起きていなかったこと、膜傷害分子遺伝子に関しては二次的に失われた可能性もあることが示唆された。また、補体系に特有な FIM ドメインが脊椎動物の初期の段階で出現したことが分かった。

## 【参考文献】

1. Nonaka, M. & F. Yoshizaki (2004), *Mol Immunol*, 40(12): 897-902

## B4 *PSMB8* を指標としたメダカ MHC クラス I 領域の種内多型解析

塚本 健太郎、野中 勝  
東京大学・院理・生物科学

### Intraspecific polymorphism of *PSMB8* genes in the Medaka, *Oryzias latipes*.

Kentaro Tsukamoto and Masaru Nonaka

Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo

#### 【目的】

メダカ *Oryzias latipes* 近交系、HNI と Hd-rR、間の MHC クラス I 領域 (約 400 kb) の多型解析により、クラス I 抗原提示に関与する MHC クラス I 遺伝子 (*UAA* と *UBA*) と免疫プロテアソームサブユニット遺伝子 (*PSMB8* と *PSMB10*) を含む約 100 kb の亜領域には、他の脊椎動物の MHC からは知られていない著しい塩基配列の違いが存在することが明らかとなった。<sup>[1]</sup>。日本産のメダカは平均して 4% 程度の塩基配列の違いを示す、遺伝的な隔たりの大きい北日本集団と南日本集団に大別され、上記の二つの近交系は各々の集団に由来している。そこでこの亜領域の著しい配列の違いが、南北日本集団間の違いを反映したものなのかどうか、また他にも顕著な違いを示すアレルが存在するかどうかを検討するために、*PSMB8* 遺伝子を指標としてメダカ野生集団を用いた多型解析を行った。

#### 【材料と方法】

*PSMB8* 遺伝子のエクソン 1 と 6 上に 2 系統間で保存されている配列上にプライマーを設計し、ゲノム DNA をテンプレートに用い PCR を行った。メダカ野生集団を北日本集団から 3 地点、南日本集団から 5 地点選び、合計 982 個体について PCR を行い、各集団で得られた PCR 産物をバンドサイズでタイピングし、各サイズのバンドの塩基配列をダイレクトシーケンスにより決定した。コード領域のアミノ酸配列を HNI または Hd-rR の *PSMB8* 配列と比較した。

#### 【結果】

メダカ野生集団内の *PSMB8* 遺伝子は HNI タイプか Hd-rR タイプのいずれかに明確に分類され、解析された全ての集団において Hd-rR タイプが高頻度 (76-100%) で存在していた。両タイプ共に南北日本集団に認められたことから、これら両タイプの起源は南北日本集団の分岐以前に遡ることが示された。また、約 100 kb の亜領域の顕著な塩基配列の違いの維持機構として組換えの抑制の可能性を検討したが、HNI/Hd-rR 間ではこの亜領域内のみならず周辺の少なくとも 1 Mb 位の範囲において完全な組み換え抑制が観察され、結論を得ることができなかった。

#### 【結論】

野生集団での多型解析により、メダカ *PSMB8* 遺伝子は二型性を示し、その起源は南北日本集団の分岐以前に遡ることが示された。*PSMB8* 遺伝子の二型性はサメ<sup>[2]</sup>、アフリカツメガエル<sup>[3]</sup>でも認められており、今回の結果を合わせると脊椎動物の MHC は二型性に基づくものが基本であり、哺乳類の様に二型性を示さないものは例外であると考えられる。このことは MHC クラス I 遺伝子とその抗原提示に関わる遺伝子から遠く離れて存在する哺乳類 MHC の特殊な構造との関係が示唆される。

#### 【参考文献】

1. Tsukamoto K. et al. (2005) *Immunogenetics*. 57, 420-31
2. Ohta Y. et al. (2002) *J Immunol*. 68, 771-81
3. Nonaka M. et al. (2000) *Immunogenetics*. 51, 1 86-92

# B5 ギンブナ T cell receptor $\gamma$ 鎖遺伝子の cDNA クローニング及び発現解析

木部蓉子<sup>1</sup>、荒木亨介<sup>2</sup>、乙竹 充<sup>3</sup>、森友忠昭<sup>1</sup>、中西照幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日本大学生物資源科学部、<sup>2</sup>日本大学動物医科学研究センター、<sup>3</sup>水産総合研究センター養殖研究所

## Molecular cloning and expression analysis of the T cell receptor gamma from ginbuna crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii*

Youko Kibe<sup>1</sup>, Kyosuke Araki<sup>2</sup>, Mitsuru Ototake<sup>3</sup>, Tadaaki Moritomo<sup>1</sup>, Teruyuki Nakanishi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Veterinary Medicine, college of Bioresource Sciences, Nihon University, <sup>2</sup>Nihon University Veterinary Research Center, <sup>3</sup>National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency

### 【目的】

$\gamma\delta$ T 細胞については、ヒトやマウスでは主に腸管などに多数分布しており粘膜免疫において主要な役割を担っていることが知られている。一方、ウシやブタなどの偶蹄類では末梢血中の T 細胞の大部分を占めるなど、種ごとに分布様式が異なり機能の多様性が推測される。

これまで魚類では、数種の魚種で T 細胞受容体 (TCR)  $\gamma$  鎖および  $\delta$  鎖遺伝子が単離されているのみで、魚類における  $\gamma\delta$ T 細胞の分布様式や機能については良く判っていない。そこで、本研究ではギンブナより TCR- $\gamma$  鎖遺伝子を単離し、すでに同定されている TCR- $\beta$  鎖遺伝子との発現様式の違いを明らかにすることを目的とした。

### 【材料と方法】

諏訪湖産 3 倍体クローンギンブナ (S3N) を用いて、cDNA クローニングを行った。既報のアメリカナマズ及びゼブラフィッシュの TCR- $\gamma$  鎖遺伝子配列をもとにプライマーを設計し、部分配列を得た後に RACE 法を行い全長を決定した。

RT-PCR により各 TCR $\gamma$  鎖遺伝子の発現について器官レベルで検討し、TCR $\beta$  鎖遺伝子の発現と比較した。

### 【結果および考察】

ギンブナより 7 種類の TCR- $\gamma$  可変領域様 cDNA および 3 種類の TCR- $\gamma$  定常領域様 (C 領域:  $\gamma$ C1,  $\gamma$ C2,  $\gamma$ Cs) cDNA を得た。ギンブナ TCR- $\gamma$  可変領域様 cDNA より演繹されるアミノ酸配列はリーダー配列、V 遺伝子断片 (V 領域)、結合断片 (J 領域) を含み、定常領域様 cDNA より演繹されるアミノ酸配列は細胞外領域、膜貫通領域、細胞内領域を含んでいた。また VJ 結合部では 4~8 残基のアミノ酸挿入が見られ、ヒラメ (5~10 残基) よ

り若干少ないものの抗原認識における多様性の獲得に貢献していると考えられた。

ギンブナ  $\gamma$ C の細胞外領域には内鎖ジスルフィド結合を形成する CX<sub>14</sub>WX<sub>8</sub>WX<sub>37</sub>C 構造が他魚種同様保存されており、3 種類のギンブナ  $\gamma$ C アミノ酸配列は、軟骨魚を含む他魚種の TCR- $\gamma$  鎖 C 領域配列と 18%~38% の同一性を示した。系統樹解析において他の魚種の TCR- $\gamma$  鎖 C 領域とクラスターを形成した。これらのことから、今回得られた cDNA はギンブナ TCR- $\gamma$  鎖をコードしていると考えられた。なお、 $\gamma$ Cs については VJ 領域が結合しない不完全な配列として得られた。

$\gamma$ C 領域遺伝子について発現解析を行った結果、いずれの  $\gamma$ C についても胸腺で最も強い発現が認められた。 $\gamma$ C1 は腸管および鰓において、 $\gamma$ C2 は末梢白血球、頭腎、体腎、脾臓、腸管、皮膚および鰓で発現が見られた。一方、 $\gamma$ Cs は多くの器官で発現しており、筋肉にも発現が見られたこと、VJ 領域が結合しないことから TCR- $\gamma$  鎖としての機能は有していないことが示唆された。また、 $\gamma$ C1 は  $\gamma$ C2 と比較して発現器官が少なく、発現も弱いことから、生体内では  $\gamma$ C2 が優位に機能していることが考えられた。

一方 TCR- $\beta$  鎖 C 領域については  $\gamma$ C2 遺伝子と同様の発現様式を示し、特に末梢白血球、胸腺、脾臓、鰓において強い発現が認められた。また全体的に TCR- $\beta$  鎖遺伝子の方が TCR- $\gamma$  鎖遺伝子よりも強い発現を示した。

以上の結果から、ギンブナ TCR- $\gamma$  鎖はヒトやマウスと同様に TCR- $\beta$  鎖よりも発現量は少ないものの、主に粘膜を中心に発現しており、粘膜組織において免疫に関与していることが示唆された。

ギンブナ *interferon- $\gamma$*  遺伝子におけるアイソタイプの構造及び発現解析江角真梨子<sup>1</sup>、荒木亨介<sup>2</sup>、佐藤匡浩<sup>1</sup>、乙竹 充<sup>3</sup>、森友忠昭<sup>1</sup>、中西照幸<sup>1</sup><sup>1</sup>日本大学生物資源科学部、<sup>2</sup>日本大学動物医科学研究センター、<sup>3</sup>水産総合研究センター養殖研究所**Molecular characterization and expression analysis of interferon- $\gamma$  from ginbuna crucian carp,  
*Carassius auratus langsdorfii***Mariko Esumi<sup>1</sup>, Kyosuke Araki<sup>2</sup>, Masahiro Sato<sup>1</sup>, Mitsuru Ototake<sup>3</sup>, Tadaki Moritomo<sup>1</sup>, Teruyuki Nakanisi<sup>1</sup><sup>1</sup> Department of Veterinary Medicine, College of Bioresource Sciences, Nihon University<sup>2</sup> Nihon University Veterinary Research Center, <sup>3</sup> National Research Institute of Aquaculture Research Agency**【目的】**

*interferon- $\gamma$* (IFN- $\gamma$ )は哺乳類の細胞性免疫の誘導において主要な役割を担うサイトカインとして知られている。本研究では、魚類の細胞性免疫誘導機構解明のため、細胞性免疫機能検査法が確立しているクローンギンブナを用いて、IFN- $\gamma$  遺伝子の単離および発現解析を行なった。

**【材料と方法】**

諏訪湖産ギンブナ3倍体クローンギンブナ(S3N)を用いて、既に単離されている魚類のIFN- $\gamma$ の塩基配列を基にプライマーを設計し、部分配列を得た後、RACE法によりcDNAの全長を決定した。また、RT-PCRにより、器官別に各IFN- $\gamma$ 遺伝子の発現解析を行なった。

**【結果】**

ギンブナよりIFN- $\gamma$ 1、IFN- $\gamma$ 2のcDNAを単離した。IFN- $\gamma$ 1には2つのアイソタイプが存在し(IFN- $\gamma$ 1-1、IFN- $\gamma$ 1-2)それぞれについて12塩基対を欠損したスプライシングバリエーションが確認された。

IFN- $\gamma$ 1とIFN- $\gamma$ 2はそれぞれ他魚種のIFN- $\gamma$ に同様な特徴的な配列を有していた。アミノ酸同一性解析ではIFN- $\gamma$ 1-1とIFN- $\gamma$ 1-2間には75%の同一性を示

し、また他種のIFN- $\gamma$ との比較においてはIFN $\gamma$ 1-1は23%(ヒト)~80%(ゼブラフィッシュ)、IFN- $\gamma$ 1-2は19%(ヒト)~80%(ゼブラフィッシュ)の同一性を示した。IFN- $\gamma$ 2はIFN $\gamma$ 1-1とは18%、IFN- $\gamma$ 1-2とは17%の同一性で、他魚種のIFN- $\gamma$ 2との比較では38%(アメリカナマズ)~77%(ゼブラフィッシュ)の同一性を示した。

発現解析の結果、IFN- $\gamma$ 1-1は脾臓、筋肉、鰓で、IFN- $\gamma$ 1-2は脾臓、脳、末梢白血球、頭腎、体腎、腸管、鰓で発現が認められた。IFN- $\gamma$ 2は、胸腺で発現が認められた。

**【考察】**

IFN- $\gamma$ 1は脊椎動物全般にわたって保存されているが、IFN- $\gamma$ 2は一部の魚類のみで存在することが知られている。今回のギンブナではIFN- $\gamma$ 1および $\gamma$ 2のみならず、 $\gamma$ 1ではさらに2つのアイソタイプが確認された。さらに、アイソタイプ間でそれぞれ異なる発現パターンを示した。これらのことから、ギンブナIFN- $\gamma$ の発現様式は他魚種とは異なる可能性が考えられた。現在、これらギンブナIFN- $\gamma$ 遺伝子について、*in vivo in vitro*における抗原刺激時の発現について解析を進めている。

吉田大志, 杣本智軌, 加藤陽子, 中尾実樹  
九州大学大学院 農学研究院

**Molecular cloning of a novel complement regulatory factor from carp (*Cyprinus caprio*)**

Takeshi Yoshida, Tomonori Somamoto, Yoko Kato, Miki Nakao  
Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University

**【目的】**

補体は、自然免疫の液性因子として、体内に侵入した病原体の除去・破壊に重要な役割を果たすが、補体の過剰な活性化は宿主の組織障害等を引き起こすので、補体系には種々の制御因子が備わっている。特に、中心成分 C3 から C3b への活性化は、I 因子とそのコファクター (H 因子、C4bp、MCP、CR1) など数種の因子によって制御されている。硬骨魚類の C3 活性化制御に関しては、H 因子様の制御因子<sup>1</sup>や I 因子<sup>2</sup>が同定されているが、それらの魚類補体系にどのような補体制御因子が関与しているか、およびそれらの詳細な制御機構は明らかではない。本研究では、コイ補体系において I 因子のコファクターとして機能する分子を同定することを目的とし、コファクターに特徴的な short consensus repeat (SCR) モジュールから構成される分子の cDNA を単離した。

**【材料と方法】**

コイ末梢血からパーコール密度勾配遠心によって調製したリンパ球画を用い、total RNA を Isogen によって精製した。

ヒト C3 レセプタータイプ 2 (CR2) のアミノ酸配列を利用した BLAST 検索によって、zebrafish および fathead minow の SCR 含有タンパク質の EST 配列を得た。これらの推定アミノ酸配列をもとに設計したプライマーを用い、コイリンパ球 RNA から 5' -RACE および 3' -RACE によって SCR をコードする cDNA を増幅した。これを pGEM-T ベクターにサブクローニングし、塩基配列を解析した。

**【結果】**

コイ末梢血リンパ球から、425 アミノ酸をコードする open reading frame を含む 2075 bp の cDNA をクローニングすることに成功し、この分子を CSCR1 と名付けた。CSCR1 にはシグナルペプチドがなく、7つの SCR モジュールが含まれていた。また、C 末端付近に膜貫通ドメインを含まないことから、CSCR1 は可溶性の補体制御因子様タンパク質であることが示唆された。CSCR1 の 7つの SCR モジュールのうち N 末端から 4つの SCR は、ヒトの可溶性補体制御因子 (H 因子、C4bp) の C3b/C4b 結合部位に比較的高い類似性 (37-43%) を示した。一方、興味深いことに、CSCR1 の C 末端側の 3つの SCR は、CR1、CR2、MCP などの補体レセプターや膜結合型制御因子の SCR モジュールにより高い相同性 (35-43%) を示した。

**【結論】**

コイから可溶性の補体制御因子様 SCR 含有タンパク質の分子 (CSCR1) をクローニングした。CSCR1 は 7つの SCR モジュールから成る可溶性タンパク質であることが推定されたが、その N 末端側は哺乳類の可溶性補体制御因子に、C 末端側は膜結合型補体制御因子および補体レセプターに類似していた。

**【参考文献】**

1. Kemper C, Gigli I, Zipfel PF (2000) *Exp Clin Immunogenet*, 17:55-62
2. Nakao M, Hisamatsu S, Nakahara M, Kato Y, Smith SL, Yano T (2003) *Immunogenetics*, 54:801-806



藤井 保<sup>1</sup>、高宗 和史<sup>2</sup>、近藤 昌和<sup>3</sup>、稲川 裕之<sup>3</sup>、高橋 幸則<sup>3</sup>、菅原 芳明<sup>1</sup>

<sup>1</sup>県立広島大学人間文化学部、<sup>2</sup>熊本大学大学院自然科学研究科、<sup>3</sup>水産大学校生物生産学科

**cDNA cloning of a complement component (MASP-3) gene from hagfish, *Eptatretus burgeri*.**

Tamotsu Fujii<sup>1</sup>, Kazufumi Takamune<sup>2</sup>, Masakazu Kondo<sup>3</sup>, Hiroyuki Inagawa<sup>3</sup>, Yukinori Takahashi<sup>3</sup>,  
Yoshiaki Sugawara<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Health Sciences, Hiroshima Prefectural University, <sup>2</sup>Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University, <sup>3</sup>Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University

**【目的】**

ヌタウナギ類では、オプソニン活性を発現する主要な分子は、補体第3成分(C3)の限定分解産物であることが分かっている。Song *et al.* (2005)は、この分解反応に与ることが予想されるヌタウナギ補体成分の一つ、マンノース結合レクチン結合セリンプロテアーゼ(MASP)遺伝子(cDNA)のクローニングに成功している。一方、近年のマボヤやナメクジウオの研究は、MASPファミリーの分子進化的起源が古く、無脊椎動物の一部にまで遡り得ること、無脊椎動物の段階で複数のMASP分子が既に存在していることを示している。そこで、本研究では、現存する最も原始的な脊椎動物とされるヌタウナギ(*Eptatretus burgeri*)に注目し、このレベルの動物における原始的補体系の全貌を解明する一環として、MASPファミリーの他分子の同定を試みた。

**【方法】**

ヒトMASP-1遺伝子の構造をみると、ヒトMASP-1のH鎖は10個の、L鎖は6個の分断エクソンでコードされている。さらに、この遺伝子のH鎖とL鎖のイントロンの間に、MASP-3のL鎖をコードするもうひとつの新たなエクソン(単一エクソン)が含まれていることが分かっている。すなわち、MASP-1/3遺伝子はL鎖をコードする領域が2つ縦列するユニークな構造をもち、H鎖とL鎖の間で起こる、選択的スプライシングにより2つのMASPを産生することが分かっている。同様の遺伝子構造がヌタウナギMASP

にも存在すると仮定すると、ヌタウナギでもMASP-3遺伝子を同定できる可能性がある。そこで、ヌタウナギMASP-1H鎖のC末端と同L鎖のN末端部分をコードする塩基配列に基づいてPCR用プライマーを設計し、ヌタウナギ肝ゲノムDNAを鋳型に用いて、両末端部分に挟まれた遺伝子領域の増幅を試みた。定法に従い、得られた増幅断片の塩基配列を決定し、その性状を解析した。また、ヌタウナギ肝から抽出・精製した全RNAを鋳型に用いてRT-PCRを行い、同様の解析を行った。

**【結果・考察】**

ゲノムDNAを鋳型にして増幅されたPCR産物は、約4kbpであった。このPCR産物をクローニングし、塩基配列を決定したところ、予想されるアミノ酸配列の中で終止コドンを含まない最長の塩基配列領域は1,185bpで、そのアミノ酸配列は、BLASTP解析により、ヒトMASP-3のL鎖との高い相同性を示した。一方、肝由来全RNAを鋳型に用いたRT-PCRでは、得られたPCR産物は約2.5kbpで、塩基配列から予想されたアミノ酸配列は、ヒトMASP-3に類似していた。これらの結果は、ヌタウナギでもMASP-1/3遺伝子が存在し、その構造がヒトの同遺伝子に酷似していることを示している。また、MASP-3遺伝子に由来するmRNAの存在が明らかになったことから、MASP-3タンパク質が、原始的補体系を構成する成分の一つとしてヌタウナギ血清中で機能している可能性を強く示唆している。

# オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* の鶏マラリア *Plasmodium gallinaceum*

## に対する自然免疫機構の一つメラニン化作用について

佐々木 年則<sup>1</sup>、磯部 尚<sup>2</sup>、齋藤 典子<sup>3</sup>、星野 啓太<sup>1</sup>、伊澤 晴彦<sup>1</sup>、澤邊 京子<sup>1</sup>、小林 陸生<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 国立感染症研究所昆虫医科学部

<sup>2</sup> (独) 農業・生物系特定産業技術研究機構動物衛生研究所寄生虫病研究室

<sup>3</sup> 国立感染症研究所電子顕微鏡室

### One of Innate Immunity on Mosquitoes: Melanization of *Armigeres subalbatus* against *Plasmodium gallinaceum*

\*Toshinori Sasaki<sup>1</sup>, Takashi Isobe<sup>2</sup>, Noriko Saito<sup>3</sup>, Keita Hoshino<sup>1</sup>, Haruhiko Isawa<sup>1</sup>, Kyoko Sawabe<sup>1</sup>

Mutsuo Kobayashi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Medical Entomology, National Institute of Infectious Diseases

<sup>2</sup> Parasitic Disease Section, Department of Infectious Diseases, National Institute of Animal Health, National Agriculture and Bio-oriented Research Organization, Incorporated Administrative Agency

<sup>3</sup> Laboratory of Electron Microscopy, National Institute of Infectious Diseases

#### 【目的】

蚊のマラリア非感受性機構の一つとして、中腸壁内の原虫がメラニン化によって殺されることが報告されている。さらに、メラニン化に関与するプロフェノール酸化酵素 (Pro-PO) 活性化系などの蚊の生体防御機構にかかわる研究が精力的に行われている。最近になって、*Anopheles gambiae* の補体様因子である thioester-containing protein (TEP) が Pro-PO 活性化系に関与することが報告された<sup>[1]</sup>。我々は、マラリア非感受性機構の一つとしての Pro-PO 活性化系を明らかにするため、Pro-PO 活性化系が関与する異物認識機構に関与するレクチンに着目し、*in vitro*においてシアル酸特異的レクチンがマラリア原虫オーシストに結合することを明らかにしてきた。今回、*in vivo*において *Plasmodium gallinaceum* のオーシストがメラニン化されるかどうか検討した。

#### 【材料と方法】

オオクロヤブカ 406 系統に鶏マラリア *Plasmodium gallinaceum* フィリピン株を感染させ、1日、7日、13日後の中腸におけるメラニン化を光学顕微鏡で観察した。また、13日目に体液

と唾液腺を観察した。さらに、*Anopheles stephensi* にネズミマラリア *Plasmodium yoelli nigeriensis* を感染させ、中腸を光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡で観察した。

#### 【結果】

マラリア感染7日および13日目に *in vivo*において *Plasmodium gallinaceum* のオーシストがメラニン化されることを確認することができた。*Anopheles stephensi* において *Plasmodium yoelli nigeriensis* のオーシストに対してメラニン化する個体を認めた。また、*Anopheles stephensi* 中腸の基底膜に穴を認めることができた。

#### 【結論】

体液由来のシアル酸特異的レクチンがマラリア原虫に対してメラニン化に関与することが示唆された。

#### 【参考文献】

1. Blandin, S., Shiao, S.-H., Moita, L. F., Janse, C. J., Waters, A. P., Kafatos, F. C. and Levashina, E. A., Complement-like protein TEP1 is a determinant of vectorial capacity in the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Cell*, 116, 661-670, 2004.

## C2 マボヤの血リンパのフェノール酸化酵素 (PO) に関する研究 3

石井照久<sup>1</sup>, 大竹伸一<sup>2</sup>, 澤田知夫<sup>3</sup>

<sup>1</sup>秋田大学・生物, <sup>2</sup>日本大学・医学部・生物, <sup>3</sup>山口大学大学院・医学系研究科・人体機能統御学

A study on the Phenoloxidase in hemolymph in the solitary ascidian, *Halocynthia roretzi* 3

Teruhisa Ishii<sup>1</sup>, Shin-Ichi Ohtake<sup>2</sup>, Tomoo Sawada<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Akita University, <sup>2</sup>Nihon University School of Medicine, <sup>3</sup>Yamaguchi University School of Medicine

### 【目的】

脊索動物であるマボヤは、フェノール酸化酵素 (PO) を血球に有しており、同種内他個体接触反応時に PO を放出すること<sup>[1]</sup>、さらに様々な刺激により PO を放出すること<sup>[2]</sup>などが知られている。これまでに我々は、採血自体が刺激となって血球からプラズマ中に PO が放出されてしまうことを見出し出していた。すなわちマボヤ体内での血リンパ中の PO 活性の平常値を捉えることができていない。そこで今回はその手掛かりを得るために血リンパ中の PO 活性に影響を及ぼす因子について検討した。

### 【材料と方法】

マボヤ (陸奥湾産) から血リンパ (HL) を 3-5ml 採血し、プラズマ (PL) 中の PO 活性を測定した。PO 活性は、PO によるドーパの酸化で生じるドーパキノンと MBTH との反応物 (505nm に吸収極大を有す) の 20 分後の OD<sub>505</sub> 値として測定した。採血直後遠心 (0°C、450G、5 分) して得た PL 中の OD 値 (これを intact 値とする) を 1 とし、PL あるいは HL の状態で 25°C、30 分インキュベートした場合と比較した。さらに PL の状態でインキュベートする際に、プロテアーゼインヒビターカクテル (Sigma chemical) を添加したもの、被囊断片を添加したもの、カクテルと被囊断片の両方を添加したもの、のそれぞれについても測定し intact 値と比較した。

### 【結果】

PO 活性は、プラズマ状態でインキュベートすると約 50% 低下した。血リンパ状態でインキュベートした場合、活性は減少することが多いが (10 例中 8 例)、上昇する例もあった (10 例中 2 例)。プラズマ状態でインキュベートする際の PO 活性減少

は、プロテアーゼインヒビターカクテルにより完全に阻止することができた。さらに予備的な実験結果ではプロテアーゼインヒビターカクテルの成分のうち EDTA のみが顕著に PO 活性減少を阻止した。またプラズマ状態でインキュベートする際に被囊断片を添加した場合の PO 活性値は intact 値と比較すると、約 35% 減となった。

### 【結論】

マボヤの血リンパ中の PO 活性はインキュベートに伴い減少することが判明した。さらにインキュベートに伴う PO 活性の減少はプロテアーゼインヒビターで阻止できることから、プラズマ中に PO 活性を阻害するプロテアーゼの存在が予測された (特に EDTA の添加により PO 活性が回復することからメタロプロテアーゼの可能性が示唆される)。また PO 活性減少は血リンパ状態でインキュベートすると抑えられることから、血球からプラズマへ PO が供給されていると思われる。プラズマ中に生体防御分子の PO とその阻害因子が共存することが示唆され、防御反応における複雑な PO 活性調節機構の存在が考えられた。これが採血によって起こった *in vitro* 特異的なことなのかどうかも含め、さらなる検討が必要である。

### 【参考文献】

1. Akita N, Hoshi M (1995) Cell Struc Func, 20:81-87
2. Hata S, Azumi K, Yokosawa H (1998) Comp Biochem Physiol B, 119:769-776

### C3 アロ抗原により感作したギンブナにおける CD8<sup>+</sup>T リンパ球の増加

戸田 秀明<sup>1</sup>、小池 拓人<sup>1</sup>、瀧澤 文雄<sup>1</sup>、荒木 亨介<sup>1</sup>、柚本 智軌<sup>2</sup>、  
末武 弘章<sup>3</sup>、鈴木 譲<sup>3</sup>、乙竹 充<sup>4</sup>、森友 忠昭<sup>1</sup>、中西 照幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大・生物資源、<sup>2</sup>九大・農学研究院、<sup>3</sup>東大・院農、<sup>4</sup>水研センター・養殖研

#### Increase of CD8<sup>+</sup>T lymphocytes after alloantigen stimulation in ginbuna crucian carp

Hideaki Toda<sup>1</sup>, Takuhito Koike<sup>1</sup>, Fumio Takizawa<sup>1</sup>, Kyosuke Araki<sup>1</sup>, Tomonori Somamoto<sup>2</sup>,  
Hiroaki Suetake<sup>3</sup>, Yuzuru Suzuki<sup>3</sup>, Mitsuru Ootake<sup>4</sup>, Tadaaki Moritomo<sup>1</sup>, Teruyuki Nakanishi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Bioresource Sciences, Nihon University, <sup>2</sup>Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University, <sup>3</sup> Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo,

<sup>4</sup>National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency

#### 【目的】

魚類において、アロ抗原刺激をおこなった個体における (T 細胞サブセットである) CD8<sup>+</sup>T 細胞の動態はこれまで報告されていない。本研究ではクローンギンブナの CD8<sup>+</sup>T 細胞に特異的なモノクローナル抗体 (MAb) を作製し、アロ抗原刺激 (鱗移植) 後の宿主における CD8<sup>+</sup>T 細胞の動態を解析した。

#### 【材料と方法】

ギンブナ CD8 $\alpha$ 鎖を強制発現させたラット由来細胞 (CD8 $\alpha$ /NRK) をラットに免疫し、フット・パッド法により CD8 $\alpha$ 鎖に対する MAb (MAb2C3) を作製した。ギンブナ体腎リンパ球の MAb2C3 陽性、あるいは陰性画分をセルソーターにより分取し、分取した細胞について CD8 $\alpha$ 、CD4、IgL、TCR $\beta$  の発現を RT-PCR により検討した。次に、体重約 20g の諏訪湖産 3 倍体クローンギンブナ (S3N) と S3N にキングヨをかけ合わせた 4 倍体ギンブナ (S4N) を用い、S4N の鱗を S3N に移植し感作した。14 日目に再び鱗を移植し合計 2 回の感作をおこなった。最終感作より 3、7、14 日目に S3N の頭腎、脾臓、末梢血から白血球を回収し、MAb2C3 を用いて各臓器の白血球を蛍光免疫染色し、フローサイトメーター (FACS) を用いてアロ抗原刺激後の宿主における CD8<sup>+</sup>T 細胞の動態を経時的に観察した。

#### 【結果および考察】

FACS 解析の結果、MAb2C3 は CD8 $\alpha$ /NRK に反応したが、CD8 $\alpha$ を発現しない NRK 細胞には反応しなかった。また、RT-PCR の結果、MAb2C3 陽性ギン

ブナリンパ球画分に CD8 $\alpha$ および TCR $\beta$ の発現が認められたが、MAb2C3 陰性画分では CD4、IgL および TCR $\beta$ の発現が認められた。これらのことから MAb2C3 は CD8<sup>+</sup>T 細胞を認識していることが示唆された。

S4N から S3N に鱗移植を行ったアロ抗原刺激群においては、最終感作より 7 日目には頭腎の肥大が認められ白血球数が対照群 (S3N から S3N に移植) に比べて有意に増加した。末梢白血球や脾臓の白血球数には変化が認められなかった。FACS 解析の結果、頭腎における細胞数の増加は主にリンパ球の増加によることが示唆された。顆粒球、マクロファージおよび幼若細胞の増加は認められなかった。一方、最終感作より 3、7、14 日目のアロ抗原刺激群の頭腎リンパ球における MAb2C3 陽性細胞の割合は、対照群に比べ有意な増加を示さなかった。

以上のことから、アロ抗原刺激により、CD8<sup>+</sup>T 細胞は頭腎リンパ球の中で相対的に増加するのではなく、頭腎リンパ球全体の増加に伴い CD8<sup>+</sup>T 細胞の絶対数も増加すると考えられる。

現在、アロ抗原刺激時における CD8<sup>+</sup>T 細胞の活性化について検討するため、アロ抗原刺激を行った個体より MAb2C3 陽性細胞を分取し、CD8 $\alpha$ の mRNA 量について検討中である。

また、リンパ球のうち CD8<sup>+</sup>T 細胞以外の細胞、すなわち B 細胞、CD4<sup>+</sup>T 細胞等の動態についても解析を進めている。

末武弘章, 松永貴芳, 赤津可南子, 菊池潔, 鈴木謙  
 東京大学大学院農学生命科学研究科附属水産実験所

**Comparison of CD4-like molecules in fugu, *Takifugu rubripes*.**

Hiroaki Suetake, Takayoshi Matsunaga, Kanako Akatsu, Kiyoshi Kikuchi, Yuzuru Suzuki  
 Fisheries Lab. Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The Univ. of Tokyo

**【目的】**

獲得免疫系の制御を行うヘルパーT細胞においてMHCクラスIIとの結合の補助分子として知られるCD4は、ヘルパーT細胞識別のための細胞表面マーカーとしても利用されている。魚類でも、ヘルパーT細胞の存在が示唆されていたが、単離・同定には至っていない。我々は2004年に魚類では初めてCD4遺伝子をトラフグにおいて同定した<sup>[1]</sup>。しかし、最近になってニジマスにおいてこの分子とは異なるCD4候補分子がCD4L-2として報告された<sup>[2]</sup>。そこで、トラフグCD4L-2遺伝子を同定し、CD4とCD4L-2の比較を行うことにより、ヘルパーT細胞のマーカーとなる分子を明らかにする。

**【材料と方法】**

トラフグゲノムデータベースからCD4L-2の候補配列を探索し、その配列をもとにcDNAクローニング用のプライマーを設計した。次に、トラフグ胸腺から抽出したRNAを用いてRACE法によるcDNAクローニングを行い、構造の比較を行った。さらに、遺伝子構造とゲノム上の位置を哺乳類のCD4とCD4関連分子であるLAG-3と比較した。最後に様々な組織におけるCD4及びCD4L-2遺伝子の発現をRT-PCRで調べるとともに、トラフグIgM<sup>[3]</sup>およびCD8 $\alpha$ に対する抗体を用いて末梢血白血球(PBL)をM.C.により分画した各画分における両遺伝子の発現を同様にして調べた。

**【結果】**

トラフグCD4L-2 cDNAを単離した。トラフグ

CD4L-2は4つのIg様ドメインをもつCD4や哺乳類のLAG-3とは異なり、ニジマスのCD4L-2やヤツメウナギのCD4Lと同様に2つのIg様ドメインしか持っていなかったが、細胞内シグナル伝達において重要なLck結合ドメインはCD4と同様に保存していた。CD4とCD4L-2はヒトのCD4とLAG-3と同様にゲノム上でタンデムに並んで存在しており、そのパターンと遺伝子構造は概ねトラフグCD4はヒトCD4に、CD4L-2はLAG-3に対応するものであった。CD4L-2はCD4と同様、胸腺で最も強く発現しているほか、リンパ器官でも強く発現していたが、CD4がIgMとCD8 $\alpha$ の両方に陰性のPBL画分にのみ発現していたのに対して、CD4L-2は全ての画分で発現しており、哺乳類のLAG-3がCD8陽性細胞やB細胞で発現していることと合致した。

**【結論】**

トラフグではCD4様分子として我々が報告したCD4以外にCD4L-2が認められたが、ヘルパーT細胞マーカーである哺乳類CD4のオーソログは前者である。

**【参考文献】**

1. Suetake H, Araki K, Suzuki Y (2004) Immunogenetics, 56:368-374.
2. Dijkstra JM, Somamoto T, Moore L, Hordvik I, Ototake M, Fischer U (2006) Mol Immunol, 4:410-419
3. Miyadai T, Ootani M, Tahara D, Aoki M, Saitoh K (2004) Fish Shellfish Immunol, 17:211-222.

井上洋子<sup>1</sup>、片山恵子<sup>2</sup>、吉澤 浩司<sup>2</sup>、菅野雅元<sup>1</sup>  
 (<sup>1</sup>広島大・院医歯薬・免疫学、<sup>2</sup>疫学疾病制御学)

**Initial immune reaction of HCV infection in chimpanzees**

Hiroko Inoue<sup>1</sup>, Keiko Katayama<sup>2</sup>, Hiroshi Yosizawa<sup>2</sup>, Masamoto Kanno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of immunology Grad. Sch. of Biomed. Sci., Hiroshima University,

<sup>2</sup>Department of Infectious Disease and control, Grad. Sch. of Biomed. Sci., Hiroshima University

**【目的】**

C型肝炎ウイルス感染を考えるうえで、今まではその疾患機序を従来の免疫学理論をもとに、リンパ球中心に理解しようとしていた。しかし「ウイルス性肝炎の症状、および病態」を考えるうえでは、従来の考え方だけでは無理があり、新しい考え方を要求されている。感染初期の宿主側の反応を解析することは、ヒト・臨床サンプルでは不可能であり、HCV が感染可能な唯一の動物であるチンパンジーを用いた解析系で行う事が必須である。この初期反応の理解がその後の免疫反応（持続感染に対する免疫反応、ウイルス排除機構など）の理解に重要である。

**【材料と方法】**

HCV の絶対量 100 コピーおよび  $8.4 \times 10^6$  コピーを接種する実験系を用い、定期的に末梢血を採血する。血清を用いて抗体価、肝障害マーカーとしての ALT/AST 値、核酸増幅検査(NAT)による C型肝炎ウイルス量(HCV RNA 量、copy/ml)、等を測定する。さらにウイルス接種後 140 日までのバフィーコートを用いて樹状細胞、T 細胞、NK 細胞、B 細胞の細胞数、活性化した細胞の割合などの変動を Flow Cytometry を用いてその経過を測定する。樹状細胞(CD11c+) の活性化マーカー (CD86+または HLA-DR+)、T 細胞 (CD3+)、NK 細胞(CD56+)、B 細胞活性化(CD19+)は、それぞれの Lineage マーカー+活性化マーカー (CD69+) で測定した。

**【結果】**

**実験 1** ; 血中のウイルスは、HCV を 100 コピー接種した自然治癒、および  $8.4 \times 10^6$  コピー接種し慢性化したチンパンジーとも接種 5 日目から検出可能であった。後者は 140 日以降も血中のウイルスは陽性であり、早期に肝障害を思わせる血液データを得たが抗体は産生されなかった。

**実験 2** ; 樹状細胞は myeloid DC (mDC) と plasmacytoid DC (pDC) の大きく 2 種類のサブセットに分類される。自然治癒コースでは、初期 (1 週間以内) にまず pDC の活性化が起き、mDC の活性化は、それ

から約 1 週間遅れることが分かった。一方、持続感染コースでは、pDC の活性化が 28 日目、mDC の活性化が 38 日目ごろに観測された。自然治癒コースのような感染初期の DC 細胞群の活性化は観測されなかった。さらにそれぞれの樹状細胞サブセットに関してウイルスの取り込みの有無を RT-PCR により検討した。結果感染初期において、HCV を取り込んでいる樹状細胞サブセットは pDC であり、一般的な樹状細胞である mDC は HCV を取り込んでいない。持続感染コースで同様の実験を行ったところ、どの時期においても HCV ゲノムは検出されなかった。

**実験 3** ; 次に、T 細胞、B 細胞、NK 細胞について、活性化マーカーとして CD69 を用いて活性化の推移を検討した。その結果肝障害の後や、抗体産生の開始前に NK 細胞や T 細胞の活性化が確認できた。特に NK 細胞の活性化が顕著に確認できた。自然治癒コースと持続感染コースを比較した場合に、最も大きな差は、NK 細胞の活性化が、持続感染コースではほとんど観測されないことであった。

**【結論】**

HCV 持続感染 (慢性肝炎) から肝硬変 (および肝臓ガン) への推移に関しては、NK 細胞の活性化が大きな役割をしている可能性が論じられている。最近、DC と NK の相互作用(Cross-Talk)が、抗ウイルス免疫に対する監視機構として非常に重要であるという報告が出されている(Nature Immunol 2005 など)。今回 HCV 感染初期に樹状細胞群の Plasmacytoid DC サブセットが HCV を取り込んで (食べて) 活性化しているが、最も代表的な従来型樹状細胞群 (Myeloid DC) は HCV を取り込んで活性化しているわけではなく、2 次的な反応であることが分かった。さらに、大量にウイルスを接種した場合の持続感染コースでは樹状細胞の活性化が大幅に遅れ、しかもウイルスを取り込んで活性化するタイプとは異なることが判明した。このような感染初期における樹状細胞群の活性化、それに続く NK 細胞の活性化と感染コースの選択が、密接に関係していることが分かった。



飯島 亮介・来生 淳・山崎正利

帝京大学薬学部医療生命化学教室

Antioxidative activity of Sialic acid, *N*-acetylneuraminic acid.

Ryosuke Iijima, Jun Kisugi, Masatoshi Yamazaki

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

【目的】シアル酸 (*N*-acetylneuraminic acid; Neu5Ac, NANA) は哺乳動物、一部の昆虫や軟体動物、微生物などに存在する主要な糖である。この NANA が過酸化水素  $\text{H}_2\text{O}_2$  を還元して無毒化すること<sup>(1)</sup> を昨年度の集会で報告した。この反応の至適条件は未検討であったので、反応速度と温度及び水素イオン濃度 (pH) の関係を調べた。

【材料と方法】 24mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  と 10mM NANA とを 100mM citrate buffer (pH 3.0 - 6.0) 中、37°C で反応させ、反応のおおよその pH 依存性を調べた。その結果を基にして、次に 24mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  と 10mM NANA を 100mM 緩衝液 (citrate buffer; pH 3.0 - 6.0. phosphate buffer; pH 6.0 - 8.0. Tris-HCl buffer; pH 8.0, 9.0) 中で 37°C 6 時間 (pH 3.0, 4.0) もしくは 10 分間 (pH 5.0 - 9.0) インキュベートし、反応前後の過酸化水素濃度から反応速度定数  $k$  を求めた。

【結果】 pH3.0 では  $\text{H}_2\text{O}_2$  はわずかしこ減少しなかったが pH 5.5 - 6.0 では 24 時間で NANA と等量が減少した。反応速度定数  $k$  は pH3.0 では 0.01 と著しく低いですが、pH7.0 で  $k=0.49$  に達し、pH9.0 まで変化しなかった。この変化は緩衝液の種類には非依存であった。phosphate buffer pH6.0 - 8.0 で温度を 24°C、37°C、50°C に変化させた場合、 $k$  も温度上昇と比例して増

大した。また pH 3.0 と 7.0 の反応産物を分析したところ、いずれからも NANA 脱炭酸物 4-(Acetylamino)-2,4-dideoxy-D-glycero-D-galacto-octonic acid (ADOA) が検出され反応機構は同じであることが確認された。

【結論】 NANA と  $\text{H}_2\text{O}_2$  の反応は、



であり、反応次数は 2 次である。pH3.0 と 7.0 で比較すると反応速度定数  $k$  は約 50 倍異なり、低 pH では反応が極端に進みにくいことが分かった。NANA 分子内にあるカルボキシル基の  $\text{pK}_a$  は 2.6 で、ギ酸よりも強い  $\alpha$ -ケト酸である。そのため NANA 溶液の pH は低い。一方  $\text{H}_2\text{O}_2$  は高 pH で不安定し酸化力が高まることが知られている。これらのことが NANA と  $\text{H}_2\text{O}_2$  というよく知られた物質が反応し得ることを隠してきた理由ではないかと考えられる。しかしながら低 pH でも ADOA が生成していたことから、反応機構自体は pH によって変化せず、生体内の様々な pH 環境下で共通して起こり得ることが示された。

【参考文献】 1. Ryosuke Iijima, Hideyo Takahashi, Rie Namme, Shiro Ikegami, Masatoshi Yamazaki. Novel biological function of sialic acid (*N*-acetylneuraminic acid) as a hydrogen peroxide scavenger. FEBS Letters 561 (2004) 163 - 166.

時任 剛, 来生 淳, 飯島 亮介, 山崎 正利  
帝京大学・薬学部・医療生命化学

**Mechanisms of antineoplastic proteins of sea hare, *Dolabella auricularia*.**

Go Tokito, Jun Kisugi, Ryosuke Iijima, Masatoshi Yamazaki  
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

**【目的】**

海洋軟体動物タツナミガイ中から、5種の細胞傷害蛋白を見出し、ドラベラニンと名付けた。そのうち、3種は、腫瘍細胞に特異的に作用する、抗腫瘍性蛋白であった。

また、卵白腺由来のドラベラニンAは、L-アミノ酸オキシダーゼであり、過酸化水素を産生する<sup>[1]</sup>ことにより活性を示すことを報告してきた。今回は、他のドラベラニンの作用機序について検討し、タツナミガイ体内における5種の細胞傷害蛋白の関連性について検討した。

**【材料と方法】**

タツナミガイ (*Dolabella auricularia*) は、千葉県勝山で採集した。タツナミガイを人為的に刺激し、紫汁液を採取後、腹板足側にメスを入れ、滲出してきた体液を採取した。その後、解剖し、卵白腺を取り出す。卵は、6-7月に勝山にて採集し、-30°C保存した。

精製は、陰イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー、HPLCにより行った。

抗腫瘍活性は、マウス乳癌細胞 MM46 とマウスリンパ腫 EL-4 を用い、MTT 法で測定した。

**【結果】**

過酸化水素は、MM46 乳癌細胞や EL-4 リンパ腫細胞に対して、40  $\mu$ M で細胞傷害活性を示した。タツナミガイ卵白腺由来抗腫瘍蛋白・ドラベラニンAは、分子量 70kDa のサブユニット4個からなる 250kDa

の蛋白性の物質である。また、卵由来のドラベラニンEもまた、分子量 70kDa のサブユニット4個からなる 250kDa の蛋白性の物質である。精製品のアミノ酸配列は、N末ブロックにより、解読ができていない。しかし、抗原性が同じであることなどから、ドラベラニンAに類似していると考えてきた。事実、ドラベラニンEは、過酸化水素を産生していた。

また、N末が一致していた体液由来のドラベラニンCも、過酸化水素を産生する事で細胞傷害を起こしていることを明らかにした。

**【結論】**

タツナミガイから見出した抗腫瘍蛋白のうち3種は、過酸化水素を産生し細胞傷害活性を示すことを明らかにした。つまり、タツナミガイ体内では、卵白腺から卵に移行し、その後体液中に移行すると推測される。

また、紫汁液や体表部にも細胞傷害蛋白を見出しているが、これらは過酸化水素を産生しないことから、一個体中に作用機序が異なる物質が複数存在することが示された。

**【参考文献】**

1. Ryosuke Iijima, Jun Kisugi, Masatoshi Yamazaki (2003) Dev. Comp. Immunol., 27:505-512

## ゼブラフィッシュ MIF (macrophage migration inhibitory factor) 遺伝子の

## 初期発生における発現動態および機能解析

伊藤かな子<sup>1</sup>, 吉浦康寿<sup>2</sup>, 乙竹充<sup>2</sup>, 中西照幸<sup>1</sup><sup>1</sup> 日本大学・魚病学研究室, <sup>2</sup> 養殖研究所・病害防除部Expression and functional analysis of macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene during early development of zebrafish, *Danio rerio*Kanakano Ito<sup>1</sup>, Yasutoshi Yoshiura<sup>2</sup>, Mitsuru Ototake<sup>2</sup>, Teruyuki Nakanishi<sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratory of Fish Pathology, Nihon University, <sup>2</sup>Aquatic Animal Health Division, National Research Institute of Aquaculture

## 【目的】

MIF は哺乳類においてマクロファージ遊走阻止因子として発見されたサイトカインである。また両生類では、MIF が個体発生の初期に神経組織の形成を制御することも示されている。しかし魚類では MIF 遺伝子の発現および機能に関する報告はない。そこで本研究では、魚類の初期発生における MIF 遺伝子の機能を解明するため、ゼブラフィッシュ胚を用いて MIF 遺伝子の発現時期の特定、発現領域の推定および翻訳阻害による影響について検討した。

## 【材料と方法】

遺伝子データベースを利用してクローニングしたゼブラフィッシュ MIF 遺伝子および受精直後から 7 日目までのゼブラフィッシュ胚を用いた。RT-PCR 法および whole-mount *in situ* hybridization (WISH) 法を行い、MIF 遺伝子の発現動態を調べた。さらに、MIF 遺伝子の mRNA に特異的に結合するアンチセンスオリゴ DNA を用いた翻訳阻害試験を行い、表現形を解析した。

## 【結果】

WISH 法の結果、胞胚期 (~4hpf) には発現は認められなかったが、原腸胚期 (5.3hpf) には胚全体に弱い発現が認められた。体節期以降 (10hpf~) になると各組織で局所的に強い発現が認められた (図 1)。

翻訳阻害試験の結果、咽頭期以降 (24hpf~) に発生異常を示す胚 (図 2-右) が半数以上観察された。異常胚では、眼杯の萎縮、頭部神経系の萎縮に伴う神

経管背側の空胞拡大、顎および胸鰭の形成不全が認められた。

*hpf	10	12	14	16	18	24	48	72	96	168	
遺伝子発現領域	眼	[格子]					[X]	[格子]			
	中脳, 菱脳, 小脳	[格子]					[X]	[格子]			
	咽頭弓 (顎)	[格子]					[X]	[格子]			
	胸鰭	[格子]					[X]	[格子]			

\*hpf : hours post fertilization

図 1. 受精後経過時間に伴う MIF 遺伝子の発現動態  
×印は翻訳阻害試験において初めて形成不全が認められた時間を表す



図 2. MIF 遺伝子の翻訳阻害による効果 (48hpf)

## 【結論】

WISH 法において発現が認められた眼、頭部神経系、胸鰭および咽頭弓については、それぞれの組織が形成される初期に遺伝子の発現が認められた。さらに、これらの組織は翻訳阻害試験において形成不全を示した組織と一致した。以上より、MIF 遺伝子は両生類と同様に形態形成に重要な役割を果たしており、魚類ではさらに各組織が形成される初期に関与していることが示唆された。

## D4 安定形質転換した昆虫細胞からの組換えトラフグ IL-12 の産生

吉浦康寿<sup>1</sup>, 伊藤かな子<sup>2</sup>, 乙竹充<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 養殖研究所・病害防除部, <sup>2</sup> 日本大学・魚病学研究室

### Production of recombinant torafugu IL-12 from stably transformed insect cell line.

Yasutoshi Yoshiura<sup>1</sup>, Kanako Ito<sup>2</sup>, Mitsuru Ototake<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Aquatic Animal Health Division, National Research Institute of Aquaculture,

<sup>2</sup> Laboratory of Fish Pathology, Nihon University

#### 【目的】

近年、魚類においてサイトカイン遺伝子の単離が行われ、哺乳類サイトカインと相同な遺伝子群が魚類にも存在することが明らかになりつつある。我々も、これまでに魚類のゲノム情報を利用して魚類からインターロイキン-12(IL-12)およびインターフェロン- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )の遺伝子を単離・同定した。哺乳類では、これらのサイトカインは細胞性免疫に重要な役割を果たすが、魚類での生理機能は不明である。そこで本研究ではサイトカインの機能解析に必須な組換えサイトカインを得るため、昆虫細胞を用いて組換えトラフグ IL-12 の産生系の確立を試みた。

#### 【材料と方法】

IL-12 は p35 と p40 の2つのサブユニットからなるヘテロダイマーのサイトカインである。したがって、組換え IL-12 の作成には p35 と p40 を同時に発現するベクターを構築する必要がある。より確実にヘテロダイマーを形成させるために、p40 と p35 をリンカー配列でつなぎ、単一のポリペプチド鎖として発現させる方法を選んだ。また精製を容易にするため、C-末端側の p35 にヒスチジンタグを付加した。このように作製した昆虫細胞用の発現ベクター(pIZT/pfIL12p40p-p35His)を、無血清培地に順化した昆虫細胞培養株(High Five 細胞)に形質転換し、組換えトラフグ IL-12 を産生する安定細胞株を作成した。

#### 【結果】

pIZT/pfIL12p40p-p35His を High Five 細胞に形質転換後、安定導入細胞の選択のために薬剤(zeocin)添加し、2週間培養を行った。その結果、ほぼすべての細胞において GFP 陽性(発現ベクターが導入され、導入遺伝子と同時に GFP が発現する)が観察され、安定形質転換した細胞株が得られた。この GFP 陽性細胞を3日間培養後、培養上清を回収し、Ni-粒子を用いてヒスチジンタグ融合タンパク質をアフィニティ精製し、SDS-PAGEにより精製タンパク質を調べた結果、予想される約 70kDa に明瞭なバンドが認められた。さらに、トラフグ IL-12p35 のアミノ酸配列をもとに合成したオリゴペプチドを抗原として作成したポリクローナル抗体を用いて Western blot 解析を行った結果、このバンドとの交差反応が認められ、得られたタンパク質が組換えトラフグ IL-12 であることが確認された。培養上清中の組換えトラフグ IL-12 の濃度は約 500ng/mL であり、これまでに数百 $\mu$ g の精製 IL-12 を得ている。

#### 【結論】

トラフグ IL-12 遺伝子を組み込んだ昆虫用発現ベクターを作成し、昆虫細胞に導入した結果、組換えトラフグ IL-12 を産生する安定細胞株が得られた。さらに、この細胞株の培養上清から組換えトラフグ IL-12 を精製することができた。

今後は、得られた組換えトラフグ IL-12 の生理活性について、この組換えトラフグ IL-12 がリンパ器官および末梢白血球における IFN- $\gamma$  の発現を誘導するか否かを調べる予定である。

教育講演：EL

特別講演：SL

笠原正典<sup>1</sup><sup>1</sup>北海道大学 大学院医学研究科 分子病理学分野**What does the vertebrate genome tell us about the history of self-nonsel self discrimination systems?**Masanori Kasahara<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Pathology, Hokkaido University Graduate School of Medicine

小麦のゲノム研究で高名な 木原 均 博士は「地球の歴史は地層に、生命の歴史は染色体に刻まれている」と述べた。自己非自己識別システムの歴史も当然、染色体（ゲノム）に刻まれているはずである。

さまざまな生物のゲノム解析が進行するにつれ、脊椎動物のもつ免疫系がいかにしてつくられたのか、その謎が次第に解き明かされつつある。ここでは、まず、有顎脊椎動物（有顎類）の自己非自己識別システムの中核をなす主要組織適合遺伝子複合体（MHC）の起源と進化について、ゲノムパラロジに焦点を当てて述べる。次に、無顎脊椎動物（無顎類）の免疫系について、最近の研究成果を紹介する。

**【MHCとゲノムパラロジ】**

ヒトのゲノムを注意深く観察すると、ブロック重複によって形成されたと考えられる遺伝子の集団が2-4セット、典型的には4セット、異なった染色体上に存在する現象が認められる。この現象を、ゲノムパラロジと呼んでいる。われわれは、1) MHCがゲノムパラロジを示す典型的な遺伝領域であること、2) MHCとブロック重複によって分岐したと考えられる領域は、ヒトでは第1、9、19染色体上に位置していること、3) ブロック重複は有顎類の共通祖先が出現するまでに2回起きたと推定されること、4) 2回のブロック重複を経験していない生物（無顎類とそれより原始的な生物）はMHCシステムをもたないと考えられること、5) 2回のブロッ

ク重複はゲノム重複の一環として生じた可能性が高いことなどを提唱してきた。ここ数年で急速に進んだモデル生物のゲノムプロジェクトは、この提唱が基本的に正しいことを明らかにしつつある。

**【無顎類の免疫系】**

無顎類はMHC、T/B細胞レセプターをもたない最も原始的な脊椎動物であり、免疫系の進化を理解するうえで重要な位置を占めている。さらに、ゲノム重複説（2R仮説）によると、尾索動物が出現してから無顎類が出現するまでに1回、無顎類が出現してから有顎類の共通祖先が出現するまでに1回の重複が想定されている。したがって、無顎類は脊椎動物におけるゲノム進化を理解するうえでも鍵となる動物である。ここでは、最近、われわれの研究室でおこなわれた無顎類（ヌタウナギ *Eptatretus burgeri*）の免疫系に関する研究について紹介する。具体的には、1) リンパ球様細胞をもちいたトランスクリプトーム解析、2) T/B細胞レセプターのVドメインと近縁なVドメインを有するペア型免疫グロブリンレセプター遺伝子群 APARの同定、3) 遺伝子再構成をおこなう抗原レセプター遺伝子 VLR (variable lymphocyte receptor) の解析 (Zeev Pancer, Max Cooperらとの共同研究)について述べる。これらの研究は、無顎類が有顎類の免疫系とは異なったユニークな免疫系をもっていることを強く示唆するものである。

野中 勝

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

## Origin and Evolution of the Complement System

Masaru Nonaka

Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo

補体系は今から 100 年程前に、血液中に存在する耐熱性の抗菌物質（抗体）の働きを補う易熱性物質として発見され、それゆえ complement と命名された。その当時は単一の物質と考えられていたヒト補体系は、その後の研究により 30 以上の血清タンパク及び膜表面タンパクからなる高度に組織化された反応系であることが判明し、補体系と呼ばれるようになった。このように複雑な生体反応系がいかに形成されたかを明らかにすべく行われた系統発生的な研究は、初期の成果として現存する脊椎動物のうち最も早くヒトと分岐したとされる円口類にも補体系が存在することを明らかにした。一方、長らく円口類の抗体とされていたものを完全に精製してみたら補体系の C3 であることが判明するなど、獲得免疫の主要プレーヤーである、抗体、TCR、MHC などは円口類からは確認されず、獲得免疫は有顎脊椎動物に固有のシステムであることが明らかになった。従ってその名前とは裏腹に、進化的見地からは補体系の方がより古くから存在する生体防御系であり、後に出現した獲得免疫系がその作用を補っているといえる。ここでは、近年ゲノム解析の進展にともない明らかになりつつある補体系の極めて古い起源と、その興味深い進化の過程を論じてみたい。

30 以上もの成分からなる反応系がある進化段階から突然出現したとは考えにくい。さらにヒト補体系成分遺伝子のなかには遺伝子重複によって増幅したと思われるものも多数存在する。従って補体系は簡単なものから複雑なものへと順次進化してきたと考えられるが、だとすると補体系の起源を論ずる上では、一体どの段階から補体系と呼ぶことができるのかという一見解決困難な問題が存在する様に思える。ところが、ヒトの補体系を注意深く観察すると、3つの活性化経路の合流点に位置し、ほとんど全ての補体系の生理活性

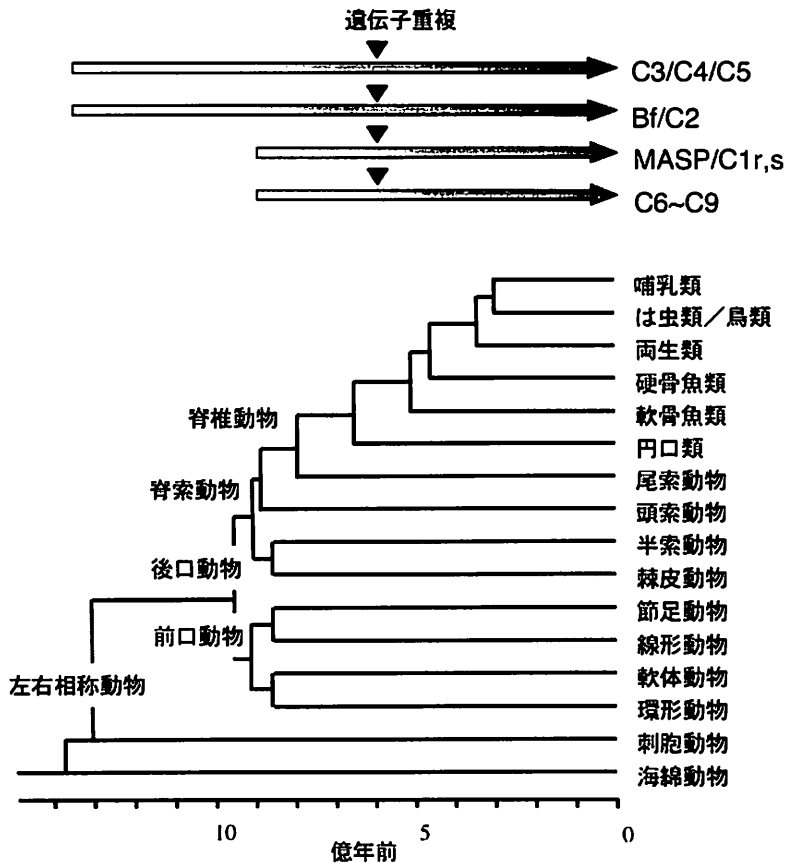
がその活性化によって生じる C3 の中枢性は歴然としており、C3 なしの補体系というのは想像するだけに困難で、補体系の起源の問題は C3 の起源の問題に還元される。C3 は補体系内部に C4、C5 と呼ばれる遺伝子重複の産物を有し、補体系以外では血清中のプロテアーゼインヒビターであるアルファ 2 マクログロブリン(A2M)や GPI アンカーを有する細胞表面タンパクで機能未知の CD109 などが一次構造の共通性から、やはり祖先を共有すると考えられている。これらのタンパクのグループは、他に一次構造上の類似を示すタンパクが存在しないこと、及びチオエステル結合と呼ばれる側鎖間共有結合を有する点で独特であり、TEP (thioester-containing protein)タンパクと呼ばれている。様々な動物種からの TEP ファミリー遺伝子の配列が明らかにされるにつれ、TEP ファミリーは C3 サブファミリーと A2M サブファミリーに大別されることが明らかになった。さらに調べられた全ての後口動物からは両サブファミリーのメンバーが同定されたのに対して、前口動物のセンチウ、ショウジョウバエのゲノム中には A2M サブファミリーのメンバーしか存在しなかったことから、進化的には A2Mの方が古くから存在し、C3 は後口動物の共通祖先における遺伝子重複で A2M から生じたと理解されてきた。しかしながら最近になって刺胞動物のサンゴと節足動物（前口動物）のカブトガニから C3 の存在が報告され、また現在進行中の刺胞動物ネマトステラの EST 解析でも C3 の存在が確認され、C3 の起源は刺胞動物と左右相称動物の分岐した 13 億年前以前に遡ることが明らかになった。さらにネマトステラには A2M も存在し、C3/A2M の遺伝子重複もこの時期までに完了していたことになる。それではこれら TEP 遺伝子の起源はどこまで遡れるのだろうか。我々の数種の海綿を用いた予備的な



RT-PCR 解析では、いかなる TEP 遺伝子も増幅することはできず、TEP 遺伝子は後生動物の初期段階で生じたことが示唆された。ただし、この点に関してはさらなる解析による確認が必要である。また、原核動物では数種の細菌において TEP 遺伝子の存在が報告されたが、細菌の系統と TEP 遺伝子の分布が一致しないことから、水平伝播によって真核動物から持ち込まれたものと理解されている。また、我々は 10 種近い前口動物及び刺胞動物のヒドラから TEP 遺伝子を RT-PCR で増幅し、塩基配列を決定することにより C3 か A2M かの識別を行ったが、すべての動物から A2M のみが確認され、前口動物の進化の過程で複数回の C3 遺伝子の喪失が生じたことが示唆された。C3 以外では C3 を活性化する酵素の活性を担うプロテアーゼである B 因子(Bf)遺伝子のみが、ネマトステラとカプトガニで確認されており、初期の補体系は少数の成分からなり、C3 による異物の標識化に働いていたと思われる。

一方それ以外の補体成分は顕著なドメイン構造を有するものが多いにも関わらず、刺胞動物や前口動物からは確認されていない。それに対して、

カタユレイボヤのゲノム中にはヒト補体系に見られるほとんど全ての遺伝子ファミリーが確認され、補体系は後口動物の出現後に急速な発展を遂げたと考えられた。しかしながら個々のファミリー内で見えた場合、それぞれ複数個存在するホヤとヒトのメンバーは 1:1 のオーソログ関係を示さず、各々の系統で遺伝子重複が生じたことが示唆された。従って哺乳類の補体系に見られる古典経路を生じるために必要であった C3/C4, Bf/C2, MASP/C1r,s 間の遺伝子重複は脊椎動物の系統で、おそらく円口類の分岐後、軟骨魚類の分岐以前に起こったと考えられる。遺伝子重複に続いて新たなドメインの獲得や、ドメインの構造変化も哺乳類の補体系を形作るのに重要な役割を果たしたことが明らかになり、その時期もほぼ遺伝子重複の時期と一致している。さらにこの時期はリンパ球—MHC に基づく獲得免疫が誕生した時でもあり、免疫系の進化を考える上では最も重要な時期と言える。主要補体遺伝子の進化に関するこれまでの知見を、多細胞動物の進化に重ねると下図の様になる。



シンポジウム

「円口類：生命科学への発信」

S1 ~ S7

倉谷 滋

理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター 形態進化研究グループ

**Evolutionary developmental biology of cyclostomes and origin of gnathostomes.**

Shigeru Kuratani

Laboratory for Evolutionary Morphology, Center for Developmental Biology, RIKEN

進化は一面、発生プログラムの変化の歴史であり、動物の形態的多様性もまた、歴史的変容の果てに多様化した発生プログラムの表出に他ならない。なかでも、脊椎動物の多様化は、系統的に幾重にも生じた形態形成プログラムの大規模な変形をもとにしている。その理解にあって、脊椎動物の進化の初期に分岐したと思われるヤツメウナギはきわめて重要な（顎口類の姉妹群としての）系統的位置を占めている。すなわち円口類は、顎口類だけが共通して備えているいくつかの形質（顎口類の共有派生形質）を欠くことによって、顎口類が成立するにあたって付加的に得られた発生プログラムの変更の内容を、間接的に我々に指し示している。顎口類に特異的な派生的形質の例として、顎、僧帽筋、軸上・軸下筋の区別などが数えられる。しかし、このような形質も、全く何もないところからいきなり生じたのではなく、顎口類と円口類の共通祖先にすでに備わっていた発生プログラムや、そこに関わる遺伝子の機能を使い回し、それを二次的に変更することによって成立したらしい。このような現象はしばしば発生プログラムや、それによってもたらされる形態的形質の階層的構造をも明らかにする。たとえば、顎口類の顎の成立にあっては、そもそもその下地として脊椎動物全体に共有されている鰓弓系という胚構造があり、そこに含まれる咽頭弓それぞれを発生上、位置特異的に変形する仕組みとしての Hox コードがあり、そのなかで Hox 遺伝子が発現しないことによって特異化される第 1 咽頭弓、もしくは顎骨弓が認められる。

そして、こういった特徴はすべて、ヤツメウナギの胚発生においても見ることができる。言い換えれば、このようなベーシックな発生プログラムは顎の有無にかかわる以前の問題なのである。また、咽頭弓の背腹軸に眼を転ずれば、領域特異的に発現する Dlx コードがひとつの咽頭弓のなかの骨格形態の背腹を特異化する。これに類するものはヤツメウナギには発見されていない。興味深いことに、これと関連してヤツメウナギの鰓弓骨格系は背腹対称の形態パターンを示す。Dlx コードはこのように顎口類に特異的に二次的に成立した可能性があり、顎の進化もまたそれをベースにしたものなのかもしれない。また、顎口類における顎の発生は、ひとつの咽頭弓を背腹に分割することによって口器を作ることと見ることができるが、ヤツメウナギの口器は顎骨弓のみならず、それより吻方に広がる間葉領域をも巻き添えにしている。これは、顎口類と同じ遺伝子を用いながら、その発現領域が異なることによって形態パターンが変化している、いわゆるヘテロトピーという現象に相当する。円口類に属するもう一つのグループ、メクラウナギの胚発生を明らかにし、系統的比較検索を行うことによって、進化的変化イベントの時間的序列をより詳細に推測することができよう。

## S2 ヌタウナギ魚類の染色体放出に関する分子遺伝学的解析

久保田宗一郎、藤川典子、河野晴一  
東邦大学理学部生物学科

### Molecular Genetic Analyses of Chromosome Elimination in Myxiniformes

Souichirou Kubota, Noriko Fujikawa, Sei-ichi Kohno  
Department of Biology, Faculty of Science, Toho University

高等動物は、体を構成するどの器官・組織由来の細胞でも、核内の染色体数(DNA量)は基本的に同じである。しかし、幾つかの生物群では体細胞と生殖細胞の間で細胞あたりの染色体数やDNA量が大きく異なる現象が知られている。これは、発生初期に二つの細胞系列が分化する過程において、始原体細胞になる割球から染色体(染色質)が失われることによる。この現象は、染色体放出(染色質削減)と呼ばれ、1887年 Boveri の線形動物ウマカイチュウにおける観察に始まり、その後、節足動物橈脚目や双翅目などで確認されている。また、原生動物絨毛虫類のテトラヒメナなどでは、接合後に小核から一連のゲノム再編成を受けて大核が分化する。このゲノム再編成も生物学的には染色体放出と同義の現象と考えられている。このように染色体放出は、一部の生物種に限られるが動物界に広く観察される現象である。しかし、この現象の起源やその生物学的な役割はこれまで不明であった。

ヌタウナギは、この仲間が体側からヌタと呼ばれる粘液を分泌すること由来する。この仲間は目が皮下に埋没しているためメクラウナギと総称され、ヤツメウナギと共に脊椎動物無顎綱円口類に分類されている。また、この仲間は現在世界に約60種知られ、主に南北両温帯海域の深海に生息するため、その生態は未だ不明な点が多い。1986年 Kohno らは、ヌタウナギの染色体数は体細胞で36、生殖細胞では52という観察結果を得、後口動物では初めて染色体放出を報告した。以来、我々は本邦産4種と海外産4種において染色体解析を行い、全ての種で染色体放出を確認している。メクラウナギ目魚類は同属の仲間においても生殖細胞における核型の特徴は大きく異なり、種分化後の多様な核型再編成が推測できる。さらにその特徴から、この仲間の染色体放出には、染色体まるごとの放出と、染色体末端部分を切断して放出する、2種類の機構が備わっていること、また、体細胞が失う染色体は、ヘテロクロマチンを多量に含んでいることがわかった。一般にヘテロクロマチンは、遺伝情報や機能をもたないジャンクDNAの高度な繰返しから成る。カイチュウの仲間も単純な繰返し配列によって構成されるヘテロクロマチンを放出する。我々はヌタウナギの仲間からも、これまでに生殖細胞において特異的

に増幅している13種類の高頻度反復配列を検出した。これらの反復配列は、どれも生殖細胞特異的染色体(染色質)に分散して分布し、15~446bpと多様な反復単位を持つ。また複数の種で保存されている配列もあるが、コピー数は種によって大きく変動する。これらの解析結果から、当初この仲間の放出する染色体はジャンクDNAの海であるかに思われた。

しかし、我々は近年、明確な機能をもつ捨てられる遺伝子を見出した。それは、リボソームRNAの一つ、5S rRNA 遺伝子(5S rDNA)である。5S rDNA は、一般にゲノム内で数百~数千回縦列反復する多重遺伝子で、ヤツメウナギや硬骨魚類・両生類の一部では、発現時期の異なる2種類の5S rDNA が知られている。我々はヌタウナギからも2種類(体細胞型と生殖細胞型)の5S rDNA ファミリーを検出した。それぞれ異なる染色体上に座をもつが、捨てられる染色体上のみ位置する生殖細胞型遺伝子は、体細胞型の約20倍量存在し、染色体放出を通して体細胞から取り除かれる。一方、体細胞型遺伝子は染色体放出を通して変化しない。そのため体細胞と生殖細胞では発現する遺伝子型が結果的に異なっている。つまりこの種では、染色体放出によって二つの細胞系列で発現する5S rRNA 遺伝子が調節をうけているのである。染色体放出により遺伝子を捨てる例は、他にもカイチュウなどから検出されている。それら遺伝子の機能は十分に理解されていないが、我々の研究結果と照らし合わせると、染色体放出のもつ一つの役割が見えてくる。それは、二つの細胞系列(生殖細胞と体細胞)の分化に伴いそれぞれ働く遺伝子セットを切り替え調節するスイッチの役割である。

ヌタウナギの仲間の染色体放出の生物学的な役割が、おぼろげながら見えてきた。そう感じていた昨今、生殖細胞特異的とこれまで報告してきた高頻度反復配列の多くは、体細胞にもある程度の量存在することが判明した。さらに、この中には可動DNA由来する可能性を示す配列も見いだされている。これら最新の解析結果から、ヌタウナギの仲間の生殖細胞特異的染色体の起源と核型進化、並びに染色体放出機構の獲得の起源について、可動DNAの役割について注目した一つの仮説「ゲノム進化(分化)における可動DNA内部共生説」を提唱、紹介する。

## S3 ヤツメウナギにおける黒色素胞刺激ホルモン-β エンドルフィン 共通前駆体の特殊な構造

高橋 明義  
北里大学水産学部

Specific structure of common precursors for melanophore-stimulating hormone and β-endorphin in lampreys

Akiyoshi Takahashi  
School of Fisheries Sciences, Kitasato University

### 【有顎類の POMC 族】

プロオピオメラノコルチン (POMC) はストレス応答に関わる副腎皮質刺激ホルモン (ACTH), 体色調節作用や食欲抑制作用を有する黒色素胞刺激ホルモン (MSH), 脳内モルヒネのエンドルフィン (END) などの共通前駆体である。POMC 上でこれらのホルモンは塩基性アミノ酸対によって区画される。分子内に複数の MSH 分子種が存在し、その数が分類群ごとに異なる (四肢動物・肉鰭類・原始的条鰭類: 3 個, 真骨類 2 個, 軟骨魚類: 4 個) ことから, MSH の増減が脊椎動物の進化の過程において POMC の構造に多様性をもたらした主たる要因である。下垂体では同一の *Pomc* が前葉と中葉で発現するが, 組織特異的な翻訳後プロセッシングにより, それぞれの組織で産物が異なる。前葉では ACTH や β-END が生じる。中葉では ACTH はさらに切断と修飾 (N 末端のアセチル化と C 末端のアミド化) を受けて α-MSH となる。β-END は N 末端がアセチル化され, C 末端部が短縮される。このような組織特異的なプロセッシングが, POMC から派生するホルモンの機能に多様性を与える。

### 【ヤツメウナギの POMC 族】

**組織特異的な前駆体:** ヤツメウナギ類 (無顎類) の POMC 族は, 有顎類とは異なる特性を有する。北半球のウミヤツメ (*Petromyzon marinus*, ヤツメウナギ亜科) の下垂体抽出物の分画精製と免疫組織染色によれば, 前葉の主たる POMC 由来ホルモンは ACTH であり, 中葉では MSH である。この点ではヤツメウナギ下垂体の機能は有顎類に類似する。しかし, 各葉で異なる POMC 族遺伝子が発現する。すなわち, 前葉では ACTH と POMβ-END をコードするプロオピオコルチン遺伝子 (*Poc*) が, 中葉では α-, β-MSH と別種の POMβ-END をコードするプロオピオメラノトロピン遺伝子 (*Pom*) が発現する。*Poc* と *Pom* は, コードするホルモンが異なることから, サブタイプの範疇を越えた別種の遺伝子である。*Poc* と *Pom* は南半球のフクロヤツメ (*Geotria*

*australis*, フクロヤツメ亜科) とミナミヤツメ (*Mordacia mordax*, ミナミヤツメ亜科) にも存在する。現存のヤツメウナギ類は我々が研究に用いた 3 亜科で構成されるため, *Poc* と *Pom* はヤツメウナギ類に普遍的に存在すると考えてよい。

**翻訳後プロセッシング:** ウミヤツメ下垂体抽出物に対する質量分析では, 前葉において ACTH と POMβ-END が検出される。一部の ACTH では C 末端残基が遊離する。また C 末端部の Ser 残基がリン酸化する。中葉では α-MSH と β-MSH が検出される。POMβ-END それ自体は検出されないが, アミノ末端部を欠く POMβ-END<sub>8-35</sub> が存在する。POMβ-END<sup>6,7</sup> は塩基性アミノ酸対であるため, ここが切断されて N 末端部から Met-エンケファリン (Met-ENK) が生じることになる。すなわち POM は, 機能上は MSH と Met-ENK の共通前駆体である。

**転写活性:** *Poc* の上流には TATA ボックス, CCAAT ボックス, E ボックス, STAT, RAIE, Ptx1, Pit-1, および Tpit などのエレメントがある。*Pom* 遺伝子の上流には TATA ボックス, E ボックス, STAT, RAIE, CRE-like, Pit1 などのエレメントがある。しかし, 両遺伝子間でこれらエレメントの配置に類似性は認められない。一方, レポーターアッセイによれば, マウス下垂体腫瘍細胞由来の AtT20/D16v 細胞中で *Pom* はプロモーター活性を表すが, *Poc* は示さない。これらの結果は, 両遺伝子がコードするホルモンの差異に応じて, 転写調節能にも差異があることを示す。

**分子進化:** *Poc* と *Pom* のどちらも有顎類 *Pomc* と同様に 3 エキソンからなり, MCH 類と β-END は第 3 エキソンにコードされる。このため, POMC 族の遺伝子構成は脊椎動物の進化の初期には既に確立していたと考えられる。軟体動物のイガイと環形動物のヒルに四肢動物型の POMC 様分子が存在するから, *Pomc* は祖先無脊椎動物において出現した可能性がある。ヤツメウナギの系統では, 祖先 *Pomc* の重複後, 下垂体の機能分化に伴って, *Poc* と *Pom* に特化したものと推測される。

石井秋宏<sup>1</sup>、松尾 綾<sup>1</sup>、松本美佐子<sup>1</sup>、瀬谷 司<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 北大・医・感染制御 (seya-tu@pop.med.hokudai.ac.jp)

### Complement-regulatory proteins and Toll-like receptors in lamprey

Akihiro Ishii<sup>1</sup>, Aya Matsuo<sup>1</sup>, Misako Matsumoto<sup>1</sup>, Tsukasa Seya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Immunology, Graduate School of Medicine, Hokkaido University

目的: ヤツメウナギ (*Lampetra japonica*, lamprey) の自然免疫系を他の脊椎動物と比較して特徴を解説する。自然免疫は植物からヒトまで遍く存在し、微生物の侵入を防いでいる。この機構の意義は宿主遺伝子の恒常性を保ち、個体レベルでは種の保存、細胞レベルではがん化やアポトーシスを防いでいるように見える。脊椎動物では微生物のパターン認識レセプターが異物認識からシグナル、細胞応答を誘起する一連の系であり、生体防御の基本システムである。今回我々は2つの主要な自然免疫のパターン認識分子、Toll-like receptor (TLR)と補体レセプター (SCR) の機能研究からレセプター型生体防御の基本機構の解析を目指した。

考察: TLRは細胞外の leucine-rich repeats と細胞内の Toll-IL-1 homology domain (TIR)から成るI型膜蛋白質である。ゲノムプロジェクトなどからサカナ、トリ、マウスとヒトが類似のTLR系をもつことが判明した。TLRは脊索動物、尾索類(カタユウレイボヤ)には2-3個、線虫には1個しかなく、他のパターン認識レセプター(補体系など)と異なって脊椎動物(獲得免疫)の発達とともにセットで現れたように見える。当初ハエで報告されたToll系は昆虫で独自に展開したTLRでヒトのTLR系とは ortholog の関係にはない。また、水棲動物の微生物環境は陸生のそれと異なることが推定された。

講演者らは脊椎動物円口類ヤツメウナギ (lamprey) にヒトTLR2ファミリー (TLR1, 2, 6, 10?) に属するTLRレパトワ、TLR14a/TLR14bが存在することを報告してきた[1]。フグのTLR系の分子系統研究から水棲動物に特有のTLR群があり (TLR14, 21, 22, 可溶性TLR5s)、同時に水棲動物ではTLR4 (LPS receptor) を失うことが判明した[2]。Lampreyはこれまで獲得免疫

を持たないとされてきたが、最近1) 形態学的にリンパ球相当の細胞をもつこと、2) lamprey リンパ球は GPI-anchored leucine-rich proteins (VLR) を体細胞染色体組み換えにより細胞特異的な variation で発現すること、3) VLRとは別にTLRが細胞特異的に発現すること[1]、4) TLRは哺乳類TLRと同様にNF- $\kappa$ Bを活性化すること、などが明らかになった。移植片の拒絶はVLRで説明できるが、感染の急性応答は恐らくTLRが担当する。一方、補体レセプターはlamprey, fishで同定された[3]。C4bpに類似のprototypeでgene clusterは形成しない。陸生動物が全てRCA (Regulators of Complement Activation) というgene clusterを保有するのと対照的である[4]。以上の結果は、TLRは獲得免疫と連携して発展した、補体レセプターは陸生と関連して拡散した、という仮説に符号する。

講演者らはサカナ(フグ)のゲノム情報からTLRをcloningし、ヒトorthologとの機能比較を行ってきた。また、サカナ特有のTLR群の機能を解明してきた[5]。これらの知見も併せて報告する。

#### 参考文献:

1. Ishii A., T. Seya et al., J. Immunol. (submitted) 2006.
2. Oshiumi H, T. Seya et al., Immunogenetics 2003, 54: 791.
3. Kimura Y., T. Seya et al., J. Immunol. 2004, 173: 1118.
4. Oshiumi H, T. Seya et al., J. Immunol. 2005, 175:1724.
5. Tsujita T., T. Seya et al., J. Biol. Chem. 2004, 279: 487588.

松下 操

東海大学・工学部・生命化学科

## Origin of the classical complement pathway revealed in the lamprey

Misao Matsushita

Department of Applied Biochemistry, Tokai University

補体系は多くの蛋白質から構成され、一連の蛋白分解と集合反応の結果、体内へ侵入した病原微生物を破壊するシステムである。補体系の中心的な役割を担っている成分はC3であり、C3が限定分解されるまでの過程は活性化経路と呼ばれ、古典的経路、レクチン経路、第二経路の三通り存在する。

古典的経路は活性化に抗体（免疫グロブリン）を必要とし、抗原抗体複合体上の抗体分子に補体第一成分（C1）が結合することが活性化の引き金となる。C1はC1qとセリンプロテアーゼ成分であるC1rとC1sの垂成分から構成される複合体であり、抗体へはC1qを介して結合する。C1の抗原抗体複合体への結合に引き続きC1rとC1sが順次活性化され、C1sによりC4とC2の限定分解が起こり、その結果生成するC4bC2a複合体がC3を限定分解する。古典的経路は免疫グロブリンが存在する軟骨魚類以上の脊椎動物が有する。

レクチン経路では、病原微生物上の糖鎖に生体防御レクチンであるマンノース結合レクチン（MBL）やフィコリンが結合することにより補体系が活性化される。MBLやフィコリンはセリンプロテアーゼのMASPが結合した複合体として存在する。これらの複合体が病原微生物上の糖鎖に結合するとMASPが

活性化され、古典的経路と同様にC4とC2の限定分解が起こる。レクチン経路は活性化に抗体を必要としないことから、自然免疫に関与しており、原索動物のマボヤからも見つかっている。古典的経路とレクチン経路は構成成分には以下の類似性が見られる。C1qとMBL、フィコリンはコラーゲン様構造を有する。C1r、C1s、MASPは共通のドメインを有する。これらのことから、レクチン経路が進化して古典的経路となったものと推定される。

ヤツメウナギには免疫グロブリンがなく、従って古典的経路は存在しないと推定される。しかし、最近、ヤツメウナギ血清からC1q構造を有する蛋白質（LC1q）が単離された。LC1qはレクチン活性を持ち、MASPと複合体を形成していること、複合体がC3を活性化することが判明した<sup>1)</sup>。このことより、原始的な補体系ではレクチン経路の成分として自然免疫に働いていたC1qが、免疫グロブリンが誕生するとこれに結合性を持つように進化して今日の古典的経路が成立したと推定される。

## 【参考文献】

1. Matsushita M, Matsushita A, Endo Y, Nakata M, Kojima N, Mizuochi, Fujita T. (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 10127-10131



## S6 ヤツメウナギにおける抗原受容体遺伝子の再構成と多様化の分子機構

名川文清

東京大学大学院・理学系研究科・生物化学専攻

**Jawless fish lamprey diversifies antigen receptor genes via variable crossover points during gene conversion**

Fumikiyo Nagawa

Department of Biophysics and Biochemistry, Graduate School of Science, The University of Tokyo

Max Cooper らのグループにより、一昨年、ヤツメウナギ等の無顎類において、V(D)J 組み換えを伴う抗原受容体遺伝子とは異なる新たな抗原受容体 variable lymphocyte receptor (VLR) の遺伝子が報告され、獲得免疫系の起源について新たな問題が提起された。VLR は、複数の leucine-rich repeat (LRR) を含み、それぞれの分子は LRR module の数とその配列において極めて大きな多様性を示す。VLR 遺伝子はリンパ細胞特異的に、一細胞あたり一種類が発現していると想定されており、V(D)J 組み換えとは異なるゲノム再構成機構により多様性が創出されている。再構成前の定常領域 (C gene) には LRR は認められず、周辺に多数存在する germline LRR 遺伝子セグメントから数個が選ばれ、順次持ち寄られることにより機能型遺伝子が創出される。我々は、VLR 遺伝子がどの様にして再構成されその多様性が創出されるのか、その分子機構を明らかにするためカワヤツメを用いて解析を進めている。今回はまず、germline LRR セグメントが組み換え (recombination) ではなく、遺伝子変換 (gene conversion) 様の機構によりコピーされ C gene に持ち寄られる可能性について報告する。実際、再構成

の前と後の遺伝子構造を比較したところ、持ち寄られた germline LRR 遺伝子セグメントのつなぎ目には、10~30bp 程度の相同性が常に見出され、これが LRR セグメントをコピーする際のプライマー及びプライマー結合部位として機能していることが示唆された。また我々は、germline LRR セグメントが順次コピーされる際、LRR module 内の様々な箇所での LRR セグメントへの乗り換えが起こり、その結果、様々なハイブリッド LRR が形成されることを新たに見出した。従って、VLR 遺伝子は、どの germline LRR セグメントをどの様な順番で C gene に持ち寄るかという、遺伝子セグメントの組み合わせによる多様性に加え、LRR セグメントのつなぎ目を module 内で移動させることにより、さらに大きな多様性を生み出していると考えられる。無顎類と有顎類は全く異なる構造と遺伝子再構成機構を持つ抗原受容体遺伝子を進化させてきたが、興味深いことに、どちらも、遺伝子セグメントの組み合わせ (combinatorial diversification) とつなぎ目を変化させること (junctional diversification) によって、極めて多様な抗原受容体遺伝子を作り出している事が明らかとなった。

## ヌタウナギゲノムからの示唆

笠松 純<sup>1</sup>、鈴木 隆志<sup>2</sup>、春田 千晶<sup>2</sup>、石島 淳子<sup>3</sup>、松田 洋一<sup>3</sup>、笠原 正典<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北大院・医学研究科、<sup>2</sup>総研大・先端科学研究科、<sup>3</sup>北大・創成科学共同研究機構

## The origin of the MHC and the genome evolution in vertebrates: insights from the hagfish genome

Jun Kasamatsu<sup>1</sup>, Takashi Suzuki<sup>2</sup>, Chiaki Haruta<sup>2</sup>, Junko Ishijima<sup>3</sup>, Yoichi Matsuda<sup>3</sup> and Masanori Kasahara<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hokkaido University Graduate School of Medicine,

<sup>2</sup>School of Advanced Sciences, Graduate University for Advanced Studies, <sup>3</sup>CRIS, Hokkaido University

## 【目的】

ヒトMHC領域(HLA)は第6染色体短腕に位置する全長約4 Mbの領域である。この領域はMHC遺伝子の他に数多くの免疫関連遺伝子をコードする特徴的なゲノム領域を形成している。ヒトゲノム中にはMHC領域と類似した遺伝子組成を持つパラロガス領域が第1, 9, 19染色体上に存在しており、有顎脊椎動物のMHC領域は2回のゲノム重複の過程で生じたと考えられる。この2回のゲノム重複は「2R仮説」として知られており、脊椎動物のゲノム進化とMHC領域の形成は密接に関連している。この説では、尾索・頭索動物と無顎脊椎動物の間、有顎脊椎動物の共通祖先と無顎脊椎動物の間に、それぞれ1回のゲノム重複を想定しており、事実、ナメクジウオ(頭索動物)では単一の祖先型MHC領域が存在していることから、ゲノム重複によるMHC領域の誕生が支持されている。本研究ではFISH法を用いて無顎脊椎動物のMHCパラロガス領域を同定することで、MHC領域の形成過程を探るとともに、2R仮説の検証を目的としている。

## 【材料と方法】

研究対象として、無顎脊椎動物のヌタウナギを用い、その末梢血から染色体標本作製した。頭索動物の祖先型MHC領域、有顎脊椎動物のMHC領域およびヒトMHCパラロガス領域を参考にして、MHC領域に存在する可能性が高い遺伝子群(*RXR*、*TN*、*PBX*など)を選定し、各組織からのcDNAクローニングを行なった。それらの配列をもとにヌタウナギBACライブラリーをスクリー

ニングし、該当遺伝子を含むBACクローンを単離した。これらBACクローンをプローブとして、ヌタウナギ染色体を蛍光染色し、各遺伝子間の連鎖を調べた。

## 【結果】

BACプローブを用いたFISH法による解析の結果、頭索動物の祖先型MHC領域やヒトMHCパラロガス領域で連鎖が認められている*RXR*、*PBX*、*RING*および*TNB*遺伝子がヌタウナギ染色体上でも連鎖していた。さらに異なる2つの染色体上には、もう1つの*TN*遺伝子である*TNA*、およびヒト第9番染色体上に存在する*LMPZ*がそれぞれ存在していた。

## 【結論】

これらのことから、ヌタウナギのゲノム上にもMHC様領域が存在しており、少なくとも2~3つのMHCパラロガス領域の存在が示唆された。これらのことは、ゲノム重複によるMHC領域の誕生、および2R仮説を支持する。より詳細な無顎脊椎動物MHCパラロガス領域の遺伝子組成を調べるために、現在、*JAK*、*CLIC*、*PHF*、*VAV*といったパラロガス領域に多く存在する遺伝子群や補体遺伝子であるヌタウナギC3様遺伝子、および他のパラロガス領域には存在せず、MHC領域のみ存在している*BATI*遺伝子のマッピングを行なっている。

和文・英文会則  
および  
講演発表者名簿

# 日本比較免疫学会会則

## I.名称

1. 本会は、日本比較免疫学会 (The Japanese Association for Developmental & Comparative Immunology; JADCI) と称する。

## II.目的

1. 本会は、比較免疫学に関する研究の進歩をはかることを目的とする。

## III.事業

1. 本会は、その目的を達成するため、次の事業を行う。
  - 1) 学術集会の開催
  - 2) 学術集会 Abstract 集の発行
  - 3) News の発行
  - 4) 国際比較免疫学会との交流
  - 5) アジア・オセアニア地区研究者との交流
  - 6) その他、本会の目的に必要なと認められる事業

## IV.会員

1. 本会の会員は、その趣旨に賛同し所定の入会手続きを経たものとする。
  - 1) 個人会員：個人会費を納める者。
  - 2) 賛助会員：本会の趣旨に賛同し賛助会費を毎年継続的に納める者。
  - 3) 2年以上会費を滞納し、催告に応じないときは会員の資格を失う。
2. 名誉会員は本人の承諾を得て、役員会が推薦し、総会で承認を得て決定する。
  - 1) 尚、名誉会員は年会費および学術集会費を免除される。

## V.役員

1. 本会に、会長1名、副会長1名、庶務・会計1名、会計監査2名、プログラム役員2名、抄録役員1名の役員をおく。
2. 会長は本会を代表する。会長は役員会を主催する。
3. 会長は全個人会員の投票によって、得票数の最も多かった者に決定する。また、役員会は候補者を推薦することができる。
4. 会長を除く他の役員は会長が委嘱する。
5. 役員の任期は2年とし、重任、再任を妨げない。会計監査は他と重任できない。

## **VI.会議**

1. 総会は議決機関であり、会長は原則として年1回学術集会時にこれを招集し、出席会員を以って構成する。
2. 役員会は会長が主催し、原則として年1回開く。

## **VII.会計**

1. 本会の経費は会費その他の収入をもってあてる。会費は事務局に納める。
2. 会計年度は毎年4月1日より始まり翌年3月31日に終わる。
3. 会計監査役員は、会計年度の終わりにその年度の決算を審査承認し、総会に報告する。

## **VIII.会則改正**

1. 本会則の改廃は、総会において出席者の2/3以上の賛成を必要とする。

## **附則**

1. 個人会員の会費は、年額3000円とする。
2. 賛助会員の会費は、1口20000円とする。
3. 本会の事務局は、庶務・会計役員が所属する機関の施設におく。
4. 事務局には役員に準ずる補助役員を置くことができる。
5. 講演者は本会員に限る。

**THE JAPANESE ASSOCIATION FOR  
DEVELOPMENTAL AND COMPARATIVE IMMUNOLOGY  
(JADCI)**

**OFFICERS**

**April 2006-March 2008**

**PRESIDENT**

**Takeshi YOSHIDA**

Research Institute for Mutual  
Reward Life Care  
4-53-4 Minami-Oizumi,  
Nerima-ku,  
Tokyo, 178-0064

**PROGRAM OFFICER**

**Hiroaki NAKAMURA**

Department of Biology  
Tokyo Dental College  
1-2-2 Masago, Mihama  
Chiba 261-8502

**TRUSTEES**

**Susumu TOMONAGA**

Shouyou Gakuin  
1-3-10 Ue-machi  
Ube 755-0051

**VICE PRESIDENT**

**Shunichiro KAWABATA**

Department of Biology  
Faculty of Sciences  
Kyushu University  
Fukuoka 812-8581

**ABSTRACT OFFICER**

**Ryosuke IJIMA**

Faculty of Pharmaceutical  
Sciences  
Teikyo University  
Sagamiko,  
Kanagawa 199-0195

**Haruhisa WAGO**

Laboratory of Immunology  
Department of Medical  
Technology  
Saitama Medical School  
Junior College  
Saitama 350-0495

**SECRETARY/TREASURER**

**Miki NAKAO**

Laboratory of  
Marine Biochemistry  
Department of Bioscience  
and Biotechnology  
Graduate School of  
Bioresource and  
Bioenvironmental Science  
Kyushu University,  
Fukuoka 812-8581, Japan

# CONSTITUTION

## **Article I. Name**

1. The name of the Association shall be The Japanese Association for Developmental and Comparative Immunology (JADCI).

## **Article II. Object**

1. The Association shall be an organization to advance studies on developmental and comparative immunology.

## **Article III. Business**

1. The Association shall conduct business described below to achieve the Object of the Association.
  - 1) Scientific meeting.
  - 2) Publication of Abstracts of papers read in the Scientific Meeting.
  - 3) Publication of a News Letter.
  - 4) Communications with International Society for Developmental and Comparative Immunology (ISDCI).
  - 5) Communications with scientists in the Asia-Pacific Area.
  - 6) Other business which considered essential to achieve the Object of the Association.
2. The Scientific Meeting shall be organized and conducted by a Scientific Meeting Organizer. Term of the organizer shall be one year.

## **Article IV. Membership**

1. Membership in the Association shall be open to scientists who share the stated purpose of the Association. The membership shall be authorized by registration.
  - 1) Active (Individual) members shall pay yearly dues.
  - 2) Corporate Affiliate. Any individual, company, agency, or organization interested in accomplishing the purposes of the Association may become a Corporate Affiliate on the payment of a fee for annual dues to be set at the Business Meeting.
  - 3) Members whose annual dues remain unpaid for 2 fiscal years or more are to be notified in writing by the Treasurer, and if still unpaid such a member shall forfeit membership.

## **Article V. Officers**

1. Officers of the Association shall be a President, a Vice-President, a Secretary-Treasurer, two Trustees, two Program Officers and an Abstract Officer.
2. The President will always serve as a Chairperson. The President will preside over the Council composed of officers of the Association



3. Candidates of the President shall be recommended in the Council, and then the President shall be elected by a majority vote all Active (Individual) members of the Association.  
The Council can recommend candidates for the office of President.
4. All Officers except the President shall be asked and nominated by the President.
5. Terms of all Officers shall be 2 years, however, they can be reappointed. Officers except two Trustees can assume two or more appointments.

#### **Article VI. Meeting**

1. Business Meeting shall be the most authorized body which will be opened by the President's call. The business Meeting, consisting of attended members, shall be held once a year as a rule, in conjunction with a Scientific Meeting.
2. The Council composed of the Officers and presided over by the President shall be held annually as a rule.

#### **Article VII. Financial**

1. Financial expense of the Association is based on annual dues of members and the other sources of income. Annual dues are payable to the Business Office.
2. Fiscal calendar shall start April 1 and end on March 31.
3. Trustees shall examine annual accounting by the end of fiscal calendar and report it at the Business Meeting.

#### **Article VIII. Amendments**

1. This constitution may be amended at any business meeting of members. More than 2/3 of the votes of active (Individual) members present at the Business Meetings shall be necessary for Amendments.

#### **APPENDIX**

1. Annual dues of the active (individual) members are 3,000 Japanese yen a head.
  2. Annual dues of the corporate affiliate are 20,000 Japanese yen an affiliate.
  3. Secretary-Treasurer shall be in charge of the Business Office of the Association. The Secretary-Treasurer can nominate his/her assistant(s).
  4. Only the members of JADCI are permitted to have a talk about the investigation.
- 

Approved: November 28, 1989; Revised: August 28, 1991; Revised August 23, 1999

Revised August 29, 2003

---

*\*The JADCI is a national organization, but we open our membership to scientists all over the world. If one would like to join the JADCI as an active member, please pay your membership dues (3,000 yen) at registration desk of JADCI meeting.*

## 演題発表者名簿 (Author Index)

### 【A】

Adachi, Y. (安達泰弘)	A3
Akatsu, K. (赤津可南子)	C4
Araki, K. (荒木亨介)	B5, B6, C3
Ariki, S. (有木 茂)	B1

### 【E】

Esumi, M. (江角真梨子)	B6
-------------------	----

### 【F】

Fujii, T. (藤井 保)	B8
Fujikawa, N. (藤川典子)	S2
Fukumoto, T. (福本哲夫)	A3
Fukuoka, T. (福岡貴彰)	B1

### 【H】

Haruta, C. (春田千晶)	S7
Hayashida, R. (林田梨沙)	A3
Hoshino, K. (星野啓太)	C1

### 【I】

Iijima, R. (飯島亮介)	D1, D2
Inagawa, H. (稲川裕之)	A1, B8
Inoue, H. (井上洋子)	C5
Isawa, H. (伊澤晴彦)	C1
Ishii, A. (石井秋宏)	S4
Ishii, T. (石井照久)	C2
Ishijima, J. (石島淳子)	S7
Isobe, T. (磯部 尚)	C1
Ito, K. (伊藤かな子)	D3, D4

### 【J】

Jenne, Craig N.	A2
-----------------	----

### 【K】

Kanno, M. (菅野雅元)	C5
Kasahara, M. (笠原正典)	EL, S7
Kasamatsu, J. (笠松 純)	S7
Katayama, K. (片山恵子)	C5
Kato, Y. (加藤陽子)	B7
Kawabata, S. (川畑俊一郎)	B1
Kennedy, Laurie J.	A2
Kibe, Y. (木部蓉子)	B5
Kikuchi, K. (菊池 潔)	C4
Kimura, A. (木村鮎子)	B3
Kisugi, J. (来生 淳)	D1, D2
Kobayashi, M. (小林睦生)	C1
Kohno, S. (河野晴一)	S2
Koike, T. (小池拓人)	C3
Kondo, M. (近藤昌和)	A1B8
Koshihara, T. (小柴琢己)	B1
Kubota, S. (久保田宗一郎)	S2
Kuratani, S. (倉谷 滋)	S1

### 【M】

Matsuda, Y. (松田洋一)	S7
Matsumoto, M. (松本美佐子)	S4
Matsunaga, T. (松永貴芳)	C4
Matsuo, A. (松尾 綾)	S4
Matsushita, M. (松下 操)	S5
Miyadai, T. (宮台俊明)	B2
Moritomo, T. (森友忠昭)	B5, B6, C3

### 【N】

Nagawa, F. (名川文清)	S6
Nakanishi, T. (中西照幸)	B5, B6, C3, D3
Nakao, M. (中尾実樹)	B7
Nonaka, M. (野中 勝)	SL, B3, B4

**【O】**

Ohtake,S. (大竹伸一) C2  
Ohtani,M. (大谷真紀) B2  
Ototake,M. (乙竹 充) B5,B6,C3,D3,D4  
Ozaki,A. (尾崎 彩) B1

**【R】**

Reynolds, John D. A2

**【S】**

Saito,N. (齋藤典子) C1  
Sasaki,T. (佐々木年則) C1  
Sato,M. (佐藤匡浩) B6  
Sawabe,K. (澤邊京子) C1  
Sawada,T. (澤田知夫) A3,C2  
Seya,T. (瀬谷 司) S4  
Somamoto,T. (杣本智軌) B7,C3  
Suetake,H. (末武弘章) C3,C4  
Sugawara,Y. (菅原芳明) B8

Suzuki,Y. (鈴木譲) C3,C4

**【T】**

Takahashi,A. (高橋明義) S3  
Takahashi,Y. (高橋幸則) A1,B8  
Takamune,K. (高宗和史) B8  
Takizawa,H. (瀧澤文雄) C3  
Toda,H. (戸田秀明) C3  
Tokito,G. (時任 剛) D2  
Tokuda,N. (徳田信子) A3  
Tomonaga,S. (友永 進) A1  
Tsukamoto,K. (塚本健太郎) B4

**【Y】**

Yamazaki,M. (山崎正利) D1,D2  
Yasuda,M. (保田昌宏) A2  
Yosizawa,H. (吉澤浩司) C5  
Yoshida,T. (吉田大志) B7  
Yoshiura,Y. (吉浦康寿) D3,D4

# 協賛企業・団体

平成17年7月10日現在

---

## 【広告協賛】

アトー株式会社

株式会社ジーンネット

大塚器械株式会社

株式会社新興精機

久保田商事株式会社

株式会社菅原製作所

株式会社国際文献印刷社

正晃株式会社

株式会社三啓

株式会社ダルトン

三洋電機株式会社

株式会社トミー精工

## 【協賛】

小林記録紙株式会社

県立広島大学同窓会

中国ケミー株式会社

株式会社富士商会

ともに書店

財団法人マツダ財団

広島和光株式会社

---

本学術集会を開催するに当たり、上記企業・団体より多大なご援助を賜りました。  
ここに、ご芳名を記して感謝の意を表します。

平成18年7月

日本比較免疫学会会長 吉田 彪  
第18回学術集会会長 藤井 保

(追加等がありましたので、要旨集 P52 を差し換えください。)

## 協賛企業・団体

平成 18 年 8 月 23 現在

---

### 【広告協賛】

アトー株式会社

株式会社ジーンネット

大塚器械株式会社

株式会社新興精機

久保田商事株式会社

株式会社菅原製作所

株式会社国際文献印刷社

正晃株式会社

株式会社三啓

株式会社ダルトン

三洋電機株式会社

株式会社トミー精工

### 【協賛】

小林記録紙株式会社

県立広島大学同窓会

中国ケミー株式会社

株式会社富士商会

ともに書店

財団法人マツダ財団

広島和光株式会社

中外製薬株式会社

---

本学術集会を開催するに当たり、上記企業・団体より多大なご援助を賜りました。  
ここに、ご芳名を記して感謝の意を表します。

平成 18 年 8 月

日本比較免疫学会会長  
第 18 回学術集会会長

吉田 彪  
藤井 保

(要旨集P7 学会事務局の電話・FAX番号に誤りがありました。訂正をお願いします。)

## 日本比較免疫学会・役員名簿

(2006年度)

会 長	吉田 彪	ライフケア互酬研究会
副 会 長	川畑 俊一郎	九州大学
庶務・会計	中尾 実樹	九州大学
学術集会担当	中村 弘明	東京歯科大学
抄録委員	飯島 亮介	帝京大学
会計監査	友永 進	昇陽学院
	和合 治久	埼玉医科大学短期大学
ホームページ委員	広瀬 裕一	琉球大学

学会事務局：〒812-8581 福岡市東区箱崎6-10-1

九州大学大学院農学研究院

TEL:092-642-2894

FAX:092-642-2897

E-mail: jadci2@agr.kyushu-u.ac.jp

試薬調製の時間を無駄にしていますか？

面倒な試薬管理のコストを削減しませんか？

**NEW! プレキャストゲル ATTO「e・パジェル」「c・パジェル」**

**特長**

- バリデーション対応(試験成績書提出可能\*)
- アクリルアミド(モノマー)含有率0.05%以下
- 高品質を長期間維持
- 約76.7円/サンプル(E-R\*\*\*L型)

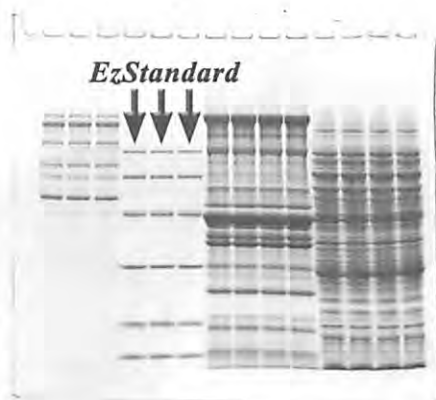
\*有償でご提供いたします。

e-PAGEL



c-PAGEL

AE-1430 EzApply



型式	ゲル濃度	検体数	枚数	価格
E-T7.5L	7.5%	14	10枚	¥13,800
E-T10L	10%	14	10枚	¥13,800
E-T12.5L	12.5%	14	10枚	¥13,800
E-T15L(NEW)	15%	14	10枚	¥13,800
E-T520L	5~20%	14	10枚	¥13,800
E-T1020L	10~20%	14	10枚	¥13,800
E-R7.5L	7.5%	18	10枚	¥13,800
E-R10L	10%	18	10枚	¥13,800
E-R12.5L	12.5%	18	10枚	¥13,800
E-R15L(NEW)	15%	18	10枚	¥13,800
E-R520L	5~20%	18	10枚	¥13,800
E-R1020L	10~20%	18	10枚	¥13,800
E-D7.5L	7.5%	2次元用	10枚	¥13,800
E-D10L	10%	2次元用	10枚	¥13,800
E-D12.5L	12.5%	2次元用	10枚	¥13,800
E-D520L	5~20%	2次元用	10枚	¥13,800
C7.5L	7.5%	12	10枚	¥17,000
C10L	10%	12	10枚	¥17,000
C12.5L	12.5%	12	10枚	¥17,000
C15L(NEW)	15%	12	10枚	¥17,000
C520L	5~20%	12	10枚	¥19,000
CD7.5L	7.5%	2次元用	10枚	¥17,000
CD10L	10%	2次元用	10枚	¥17,000
CD12.5L	12.5%	2次元用	10枚	¥17,000
CD520L	5~20%	2次元用	10枚	¥19,000

**NEW! 電気泳動用試薬 ATTO「Ez(イージー)」シリーズ**

型式	名称	容量	価格	説明
AE-1440	EzStandard	500 $\mu$ L	¥9,800	SDS-PAGE用分子量マーカー
AE-1440-2	EzStandard	500 $\mu$ L $\times$ 2	¥19,000	SDS-PAGE用分子量マーカー
AE-1430	EzApply	EzApply 溶液 30mL 5mL容器(DTT粉末入) $\times$ 5	¥4,800	SDS-PAGE用サンプル処理液
AE-1410	EzRun	粉末(10L分)	¥4,800	SDS-PAGE用泳動バッファ
AE-1310	EzStain Reverse	A溶液500mL B溶液500mL	¥16,000	PAG用染色キット リバース染色(タンパク質)
AE-1360	EzStain Silver	A/B/C/D溶液 各50mL	¥16,000	PAG用染色キット 銀染色(タンパク質/DNA)

ATTO Ezシリーズはこれからも続々新製品投入予定です。

**泳動装置 場所をとらない電源搭載型電気泳動装置**

**ミニスラブ型電気泳動装置**

AE-6531P バジエラン(バジェル用)  
価格 ¥78,000



**コンパクトスラブ型電気泳動装置**

AE-7341A~H  
コンパクトPAGE・ツイン(バジェル付)  
価格 ¥93,000~¥95,000



**転写装置 タンパク質の特異検出にはウエスタンブロット**

**セミドライプロット装置**

汎用タイプ(別途電源装置が必要です)  
AE-6677S ホライズプロット(ろ紙・転写膜付)  
価格 ¥100,000



**セミドライプロット装置**

電源搭載型(コンパクトスラブ用)  
AE-7500 コンパクトプロット(ろ紙・転写膜付)  
価格 ¥100,000



**NEW! 撮影装置 電気泳動結果の撮影と保存に**

**ゲル撮影装置**

■プリントグラフシリーズ  
価格 ¥900,000~¥1,600,000



**NEW! 撮影装置 ウエスタンブロットの発光撮影と保存・解析に**

**ウエスタンブロットの発光撮影装置**

■ライトキャプチャー  
価格 ¥2,500,000~¥3,200,000



\*製品の詳細についてはアトー株式会社顧客部へご連絡、またはアトーホームページ(<http://www.atto.co.jp>)を参照ください。



**アトー株式会社**

バイオ日本を支援する 純国産ブランド **ATTO**

■本 社 〒113-8425 東京都文京区本郷1-25-23 TEL 03-3814-4861(大代表) FAX 03-3814-4868  
■大阪支店 〒530-0054 大阪市北区南森町2-1-7 TEL 06-6365-7121(代 表) FAX 06-6365-7125

■URL <http://www.atto.co.jp/> ■本 社 e-mail: [info@atto.co.jp](mailto:info@atto.co.jp) ■大阪支店 e-mail: [osaka@atto.co.jp](mailto:osaka@atto.co.jp)



SZX16



**OLYMPUS®**

特約店

環境、研究、分析機器すべて**OK!**

—地球と人を科学の目で見る—



**大塚器械株式会社**

- |         |   |
|---------|---|
| □ 本社    | 広島市西区天満町12番22号 〒733-0022<br>TEL (082)293-3737 FAX (082)292-6146   |
| □ 西条支店  | 東広島市西条下見5丁目9番45号 〒739-0047<br>TEL (082)424-3688 FAX (082)424-3689 |
| □ 福山支店  | 福山市手城町2丁目12番2号 〒721-0966<br>TEL (084)924-0812 FAX (084)921-7287   |
| □ 呉営業所  | 呉市広中新開3丁目8番34号 〒737-0124<br>TEL (0823)74-3322 FAX (0823)74-1326   |
| □ 三次営業所 | 三次市南畑敷町349-4 〒728-0017<br>TEL (0824)62-3438 FAX (0824)62-3385     |



# KUBOTA



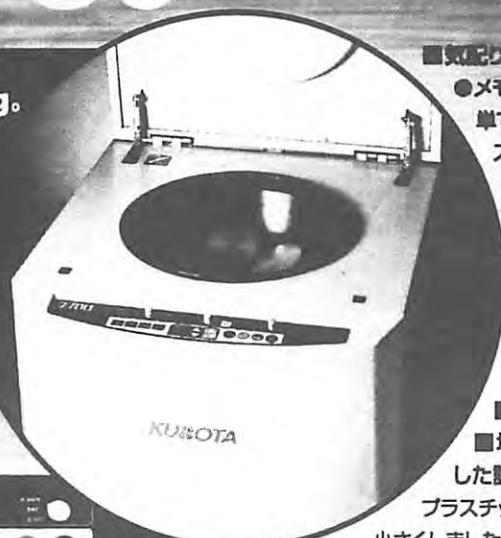
## 高速大容量冷却遠心機 7780

NEW

MAX.22,000rpm/52,490×g。  
MAX.4リットル (ℓ)。  
自動電動ロックを採用。  
ドアの開閉は、片手でできます。

国際安全規格 IEC 61010-2-020に準拠。

省スペース設計 幅64cm。



### ■気配り設計の便利機能

●メモリアッシング機能でスピンドウンが簡単です。(特許出願中)

スピンドウン運転した時間を自動的にメモリします。次回はキーを押すだけでメモリされた時間、スピンドウンします。

●ロータ温度補正機能付です。

ロータの種類と回転数を識別し、サンプル温度を設定温度に合せます。温度表示は、温度補正表示とチャンバ内温度表示を選択できます。

■サンプル温度は4℃を維持(室温25℃にて)

■地球に優しい、環境とリサイクルに配慮した設計

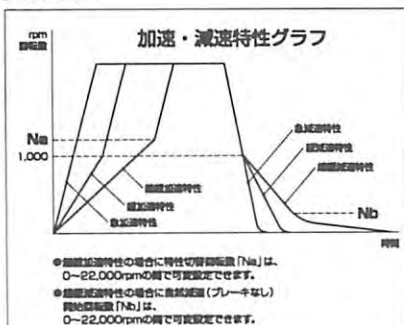
プラスチック類の使用を少なくし、環境への負荷を小さくしました。

■バイオハザード対策用HEPAフィルタ付 [クラスI] の安全キャビネットがセットできます。(オプション)

### ●加減速カーブ可変機能

サンプル・目的に応じて、加減速カーブを切り替えることができます。

舞い上りしやすいサンプルのために、加速・減速開始回転数を変更できます。密度勾配遠心も可能です。



### 仕様

最高回転数	22,000rpm
最大遠心力	52,490×g
最大処理量	4,000ml
必要電源・消費電力	AC単相200V、50/60Hz・30A・3.5kW
寸法・質量	64(W)×78(D)×86(H)cm・235kg 冷蔵R-404A

希望価格 1,680,000円 (本体、税別)

### 久保田商事株式会社

〒113-0033 東京都文京区本郷3-29-9 TEL.03-3815-1331 FAX.03-3814-2574  
 札幌 011-751-2175 名古屋 052-741-1871 四国 089-986-5018  
 仙台 022-223-4927 大阪 06-6762-8471 福岡 092-621-1161  
 つくば 029-856-3211 広島 082-871-7811



フットスイッチ(オプション)  
ドアは、フットスイッチで自動開き。  
新設計のガススプリングで素早く開き、  
ハンズフリーで実験操作に便利です。

### 1ℓ×4本軽量アングルロータ

9,000rpm/15,760×g

### AG-1K4

1,000ml×4 軽量アルミロータです。

NEW

- 500ml×6本ロータ\*より30%軽く、加速・減速時間も20%短くなりました。(\*AG-5006)
- ハンドリング、ロータ着脱が簡単です。
- シーリングキャップは標準付属で、1,000mlのサンプルがフルに入ります。
- ボトルの口が広く、沈澱物回収が容易です。



希望価格 1,300,000円 (税別)  
シーリングキャップ4個標準付属

E-mail: sales@kubotacorp.co.jp  
http://www.kubotacorp.co.jp

# One Stop Service



## PREPRESS・PRESS

DTP, L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X<sub>2</sub> $\epsilon$ , 組版専用機

学術定期刊行物, 辞書, 名簿, 報告書,  
名刺, 封筒, シール, ポスター など

## MANAGEMENT

学会事務代行, 編集事務代行

## WEB SERVICE

### WEB CONTENTS

ホームページ制作・運用

### ON-LINE SYSTEM

電子投稿・査読システム

電子ジャーナル・オンラインジャーナル公開システム

Web posting system for Conference

国際会議・国内大会のオンライン投稿, 査読システムなどの構築・運用サービス

国際文献印刷社は従来の印刷業務だけでなく, 学会事務代行業務, 編集事務代行業務, 発送業務, システムインテグレーション業務の有機的なコラボレーションによる"One Stop Service"に取り組んでいます。それぞれの機能を担う各事業部門が, ニーズに合わせ横断的に連携し適切な対応を行い, 学会活動に貢献することを目指しています。

各サービスに関するお問い合わせは, 各営業または下記へお願いします。

株式会社 国際文献印刷社

営業部 笠井 健

E-mail: kasai@bunken.co.jp

TEL: 03(3362)9741



株式  
会社

国際文献印刷社

<http://www.bunken.co.jp/>

本 社 169-0075 東京都新宿区高田馬場 4-4-19 工 場 169-0075 東京都新宿区高田馬場 3-8-8  
TEL: 03-3362-9741 TEL: 03-3367-6841  
FAX: 03-3368-2827 FAX: 03-3364-0041

# Nikon

# CFI60

## 蛍光レーザー顕微鏡システム

# CF1

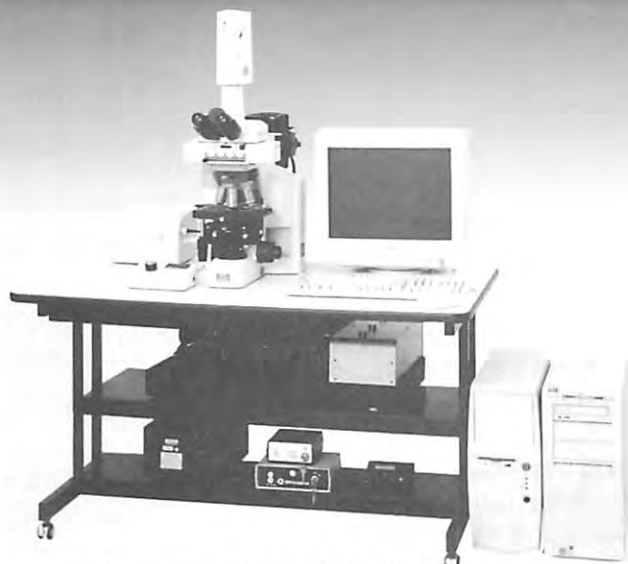
DIGITAL ECLIPSE



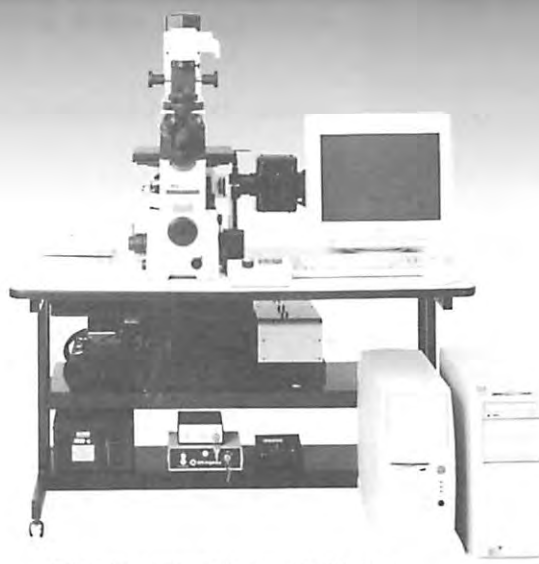
パーソナル・タイプの常識を打ち破る高機能、高画質。  
広範な蛍光コンフォーカル観察ニーズに対応し、アップグレードも容易です。

スキャンヘッド、レーザー、ディテクタなどのモジュールを組み合わせた超小型軽量タイプながら、顕微鏡メーカー・ニコンならではの光学技術と電子技術の融合により、解像度、コントラスト、明るさのすべてにトップレベルの光学性能を達成。しかも、クラス最高の蛍光3チャンネル同時観察、蛍光3チャンネル+透過DIC画像の同時観察をはじめ、タイムラプス観察、空間解析など、多彩な蛍光観察ニーズに応えられる高機能を実現しています。

- 最大 2,048 × 2,048 ピクセル、12 ビット階調の高品質画像。
- ディテクタは 3チャンネル検出可能。 **ニコンオリジナル**
- 交換式のフィルタを採用。 **ニコンオリジナル**
- すべてのユニットをモジュラー化。アップグレードも容易です。 **ニコンオリジナル**
- シンプルでわかりやすい GUI のソフトウェア。操作手順は一目瞭然。
- 各モジュールは調整不要。接続するだけで簡単にセットアップ可能。
- スペースの限られた研究室でも使いやすい、超コンパクト設計。



▲生物顕微鏡エクリプス E600 との組み合わせの例



▲倒立顕微鏡エクリプス TE2000 との組み合わせの例

販売元  
株式会社 **ニコン** / 株式会社 **ニコンインステック**

(株)ニコンインステック特約店

# Sankei 株式会社 三啓

カタログパンフレット等のご請求は当社まで。

<http://www.sankei-coltd.co.jp>

本社 〒113-8534 東京都文京区本郷 2-17-7 TEL.03 (5805) 0514  
横浜営業所 〒247-0072 神奈川県鎌倉市岡本 2-5-11 TEL.0467 (41) 1221  
大阪営業所 〒533-0033 大阪市東淀川区東中島 2-9-15 TEL.06 (6327) 3850

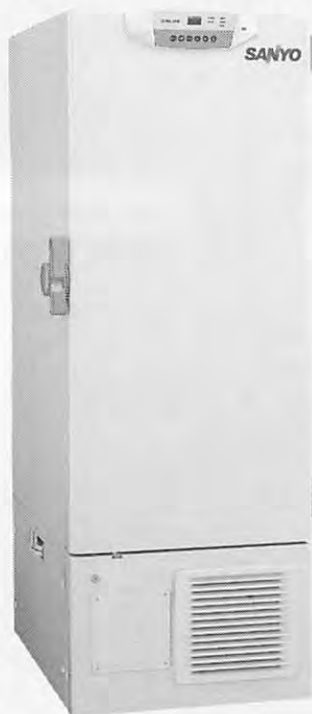
筑波営業所 〒305-0821 茨城県つくば市春日 3-24-4 TEL.0298 (52) 3061  
静岡営業所 〒422-8076 静岡市八幡 2-8-1 TEL.054 (287) 6722



# デスクサイドにも設置できるスリムサイズ

# SANYO

人と地球が大好きです



### 運転モニター機能搭載



#### 運転状況監視機能

フリーザの運転状況(ステータス)を監視します

機器自身が常に運転状況を見張り、電源電圧の低下、周囲温度35℃以上、5℃以下、過負荷状態(運転)など、異常状況をランプの点灯で知らせます。

内容量 **333L**

**-85℃**  
(周囲温度30℃のとき)

貯蔵ボックス **216個** 収納可能

## 超低温フリーザ MDF-U32V

メーカー希望小売価格 **1,550,000円**(税・据付搬入費別)  
外形寸法：幅670×奥行867×高さ1860mm  
製品質量：258kg ●詳細はカタログをご覧ください。

### 大型ドアラッチ/ハンドル

南京錠での施錠も可能。  
セキュリティと使い勝手がグンと向上。



### 幅67cmのスリムタイプ

普通のドアからそのまま搬入。納入時の組立が不要です。

三洋電機株式会社 コマーシャルグループ メディカル事業本部 バイオメディカビジネスユニット

ホームページ <http://www.sanyo.co.jp/cm/g/biomedical/>

## ◆ ジーンネット ◆ 委託解析サービス

サービス名	サービス内容	価格
DNA 合成	全製品 逆相カートリッジカラムでの精製品です。 @オリゴは高品質・低価格・早さがモットーです。	1000mer セット ¥75,000 単品 ¥80~
DNA シークエンス	¥3,000/サンプルからの格安シーケンスサービス!	¥3,000~ /1 サンプル
抗体作製	初回免疫から9週間でウサギ抗血清 60ml を納品いたします。 その他の動物種もご用意しております。	¥99,800 /ウサギ1羽
ペプチド抗体作製	★ペプチド合成+コンジュゲーション+9週間短期抗体作製サービス 目的蛋白のアミノ酸配列から抗原性の高い部分配列を検索し、ペプチド合成から、ウサギ1羽免疫までの一貫したサービスです。	¥250,000
ペプチド合成	液体クロマトグラフィー(HPLC)データ 質量分析(Mass)データ 確認用アミノ酸配列・計算上分子量(MW)・等電点(pI)計算データシート その他オプションのご用意がございます etc: 合成量・精製純度・修飾	¥2,500~ /1アミノ酸残基当り

お問合せは...

net 株式会社 ジーンネット

福岡市東区多の津5丁目22番8号  
TEL 092-626-2722 FAX 092-626-2723  
E-mail [info@genenet.co.jp](mailto:info@genenet.co.jp)  
URL <http://www.genenet.co.jp>

お客様の声に耳を傾ける良きパートナーとして。

研究開発トータル支援企業

- 研究室の作業環境の改善(研究室工事)
- 各種研究機器の供給、及びサポート  
(バイオ関連機器・分析機器・環境分析機器・その他研究開発機器)
- 研究者の派遣
- 研究機材の在庫管理、発注、及び試薬管理システムの構築

九州に広がるサービスエリア

トラブル発生の  
迅速体制

定期検査による  
予防体制

● 生命科学の未来像を先取りし  
的確な情報で研究開発をバックアップ。

● より正確に、より確実に、より快適な  
研究環境をお約束します。



株式会社 新興精機

● 本社	〒812-0054	福岡市東区馬出1丁目18番3号	TEL(092)641-8451
● 北九州営業所	〒807-0872	北九州市八幡西区浅川1丁目18番37号	FAX(092)641-8786
● 佐賀営業所	〒849-0937	佐賀市鍋島3丁目9番6号	TEL(093)603-5680
● 熊本営業所	〒862-0920	熊本市月出4丁目130号	TEL(0952)31-1095
● 鹿児島営業所	〒980-0054	鹿児島市荒田2丁目4番14号201号	TEL(099)812-5461
● 高崎営業所	〒889-1604	高崎県高崎郡清武町大字船引1492-1	TEL(0985)85-3840
● 東京営業所	〒101-0021	東京都千代田区外神田6丁目10番12号	TEL(03)5818-8751
● 工場	〒816-0063	福岡市博多区金の隈3番9号	TEL(092)503-5327

● 協力会社 ■ 株式会社ワークス ■ 株式会社ピュアブレイン ■ 株式会社マトリクスSD

Think Perfection

お客様にとっての"パーフェクト"をめざして、正晃は常にユーザーの視点で考えています。

ライフサイエンスをはじめとする科学技術は  
私たちの生活と未来を大きくリードし続けています。  
正晃は、総合試薬ディーラーとして培ったノウハウを  
お客様にとっての"パーフェクト"を起点に  
多彩な分野へ柔軟な対応で貢献いたします。

正晃株式会社

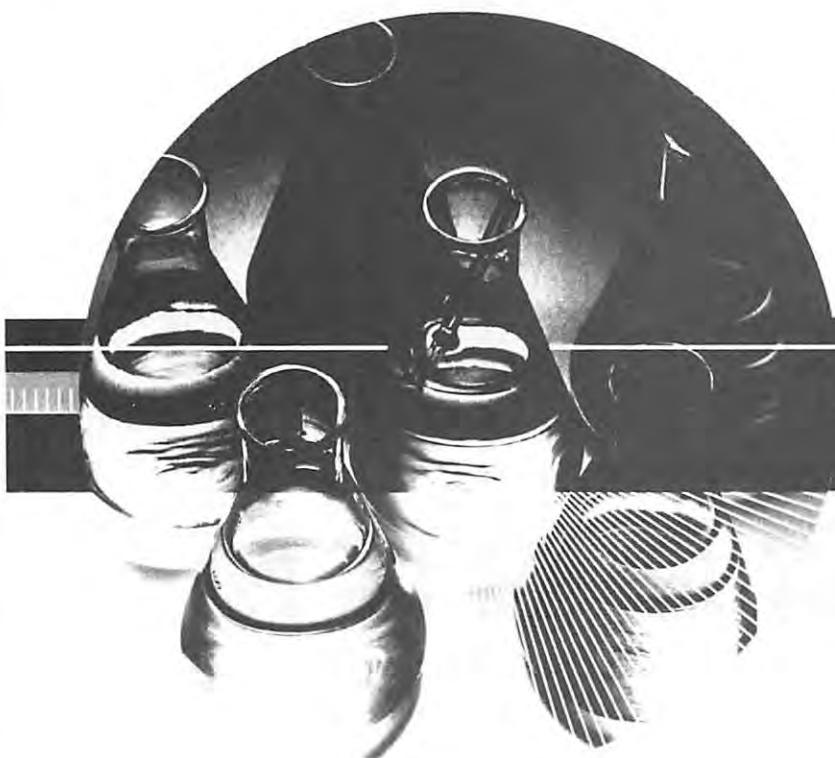
www.seikonet.co.jp

本社 福岡市東区松島3丁目34番33号 〒813-0062  
TEL:092-621-8199(代) FAX:092-611-4415

営業所 福岡第一・福岡第二・北九州・久留米・大分  
佐賀・山口・下関・熊本・沖縄・宮崎  
鹿児島・東京・長崎・広域

事業内容

- 基礎研究用試薬
- 体外診断用医薬品
- 動物用医薬品
- 化学工業薬品
- 上記の販売
- 理化学機器
- 医療用機器
- 分析用機器
- その他機器、器具
- 上記の販売・修理
- 家電製品
- コンピュータおよび  
医療関連ソフトウェア
- 上記の開発・販売



# ANATOMICA スガワラ

各種解剖器具○各種解剖道具

解剖実習器具セット

解剖衣○解剖キャップ○白衣○前掛

活性炭マスク○ラテックス手袋○アームカバー

ご遺体処置収納用品

標本容器○ギブスカッター

動脈注入ポンプ○解剖台

解剖照明灯○ストレッチャー

ミニクレーン○パワーリフター

ドアスルーフォークリフト

器具等の修理も承ります



厚生省許可番号 13BZ2471号



株式会社 菅原製作所

〒131-0044 東京都墨田区文花3-20-18

TEL 03-3611-7610

FAX 03-3611-7612



地球に人に、やさしい研究施設を。

# 株式会社 ダルトン



夢を実現するための  
技術を蓄え、もっとより  
良いものを。ダルトンは  
すべての人のため、技術・  
製品を提供しています。

人を取りまく空間の創造。  
もっと人に  
近くなる。

## お問合せ

ご連絡は  
こちらまで。

### 施設事業部 広島支店

〒733-0011 広島県広島市西区横川町2丁目7-19 (横川メディカルビル)  
TEL 082-232-6041 FAX 082-232-6210

### 施設事業部 東京支社

〒162-8409 東京都新宿区市谷左内町9番地  
TEL 03-5261-3811・3812 FAX 03-3267-2537・2157

<http://www.dalton.co.jp/> E-mail: [info@dalton.co.jp](mailto:info@dalton.co.jp)

## 主な取扱い製品

### 研究施設製品

- 実験台・流し台
- ドラフトチャンバー
- クリーンテクノロジー
- 排ガス処理関連製品

### 教育施設製品

- 理科施設
- 調理・被服施設
- 技術・美術・音楽・図書施設

### 粉体機械製品

- 分級機
- 混合機
- 粉碎機
- 造粒機

その他研究施設、教育施設、  
粉体機械製品の取扱い

# SX

オートクレーブ

- カンタン操作、  
上下開閉ドア。
- 45℃から135℃  
まで設定可能。
- 容量で選べる3種類、  
SX-300/500/700。

株式会社トミー精工  
本社 03-5987-3111  
大阪 06-6305-3333



プレヒート機能付きオートクレーブ BSX-500

# BSX

プレヒート機能付き  
オートクレーブ

- 感染性廃棄物の滅菌に。
- BSX-500はプレヒート  
機能を装備、空気を室内  
に排気せず加熱できます。
- 特別なメンテナンスは  
必要ありません。

**TOMY** // [bio.tomys.co.jp](http://bio.tomys.co.jp)



日本比較免疫学会

第18回学術集会講演要旨

原稿受付	2006年6月7日
発行日	2006年7月22日
発行者	日本比較免疫学会
編集者	学術集会プログラム委員会 委員：中村弘明

印刷所	(株) 国際文献印刷社 東京都新宿区高田馬場3-8-8
-----	--------------------------------



