

# PROCEEDINGS

19th JAPANESE ASSOCIATION FOR  
DEVELOPMENTAL & COMPARATIVE IMMUNOLOGY

Hamamatsu, Japan

August 21 to 23, 2007

---

---

## 日本比較免疫学会 第19回 学術集会講演要旨

---

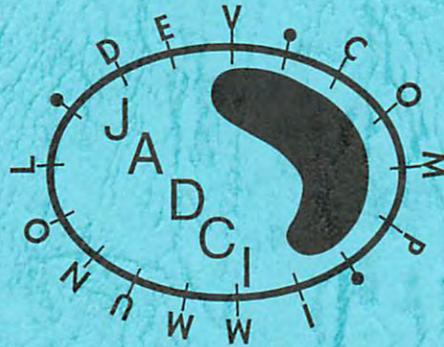
---

会期：2007年8月21日（火）～23日（木）

会場：浜松市舞阪文化センター

学術集会会長：鈴木 譲（東京大学）

学術集会事務局長：末武弘章（東京大学）



日本比較免疫学会

—2007—

## 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	5
(Officers of JADCI)	
講演プログラム (和文)	6
(Programme in Japanese)	
講演要旨	11
(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19回 学術集会

(2007年度)

会期：2007年8月21日(火)～23日(木)

場所：浜松市舞阪文化センター(浜松市)

学術集会会長：鈴木 讓(東京大学)

## 学術集会日程表

	時間	プログラム内容
第1日目 (21日)	12:00～	受付
	12:55～	開会の辞、一般演題(11演題)
第2日目 (22日)	9:00～	一般演題(4演題) 総会 古田賞受賞者表彰 古田賞受賞者講演
	13:00～	特別講演「ヒトゲノム解読の生物学・医学へのインパクト」清水 信義(慶応大・医)
	14:00～	シンポジウム「ゲノムから見る比較免疫学」 『主要組織適合遺伝子複合体(MHC)領域におけるニワトリを含む脊椎動物の間の比較ゲノム解析』 椎名隆(東海大・医)他 『トラフゲノムが魚類免疫研究にもたらしたもの』 末武弘章(東大・水実) 『メダカゲノムとその発生学への応用例』 武田洋幸(東大・理) 『ホヤ大規模DNAマイクロアレイを用いたポストゲノム研究の展開 —生命科学の基礎研究から環境科学の応用研究へ—』 安住 薫(北大・薬) 『カイコゲノムの特徴と生体防御』 嶋田 透(東大・農)他 『ショウジョウバエにおける病原体認識と排除機構』 倉田祥一郎(東北大・薬)
		総合討論
	17:00～	記念写真撮影
	18:00～	懇親会
第3日目 (23日)	9:00～	一般演題(10演題) 閉会の辞

## 参加者へのご案内

学術集会会場：浜松市舞阪文化センター 〒431-0211 浜松市西区舞阪町舞阪 2701-1  
Tel:053-592-0131 Fax:053-592-8938

連絡先：〒431-0214 静岡県浜松市西区舞阪町弁天島 2971-4  
東京大学大学院 農学生命科学研究科 附属水産実験所 末武弘章  
053-592-2821(TEL)、053-592-2822 (FAX)、[asuetake@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp](mailto:asuetake@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp)

受付：会場にて、8月21日(火) 昼の12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：学術集会参加費：3,000円(会員、非会員)、2,000円(学生)  
懇親会参加費：2,000円

発表要領：すべて口頭発表(講演時間15分、討論5分)で実施いたします。PC用液晶プロジェクターにより投影して行います。OHP、スライドは使用できません。CDまたはUSBメモリー対応のパソコンを用意しますが(Power Point2003/Win、2001/Mac)、自分のパソコンを接続しても構いません。ファイルのコピー、動作の確認は事前に行ってください。なお、Windows Vistaで作成したPower Pointファイルの動作は会場に用意するパソコンでは確認できていません。

昼食用のお弁当：会場近くにいくつかの食堂がありますが、規模が小さく込み合うと思います。  
8月22日(水)は、昼食用の弁当を斡旋します。当日の朝、9時から9時30分までの間、会場内に「弁当受付」を設けますのでご利用下さい。

宿泊案内：ご予約の斡旋はいたしておりません。弁天島駅前や浜松のホテルが便利ですので、申し訳ございませんが、各自でご予約ください。

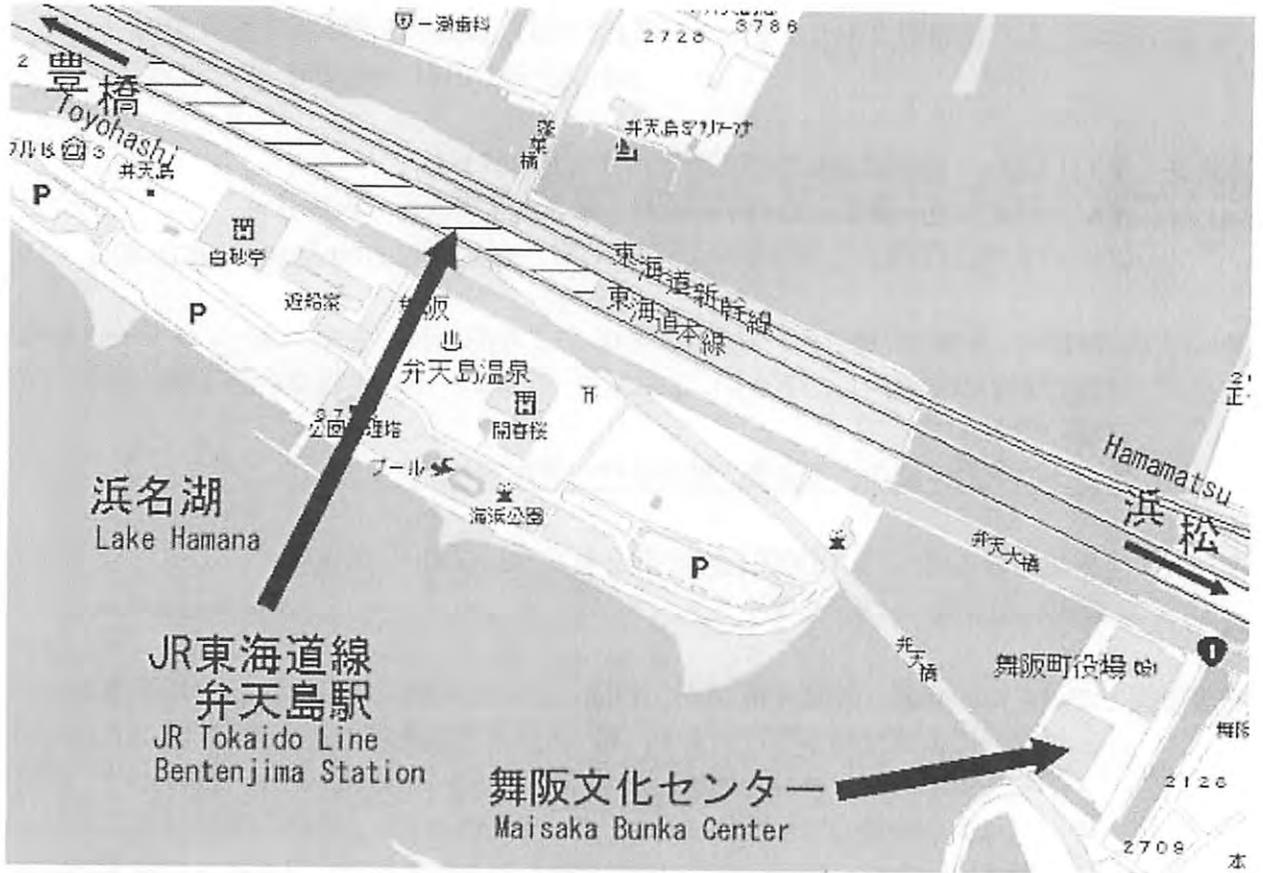
会場近辺の宿泊施設

- ・ホテル白砂亭 053-592-0050
- ・浜名湖観光ホテル開春楼 053-596-1111
- ・BentenKan (べんてんかん) 053-592-8000

浜松駅近辺の宿泊施設情報

<http://hamamatsu-daisuki.net/search/index.jsp?PID=0301>

会場へのアクセス：最寄り駅、弁天島へはJR 東海道で浜松から 11 分、豊橋から 21 分です。  
電車は 1 時間に 3 本程度ですので、ご注意下さい。



弁天島駅からは、駅前左側にある地下道で国道 1 号線を横断し、地下道出口前方  
（東南方向＝浜松方向海側）の斜め右の道を 500m ほど進み、弁天橋を渡ってすぐ左の建物です。  
自家用車でのご来場の場合、舞阪文化センターの駐車場（無料）が使えます。満員の場合は  
海浜公園の駐車場（有料）をご利用下さい。

# 日本比較免疫学会・役員名簿

(2007年度)

会 長	吉田 彪	スピリチュアルケア研究所
副 会 長	川畑 俊一郎	九州大学
庶務・会計 【補助役員】	中尾 実樹	九州大学
	杉本 智軌	九州大学
学術集会担当	中村 弘明	東京歯科大学
	山口 恵一郎	獨協医科大学
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
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

水族生化学研究室内

TEL:092-642-2894

FAX:092-642-2897

E-mail: jadci2office@gmail.com

jadci2@agr.kyushu-u.ac.jp

# 第19回学術集会プログラム

第1日目 8月21日 (火)

## 【一般演題】

### Session A 魚類免疫関連因子

座長：吉浦康寿（養殖研）

A 1 13:00～ 硬骨魚類メダカ近縁種におけるMHC class I領域内PSMB8遺伝子多型の解析  
○三浦ふみ、塚本健太郎、野中 勝（東京大学大学院・理学系研究科・生物科学専攻）

A 2 13:20～ 硬骨魚メダカ属におけるMHC クラス I 領域の種間変異  
○メタ ラトネイツユ バイ、野中 勝（東京大学大学院・理学系研究科・生物科学専攻）

A 3 13:40～ ウナギ発生過程における胸腺関連遺伝子の発現  
○河辺元子、末武弘章、菊池 潔、鈴木 譲  
（東京大学大学院・農学生命科学研究科・附属水産実験）

座長：筒井繁行（北里大）

A 4 14:00～ ギンブナ頭腎、体腎、脾臓の Expressed Sequence Tag 解析  
○鮫島史朗、鶴木陽子、杣本智軌、中尾実樹（九州大学大学院・農学研究院）

A 5 14:20～ クローンギンブナ由来細胞株におけるMHC クラス I による抗原提示機構関連  
遺伝子のクローニング  
○<sup>1</sup>杣本智軌、<sup>1</sup>占部慎二、<sup>1</sup>鮫島史朗、<sup>2</sup>中西照幸、<sup>1</sup>中尾実樹  
（<sup>1</sup>九州大学大学院・農学研究院、<sup>2</sup>日本大学・生物資源科学部）

A 6 14:40～ コイの個体発生における補体成分アイソタイプの発現解析  
大蔵千恵<sup>1</sup>、杣本智軌<sup>1</sup>、近藤昌和<sup>2</sup>、○中尾実樹<sup>1</sup>  
（<sup>1</sup>九州大学大学院・農学研究院、<sup>2</sup>水産大学校・生物生産学科）

休憩 15:00～15:20

座長：中尾実樹（九大）

A 7 15:20～ ランダムミュータジェネシスによるSTAT4 欠損メダカの作製  
○吉浦康寿<sup>1</sup>、谷口善仁<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>京都大学大学院・医学研究科・放射線遺伝学分野）

A 8 15:40～ ギンブナ Perforin 遺伝子におけるアイソタイプの構造及び発現解析  
○小西麻理子<sup>1</sup>、荒木亨介<sup>2</sup>、瀧澤文雄、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、<sup>2</sup>鹿児島大・水産、<sup>3</sup>水産総合研究センター養殖研究所）

座長：杉本智軌（九大）

A 9 16:00～ トラフグ IL-2 の発現・機能解析

○三浦正晴<sup>1</sup>、末武弘章<sup>1</sup>、荒木亨介<sup>2</sup>、吉浦康寿<sup>3</sup>、菊池 潔<sup>1</sup>、鈴木 譲<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>東京大学大学院・農学生命科学研究科・附属水産実験所、<sup>2</sup>鹿児島大学・水産学部、<sup>3</sup>養殖研究所・病害防除部)

A10 16:20～ トラフグ B7 ファミリー分子の同定

○菅又龍一、末武弘章、菊池 潔、鈴木 譲

(東京大学大学院・農学生命科学研究科・附属水産実験所)

A11 16:40～ ヤツメウナギ IL-17

○筒井繁行、中村 修、渡邊 翼（北里大学・水産学部）

第2日目 8月22日（水）

## 【一般演題】

### Session B リンパ球・抗体

座長：古澤 修一（広大）

B 1 9:00～ トラフグ CD79a、CD79b 遺伝子のクローニングと発現解析

○佐藤雅寿<sup>1,2</sup>、宮台俊明<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>福井県大・海洋生物工学研究室、<sup>2</sup>福井県大臨海研究センター)

B 2 9:20～ トラフグのB細胞はG型リゾチームを産生する

○宮台俊明<sup>1,2</sup>、高田 綾<sup>1,2</sup>、中上 元<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>福井県大・海洋生物工学研究室、<sup>2</sup>福井県大臨海研究センター)

座長：宮台俊明（福井県立大）

B 3 9:40～ ギンブナ CD4 に対するモノクローナル抗体の特性解明

○齋藤泰孝<sup>1</sup>、瀧澤文雄<sup>1</sup>、荒木亨介<sup>1</sup>、戸田秀明<sup>1</sup>、杉本智軌<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>養殖研)

B 4 10:00～ パイエル板におけるファブリキウス嚢非依存的な抗体の多様性獲得

○鳥山悠子<sup>1</sup>、岡崎優利<sup>1</sup>、福島祐二<sup>1</sup>、堀内浩幸<sup>1,2</sup>、松田治男<sup>1,2</sup>、古澤修一<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>広島大学大学院・生物圏科学研究科・免疫生物学研究室、<sup>2</sup>広島バイオメディカル)

学会総会 10:20～11:00

古田賞大賞受賞者講演 (座長：吉田 彪) 11:00～11:30

昼 食 11:30～

特別講演 (座長：鈴木 謙) 13:00～14:00

SL: 『ヒトゲノム解読の生物学・医学へのインパクト』

清水 信義 (慶応大・医)

シンポジウム『ゲノムから見る比較免疫学』 (座長：鈴木 謙)

S1 14:00～ 主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 領域におけるニワトリを含む  
脊椎動物の間の比較ゲノム解析

椎名 隆、細道一善、北 夕紀、渡辺 舞、  
河野あづみ、倉田里穂、柴原 悠、佐藤和広、  
金藤聡美、猪子英俊 (東海大・医)

S2 14:30～ トラフグゲノムが魚類免疫研究にもたらしたもの 末武弘章 (東大・水実)

S3 15:00～ メダカゲノムとその発生学への応用例 武田洋幸 (東大・理)

休憩 15:30～15:45

S4 15:45～ ホヤ大規模 DNA マイクロアレイを用いたポストゲノム研究の展開

—生命科学の基礎研究から環境科学の応用研究へ— 安住 薫 (北大・薬)

S5 16:15～ カイコゲノムの特徴と生体防御 鳴田 透、河岡慎平、孟 艶、大門高明  
船隈俊介、勝間 進、伊藤克彦、  
門野敬子、三田和英 (東大・農)

S6 16:45～ ショウジョウバエにおける病原体認識と排除機構 倉田祥一郎 (東北大・薬)

16:45～ 総合討論 (17:00 終了予定)

17:00～ 写真撮影

18:00～ 懇親会

第3日目 8月23日(木)

## 【一般演題】

### Session C 無脊椎動物の感染防御

座長：飯島亮介(帝京大)

- C1 9:00～ プラナリアにおけるUV照射および創傷による抗菌物質の誘導  
○木村美智代<sup>1</sup>、大川真梨子<sup>1</sup>、尾形梢<sup>1</sup>、田部井彩<sup>1</sup>、武藤由利絵<sup>1</sup>、和合治久<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>埼玉医科大学短期大学・臨床検査学科、<sup>2</sup>埼玉医科大学保健医療学部)
- C2 9:20～ モンシロチョウ由来タンパク質ピエリシン-1の寄生蜂に対する影響  
○中口 梓<sup>1</sup>、松本恭子<sup>1</sup>、山本真史<sup>1</sup>、岩淵喜久男<sup>2</sup>、戸塚ゆ加里<sup>1</sup>、杉村 隆<sup>1</sup>、若林敬二<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>国立がんセンター研究所・がん予防基礎研究プロジェクト、<sup>2</sup>東京農工大・応用昆虫)
- C3 9:40～ 発育阻害ペプチド(GBP)によるエノシトイドの崩壊  
○松本恭子<sup>1</sup>、織田康則<sup>2</sup>、瓜生匡秀<sup>3</sup>、早川洋一<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>国立がんセンター研究所・がん予防基礎研究プロジェクト、<sup>2</sup>佐賀大・応用昆虫、<sup>3</sup>北大・プリオン病学)

座長：川畑俊一郎(九大)

- C4 10:00～ カイコガ幼虫の体液中に存在する低発現性Cタイプレクチン  
○高瀬比菜子、渡部綾子、佐藤令一  
(東京農工大学大学院・生物システム応用科学府(BASE))
- C5 10:20～ オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* のネズミマラリア *Plasmodium berghei* に対するメラニン化作用およびマラリア原虫の感染機構  
○佐々木年則<sup>1</sup>、齋藤典子<sup>2</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>国立感染症研究所昆虫医科学部、<sup>2</sup>国立感染症研究所電子顕微鏡室)

休憩 10:40～10:50

座長：宍倉文夫(日大)

- C6 10:50～ マボヤ血リンパのフェノール酸化酵素(PO)活性を抑制する因子  
○阿部健之<sup>1</sup>、大竹伸一<sup>1</sup>、石井照久<sup>2</sup>、澤田知夫<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>日本大学・医学部・生物、<sup>2</sup>秋田大学・教文・生物、<sup>3</sup>山口大学・医学研究科・器官解剖)
- C7 11:10～ 被囊軟化症マボヤ血球の遺伝子発現解析  
○安住 薫<sup>1,2</sup>、宇佐美剛志<sup>1</sup>、北村真一<sup>3</sup>、鈴木聡<sup>3</sup>、横沢英良<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>北大・創成・流動、<sup>2</sup>北大・院薬・生化学、<sup>3</sup>愛媛大・沿岸環境科学研究センター)

座長：佐々木年則（感染研）

C 8 11:30～ カプトガニ外皮タンパク質カラキシンは、創傷部位においてトランスグルタミナーゼによって架橋され、網目状繊維を形成する

○松田泰幸<sup>1</sup>、小柴琢己<sup>1</sup>、尾崎 司<sup>1</sup>、陶山晴香<sup>1</sup>、有坂文雄<sup>2</sup>、藤 義博<sup>1</sup>、川畑俊一郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>九大院・理・生物科学, <sup>2</sup>東工大院・生命理工・生物プロセス)

C 9 11:50～ 端脚甲殻類の血球

○近藤昌和<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)

C10 12:10～ イトマキヒトデ幼生の間充織細胞におけるApSRCR1分子の発現と機能解析

○古川亮平、金子洋之  
(慶応義塾大学・生物学教室)

閉会の辞：12：30

一般演題 : A1 ~ A11

硬骨魚類メダカ近縁種における MHC class I 領域内 *PSMB8* 遺伝子多型の解析

三浦 ふみ、塚本 健太郎、野中 勝  
 東京大学大学院理学系研究科 生物科学専攻

Interspecific polymorphism of *PSMB8* gene among the medaka species, genus *Oryzias*.

Fumi Miura, Kentaro Tsukamoto and Masaru Nonaka

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

## 【目的】

硬骨魚類 MHC は複数の染色体上に分散している<sup>[1]</sup>が、MHC class I 分子による抗原提示に直接関与する遺伝子 (*UAA*, *UBA*, *TAPBP*, *ABC3*, *PSMB*) は密接に連鎖し、MHC class I 領域を形成している<sup>[2]</sup>。メダカ *Oryzias latipes* 近交系 (南日本集団由来: Hd-rR, 北日本集団由来: HNI) MHC class I 領域 (約 400kb) の多型解析により、MHC class I 遺伝子 (*UAA*, *UBA*) と免疫プロテアソームサブユニット遺伝子 (*PSMB8*, *PSMB10*) を含む亜領域 (約 100kb) に、他の脊椎動物 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にされた<sup>[3]</sup>。また、野生集団を用いた解析により、南北集団内で *PSMB8* 遺伝子の二型性 (Hd-rR 型: SV タイプ, HNI 型: TY タイプ) が保たれていることが明らかにされ、二型性の起源は南北日本集団分岐以前であることが示唆された。

本研究では、メダカの *PSMB8* 遺伝子の二型性がメダカ近縁種でも保持されているかを調べ、*PSMB8* 遺伝子の二型性の起源とその進化過程を探求する。

## 【材料と方法】

Lab stock 個体のメダカ近縁 8 種各 1 個体ずつ (*O. curvinotus*, *O. luzonensis*, *O. minutillus*, *O. dancena*, *O. hubssi*, *O. celebensis*, *O. marmoratus*, *Xenopoecilus saracinorum*)、および、タイ中部 Pathum Thani, Chai Nat の 2 地点で採取したタイメダカ *O. minutillus* 野生集団 246 個体について解析を行った。*PSMB8* 遺伝子のエクソン 1, 6 上に設計した縮退プライマーを用いて、ゲノム DNA を鋳型に

PCR を行い、遺伝子配列を決定した。また、RT-PCR、3' RACE により、発現の確認および *PSMB8* mature peptide の全長をコードする塩基配列を決定した。

## 【結果】

Lab stock 個体のセレベスメダカ *O. celebensis* からは Hd-rR 型と HNI 型の両型、他 7 種からは Hd-rR 型のみが検出された。タイメダカ野生集団からは、Hd-rR 型と新規な SA タイプが検出され、HNI 型は検出されなかった。集団内の遺伝子頻度は、Hd-rR 型が 0.73、SA タイプが 0.27 だった。SA タイプのコード領域は、アミノ酸配列で Hd-rR 型と 97.1% の identity を示したが、イントロンには相同性が見られなかった。

## 【結論】

メダカ近縁種の *PSMB8* 遺伝子は、メダカで明らかになっている Hd-rR 型、HNI 型の二型に大別された。タイメダカは、HNI 型を欠き、Hd-rR 型とそのサブタイプと考えられる SA タイプを保持していることが示された。以上より、メダカ属内で *PSMB8* 遺伝子の二型性が保持されており、二型性の起源はメダカ属内の種分化に先行すること、Hd-rR 型が主要タイプであることが示唆された。

## 【参考文献】

1. Kuroda N. et al. (2000) Immunogenetics, 51:117-128
2. Matsuo M. et. Al (2002) Immunogenetics, 53:930-940
3. Tsukamoto K. et al. (2005) Immunogenetics, 57:420-431

## 硬骨魚メダカ属における MHC クラス I 領域の種間変異

メタ ラトネイツユ バイ, 野中 勝  
 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

Interspecific diversity of the MHC class I region of the teleost genus, *Oryzias*

Mehta Ratnesh Bhai, Masaru Nonaka

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

**OBJECTIVE:**

The MHC (Major Histocompatibility Complex) is known for its role in adaptive immunity. The MHC region can be divided into three subregions, i.e. class I, class II and class III <sup>[1]</sup>, containing the genes which play an important role in the biology of the immune system. Not only the MHC gene organization (size, complexity and gene order) differs markedly among different species <sup>[2]</sup>, but also MHC class I and class II loci are polymorphic within the species. With the exception of teleost, all the jawed vertebrates have a tightly linked MHC class I and class II loci <sup>[3]</sup>. The complete nucleotide sequences of the MHC class I region of *Oryzias latipes* <sup>[4, 5]</sup> has been analyzed, revealing the tight linkage among the MHC class Ia genes and the gene directly involved in the class I antigen presentation. To elucidate evolution of the MHC class I region with the genus *Oryzias*, we sequenced the MHC class I region of *Oryzias luzonensis*.

**MATERIAL AND METHODS:**

The *Oryzias luzonensis* bacterial artificial chromosome (BAC) library constructed at Dr. Asao Fujiyama's laboratory (RIKEN) having an average insert size of 135Kb and 5X genome coverage was used. PCR based screening approach was used to identify the BAC clones containing the MHC class I region. Once the clones were identified, they were partially digested using Sau3AI and subcloned in pGEM 3Zf (+). About 2200 reads were collected for each clone and sequences were assembled using Phred/Phrap/Consed. Gaps were filled using primer walking.

**RESULT:**

After the PCR screening, *Oryzias luzonensis* BAC clone 20F66 was considered to be a suitable candidate as it covers the region from UAA to TAPBP (exon 3) when compared to *Oryzias latipes*. The size of this BAC clone is about 139 Kb. It was found to contain the UAA gene, the pseudo UAA gene, the pseudo UBA gene and the TAPBP gene. Another BAC clone 15F52 overlapping the UAA side of the 20F66 was also sequenced and assembled. This BAC clone was covering the remaining class I antigen presenting gene i.e. ABCB3 (exon 2), PSMB9, PSMB9-like, PSMB10 and PSMB8. Because the region within and around the UAA genes is very similar, assembly of this region was quite difficult.

**CONCLUSION:**

*Oryzias luzonensis* MHC class I subregion contains 3 copies of complete UAA gene where as *O. latipes* has only a single copy. The UBA gene does not seem to be expressing, since the exon 3 shows frameshift also cytoplasmic region could not be located. No pseudo PSMB8 is present. Also the length of intron 2 of UAA gene was quite variable. Comparison of the MHC class I region between *O. latipes* and *O. luzonensis* showed that the basic gene organization of this region is highly conserved between the two species, however the region in-between the PSMB8 and TAPBP gene, shows the sequence diversity.

**BIBLIOGRAPHY:**

1. Klein (1986) Wiley, New York.
2. Kulski et. al. (2002) Immunological Rev 190: 95-122.
3. Stet et. al. (2003) Crit Rev Immunol 23:441.
4. Matsuo et. al. (2002) Immunogenetics 53:930-9405.
5. Tsukamoto et. al. (2005) Immunogenetics 57:420-431, 2005

河辺元子、末武弘章、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

**Expression of immune-related genes during early development in Japanese eel (*Anguilla japonica*)**

Motoko Kawabe, Hiroaki Suetake, Kiyoshi Kikuchi, Yuzuru Suzuki  
Fisheries Laboratory, Graduate School of Agricultural and Life Sciences,  
The University of Tokyo

**【目的】**

ウナギは孵化後、半年近くのプレレプトセファルス、レプトセファルスといった仔魚期を経て、シラスウナギへと形態的に大きく変態し、成魚へ成長する。血球は受精後約7日のプレレプトセファルス期には出現するが、レプトセファルス期においても胸腺のみがよく発達している<sup>1)</sup>。

この胸腺機能の指標として、哺乳類では Rag や Lck 遺伝子が有効である。Rag 遺伝子は、T 細胞レセプターや抗体の遺伝子再編成時にリンパ球前駆細胞で発現している。一方、Lck 遺伝子は胸腺分化の早期に胸腺細胞に特異的に発現する遺伝子であり、T 細胞の分化において重要である。

本研究では、ウナギのリンパ球や免疫系の発生過程を明らかにするために、ウナギのリンパ球と胸腺の分化・発達に関わる遺伝子を同定するとともに、発生初期における発現パターンを調べた。

**【材料と方法】**

まず、トラフグ、ゼブラフィッシュの cDNA 配列をもとに魚種間で相同性の高い塩基配列部分を選択し、縮重プライマーを作製した。ウナギ成魚の腎臓から RNA を抽出し、cDNA クローニングを行った。さらに得られた cDNA 配列をもとに特異的プライマーを作製し、ウナギの仔魚プレレプトセファルスに

おける Lck 遺伝子の発現を定量 PCR を用いて調べた。

**【結果】**

今回、得られた cDNA 配列から予測されるアミノ酸配列を他の動物種の Rag-1 と Lck の配列とそれぞれ比較したところ、高い相同性を示した。Lck 遺伝子は受精後3日目の仔魚から発現し始めることが明らかになった。

**【結論】**

ウナギ腎臓において、Rag-1 遺伝子および Lck 遺伝子の塩基配列情報を得た。Lck 遺伝子が発生初期に発現し始めること、またレプトセファルス期において胸腺がよく発達していることから、ウナギの仔魚期では T 細胞や胸腺が免疫系において重要な役割をもつことが示唆された。

**【参考文献】**

- 1) Suzuki Y and Otake T (2000) Skin lectin and the lymphoid tissues in the leptocephalus larvae of the Japanese eel *Anguilla japonica*. Fisheries Sci, 66:636-643

## A4 ギンブナ頭腎、体腎、脾臓の Expressed Sequence Tag 解析

鮫島史朗、鶴木陽子、杣本智軌、中尾実樹

九州大学大学院 農学研究院

Expressed sequence tag analysis of kidney and spleen from ginbuna crucian carp,

*Carassius auratus langsdorfii*

Shiro Sameshima, Yoko Kato-Unoki, Tomonori Somamoto, Miki Nakao

Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University

### 【目的】

ギンブナは自然界で雌性発生を行うことから、幾つかのクローン系統を容易に樹立することができ、獲得免疫応答における細胞性免疫の解析に非常に有用である。しかし、ゼブラフィッシュなどに比べ、ギンブナには遺伝子配列の情報が少ないという欠点がある。そこで、その欠点を補うために本研究ではギンブナの遺伝子配列の情報の充実を図ることを目的として EST 解析を行った。

### 【方法】

ギンブナ 8 尾（魚体重約 20 g）に、Crucian hematopoietic necrosis virus（1 尾あたりに  $4 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>）を腹腔内注射し、1 日後及び 4 日後の 4 尾ずつから頭腎、体腎、及び脾臓を摘出し、mRNA を精製した。この mRNA より、ZAP-Express ベクターを用いて一方向性の cDNA ライブラリ（ $3.5 \times 10^5$  CFU）を構築し、プラスミド変換後、ランダムに選択した約 1300 クローンについて 5'側から塩基配列を決定した。これらを NCBI の BLASTX で相同性検索にかけ、遺伝子を推定した。また、いくつかの免疫関連遺伝子については、RACE-PCR 法により全長配列を決定し、分子系統解析を行った。

### 【結果】

解読した 1285 クローンより、656 のシングルトン、203 のコンティグが得られた。この内、相同性を示す遺伝子を KEGG Orthology System により機能分類した結果、Cellular Processes（20%）、Genetic Information Processing（20%）、Metabolism（16%）、Cellular Processes and Signaling（8.5%）、Environmental Information Processing（5%）、Human Diseases（0.3%）、Unclassified（29%）の機能カテゴリーに分類された。また、推定免疫関連遺伝子は 112 クローン見つかった。抗原提示関連遺伝子では MHC class I、MHC class II、補体関連遺伝子では factor B/C2-A2、C3-H1、C6、C9、その他にも CD48、CD11-1、CD63、CD80、ly6 などが見つかった。この中には、魚類ではギンブナで初めて見つかった遺伝子も含まれている。

### 【結論】

これまでの解析により、112 クローンの推定免疫関連遺伝子を得ることができた。今後はさらに多くのクローンの解析を行い、その際にはサブトラクション法等による免疫関連遺伝子の濃縮も試みたい。

## A5 クローンギンブナ由来細胞株における MHC クラス I による抗原提示機構関連遺伝子のクローニング

柚本智軌<sup>1</sup>、占部慎二<sup>1</sup>、鮫島史朗<sup>1</sup>、中西照幸<sup>2</sup>、中尾実樹<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>九州大学大学院農学研究院、<sup>2</sup>日本大学生物資源科学部)

### cDNA cloning of MHC class I and MHC-related genes in a cell line from clonal ginbuna crucian carp

Tomonori Somamoto<sup>1</sup>, Shinji Urabe<sup>1</sup>, Shiro Sameshima<sup>1</sup>, Teruyuki Nakanishi<sup>2</sup>, Miki Nakao<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University,

<sup>2</sup>Department of Veterinary medicine, Nihon University

【目的】我々は、硬骨魚類における MHC class I 拘束性の細胞障害 T 細胞の存在を明らかにするため、クローンギンブナ及びそれら由来の細胞株を用いてウイルス感染細胞に対する細胞障害活性の測定系を確立した<sup>[1,2]</sup>。ウイルス抗原で感作したギンブナのリンパ球は、同系魚由来のウイルス感染細胞株を認識するがアロの感染細胞株は認識できないことから、魚類においても MHC class I 拘束性の細胞障害 T 細胞の存在が示唆されている<sup>[1]</sup>。しかしながら、各系統のギンブナの MHC class I 遺伝子の解析は殆ど行われていないため、ギンブナリンパ球の抗原認識に MHC class I 分子が関与しているという証拠はない。そこで、本研究では、標的細胞株として有用なギンブナ鱒由来細胞株から MHC class I による抗原提示機構に関与する分子の cDNA クローニングを試みた。

【方法】魚類で既知の MHC class I,  $\beta 2m$ , Ubiquitin, Proteasome, Tapasin, Stat, LMP のアミノ酸配列をもとに縮重プライマーを設計した。また、諏訪湖産ギンブナ (S3n 系統) 由来の EST クローンで得られた MHC class I の配列をもとに特異プライマーを作製した。S3n 系統ギンブナ由来鱒細胞株 (CFS) から total RNA を抽出し、1st strand cDNA を合成した。得られた cDNA をテンプレートとし、RACE 法により

MHC class I 等の cDNA を増幅した。増幅産物をサブクローニングし、塩基配列を決定した。また、S3n 系統ギンブナの各臓器 (脳、鰓、腸、胸腺、心臓、筋肉、脾臓、肝臓、頭腎、体腎、卵巣、末梢血白血球) 及び CFS 細胞から RNA を抽出し、逆転写反応後、RT-PCR にて MHC 等の RNA 発現解析を行った。

【結果】コイ科の MHC class I-UFA, -ZE, -ZA と高い相同性を持つ 3 種類のギンブナ MHC class I (*caau-UFA-S3n*, *caau-ZE-S3n*, *caau-ZA-S3n*) の塩基配列を明らかにした。これら 3 種の MHC class I mRNA は、CFS 細胞及びほぼすべての臓器で発現していたが、卵巣において、*caau-ZE-S3n* は他の臓器と比較し強く発現している一方で、*caau-ZA-S3n* は発現していなかった。また、ギンブナの  $\beta 2m$ 、Ubiquitin, Proteasome, Tapasin, Stat, LMP の塩基配列を決定した。CFS 細胞から MHC class I による抗原提示関連遺伝子がクローニングされたことから、CFS 細胞は MHC class I による抗原提示機構を備えていることが示唆された。

#### 【参考文献】

1. Somamoto *et al.*, (2002) *Virology*, 297:120-7.
2. Somamoto *et al.*, (2006) *Virology*, 348:370-7.

## A6 コイの個体発生における補体成分アイソタイプの発現解析

大蔵千恵<sup>1</sup>、柚本智軌<sup>1</sup>、近藤昌和<sup>2</sup>、中尾実樹<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>九州大学大学院農学研究院, <sup>2</sup>水産大学校生物生産学科

### Expression analysis of complement component isotypes during early development of the common carp.

Chie Okura<sup>1</sup>, Tomonori Somamoto<sup>1</sup>, Masakazu Kondo<sup>2</sup>, Miki Nakao<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University, <sup>2</sup>Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University

#### 【目的】

硬骨魚類の補体系は、哺乳類に匹敵する数の成分から構成され、その多くの遺伝子が多重化しているという特徴を持つが、補体成分多重化の魚類にとっての生物学的な意義は不明である。そこで本研究では、各補体成分についてアイソタイプ間の機能的差異を遺伝子発現の面から解明するために、コイを実験魚として用い、個体発生における補体成分アイソタイプの発現をリアルタイム PCR で解析した。

#### 【材料と方法】

受精 0~70 時間後 (hpf) および 4~49 日後 (dpf) のコイ受精卵、胚、仔魚および稚魚から ISOGEN を用いて total RNA を抽出し、1st strand cDNA を合成した。得られた cDNA をテンプレートとして各アイソタイプの発現をリアルタイム PCR で定量し、個体発生における発現変動を比較・検討した。なお、各遺伝子の発現量は 40S リボソーム S11 サブユニットの発現量を基に標準化し、同一のテンプレートで作成した検量線を用いて相対定量した。

#### 【結果】

(1) C1r/s: C1r/s-B の発現は C1r/s-A よりも早く 66 hpf から認められたが、C1r/s-A の発現は 6 dpf から急上昇し、7 dpf 以降は C1r/s-B の発現量を上回った。(2) B 因子/C2: B/C2-A1, -A3, -B の有意な発現が 42 hpf から始まったのに対し、B/C2-A2 の発現開始は 70 hpf 頃であった。また、6dpf から B/C2-A3 発現量の増加が際立った。(3) C3: C3-H2 は 0 hpf

から発現しており、以後、26 hpf から発現し始めた C3-H1 とともに増減を繰り返した。50 hpf から C3-Q1、5 dpf から C3-S の発現が増加し始め、42 dpf 以降は C3-Q1 の発現量が C3 アイソタイプの中で最大となった。(4) C4: C4-2 の発現が 42 hpf から増加し始めたのに対し、C4-1 の発現は 5 dpf から始まり、その後急上昇して 7 dpf 以降は C4-2 の発現量を上回った。(5) C5: C5-1 の発現は 42 hpf から認められたのに対し、C5-2 は 5 dpf から発現し始め、その後急上昇して 7 dpf 以降は C5-1 の発現量を超えた。(6) I 因子: 0 hpf で既に If-A, If-B ともに有意な発現レベルを示したが、42 hpf 以降は If-B の高い発現が維持される一方、If-A レベルは低下した。(7) 42 hpf から C6-C9 全成分の発現が増加し始め、70 hpf 以降は特に C6 の増加が目立った。

なお、解析した成分の多くについて、約 54 hpf (ふ化までおよそ半日程度の時点) で発現レベルが一旦低下する現象が認められた。

#### 【結論】

多くの補体成分について、アイソタイプ間で個体発生における発現時期および発現量が異なった。また、C3-H2, If-A, If-B などのアイソタイプは 0~18 hpf という非常に早い発生段階から高発現しており、感染防御以外の生理的役割(形態形成など)を担っている可能性が示唆された。今後、in situ hybridization などを利用して発現部位を決定し、初期発生における補体成分の機能を解明したい。

## A7 ランダムミュータジェネシスによる STAT4 欠損メダカの作製

吉浦康寿<sup>1</sup>、谷口善仁<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>京都大学大学院医学研究科・放射線遺伝学分野

Generation of medaka (*Oryzias latipes*) STAT4 gene knockout by target-selected mutagenesis.

Yasutoshi Yoshiura<sup>1</sup>, Yoshihito Taniguchi<sup>2</sup>, Mitsuru Ototake<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Department of Radiation Genetics, Kyoto University

### 【目的】

魚類は哺乳類と相同な免疫機構を持つ脊椎動物であり、免疫系を制御する生体分子も、哺乳類と同様な機能および役割を果たしていると考えられる。哺乳類では、インターロイキン-12 (IL-12) のシグナル伝達経路において Signal Transducers and Activators of Transcription 4 (STAT4) は中心的な役割を果たし、STAT4 欠損マウスでは IL-12 の作用による 1 型ヘルパー T リンパ球 (Th1 細胞) への分化誘導が阻害される。Th1 細胞は主としてインターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) を産生し、マクロファージの活性化を介して細胞内寄生病原体を排除する。そこで本研究では、演者らが発見した魚類における IL-12 が、哺乳類と同様な作用機序を有し、相同な機能を有するか否かを明らかにするため、ランダムミュータジェネシスにより STAT4 欠損メダカを作製することを目的とした。

### 【材料と方法】

哺乳類では、遺伝子の機能解析法として、ES 細胞株を用いたジーンターゲティング法による遺伝子欠損が確立されている。一方、魚類では ES 細胞株が樹立されておらず、ジーンターゲティング法は今のところ不可能である。しかし魚類では多産であるという哺乳類にはない形質を有するため、逆遺伝学的アプローチによる大規模ミュータジェネシスが機能解析法として有効である。近年

メダカとゼブラフィッシュでは、遺伝子欠損のスクリーニングが可能な変異体ライブラリーが作製されている<sup>[1]</sup>。そこで、この変異体メダカライブラリー (F1 雄 6000 尾) について、STAT4 遺伝子のゲノム DNA を解析した。

### 【結果】

STAT4 遺伝子の DNA 解析の結果、1 個体にスプライス変異 (mRNA 成熟が異常になる変異) を、8 個体にミスセンス変異 (他のアミノ酸をコードようになる変異) を見つけることができた。機能欠損が期待されるスプライス変異については、凍結保存されていたこの個体の精子を通常卵と人工授精し、変異をヘテロに持つ個体を作製した。さらに、ヘテロ個体同士を交配し、変異をホモに持つ個体を作製し、現在飼育中である。

### 【結論】

メダカ変異体ライブラリーをスクリーニングした結果、STAT4 遺伝子の機能欠損が期待されるスプライス変異個体を見つけることができた。今後は、このスプライス変異をホモに持つ個体を用いて、IL-12 のシグナル伝達経路により誘導される IFN- $\gamma$  の遺伝子発現に及ぼす影響を解析する。

### 【参考文献】

1. Taniguchi Y et al. (2006) *Genome Biol*, 7(12):R116

ギンブナ **Perforin** 遺伝子におけるアイソタイプの構造及び発現解析

小西麻理子<sup>1</sup>、荒木亨介<sup>2</sup>、瀧澤文雄、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>鹿児島大学水産学部、<sup>3</sup>水産総合研究センター養殖研究所

**Molecular characterization and expression analysis of Perforin from ginbuna crucian carp,  
*Carassius auratus langsdorfii***

Mariko Konishi<sup>1</sup>, Kyosuke Araki<sup>2</sup>, Fumio Takizawa<sup>1</sup>, Mitsuru Ototake<sup>3</sup>, Tadaaki 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> Department of Fisheries, Kagoshima University, <sup>3</sup> National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency

## 【目的】

Perforin は細胞障害性 T 細胞による細胞傷害活性におけるエフェクター分子として重要である。本研究では、魚類の細胞性免疫機構解明のため、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より Perforin 遺伝子を単離し、未感作個体の各組織における発現解析を行うとともに、アロ抗原感作後の白血球および鱗移植部位における発現動態について解析した。

## 【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 Perforin 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 法により、各臓器別に後述する 3 つの Perforin 遺伝子のアイソタイプ毎に発現解析を行なった。アロ抗原感作については、異系統クローン間で鱗移植(S3N→OB1)を行った後鱗移植部位における perforin 遺伝子の発現動態について解析するとともに、鱗移植により感作した個体(OB1)の腎臓白血球をさらに異系統のクローン(S3N)に由来する株化細胞(CFS)と共培養を行った後発現解析を行った。

## 【結果】

ギンブナの Perforin には 3 つのアイソタイプ (Pfn-1、Pfn-2 及び Pfn-3)が存在することが明らかとなった。系統樹解析より、Pfn-1 はヒラメの Perforin、Pfn-3 は哺乳類のそれに近いことが示された。未刺激組織における発現解析の結果、Pfn-1 は末梢血、Pfn-2 は脳、脾臓及び鰓、Pfn-3 は体腎において発現が認められた。また、アロ抗原刺激後の鱗移植部位及び白血球における perforin 遺伝子の発現動態の解析の結果、同系統内における鱗移植に比べ、異系統クローンの鱗を移植した個体の鱗移植部位では、Pfn-1 のみ強い発現が見られた。一方、in vitro においてアロ抗原刺激を行った腎臓白血球では、培養に伴い Pfn-1 及び Pfn-2 の発現が抑制される傾向が認められた。

## 【結論】

ギンブナの Perforin 遺伝子は各アイソタイプ間で発現組織が異なるとともに、アロ抗原刺激後の発現様式もお互いに異なることがわかった。これらのことから、ギンブナの Perforin 遺伝子は各アイソタイプ間において発現調節機構に違いがあると考えられる。

三浦正晴<sup>1</sup>, 末武弘章<sup>1</sup>, 荒木亨介<sup>2</sup>, 吉浦康寿<sup>3</sup>, 菊池潔<sup>1</sup>, 鈴木謙<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科附属水産実験所, <sup>2</sup> 鹿児島大学水産学部,

<sup>3</sup> 養殖研究所・病害防除部

**Expression and functional analyses of interleukin-2 in fugu, *Takifugu rubripes*.**

Masaharu Miura<sup>1</sup>, Hiroaki Suetake<sup>1</sup>, Kyosuke Araki<sup>2</sup>, Yasutoshi Yoshiura<sup>3</sup>, Kiyoshi Kikuchi<sup>1</sup>, Yuzuru Suzuki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fisheries laboratory, Graduate School of Agricultural and Life Science, The University of Tokyo,

<sup>2</sup> Faculty of Fisheries, Kagoshima University,

<sup>3</sup> Aquatic Animal Health Division, National Research Institute of Aquaculture

**【目的】**

魚類ではサイトカインの特性や機能についての詳細な解析が進んでいない。本研究では、魚類におけるサイトカインの機能解明の一助として、免疫細胞の増殖・活性化に関わる主要なサイトカインである interleukin(IL)-2 に関して、末梢血白血球 (PBL) を用いて免疫応答パターンを解析するとともに、組換え IL-2 が PBL に与える効果を調べた。

**【材料と方法】**

体重 1kg 前後のトラフグより採血し、パーコール密度勾配遠心法によって PBL を分離した。まず、トラフグ IL-2 遺伝子の免疫応答時における発現パターンを明らかにするため、*in vitro* で PHA 刺激した PBL における IL-2 遺伝子の発現量を Real-Time-PCR で調べた。次に、IL-2 合成制御機構を明らかにするため、哺乳類において IL-2 遺伝子の転写を誘導するカルシニューリンを阻害するシクロスポリン A (CsA) の存在下で PBL を 3 時間培養し、IL-2 遺伝子の発現量を上記と同様にして調べた。また、IL-2 の機能を明らかにするため、昆虫細胞を用いて作製した組換えトラフグ IL-2 (rIL-2) が PBL の増殖に及ぼす影響を BrdU 試験によって調べた。

**【結果】**

PBL における IL-2 遺伝子の発現量は PHA 刺激後 3 時間でピークに達し、12 時間後では検出限界以下となった。このことは、魚類でも哺乳類と同様に IL-2 は PBL で産生されて、極めて急性な応答を示した。CsA を用いた合成阻害実験の結果、CsA 濃度依存的に PBL における IL-2 遺伝子の発現量が低下したことから、魚類においても IL-2 はカルシニューリンを介した系により転写レベルで制御されていることが示唆された。さらに、BrdU 試験の結果、rIL-2 は濃度依存的に PBL の増殖を促すことから、トラフグ IL-2 は PBL の増殖を促すこと示された。このことから、IL-2 は PBL から産生され、自身の増殖を促していることが示唆された。

**【結論】**

魚類の IL-2 は構造的には哺乳類などの IL-2 と極めて相同性が低いものの、免疫刺激に対する応答、合成機構およびその機能はよく保存されていることが示された。このことは、IL-2 が免疫系の制御因子として進化の初期の段階から重要な存在であることを示している。

## トラフグ B7 ファミリー分子の同定

菅又龍一、末武弘章、菊池潔、鈴木譲  
 東京大学大学院農学生命科学研究科附属水産実験所

Molecules of the B7 family in fugu, *Takifugu rubripes*.

Ryuichi Sugamata, Hiroaki Suetake, Kiyoshi Kikuchi, Yuzuru Suzuki

Fisheries Laboratory, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

## 【目的】

哺乳類において、抗原提示細胞の膜上に発現する共刺激分子 B7 ファミリーは、抗原提示に伴い T 細胞に対して共刺激を与えることで、その活性化を制御する重要な分子群である<sup>1</sup>。一方、魚類では抗原提示細胞は、未だ同定されていない。そこで我々は、魚類の獲得免疫系の活性化に関わる抗原提示細胞およびその活性化機構を明らかにするために、トラフグにおける B7 ファミリーの発現解析と機能解析を目指した。

## 【材料と方法】

トラフグゲノムデータベースから得られた哺乳類の B7 分子に相同な DNA 配列をもとに、トラフグを材料とした RACE 法による cDNA クローニングを行った。同定したトラフグの B7 ホモログ (B7-H) 群の遺伝子について、様々な組織において RT-PCR 法による発現解析を行った。次に、これら B7-H 分子それぞれに対する抗血清を作製し、トラフグ末梢白血球 (PBL) から単離した単球リッチな細胞集団に、LPS 刺激を与えた際の、細胞表面における B7-H の発現をフローサイトメトリーにより解析した。さらに、昆虫細胞を用いて各 B7-H とヒト IgG1 の Fc 領域との融合組換え体 (B7-H-Fc) を作製し、PHA 刺激した PBL 由来の T 細胞リッチ細胞集団との結合性を、フローサイトメトリーを通して解析した。

## 【結果】

トラフグ B7-H をコードする 3 種類の cDNA、B7-H1/DC、B7-H3、B7-H4 をそれぞれ単離した。

シンテニー解析や分子系統樹による解析からも、これらと哺乳類遺伝子とのオーソログ関係が支持された。B7-H 群の遺伝子の発現は、頭腎、体腎、脾臓などのリンパ組織のほか、皮膚や鰓などの粘膜組織で認められ、B7-H 分子群が魚類においても免疫系に関わる分子である可能性が示された。各 B7-H 分子に対する抗血清を用いたフローサイトメトリーによる解析から、PBL 由来の単球における B7-H 分子の発現は、LPS 刺激により誘導されることが明らかになった。さらに組換え体 B7-H-Fc タンパク質の、T 細胞リッチ細胞集団への結合は、PHA で刺激した時においてのみ認められ、B7-H に対する受容体が、PHA 刺激により細胞表面に誘導されることが示唆された。

## 【結論】

以上、本研究において魚類で初めてトラフグにおける 3 種類の B7-H 分子の存在を明らかにし、この分子が単球-T 細胞間の相互作用に関わることを示すことができた。

## 【参考文献】

1. Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH (2005) Annu Rev Immunol, 23:515-48

筒井 繁行, 中村 修, 渡邊 翼  
北里大学 水産学部

### Lamprey IL-17

Shigeyuki Tsutsui, Osamu Nakamura, Tasuku Watanabe  
School of Fisheries Science, Kitasato University

#### 【目的】

最も原始的な脊椎動物である円口類は獲得免疫系を欠くとされており、免疫系の進化や生体防御因子の起源を考える上で、極めて興味深い対象である。それゆえ、近年、円口類の全身免疫系に関する知見が急速に増えているが、病原生物の侵入に対する最初の防衛ラインである、体表での防御機構に関する研究はほとんどない。

水という環境は微生物の生存や伝播に適しているにもかかわらず、魚類や円口類の皮膚はケラチンに乏しく、脆弱である。そのため彼らは、哺乳類の消化管や肺と同様に、皮膚を粘液で覆うことで、微生物の侵入に備えている。我々は、粘膜免疫系の起源についての知見を得るため、感染時に円口類ヤツメウナギ *Lampetra japonica* の皮膚において発現量が増加する遺伝子について、サブトラクション法を用いた網羅的解析を進めている。その過程で、前炎症性サイトカインであるヤツメウナギ IL-17 遺伝子の同定に成功したので、その性状について報告する。

#### 【材料と方法】

ヤツメウナギより皮膚細胞を単離した後、二群に分け、LPS 存在下および非存在下でそれぞれ6時間培養した。RNA を抽出した後、サブトラクション法を用いて、LPS 刺激によって発現量が増加した RNA 由来の cDNA テンプレートを作製し、約 100 クローンのプラスミドについて塩基配列を解析した。BLAST 解析により他種の IL-17 との類似性が示された配列を基にプライマーを作製し、RACE 法を用い

てヤツメウナギ IL-17 の全塩基配列を決定した。

サザンブロットを行いヤツメウナギ IL-17 遺伝子のコピー数を解析するとともに、RT-PCR による発現組織解析を行った。また、*in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて、皮膚での IL-17 産生細胞を調べた。加えて、LPS 刺激による皮膚での IL-17 遺伝子の発現変動を、リアルタイム PCR により解析した。

#### 【結果】

ヤツメウナギ IL-17cDNA は 1143 bp から成り、173 残基のタンパク質をコードしていた。この演繹アミノ酸配列は、魚類および哺乳類の IL-17 と 18-29% の同一性を示した。系統樹を作製したところ、ヤツメウナギ IL-17 は 6 種の IL-17 サブファミリーのうち、特に IL-17D に分類されることが示唆された。

サザンブロットにより、本遺伝子がシングルコピーであることが示された。この遺伝子は恒常的に腎臓、鰓、腸および皮膚で発現しており、皮膚においては、基底膜上皮細胞での産生が認められた。リアルタイム PCR を行ったところ、LPS によって本遺伝子の発現量が増加する傾向が認められた。

#### 【結論】

ヤツメウナギ皮膚細胞より、円口類では 3 例目となるサイトカイン、IL-17 遺伝子の単離に成功した。本研究の成果は、最も原始的な脊椎動物である円口類の体表にも、IL-17 を含むサイトカインネットワークが存在していることを示唆している。

一般演題 : B1 ~ B4

## B1 トラフグ CD79a、CD79b 遺伝子のクローニングと発現解析

佐藤 雅寿<sup>1,2</sup>、宮台俊明<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 福井県大・海洋生物工学研究室、<sup>2</sup> 福井県大臨海研究センター

cDNA cloning and expression of CD79a and CD79b genes of fugu, *Takifugu rubripes*

Masatoshi Sato<sup>1,2</sup>, Toshiaki Miyadai<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Marine Biotechnology, Fukui Prefectural University, <sup>2</sup>Research Center for Marine Bioresources, Fukui Prefectural University

【目的】魚類の B 細胞は腎臓で造血幹細胞から分化し、免疫グロブリン (Ig) 遺伝子の遺伝子再編成を行なう。その後は血液循環を経て腎臓に戻り、形質細胞へと分化するという説が提唱されている<sup>(1)</sup>。しかし、B 細胞マーカーを指標にした追跡は行なわれていないため、B 細胞の分化過程は明確に示されているわけではない。B 細胞レセプター (BCR) のコレセプター CD79a、CD79b は、哺乳類ではプロ B 細胞から成熟 B 細胞の細胞表面に発現している。プロ B 細胞と小型プレ B 細胞には細胞表面 Ig (sIg) が発現していない。また、大型プレ B 細胞には Ig 軽鎖が発現していないため、これらの細胞は sIg<sup>-</sup>CD79<sup>+</sup>であり、sIg<sup>+</sup>CD79<sup>+</sup>の未熟・成熟 B 細胞とは区別される。本研究では、CD79a、CD79b をマーカーとして利用し、トラフグ (*Takifugu rubripes*) の末梢血 B 細胞の分化段階の推定を試みた。

【材料と方法】トラフグ CD79a、CD79b の予測アミノ酸配列を元に、BLAST 検索を行なったところ、それぞれ Scaffold-673 と Scaffold-134 上に相同性の高い配列が存在していた。予測された mRNA 配列上にプライマーを設計し、このプライマーを用いて 3'RACE、5'RACE を行った。その結果判明した非翻訳領域にプライマーを設計し、コード領域全長を PCR によって増幅した。得られた PCR 産物のシーケンス結果からトラフグ CD79a、CD79b の mRNA 配列を決定した。トラフグ末梢血白血球 (PBL) を、培養プレートに吸着する細胞 (吸着細胞) と吸着しない細胞 (非吸着細胞) に分離した。抗トラフグ IgM モノクローナル抗体 4H5<sup>(2)</sup> を用いて磁気細胞分離法 (MACS) を行い、sIg<sup>+</sup>細胞と sIg<sup>-</sup>細胞に分離した。それぞれの細胞の CD79a と CD79b の mRNA の発現解析を行った。

【結果】CD79a は全長 666 bp (221 アミノ酸)、CD79b は全長 597 bp (198 アミノ酸) であった。それぞれの細胞外領域には Ig 様ドメインがあり、細胞内領域にはシグナル伝達に關与する ITAM の配列が保存されていた。膜貫通領域と細胞内領域では種間の保存性が比較的高かった。CD79a と CD79b の発現解析の結果、両者とも非吸着細胞でのみ発現が見られたことから、リンパ球で発現していると推測された。sIg<sup>+</sup>細胞と sIg<sup>-</sup>細胞に CD79a、b の発現が見られ、両細胞間で発現量に差はなかった。このことから、PBL には sIg<sup>+</sup>CD79<sup>+</sup>の未熟 B 細胞から成熟 B 細胞まで存在することが示唆された。また、sIg<sup>-</sup>CD79<sup>+</sup>細胞が存在していたことから、末梢血中には未熟・成熟 B 細胞以外の細胞が存在する可能性が示された。

【結論】トラフグ末梢血の sIg<sup>+</sup>と sIg<sup>-</sup>細胞のどちらにも CD79 が発現していた。sIg<sup>+</sup>は未成熟 B 細胞・成熟 B 細胞と考えられるため、CD79 は哺乳類 B 細胞と同様に抗原刺激のシグナル伝達に關わっていると考えられる。sIg<sup>-</sup>細胞分画中に CD79<sup>+</sup>細胞が存在していたことから、トラフグの末梢血にはプロ・プレ B 細胞が存在している可能性がある。あるいは、B 細胞系列以外の細胞に発現している可能性も拭えないため、今後は抗 CD79 抗体および他の細胞マーカーを用いて、CD79<sup>+</sup>細胞の特定を試みる。

### 【参考文献】

1. Zwollo, et al., (2005) J Immunol, 174: 6608-16.
2. Miyadai, et al (2004) Fish & Shellfish Immunol, 17: 211-222.

宮台俊明<sup>1,2</sup>、高田 綾<sup>1,2</sup>、中上 元<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>福井県大・海洋生物学研究室、<sup>2</sup>福井県大臨海研究センター

**Production of G-type lysozyme by B-cells of fugu, *Takifugu rubripes***

Toshiaki Miyadai<sup>1,2</sup>, Aya Takada<sup>1,2</sup>, Hajime Nakagami

<sup>1</sup>Laboratory of Marine Biotechnology, Fukui Prefectural University, <sup>2</sup>Research Center for Marine Bioresources, Fukui Prefectural University

【目的】我々は以前トラフグのC型リゾチームとG型リゾチームの遺伝子をクローニングした。C型リゾチームは肝臓の胆汁分泌細胞で発現していた。一方、G型リゾチームは肝臓を除く多くの組織で強い発現が見られた。しかし、発現細胞は特定していなかった。リゾチームはトリの卵管管状細胞やマウスの腸管パネート細胞など特殊な細胞でも産生されるが、他の組織ではマクロファージがリゾチームを産生している。そのため、トラフグG型リゾチームもマクロファージあるいは単球で産生されていると推測される。そこで、G型リゾチームを発現している細胞を確認するため、末梢白血球を分画してリゾチーム遺伝子の発現解析を行なった。

【材料と方法】トラフグの静脈洞から採血し、遠心分離後、白血球分画を回収した。55%パーコール上に重層して2,800 x g 30分間の遠心分離後、パーコール上の細胞を回収し、白血球分画(PBL)とした。PBLに2%FBS含IMDM(0.06 M NaCl添加)を加えて、プラスチックシャーレに入れ、2時間静置したのち、非附着細胞と附着細胞とを分離した。非附着細胞から、抗トラフグIgMモノクローナル抗体(4H5)に結合する細胞(sIg<sup>+</sup>細胞)とsIg<sup>-</sup>細胞を磁気ビーズ分離法(MACS)によって分離した。細胞の分離度はフローサイトメトリーにより判定した。細胞の超薄切片を作成し、透過電子顕微鏡により細胞の形態を観察した。これらの細胞からRNAを抽出し、RT-PCRによりmRNAを検出した。リアルタイムPCR法によりmRNA量を測定した。リゾチーム活性はライソプレートアッセイによって測定した。

【結果】RT-PCRによると、PBLにはG型リゾチーム

は発現していたが、C型リゾチームは発現していなかった。PBLを附着細胞と非附着細胞とに分け、G型リゾチームの発現量をリアルタイムPCRで測定したところ、非附着細胞のほうが約10倍高い発現量を示した。そこで、抗トラフグIgMモノクローナル抗体を用い、MACSによって非附着細胞をsIg<sup>+</sup>細胞とsIg<sup>-</sup>細胞とに分離し、G型リゾチームの発現量を比較した。その結果、sIg<sup>+</sup>細胞には発現がみられたが、sIg<sup>-</sup>細胞には認められなかった。sIg<sup>+</sup>細胞分画を電子顕微鏡で観察したところ、多くはリンパ球の構造を示した。小数の形質細胞も観察された。全PBLをsIg<sup>+</sup>細胞とsIg<sup>-</sup>細胞に分離して磨砕し、磨砕液のリゾチーム活性を測定したところ、両者に強い活性が認められた。リコンビナントG型リゾチームも同じ測定条件で活性があったことから、sIg<sup>+</sup>細胞のリゾチーム活性はG型リゾチームによるものと考えられる。

【結論】sIg<sup>+</sup>がリンパ球の構造を示したことから、この細胞はB細胞であると考えられる。B細胞がリゾチームを発現していることを示したのは本研究が初めてである。リゾチームを発現していることに加え、食食活性を示す<sup>1)</sup>ことから、魚類B細胞はミエロイド系細胞の性状を保持していることが示唆される。トラフグの血清中には強いリゾチーム活性が存在するが、この活性がG型リゾチームであるかどうかは明らかにされていない。B細胞が血清リゾチームを分泌していると考えられるが、抗リコンビナントリゾチーム抗体を用いて明らかにする必要がある。

【参考文献】

1. Li et al., (2006) Nat Immunol, 7: 1116-1124.

## B3 ギンブナ CD4 に対するモノクローナル抗体の特性解明

齋藤 泰孝<sup>1</sup>、瀧澤 文雄<sup>1</sup>、荒木 亨介<sup>1</sup>、戸田 秀明<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>3</sup>九大・農学研究院、<sup>4</sup>東大・院農、<sup>5</sup>養殖研

### Characterization of monoclonal antibody against CD4 in clonal ginbuna crucian carp

Yasutaka saito<sup>1</sup>, Fumio Takizawa<sup>1</sup>, Kyosuke Araki<sup>1</sup>, Hideaki Toda<sup>1</sup>, Tomonori Somamoto<sup>2</sup>,  
Hiroaki Suetake<sup>3</sup>, Yuzuru Suzuki<sup>3</sup>, Mitsuru Ototake<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】

モノクローナル抗体(MAb)は、免疫細胞の同定・分離や機能の解明において極めて重要な役割を果たしている。しかし、魚類においてはB細胞に対するMAbは多くの魚種で得られているが、T細胞に対するMAbは数種のみで、T細胞サブセットに対するMAbは魚類では未だ報告がない。最近、我々のグループでは、細胞性免疫研究の優れたモデルとなっているクローンギンブナにおいて、細胞傷害性T細胞の表面マーカーであるCD8に対するMAbの作製に成功している。そこで本研究では、ヘルパーT細胞に特異的に発現するCD4に対するMAbの作製および特性解明を行った。

#### 【材料と方法】

①CD4 安定発現細胞株(CD4/NRK)の作製：マウス Ig<sub>κ</sub> 鎖の signal peptide、hemagglutinin(HA)、およびギンブナ CD4 を含む pMX vector を作製し、retrovirus vector に組み込み、ラット腎臓線維芽細胞(NRK)を用いて、CD4/NRK を作製した<sup>1)</sup>。②ギンブナ CD4 に対する MAb の作製：CD4/NRK をラットに免疫後、リンパ節から抗体産生細胞を採取し、ミエロマ細胞と融合を行った。一次スクリーニングでは、FACS 解析により NRK には反応せず、CD4/NRK に反応するハイブリドーマを選択した。二次スクリーニングでは、さらに胸腺細胞と反応するものを選び、クローニングを行った。③CD4MAb の特性解明：ギンブナ各組織における MAb の陽性細胞の割合を知るため、胸腺、末梢血、脾臓および腎臓の白血球について、FACS 解析を行った。また得られた CD4MAb の特異性を明らかにするために CD8/NRK

との反応性について検討した。さらに、B細胞との反応性を明らかにするために頭腎白血球について抗ギンブナ IgM 抗体(B12)を用いた二重染色を行った。

#### 【結果および考察】

①CD4/NRK におけるギンブナ CD4 分子の発現を検討するために、抗 HA 抗体を用いて FACS 解析を行った。その結果、全ての CD4/NRK においてギンブナ CD4 が細胞表面に発現していることが確認できた。②スクリーニングおよびクローニングによって、4 つの特異抗体産生ハイブリドーマが得られ、そのうち MAb9F1 が最も強い反応を示した。③ギンブナの各組織について腎臓、胸腺、脾臓および末梢血のリンパ球分画における MAb9F1 陽性細胞の割合は、それぞれ約 22%、19%、10%、4%であった。MAb9F1 は CD8/NRK に反応を示さず、二重染色において、MAb9F1 陽性細胞は IgM 陰性を示した。以上、今回作製された MAb は、NRK 細胞、CD8 を発現している NRK 細胞には反応せず、CD4 を発現している NRK 細胞にのみ反応すること、腎臓細胞、胸腺細胞に対し顕著に反応すること、および B 細胞とは異なるリンパ球集団を認識したことから、ギンブナ CD4 を認識している可能性が示された。

#### 【参考文献】

文献 1) Kitamura T, Koshino Y, Shibata F, Oki T, Nakajima H, Nosaka T, Kumagai H. (2003) Retrovirus-mediated gene transfer and expression cloning: powerful tools in functional genomics. *Exp Hematol.* 31(11):1007-14.

## B4 パイエル板におけるファブリキウス嚢非依存的な抗体の多様性獲得

鳥山 悠子<sup>1</sup>, 岡崎 優利<sup>1</sup>, 福島 祐二<sup>1</sup>, 堀内 浩幸<sup>1,2</sup>, 松田 治男<sup>1,2</sup>, 古澤 修一<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>広島大学大学院・生物圏科学研究科・免疫生物学研究室, <sup>2</sup>広島バイオメディカル

### Independent immunoglobulin diversification in embryonic chicken Payer's patch from bursa of Fabricius.

Yuko Toriyama<sup>1</sup>, Yuri Okazaki<sup>1</sup>, Yuji Fukushima<sup>1</sup>, Hiroyuki Horiuchi<sup>1,2</sup>, Haruo Matsuda<sup>1,2</sup>, Shuichi Furusawa<sup>1,2</sup>,  
<sup>1</sup>Laboratory of Immunobiology, Department of Molecular and Applied Bioscience, Hiroshima University,  
<sup>2</sup>Hiroshima Bio-Medical Co.Ltd

#### 【目的】

ニワトリのB細胞はファブリキウス嚢(BF)で分化し、抗体レパトリーの多様性を獲得することが知られているが、BF外で抗体の多様性がおこっている可能性も示唆されている。BF外分化の場を検討する目的で、ニワトリ小腸に存在するパイエル板(PP)に焦点を当て、胚時期のPPにおける抗体多様性獲得機構の存在の有無を解析した。

#### 【材料と方法】

胚へのプロピオン酸テストステロン(TP)の投与により、BFリンパ濾胞の形成が阻害されることが知られている。そこで11日胚にTPを投与し、BF濾胞形成が抑制された個体を免疫組織化学的染色で確認し、実験に使用した。TP処理17日胚および19日胚のPPに存在するBF非依存性B細胞についてIg可変領域の多様性を解析・比較検討を試みた。すなわち、BFリンパ濾胞の形成が抑制された個体のPPを含む組織から抽出・精製したゲノムDNAを鋳型としてIgVL鎖及びIgVH鎖の可変領域を増幅した。なお、プライマーはV、J領域の外側に設計した。増幅断片の塩基配列を決定し、その多様性を解析・比較した

#### 【結果】

正常17日胚BF、PPで明らかな遺伝子変換を確認できたクローンの割合は、それぞれ平均し

て79.6%、71.2%であった。一方、TP処理17日胚PPでも、4個体全てで遺伝子変換が観察され、遺伝子変換がおこっているクローンの割合は33.5%と低い値ではあるが遺伝子変換が確認できた。すなわち、ファブリキウス嚢濾胞の存在しない個体でも、PPでIgの遺伝子変換がおこっていた。また、TP処理胚PPと比較して、正常胚PPで遺伝子変換がおこっているクローンの割合が高いことから、正常胚PPにはBFリンパ濾胞が関与するB細胞が含まれると考えられた。つまり、正常胚では、以下の2つの可能性が考えられる。一つは、17日胚以前にBFリンパ濾胞で分化したB細胞がPPへ移行していること。もう一つは、BFリンパ濾胞由来の何らかの因子(パーシン等)が、PPでのB細胞分化に作用している可能性である。

#### 【結論】

以前から、BF以外にB細胞が分化する場の存在が示唆されていたが、今回の実験で、少なくともPPはBF濾胞に非依存性の抗体レパトリー形成の場であることが明らかとなった。

特別講演：SL

## ヒトゲノム解読の生物学・医学へのインパクト

清水信義

慶應義塾大学先導研、GSP センター

## Impacts of Human Genome Analysis on Biology and Medicine

Nobuyoshi Shimizu

GSP Center, The Leading Institute of Keio University

ヒトゲノム解読国際プロジェクトが公式に完了してすでに4年が過ぎた。解読完了とはヒトゲノムを構成する24種類の染色体、合わせて30億塩基対のDNA塩基配列が高い精度で決定され、23,000個の遺伝子が発見されたことに象徴されるが、これら遺伝子の発現調節やつくられるタンパクの生理作用、さらには染色体の特徴的な塩基配列の生物学的意義に関してはほとんど未解明である。従って、徹底したゲノム解析を続行することによって生物学・医学的に重要な新発見が大いに期待できる<sup>1</sup>。

我々慶應大ゲノム解読チームは22番、21番、8番染色体のDNAシーケンシングを完了し、2,000余の遺伝子の発見に貢献した<sup>2-4</sup>。この間、疾患の原因遺伝子として、パーキンソン病のPARKIN、難聴のTMPRSS3、自己免疫疾患のAIRE、ダウン症関連のSIM2などを発見し、マウスモデルを新たに作製して発症の分子機序の解明を進めている<sup>5-8</sup>。一方、生物学的に興味深いRNA干渉に関与するARGONAUTE、GタンパクモジュレーターのSGSMなどを発見し、ファミリーを構成する遺伝子の発現制御とタンパク機能の役割分担などを追究している<sup>9,10</sup>。さらに、既知のモチーフやドメインをもたないタンパクを産生する1,000個のカオナシ遺伝子をヒトゲノム情報から抽出し、メダカの胚発生を活用する機能解明を戦略的に進めている。本講演では、これらの多彩な新規遺伝子・タンパクに関する研究の進捗状況を概説し、新たなヒト生物学・医学へのインパクトを展望する。

<sup>1</sup> 清水信義(2004) ゲノムを極める、講談社 <sup>2</sup>The DNA Sequence of Human Chromosome 22, Nature, 402:489-496 (1999) <sup>3</sup>The DNA Sequence of Human Chromosome 21, Nature, 405:311-319 (2000) <sup>4</sup>DNA Sequence and Analysis of Human Chromosome 8, Nature, 439:331-336 (2006) <sup>5</sup>Deletion Mutation in PARKIN Gene Causes Autosomal Recessive Juvenile Parkinsonism (ARJP), Nature, 392:605-608 (1998) <sup>6</sup> Insertion of  $\beta$ -satellite Repeats Identifies a Transmembrane Protease Causing Both Congenital and Childhood Onset Autosomal Recessive Deafness, Nature Genet., 27:59-63 (2001) <sup>7</sup>Positional Cloning of the APECED Gene, Nature Genet., 17:393-398 (1997) <sup>8</sup> Single-minded and Down Syndrome?, Nature Genet., 10:9-10 (1995) <sup>9</sup> Identification of Eight Members of the Argonaute Family in the Human Genome, Genomics, 82: 323-330 (2003) <sup>10</sup> Identification of Three Novel Proteins (SGSM1, 2, 3) Which Modulate Small G Protein (RAP and RAB)-mediated Signaling Pathway, Genomics, in press

シンポジウム

「ゲノムから見る比較免疫学」

S1 ~ S6

## S1 主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 領域におけるニワトリを含む脊椎動物の間の比較ゲノム解析

椎名隆、細道一善、北夕紀、渡辺舞、河野あづみ、倉田里穂、柴原悠、佐藤和広、金藤聡美、猪子英俊  
東海大学・医学部・基礎医学系・分子生命科学

### Comparative genome analysis of the major histocompatibility complex (MHC) regions

T. Shiina, K. Hosomichi, M. Watanabe, A. Kono, R. Kurata, Y. Shibahara, K. Sato, S. Kintou, H. Inoko  
Department of Molecular Life Science, Division of Basic Medical Science and Molecular Medicine, Tokai University School of Medicine

我々は7年前からヒトゲノムにおける進化形成過程を追究するモデル領域として、主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex; MHC) 領域の比較ゲノム解析を遂行している。この領域はヒトの MHC 領域 3.6 Mb の場合、遺伝子密度が極めて高く、進化学上保存されている遺伝子や免疫学上重要な遺伝子を多く含むこと、100 を超える疾患感受性を規定すること、ヒトゲノムで最高の多型を有すること、遺伝子重複の痕跡が多く観察されることなど、生物学から医学までの多岐に渡る重要な特徴を数多く有しており、様々な生物種を用いた比較ゲノム解析、すなわちゲノムの動態や多様性を効率良く解析するには最適な領域である。脊椎動物門に位置する進化学的に興味深い 20 生物種間におけるこれまでの比較解析の結果、それらの基本的な遺伝子構造は大まかには保存されているが、それぞれの生活環境に適応するために必須な MHC や MHC 関連遺伝子は birth and death により形成されてきたこと、MHC 遺伝子の誕生は脊椎動物の誕生時期と一致すること、MHC 遺伝子の進化形成過程の推定など数多くの知見を見いだした。さらに、霊長類における比較ゲノム解析から、MHC 領域特有なゲノム多様性がヒト MHC 領域に数多くの疾患感受性遺伝子を成立させた遺伝要因であることを示唆した。

一方、ニワトリの MHC における遺伝学的研究は 1960 年代から開始され、そのハプロタイプとマレック病、ラウス肉腫、家禽コレラなどの疾病に対する抵抗性、ワクチン接種後の免疫機能などとの相関が報告されているが、その後 30 年以上経った現在においても未だこれらの責任遺伝子は同定されていない。これはニワトリの MHC 領域が強い連鎖不平衡を示すため、交配による組み換え個体の作出が困難であること、また、この領域の多型情報が極めて不足していることが、領域全体が候補領域でありながら、そこに含まれる遺伝子から責任遺伝子を絞り込むことが不可能である理由と考えられる。そこで我々のグループでは、ニワトリならびにニワトリの近縁種であるウズラの MHC 領域のゲノム配列を決定し、それぞれの種における多様性解析を実施し、両者における SNP ならびに挿入欠失の特徴、分布、多様度および多型の頻度の相違を見いだすことにより、疾患感受性を規定しうる遺伝要因を比較ゲノム解析の観点から明確にすることを試みている。このような種内ゲノムの多様性を考慮した比較ゲノム解析は今後急速に広まると思われる。

本講演では、MHC 領域の詳細な比較ゲノム解析によるゲノム構造の相違、多様性、進化、疾病との関連性についてニワトリを交えて報告する。

末武弘章

東京大学大学院農学生命科学研究科附属水産実験所

**Fugu genome –Deep impact on fish immunology–**

Hiroaki Suetake

Fisheries Lab. The Univ. of Tokyo

トラフグはゲノムサイズが脊椎動物でも最も小さい生物の一つであり、そのことから JGI などのグループによりフグゲノムプロジェクトが進められ、2002 年にそのデータの概要が公開された。これ以降魚類においてもゲノム情報を利用した免疫研究が盛んに行われるようになってきた。本シンポジウムではゲノム情報を利用することのアドバンテージとそれによって見えてきたものについて概説する。

## 1) 魚類免疫遺伝子ハンティング

魚類の獲得免疫のなかでも T 細胞の関与を示唆する現象は認められるものの、その分子、細胞レベルでの解析は進んでいなかった。2001 年頃までは T 細胞のマーカー分子や多くのサイトカインは配列の相同性からアプローチする方法や EST による報告がわずかに見られる程度であり、多大な運と労力を必要とするものであった。しかし、ゲノムデータベースが利用できるようになった 2002 年以降、コンピュータ上での相同性解析や遺伝子のゲノム上の位置の基づくシテニー解析により、魚類においても CD やサイトカイン遺伝子の存在が爆発的に明らかにされるようになった。現在では、魚類においても概ね哺乳類と同様の CD やサイトカインが存在することが明らかになり、基本的な獲得免疫のツールは魚類ではすでに存在していることが見えてきた。

## 2) 魚類独自の免疫関連遺伝子の存在とその進化

魚類免疫関連遺伝子の存在が明らかになってくる中で、高等脊椎動物との共通性と同時に魚類の独自性も見えてきた。すなわち、遺伝子重複による多様

性の獲得に関して哺乳類と魚類では異なっていることがわかってきた。例えば、魚類に見られる CD3 $\gamma/\delta$  は哺乳類では重複により CD3 $\gamma$ と CD3 $\delta$ に分かれている。一方で、IFN- $\gamma$ や C3 は哺乳類では 1 遺伝子のみなのに対して魚類ではタンデムな遺伝子重複がおこっている。また、IL-8R では、魚類で起こった全ゲノム重複による遺伝子重複のパターンも見られる。さらに、CD4L-2、IL-15L や一部の TLR など魚類でのみ認められる遺伝子の存在もわかってきた。こうした知見は魚類の免疫関連遺伝子が一部では原始的な様相を示す一方で、魚類独自の免疫系も同時に発展させてきたことを意味する。

## 3) ゲノム情報を利用した連鎖解析

フグゲノムの概要はたくさんの配列断片として公表されたが、これら断片を結びつけるトラフグゲノム連鎖地図の研究が進んでいる。これは特定の形質を支配する遺伝子座の同定を解析するための強力なツールとなる。実際にトラフグの性決定遺伝子座の同定に成功し、その有効性が示されている。さらに、ゲノム情報が利用できることから、その責任遺伝子の同定についても大きなアドバンテージが見込まれる。特に、トラフグは近縁種であるクサフグとの交雑系統を作出することができることから、寄生虫感受性の違いなどの種間差に関わる遺伝子座の同定も可能となる。

このようにフグゲノムデータは、魚類免疫研究また免疫系の進化を理解するためのさらなる知見を与えてくれそうである。

武田洋幸 (東京大学大学院理学系研究科・生物科学専攻)

The medaka draft genome and its application to developmental genetics

Hiroyuki Takeda

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

### 【目的】

日本発の実験動物であるメダカは、欧米で開発され世界中で用いられているゼブラフィッシュに勝るとも劣らない優れた実験動物として注目を集めています。実験動物としてより一層の発展のためにはそのゲノムの解読は不可欠でしたが、特定領域研究「ゲノム」(2000-2004年度)の支援の下、ゲノム配列決定プロジェクトを進めることができました。このプロジェクトと並行して、メダカではゼブラフィッシュ同様に国内を中心に発生に異常を示すメダカ突然変異体の単離も進んでいました。

今回は完成したメダカドラフトゲノムを概説し、その情報を活かしたメダカ突然変異体の解析を紹介します。

### 【材料と方法】

ゲノム配列決定は、南日本集団由来の近交系 Hd-rR のゲノムを対象に、全ゲノムショットガン・アセンブリ方式を採用しました。

メダカ突然変異体は、武田研究室が国立遺伝学研究所、東京工業大学と共同で、化学変異原 ENU 処理により単離したものです。

### 【結果】

1. メダカドラフトゲノム：メダカゲノム配列決定(約7億塩基)は2005年中頃には完成し、研究コミュニティへオンラインで公開してきた。そのデータを下に遺伝子の推定(約2万個)、メダカ集団間での多型、ゲノム進化の解析を行い、最近論文発表を行いました<sup>[1]</sup>。既に概要解読が報告されている他の魚類のミドリフグ、トラフグに比べメダカゲノム解読は完成度が極めて高く、全染色体の約90%が解明され、過去約4億年にわたる魚類ゲノムの大規模な再編成の様子が明らかにできました。

2. 突然変異体の解析：今回は解析中の変異体のなかで、ヒト疾病に関与すると思われる2つについて紹介します。

kintoun (筋斗雲) 変異体は、腎臓が数百倍ほどの大きさに膨らみます。その組織学的な知見から、ヒトの多発性嚢胞腎症と同じ所見であることがわかりました。ヒトでは遺伝性の多発性嚢胞腎が800~1,000人に1人という高率で発症して大きな問題となっています。この原因遺伝子は、昆虫からヒトのほぼすべての動物が共通に持つ新しい遺伝子である事がわかりました。

最近肝臓の生理機能の1つである脂質代謝に異常(脂肪肝)が観察される突然変異体 *namako* の原因遺伝子が同定されました。

現在これらの表現型と原因遺伝子の機能そして、ヒトの疾病との関連を調べています。

### 【結論】

我々ヒトが属する脊椎動物は魚類、両生類、鳥類、哺乳類が含まれます。一見姿、かたちが大きく違っていますが、一つの受精卵から大まかな体制(ボディプラン)を作るメカニズムは種を越えて共通であることが最近の研究でわかっています。つまり、小型魚類での研究はそのままヒトを含めた脊椎動物の普遍的な発生原理を知ることにつながります。ゲノム情報を利用することにより突然変異体の原因遺伝子の特定がすすみ、注目する現象に裏に潜む遺伝子とその機能が次々に明らかになります。

### 【参考文献】

1. Kasahara M et al. (2007) The medaka draft genome and insights into vertebrate genome evolution. *Nature*. 2007 Jun 7;447(7145):714-9.

## ホヤ大規模 DNA マイクロアレイを用いたポストゲノム研究の展開

### —生命科学の基礎研究から環境科学の応用研究へ—

安住 薫<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>北大創成科学・流動研究部門, <sup>2</sup>北大大学院薬学研究院・生化学研究室

#### Global gene expression analyses using ascidian oligo DNA microarrays

Kaoru Azumi<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Division of Innovative Research, Creative Research Initiative “Sousei” (CRIS), <sup>2</sup>Department of Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University

ホヤは幼生期に存在する脊索が変態と同時に消失するため原索動物に分類され、無脊椎動物から脊椎動物への進化を理解する上で重要な動物である。近年、カタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) のゲノムが解読され、ホヤのゲノムサイズはヒトの 1/20、遺伝子数は約 15,000 個と推定された<sup>1</sup>。ホヤには獲得免疫系遺伝子は存在しないが、補体系をはじめ、脊椎動物と共通の自然免疫系遺伝子が多数存在することも明らかになった<sup>2</sup>。我々は、ホヤ全遺伝子の約 7 割を検出できる大規模なオリゴ DNA マイクロアレイを作製し、様々なホヤサンプルのトランスクリプトーム解析を行ってきた。その成果の一部を紹介したい。

#### 【DNA マイクロアレイを用いた遺伝子の特徴づけ】

カタユウレイボヤの受精卵から老成体までのライフサイクルにおける 19 ステージのサンプルを用いてアレイ解析を行ない、ホヤの約 1 万個の遺伝子をライフサイクルにおける遺伝子発現パターンの類似性から 5 つのカテゴリー (A: 胚特異的遺伝子群、B: 発生胚中期-成体遺伝子群、C: 成体特異的遺伝子群、D: 一定量発現遺伝子群、E: 母性遺伝子群)、49 個のサブクラスターに分類することに成功した<sup>3</sup>。この分類法を「安住式ホヤ遺伝子分類法」と名づけた。各サブクラスターに属する遺伝子を詳細に調べると、変態の時期に特異的に発現する遺伝子のクラスター、免疫遺伝子が多く集まっているクラスターなど、機

能的な特徴を持つサブクラスターの存在が示唆された。この分類方法は、塩基配列の相同性が低い遺伝子や機能未知遺伝子の機能推定に役立つ可能性が示された。

#### 【ホヤの遺伝子発現から海洋環境を知る】

ホヤは産業国近海も含めて世界各海域に生息し、固着動物で遊泳できないことから、生息海域の海洋環境を知る指標動物になりえる。ホヤ成体に外来刺激 (汚染化学物質、海洋微生物など) を与え、ホヤ体内で生じる遺伝子発現の変動を解析したところ、外来刺激によって異なる遺伝子発現の変動 (遺伝子発現プロファイル) が見いだされた。また、発現が変動する遺伝子群を「安住式ホヤ遺伝子分類法」で分類することにより、外来刺激がホヤのどのようなカテゴリーの遺伝子に影響を与えるかが明らかになりつつある。さらに、野性のホヤの遺伝子発現プロファイルを入手し、外来刺激実験データと比較することによって、野性ホヤ生息海域の海洋環境を推定することが可能であると考えている。ホヤの DNA マイクロアレイ解析は、免疫を含む生命科学研究および、環境科学研究に有益である。

#### 【参考文献】

1. Dehal P, et al. (2002) *Science*, 298:2157-2167
2. Azumi K, et al. (2003) *Immunogenetics*, 55:570-581
3. Azumi K, et al. (2007) *Dev Biol*, in press.

嶋田 透<sup>1</sup>、河岡慎平<sup>1</sup>、孟 艶<sup>1</sup>、大門高明<sup>1</sup>、船隈俊介<sup>1</sup>、勝間 進<sup>1</sup>、伊藤克彦<sup>1,2</sup>、門野敬子<sup>2</sup>、三田和英<sup>2</sup> ( <sup>1</sup>東京大学・大学院農学生命科学研究科・昆虫遺伝研究室、<sup>2</sup>農業生物資源研究所・昆虫ゲノム研究・情報解析ユニット)

**Genome characterization of the silkworm, *Bombyx mori*, with special reference to the genes for defense mechanisms.**

Toru Shimada<sup>1</sup>, Shinpei Kawaoka<sup>1</sup>, Yan Meng<sup>1</sup>, Takaaki Daimon<sup>1</sup>, Shunsuke Funaguma<sup>1</sup>, Susumu Katsuma<sup>1</sup>, Katsuhiko Ito<sup>1,2</sup>, Keiko Kadono-Okuda<sup>2</sup>, Kazuei Mita<sup>2</sup> ( <sup>1</sup>Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo, <sup>2</sup>Genome Research Department, National Institute of Agrobiological Sciences)

カイコのゲノムは、DNA 連鎖解析、cDNA の解析(1)、全ゲノムのショットガン解析(2)などにより、ほぼ全体像が描かれるようになってきた。カイコのゲノム情報は <http://sgp.dna.affrc.go.jp/>、カイコに近縁の蛾であるエリサンの EST データは <http://morus.ab.a.u-tokyo.ac.jp/> で見ることができる。この報告では、カイコおよび近縁昆虫のゲノム解析の結果を簡単に紹介するとともに、自然免疫系の遺伝子やウイルス抵抗性遺伝子、そしてレトロエレメントへの防御に関わる遺伝子などを紹介する。

カイコおよびエリサンのゲノム上には、細菌や糸状菌の認識に必要な LPS 結合タンパク質、ペプチドグリカン認識タンパク質、および  $\beta$ -1,3-グルカン認識タンパク質がすべてコードされていた。また、*Toll*、*Imd*、および *Relish* (*NF- $\kappa$ B*) のホモログも存在していた。しかし、これら遺伝子の産物で構成されると予想される感染時の情報伝達機構の支配下にある抗菌タンパク質遺伝子には、カイコおよび鱗翅目昆虫に固有のものが多く存在していた。細菌感染時の体液中に大量に誘導される抗菌タンパク質 Gloverin、Lebocin、Morcin など、鱗翅目昆虫の外に相同な配列が知られていない。一方、演者らは、細菌感染に伴って、体液タンパク質の主成分である貯蔵タンパク質群が一時的に急減するなど、大規模な遺伝子発現の変化が起きることを示した(3)。

カイコにはウイルス、BT 菌、糸状菌などへの抵抗性遺伝子の存在が知られている。とくに濃核病ウ

イルス I 型および II 型への抵抗性についてはよく研究されており、ゲノム情報を利用して、それら抵抗性遺伝子のポジショナルクローニングも行われている。

カイコゲノムには非常に多くのレトロウイルス様因子や DNA 型トランスポゾンが存在し、現在でもそれらが活動している。最近、種々の生物で新規な低分子 RNA が転移因子の抑制に働くことが示唆されている。たとえばショウジョウバエのレトロウイルス様因子 *gypsy* は、small RNA を介した機構で抑制される。演者らは、カイコの卵巣や胚子にも多量の small RNA が存在することを発見した。それらの一部は、構造から見て、転移因子の抑制のために存在している可能性が高い。

**【参考文献】**

1. Mita, K. et al. (2004) The genome sequence of silkworm, *Bombyx mori*. *DNA Res.* 11: 27-35.
2. Mita, K. et al. (2003) The construction of an EST database for *Bombyx mori* and its application. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100: 14121-14126.
3. Meng, Y. et al. (2007) Prominent down-regulation of storage protein genes after bacterial challenge in eri-silkworm, *Samia cynthia ricini*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* (in press).

倉田祥一朗

東北大学 大学院 薬学研究科

**Recognition and elimination of pathogens in *Drosophila* immunity.**

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University

ショウジョウバエの自然免疫を制御する Toll 受容体の研究が契機となり、哺乳動物における Toll 様受容体 (TLR) が同定され、TLR による病原体認識機構とシグナル伝達機構が、爆発的に明らかにされた。Toll と TLR は、それぞれ昆虫と哺乳動物の自然免疫において、自然免疫活性化シグナルの伝達に重要な細胞膜受容体であり、その下流のシグナル伝達機構も両方で共通性を示す。このように、自然免疫を制御する機構や因子は、進化の過程でよく保存されている。獲得免疫が遺伝子の再編成を行い、多様な非自己を認識するのに対して、自然免疫はゲノムにコードされた有限の因子で多様な病原体を認識する必要がある。

ショウジョウバエにおいては、ペプチドグリカン認識蛋白質 (PGRP) ファミリーを中心とした病原細菌の認識機構が明らかにされた。PGRP もまた、TLR と同様に、昆虫と哺乳動物で保存された自然免疫系の因子である。我々は、PGRP ファミリーの一員である PGRP-LE が、グラム陰性菌などが有するジアミノピメリン酸 (DAP) を含むペプチドグリカンを特異的に認識し、抗菌ペプチド産生の imd 経路を選択的に活性化することを明らかにしている (1, 2)。

近年、PGRP-LE が、多機能性を有しており、血液中だけでなく、免疫応答細胞の細胞表面、そして免疫応答細胞内においても、病原細菌の認識に関わることが明らかとなった (3)。細胞内寄生細菌は、多くの感染症を引き起こすため、これまでも多くの研究がなされてきた。特に細菌が細胞内へ侵入する際や、排除を逃れるために必要とする細菌側の因子について明らかにされた。しかし、細胞内寄生細菌を細胞内で認識する宿主側の因子については、ほとんど理解されていない。

本シンポジウムでは、PGRP-LE による細胞内寄生細菌リステリア (*Listeria monocytogenes*) の認識と、排除機構について焦点を当て、話題を提供したい。

## 【参考文献】

1. Takehana, A. et al. (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 99: 13705-13710
2. Takehana, A. et al. (2004) EMBO J. 23: 4690-4700
3. Kaneko, T. et al. (2006) Nature Immunol. 7: 715-723

一般演題 : C1 ~ C10

## C1 プラナリアにおけるUV照射および創傷による抗菌物質の誘導

木村美智代<sup>1</sup>, 大川真梨子<sup>1</sup>, 尾形梢<sup>1</sup>, 田部井彩<sup>1</sup>, 武藤由利絵<sup>1</sup>, 和合治久<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>埼玉医科大学短期大学・臨床検査学科, <sup>2</sup>埼玉医科大学保健医療学部

### Induction of Anti-Microbial Substances after UVB-Irradiation and Wound in Planaria

Michiyo Kimura<sup>1</sup>, Mariko Ohkawa<sup>1</sup>, Kozue Ogata<sup>1</sup>, Aya Tabei<sup>1</sup>, Yurie Mutoh<sup>1</sup>, Haruhisa Wago<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Technology, Saitama Medical University Junior College, <sup>2</sup>Saitama Medical University

#### 【目的】

扁形動物に属すプラナリアは、もともと原始的な形態をもつ三胚葉性の動物であり、古くから再生現象を中心に研究されてきた。しかし、創傷治癒現象や再生現象を免疫学的に解析した報告は少ない。われわれはこれまでに、環境指標動物であるプラナリアを材料に、かれらの生体防御因子の検索を行うとともに異物処理システムを追究してきた。その結果、体表粘液には N-アセチルアミノ糖に特異性のあるレクチンが存在すること、創傷治癒反応に熱ショック蛋白が関与すること、またレクチンは再生に重要であること、などを報告してきた。さて、近年オゾンホール拡大により有害な紫外線 B が地表に到達する量が増加するために、人間も含めて多くの動物で日和見感染症が増加している。本研究では、プラナリア体表粘液中に抗菌物質が存在するかを検討するとともに、その紫外線 B 照射と人為的な創傷が抗菌物質にどう影響を与えているかを検討した。

#### 【材料と方法】

研究室で飼育されたナミウズムシ (*Dugesia japonica*) を材料に、実験前 1 週間程度絶食させた個体を用いた。プラナリア体表粘液を採取した後、そこに含まれる抗菌活性を黄色ブドウ球菌並びに大腸菌を標的細胞として調べた。一方、紫外線 B 照射後の行動を観察するとともに、分泌される粘液中の大腸菌に対する抗菌活性についても追究した。さらに、人為的に個体中心部を切断し、頭部側および尾部側の切断面の粘液を滅菌ディスクで採取し、その抗菌活性を経時的に観察した。さらに、抗菌活性のある

成分の未変性 PAGE 解析を行い抗菌活性の分離を試みた。

#### 【結果】

プラナリア体表粘液中には大腸菌に対して抗菌的に作用する因子が存在していた。また紫外線 B 照射によって、プラナリアは集団を形成し多くの粘液を分泌することが観察された。この粘液中には、特に照射 90 分後に強い抗菌活性が認められた。一方、人為的創傷によって切断面には、特に 60 分後に強い抗菌活性を含む粘液が分泌されることが判明した。未変性 PAGE を行ったところ、大腸菌に対する抗菌活性の存在する部分のあることがわかった。

#### 【結論】

これまでの研究からプラナリアの体表粘液は表皮細胞と基底膜下に存在する PAS 陽性細胞から分泌されることが分かっている。プラナリアの集団に紫外線 B を照射すると、集団を形成して粘液を放出し、この粘液中には抗菌活性が存在する。また、人為的創傷による切断面から分泌される粘液にも抗菌活性があることが判明した。いずれの粘液においても大腸菌に対する抗菌活性が存在し、それは紫外線 B の照射後並びに創傷後に経時的に誘導されてくることが示唆された。抗菌活性の誘導は、環境ストレスあるいは創傷治癒において感染防御の観点で重要な生体防御反応と考えられる。今後、プラナリアの抗菌物質の生化学的性状や分子構造、抗菌物質の産生に関わる因子についても解析を進めていきたい。

## C2 モンシロチョウ由来タンパク質ピエリシン-1の寄生蜂に対する影響

中口 梓<sup>1</sup>、松本 恭子<sup>1</sup>、山本 真史<sup>1</sup>、岩淵 喜久男<sup>2</sup>、戸塚 ゆかり<sup>1</sup>、杉村 隆<sup>1</sup>、若林 敬二<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>国立がんセンター研究所・がん予防基礎研究プロジェクト、<sup>2</sup>東京農工大学・応用昆虫学研究室

### Effect of pierisin-1 from cabbage butterfly on parasitic wasps

Azusa Nakaguchi<sup>1</sup>, Yasuko Matsumoto<sup>1</sup>, Masafumi Yamamoto<sup>1</sup>, Kikuo Iwabuchi<sup>2</sup>, Yukari Totsuka<sup>1</sup>, Takashi Sugimura<sup>1</sup>, Keiji Wakabayashi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Cancer Center Research Institute, <sup>2</sup>Tokyo University of Agriculture and Technology

#### 【目的】

ピエリシン-1はモンシロチョウ体内に存在する分子量98kDaのタンパク質で<sup>[1]</sup>、糖脂質Gb3等を細胞膜表面に持つ哺乳類細胞に取り込まれ<sup>[2]</sup>、DNAをモノADPリボシル化することにより<sup>[3]</sup>、アポトーシスを誘導する。ピエリシン-1はこれまでにモンシロチョウ体内で、変態時の不要組織の除去に関わる可能性が示唆されている<sup>[4]</sup>。また、このタンパク質は生体防御にも関わる可能性がある。そこで本研究では、ピエリシン-1が寄生蜂に与える影響について検討した。

#### 【材料と方法】

モンシロチョウを寄主とする寄生蜂アオムシコマユバチの卵と幼虫を培養し、ピエリシン-1添加時と未添加時において、その生存率と傷害の有無を観察した。観察には位相差顕微鏡を用い、さらに透過型電子顕微鏡により詳細に観察した。次に、蛍光標識したピエリシン-1を用いて寄生蜂を生体染色し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて寄生蜂細胞へのピエリシン-1移行の有無を調べた。

#### 【結果】

ピエリシン-1を1-100 $\mu$ g/mlの濃度で添加し、アオムシコマユバチの卵と1齢幼虫に対する毒性を調べた。しかしいずれの濃度においてもピエリシン-1はアオムシコマユバチに影響を与えなかった。また、アオムシコマユバチ細胞への蛍光標識ピエリシン-1

の移行は認められなかった。

#### 【結論】

モンシロチョウを本来の寄主とする寄生蜂アオムシコマユバチはピエリシン-1に対する耐性を獲得している可能性が示された。現在、他の鱗翅目昆虫を寄主とする、アオムシコマユバチに近縁の寄生蜂に対するピエリシン-1の影響を調べている。

#### 【参考文献】

1. Watanabe M, Kono T, Matsushima - Hibiya Y, Kanazawa T, Nishisaka N, Kishimoto T, Koyama K, Sugimura T, Wakabayashi K (1999) Proc Natl Acad Sci U S A., 96:10608-13.
2. Matsushima - Hibiya Y, Watanabe M, Hidari KI, Miyamoto D, Suzuki Y, Kasama T, Kasama T, Koyama K, Sugimura T, Wakabayashi K (2003) J Biol Chem., 278:9972-8.
3. Takamura - Enya T, Watanabe M, Totsuka Y, Kanazawa T, Matsushima-Hibiya Y, Koyama K, Sugimura T, Wakabayashi K (2001) Proc Natl Acad Sci U S A., 98:12414-9.
4. Watanabe M, Nakano T, Shiotani B, Matsushima - Hibiya Y, Kiuchi M, Yukuhiro F, Kanazawa T, Koyama K, Sugimura T, Wakabayashi K (2004) Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 139:125-31.

### C3 発育阻害ペプチド (GBP) によるエノシトイドの崩壊

松本恭子<sup>1</sup>、織田康則<sup>2</sup>、瓜生匡秀<sup>3</sup>、早川洋一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>国立がんセンター研究所・がん予防基礎研究プロジェクト, <sup>2</sup>佐賀大学・応用昆虫学研究室,  
<sup>3</sup>北海道大学・プリオン病学講座

#### Study of GBP-induced lysis of Oenositoids

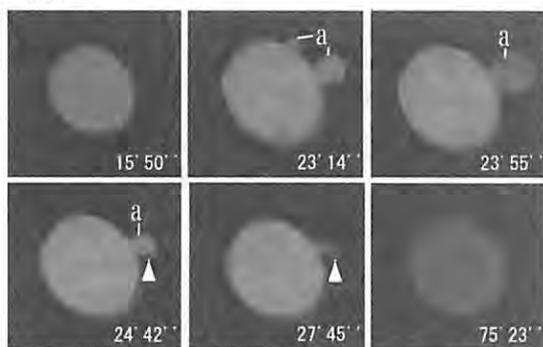
Yasuko Matsumoto<sup>1</sup>, Yasunori Oda<sup>2</sup>, Masahide Uryu<sup>3</sup>, Yoichi Hayakawa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cancer Prevention Basic Research Project, National Cancer Center Research Institute,

<sup>2</sup>Department of Agriculture, Saga University, <sup>3</sup>Department of Prion Diseases, Hokkaido University

#### 【目的】

発育阻害ペプチド (GBP) はアワヨトウより単離された多機能性昆虫サイトカインである<sup>[1]</sup>。GBP はプラズマ細胞の伸展とエノシトイドの崩壊を誘導する。エノシトイドには GBP の活性抑制蛋白質、GBP 結合蛋白質 (GBP-BP) が含まれており、エノシトイドの崩壊によって放出された GBP-BP は GBP と結合し、GBP の誘導する細胞性免疫反応を沈静化させると考えられる<sup>[2]</sup>。GBP 誘導のエノシトイド崩壊は、細胞の一部が膨れ (図、a)、その膜が破れ内容物の放出を生じる (図、矢尻)。エノシトイドの崩壊に関与する分子機構の解明を目的にエノシトイドに対するモノクローナル抗体を作成し、その標的分子の単離を試みた。



【図】 Calcein-AM を取込んだエノシトイドの崩壊の様子。数字は GBP 添加後の経過時間 (分)。

#### 【材料と方法】

アワヨトウ終齢 2 日目の体液より、血球を回収し、パーコール濃度分画法により、エノシトイド画分を採取し、その細胞膜画分を抗原としたモノクローナル抗体産生株を樹立した。抗体のスクリーニングは

ホルマリン固定した血球に対する反応性の有無によって判断した。樹立した細胞の産生する各抗体を 96 穴プレート中で 2 時間インキュベートすることでプレートに付着させ、その中でエノシトイド画分を 1 時間培養し、エノシトイドの崩壊の割合を比較した。

#### 【結果】

エノシトイドを認識する 25 種類のモノクローナル抗体産生細胞株を樹立した。そのうち 1 種 (A2A) は、コントロールと比較してエノシトイドの崩壊を 20%抑制した。また、4 種の抗体 (C9F, C10F, G12B, I1A) はエノシトイドの崩壊を 40-60%促進した。ウエスタンブロットの結果、A1A はエノシトイド膜画分の 290kDa の分子を、G12B は 100kDa の分子を認識することが明らかになった。共焦点レーザー顕微鏡による観察によって、これらの抗体が認識する抗原は、エノシトイドの膜に局在していることを確認した。

#### 【結論】

A1A、G12B 抗体の認識する p290 および p100 はエノシトイド崩壊の分子機構の一部を担うものと予想される。今後これらの蛋白質の同定により、その機構の解明につながると考える。

#### 【参考文献】

1. Hayakawa Y (1995) J Insect Physiol, 41:1-5
2. Matsumoto Y, Oda Y, Uryu M, Hayakawa Y (2003) J Biol Chem, 278:38579-38585

## C4 カイコガ幼虫の体液中に存在する低発現性 C タイプレクチン

高瀬比菜子, 渡部綾子, 佐藤令一  
東京農工大学大学院・生物システム応用科学府 (BASE)

### Low expressing C-type lectins in the hemolymph of larvae of *Bombyx mori*.

Hinako Takase, Ayako Watanabe, Ryoichi Sato  
Graduate School of Bio-Applications & Systems Engineering, Tokyo Univ. of A&T, Japan

#### 【目的】

自然免疫では、パターン認識分子が微生物表面に存在する特徴的な分子構造(PAMPs)を認識し、免疫反応を引き起こす。カイコガでは、パターン認識分子として BmLBP、BmMBP、BmIML という 3 種類の C タイプレクチンが確認された。BmLBP と BmMBP は異物認識により迅速にノジュール反応を引き起こし、異物を一掃する<sup>[1][2]</sup>。しかし、パターン認識分子として働く C タイプレクチンが何種類存在し、どれ程完全な認識網を形成しているのかについては未だ全体像がつかめていない。本研究では、C タイプレクチンによる侵入微生物認識網の全体像の理解を目指し、新規 C タイプレクチンの探索と解析を行った。

#### 【材料と方法】

カイコガゲノムデータベースを用いた相同性検索と RACE 法により、新規 C タイプレクチン候補遺伝子配列および完全長 cDNA 配列の入手を試みた。脂肪体と血球由来の cDNA を鋳型として PCR を行い、発現の有無を確認した。得られた候補遺伝子の推定アミノ酸配列を既知の C タイプレクチンと比較して系統樹を作製した。目的遺伝子産物を GST 融合型組換えタンパク質として作製し、これを抗原として抗血清を作製した。抗血清を用いてカイコガ幼虫の体液、あるいは組織に対してウエスタンブロットを行った。

#### 【結果】

3 つの新規 C タイプレクチン候補遺伝子を得た。PCR による発現確認を行ったところ、既知の C タイプレクチンに比べて発現量が少ないことが予想された。このため、候補遺伝子を *Bombyx mori* Low Expression Lectin (*BmLEL*)-1, *BmLEL*-2, *BmLEL*-3 と呼ぶこととした。発現分子の *BmLEL*-1 と *BmLEL*-2 は糖鎖認識部位を 2 つ持つレクチンであり、*BmLEL*-3

は糖鎖認識部位を 1 つ持つレクチンであった。*BmLEL*-1 と *BmLEL*-2 の cDNA 配列はマチュアなタンパク質をコードすると考えられる領域を含むものの、完全長の決定には至っていない。タンパク質領域のアミノ酸配列を用いた系統樹解析の結果、*BmLEL*-1 と *BmLEL*-2 は鱗翅目昆虫の C タイプレクチンのグループの中で新しいサブグループを形成することが判明した。*BmLEL*-3 は単独で枝を形成した。ウエスタンブロットにより、*BmLEL*-1~3 の体液中の存在が改めて確認され、その発現量は既知レクチンの約 1/10 程度であることが判明した。それぞれ菌の注射の有無に関わらず、発現量はほぼ一定であった。体液以外ではマルピーギ管で *BmLEL*-1 と *BmLEL*-3、皮膚で *BmLEL*-2 の存在が確認された。

#### 【結論】

新規の C タイプレクチンである *BmLEL*-1~3 を発見し、その存在を証明できた。*BmLEL*-1~3 と BmLBP、BmMBP、BmIML は遺伝子構造の比較から、同一の祖先分子から進化してきたと推測できる。*BmLBP* と *BmMBP* が幅広い微生物認識スペクトルを持つパターン認識分子だという報告と照らし合わせると、この合計 6 つの分子はそれぞれ異なる微生物認識スペクトルを持ち、ノジュール反応の引き金をひくという役割を担っていることが予想される。しかし、*BmLEL*-1~3 は体液中の存在量が少ない故に、*BmLBP* や *BmMBP* と同様な役割を持つことは確認できていない。また、体液以外でも幾つかの組織から存在が確認されたことから、C タイプレクチンのメンバーは各組織において役割分担をしている可能性が示唆された。

#### 【参考文献】

1. Koizumi et al. (1997) Eur. J. Biochem, 248: 217-24
2. Watanabe et al. (2006) J. Immunol, 177: 4594-604

## に対するメラニン化作用およびマラリア原虫の感染機構

佐々木 年則<sup>1</sup>、齋藤 典子<sup>2</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>国立感染症研究所昆虫医科学部, <sup>2</sup>国立感染症研究所電子顕微鏡室Melanization of the mosquito *Armigeres subalbatus* against *Plasmodium berghei* and the mechanism of malaria parasite infection\*Toshinori Sasaki<sup>1</sup>, Noriko Saito<sup>2</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>Laboratory of Electron Microscopy, National Institute of Infectious Diseases

## 【目的】

蚊のマラリア原虫に対する自然免疫機構の一つとして、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。最近になって、*Anopheles gambiae* の 補 体 様 因 子 である thioester-containing protein (TEP)<sup>[1]</sup> や leucin rich-repeat immune protein 1 (LRIM1)<sup>[2]</sup> がメラニン化へ至るプロフェノール酸化酵素 (Pro-PO) 活性化系に関与することが報告された。我々は、マラリア原虫に対する蚊の自然免疫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、ネズミマラリア原虫 *Plasmodium berghei* がオオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* に感染するかどうか検討した。さらに、*in vivo* において *Plasmodium berghei* 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】

*Armigeres subalbatus* 406 系統に緑色蛍光蛋白 (GFP) を発現させた *Plasmodium berghei* ANKA 株を感染させ、1 から 21 日の間中腸におけるメラニン化を光学顕微鏡や共焦点レーザー顕微鏡で観察した。また、13 日目以降に体液と唾液腺を観察した。さらに、*Anopheles stephensi* を吸血させ、中腸を走査型電子顕微鏡で観察した。

## 【結果】

マラリア感染 1 から 21 日目に *in vivo* において

*Plasmodium berghei* 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。体液中のマラリア原虫のスポロゾイトは観察できず、腹部に hemocyte を確認できた。感染 13 日目に唾液腺の分泌細胞に多数のスポロゾイトを確認することができた。その後、感染 29 日目には唾液腺の管にスポロゾイトを確認することができた。また、*Anopheles stephensi* 中腸の基底膜の穴は吸血によって大きくなることが明らかとなった。

## 【結論】

ネズミマラリア原虫がオオクロヤブカに感染し、*in vivo* において *Plasmodium berghei* のオーシストがメラニン化されることが明らかとなった。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。また、唾液腺の分泌細胞にスポロゾイトが蓄積して感染が成立することが考えられた。この実験系は、メラニン化作用の解析に有用と思われる。

## 【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.
2. Osta, M. A., Christophides, G. K. and Kafatos, F. C., Effects of mosquito genes on *Plasmodium* development. *Nature*, 303, 2030-2032, 2004.

## C6 マボヤ血リンパのフェノール酸化酵素 (PO) 活性を抑制する因子

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

<sup>1</sup> 日本大学・医学部・生物, <sup>2</sup> 秋田大学・教文・生物, <sup>3</sup> 山口大学・医学研究科・器官解剖

**Inhibitory factor(s) against the phenoloxidase activity in the solitary ascidian, *Halocynthia roretzi***

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

<sup>1</sup>Division of Biology, Nihon University, <sup>2</sup>Division of Biology, Akita University, <sup>3</sup>Division of Organ Anatomy, Yamaguchi University

### 【目的】

脊索動物マボヤは、フェノール酸化酵素 (PO) を有し、同種内他個体接触反応時<sup>1)</sup>や異物の貪食時<sup>2)</sup>に血球からプラズマ中に放出すると報告されている。我々は非刺激下のマボヤ血リンパでも PO 活性が検出されることを見だし、その活性が時間経過と共に低下するという観察から、マボヤ血リンパ中には PO を抑制するシステムも存在する可能性があると考えて前回の本大会で報告した。マボヤ血リンパ中の PO 活性はセリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、アミノペプチダーゼの阻害剤によって影響されず、EDTA によって活性低下が抑えられたことから、今回は、PO 活性を抑制する因子がメタロプロテアーゼである可能性を検討した。

### 【材料と方法】

マボヤ (陸奥湾産) から血リンパを採血し、直ちに遠心 (0℃、5 分、450G) して血球を除き、プラズマ中の 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 に最大吸光度を有す) の量を一定時間後の OD 値として測定した。採血直後の OD 値とインキュベート 30 分後の OD 値との差を PO 活性抑制因子の対照として、以下の条件下における OD 値と比較した。プラズマを 25℃でインキュベートする際に、①  $\alpha_2$ -Macroglobulin を添加、② キレート剤 (1,10-Phenanthroline, EDTA, EGTA) を添加、③ EDTA を添加した後、時間をおいて  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ などのイオンを添加した。

### 【結果】

PO 活性抑制因子の効果は、① 広範囲なプロテア

ーゼに対する阻害剤である  $\alpha_2$ -Macroglobulin (0.1~1  $\mu\text{g/ml}$ ) 添加によって抑制された。② メタロプロテアーゼ阻害剤として使用されるキレート剤についてみると、1,10-Phenanthroline (主に  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ をキレート: 1 mM) では、PO 活性抑制効果にほとんど影響なかった。一方、EDTA (1 mM)、EGTA (1 mM) 添加した場合は PO 活性抑制効果が抑えられた。③ また、EDTA 添加プラズマに  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ を添加した場合、PO 活性抑制因子の効果はわずかに回復し、同様に  $\text{Cu}^{2+}$ を添加した場合は、その効果は大きく回復した。

### 【結論】

$\alpha_2$ -Macroglobulin, EDTA, EGTA 添加により、PO 活性抑制効果が抑えられたことから、PO 活性抑制因子は、2 価金属イオンが関与するプロテアーゼであると示唆された。さらに、EDTA 添加後に、 $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ を添加した場合よりも  $\text{Cu}^{2+}$ を添加した場合の方が抑制効果を大きく回復したという結果から、PO 活性を抑制するメタロプロテアーゼは  $\text{Cu}^{2+}$ を活性化因子として必要とすると考えられた。

今回の結果からも、マボヤ血リンパ中の PO は、種々の刺激によって血球から放出され続け活性化されている状態と、活性化した後に速やかにその PO 活性が抑制される方向に向かう状態とがあり、PO 活性の抑制因子を含む PO 活性の制御システムがあると考えられる。

### 【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

## 被囊軟化症マボヤ血球の遺伝子発現解析

安住 薫<sup>1, 2</sup>、宇佐美剛志<sup>1</sup>、北村真一<sup>3</sup>、鈴木聡<sup>3</sup>、横沢英良<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北大・創成・流動, <sup>2</sup>北大・院薬・生化学, <sup>3</sup>愛媛大・沿岸環境科学研究センター

### Analyses of up- or down-regulated genes in hemocytes of diseased ascidians

Kaoru Azumi<sup>1, 2</sup>, Takeshi Usami<sup>1</sup>, Shin-Ichi Kitamura<sup>3</sup>, Satoru Suzuki<sup>3</sup>, Hideyoshi Yokosawa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Division of Innovative Research, Creative Research Initiative "Sousei" (CRIS), Hokkaido University, <sup>2</sup>Department of Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, <sup>3</sup>Center for Marine Environmental Studies (CMES), Ehime University

#### 【目的】

近年、韓国のマボヤ養殖場にて原因不明の病気が蔓延し、マボヤの生産高が著しく減少している。健康なマボヤの被囊（セルロースが主成分）は木の皮のように固くて厚いが、発病したマボヤの被囊はビニールのように薄くて柔らかい。そのため、筋肉の収縮に伴い被囊が簡単に破けて内部組織が露出するようになる。そのような個体は短期間で死亡するが、正常な生体機能を維持できなくなっていることが予想される<sup>[1]</sup>。本疾病の原因解明と診断方法の確立をめざして、我々は、ホヤの免疫機能や被囊形成に関与すると考えられている血球に着目し、マボヤ血球 cDNA マイクロアレイを作製して発病したマボヤ血球で発現が変動している遺伝子の探索を行なった。

#### 【材料と方法】

韓国マボヤ養殖場にて、病気のマボヤ（症状がでているホヤ）と病気でないマボヤ（症状のでていないホヤ）を採集し、個体別に血球を採取して凍結した。病気マボヤおよび病気でないマボヤの血球をそれぞれ数個体分ずつ合わせて mRNA を調製し、蛍光標識して DNA マイクロアレイ解析を行なった。マボヤ血球 cDNA マイクロアレイは、マボヤ血球 cDNA ライブラリーからランダムにピックアップした約 2,700 個の cDNA を、専用スポッターを用いてスライドガラスに貼付けて作製した。発現が亢進あるいは低下した遺伝子については、特異的なプライマーを用いて RT-PCR を行ない、再現性を確認した。また、それら

の遺伝子のマボヤ各組織における発現を調べた。

#### 【結果】

DNA マイクロアレイ解析により、病気マボヤの血球では病気でないマボヤの血球に比べて、21 種類の遺伝子の発現亢進と 16 種類の遺伝子の発現低下が検出された。この内、astacin、lysozyme、ribosomal protein PO および ubiquitin-ribosomal protein L40e fusion protein 遺伝子の発現が病気マボヤの血球にて明らかに亢進していること、HSP40、HSP70、fibronectin、carboxypeptidase および lactate dehydrogenase 遺伝子の発現が減少していることが、RT-PCR 法によって確かめられた。これらの遺伝子の発現は血球特異的ではなく、他の多くの組織でも検出された。

#### 【結論】

マボヤ血球 cDNA マイクロアレイを用いた解析により、被囊軟化症マボヤの血球で発現が亢進あるいは低下している遺伝子が見いだされた。これらの遺伝子の発現プロファイルから、被囊軟化症のマボヤ血球では免疫応答および炎症応答が活性化していることが示唆された。本研究で発現の変動が見いだされた遺伝子は、本疾病の診断マーカーとして、疾病発症のモニタリングへの活用が期待される。

#### 【参考文献】

1. Azumi K, et al. (2007) Fisheries Science, 73:263-269

## カプトガニ外皮タンパク質カラキシンは、創傷部位においてトランスグルタ

## ミナーゼによって架橋され、網目状繊維を形成する

松田 泰幸<sup>1</sup>、小柴 琢己<sup>1</sup>、尾崎 司<sup>1</sup>、陶山 晴香<sup>1</sup>、有坂 文雄<sup>2</sup>、藤 義博<sup>1</sup>、川畑 俊一郎<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>九大院・理・生物科学、<sup>2</sup>東工大院・生命理工・生物プロセス

## An arthropod cuticular chitin-binding protein endows injured sites with transglutaminase-dependent mesh

Yasuyuki Matsuda<sup>1</sup>, Takumi Koshiba<sup>1</sup>, Tsukasa Osaki<sup>1</sup>, Haruka Suyama<sup>1</sup>, Fumio Arisaka<sup>2</sup>,  
 Yoshihiro Toh<sup>1</sup>, Shun-ichiro Kawabata<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University, <sup>2</sup>Department of Biomolecular Engineering,  
 Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology

## 【目的】

節足動物の外皮は、感染微生物に対する第一線の生体防御の場として機能している。哺乳類の皮膚の角質化においては、トランスグルタミナーゼ(TGase)によるタンパク質間の架橋反応が必須であるが、私たちは、節足動物においても外皮形成の初期過程にTGaseが関与していることを示す結果を得た<sup>[1]</sup>。そこで節足動物外皮におけるTGaseの基質タンパク質の構造機能解明を目的として、カプトガニ外皮のキチン結合タンパク質の中からTGase基質を特定し、詳細に解析した。

## 【材料と方法】

カプトガニの外皮からキチン結合タンパク質を抽出し、タンパク質とダンシルカダベリンのTGaseによる架橋反応を利用して、主要なTGase基質タンパク質の検出、同定を行った。さらに、同定したタンパク質のリコンビナントを大腸菌で発現させ、生化学的解析、超遠心分析、電子顕微鏡観察等を行った。

## 【結果】

カプトガニのキチン結合タンパク質の中からTGase基質のひとつを同定し、カラキシシン-1と命名した。カラキシシン-1にはN末端側にGln-richドメイン、中央領域にペントペプチドの9回繰り返し配列があって、ウェスタンブロットにより上皮での特異的発現が確認された。カラキシシン-1は、水溶液中で

は約20量体として存在することが超遠心分析から推定された。また、N末端、及びC末端領域にはheptad repeat配列が含まれ、興味深いことに、この領域にProを導入したミュータントでは、ヘリックス含量が減少した。さらに、カラキシシン-1の特定のGln残基をAsn残基に置換したミュータントに対しては、TGaseによる架橋反応が抑制された。TGaseによって架橋されたカラキシシン-1を電子顕微鏡で観察したところ、安定化された編み目状繊維を形成していた。興味深いことに、架橋されたカラキシシン-1においてもキチンとの結合が確認できた。さらに、キチンとの結合には、中央領域のペントペプチドが重要な役割を果たしていることが判明した。

## 【結論】

カラキシシン-1は、コイルドコイル構造を介して多量体として存在し、TGaseの架橋反応により安定化された編み目状繊維を形成すると考えられる。さらに、外皮の損傷部位を塞ぐことで、体液の流出及び感染菌の侵入を防いでいると考えられる。

## 【参考文献】

1. Iijima, M., Hashimoto, T., Matsuda, Y., Nagai, T., Yamano, Y., Ichi, T., Osaki, T., and Kawabata, S. (2005) *FEBS Journal* 272, 4774-4786

近藤 昌和<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 Amphipoda (Crustacea)

Masakazu Kondo<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】

我々は、これまでに、多種類の甲殻類(甲殻亜門)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や顎脚綱の血球は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、同綱鞘甲亜綱では血球に偽足が観察された。さらに、同綱カイアシ亜綱では循環血球は認められず、組織表面にアメーバ様運動をする細胞が観察された。一方、高位群である十脚目(軟甲綱真軟甲亜綱ホンエビ上目)の血球種数は、8種類(クルマエビなど)、4種類(イセエビなど)、3種類(アメリカザリガニなど)、2種類(テナガエビなど)およびテナガエビとは異なる2種類(オオシロピンノ)と、多様であることが明らかとなった。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、軟甲綱真軟甲亜綱フクロエビ上目端脚目に属するカギメリタヨコエビ *Melita koreana* 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自然繁殖したカギメリタヨコエビを実験に用いた。冷滅菌海水で洗浄したのち、ゼラチン処理スライドガラス上に置き、背甲部に切り込みをつけた。流出血液を、冷固定液(グルタルアルデヒドとパラフォルムアルデヒドを含むカコジル酸緩衝液)と混合し、湿潤箱中で30分間静置した。上清を除き、風乾したのち、各種染色をほどこした。また、風乾せずにカバーガラスを載せ、位相差顕微鏡による観察も行った。

#### 【結果】

位相差顕微鏡で観察したところ、いずれの血球にも顆粒が観察された。また、メイグリュンワルド染色標本の観察によって、血球は、8種類に識別された。すなわち、①細胞質に微細な好塩基性の粒子状物質を含む小型の細胞(好塩基性微小顆粒球)、②細胞質基質が紺色に濃染し、少数の好塩基性顆粒を有する小型細胞(好塩基性形質細胞)、③小型の塩基性顆粒を有する種々の大きさの細胞(好塩基性顆粒球)、④小型の難染性顆粒を有する細胞(難染性小顆粒球)、⑤大型の難染性顆粒を有する細胞(難染性大顆粒球)、⑥好塩基性顆粒と好酸性顆粒を有する細胞(両染色性顆粒球)、⑦好酸性顆粒を有し、クロマチン網が明瞭な細胞(I型好酸性顆粒球)および⑧好酸性顆粒を有し、濃縮核を有する細胞(II型好酸性顆粒球)に分類された。

#### 【結論】

カギメリタヨコエビの血球は、クルマエビなどと同様に8種類であった。両者の血球は種類数だけではなく、顆粒の染色性や形態なども酷似していた。同様の血球は、同綱真軟甲亜綱フクロエビ上目等脚目のフナムシやダンゴムシにも認められている。また、真軟甲亜綱よりも原始的な軟甲綱口脚目のシャコにも観察されている。しかし、同綱薄甲目のコノハエビには1種類の顆粒球のみが存在する。以上のことから、8種類の血球を有する甲殻類は、最初、口脚目と真軟甲亜綱の共通祖先として出現し、現在、真軟甲亜綱に広く分布していると考えられる。

**ApSRCR1 分子の発現と機能解析**

古川亮平、金子洋之  
慶応義塾大学・生物学教室

**Study on ApSRCR1 molecule homologous to the scavenger receptor of vertebrate macrophage:  
Its expression and function in starfish larval mesenchyme cells.**

Ryohei Furukawa, Hiroyuki Kaneko  
Department of Biology, Keio University

**【目的】**

Scavenger Receptor Cysteine-Rich (SRCR)ドメインを有する多くのタンパク質は、脊椎動物の免疫応答の調節や異物表面のパターン認識などの重要な局面を担うと考えられている。SRCR ドメインを有するタンパク質は無脊椎動物にも存在する。棘皮動物ムラサキウニではヒトの10倍以上にも及ぶ220ものSRCR 遺伝子の存在が報告されており、その中のいくつかは免疫細胞である体腔細胞で発現していることが判明している。このようなSRCR 遺伝子の多様性は、SRCR ドメインを共通に持つ分子群が脊椎動物のみならず、無脊椎動物の生体防御系にも多様な機能を司っていることを推測させる。

ヒトデ幼生の間充織細胞 (mesenchyme cells; MCs) は、細胞の貪食作用が発見された記念碑的な細胞であり、系統進化的視点から脊椎動物におけるマクロファージの細胞祖先であると考えられる。我々はこれまでの研究で、ヒトデ幼生MCsのcDNAライブラリーからSRCR ドメインを有するApSRCR1 遺伝子の単離に成功している。本研究では、その機能分子であるApSRCR1 タンパク質の詳細な発現解析および機能解析を行い、このタンパク質がヒトデ幼生の生体防御に関与しているか否かを検討した。

**【材料と方法】**

ApSRCR1 タンパク質のSRCR 領域でHisTag 融合タンパク質を作製し、ポリクローナル抗体を得た。この抗体を用いて、免疫組織化学的解析および生化的

解析を行った。また、モルフォリノアンチセンスオリゴ (Morpholino Antisense Oligo; MASO) を用いて ApSRCR1 遺伝子の翻訳を阻害した幼生の体内に異物を顕微注射し、貪食作用の有無を調べた。

**【結果と考察】**

ApSRCR1 タンパク質は胞胚期以降に *de novo* 合成され、原腸胚期以降に胞胚腔中に移行したMCsで特異的に発現し、且つ発生の進行に伴い発現量が増加していくことが分かった。MASO を用いて ApSRCR1 遺伝子の翻訳を阻害した個体に異物を顕微注射したところ、MCsの貪食作用に影響は見られなかった。続いて、ApSRCR1 タンパク質は細胞表面ではなく、細胞質領域の小胞膜で発現していることを見出した。この局在性は、ピピンナリア幼生のみならず、さらに発生が進行したブラキオラリア幼生でも維持されていた。また、ブラキオラリア幼生では、体腔囊中に分化してきた成体の免疫細胞である体腔細胞でも ApSRCR1 タンパク質の発現が認められた。成体の体腔細胞での発現の局在性はMCsと同様であった。

貪食作用への関与は否定されたが、幼生から生体に至るまで免疫細胞での特異的な発現は、ApSRCR1 タンパク質が生体防御系に関与している可能性を強く示唆する。今のところ、ヒトデ幼生のMCsが貪食作用以外の免疫応答を有するかは不明であるが、成体においては液性免疫の存在が報告されており、ApSRCR1 タンパク質の機能との関連は興味深い。

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) 日本比較免疫学会古田賞および古田奨励賞受賞者の選考と表彰
  - 7) 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. 名誉会長・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) 名誉会長・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。
6. 古田賞および古田奨励賞の選考に係る詳細は別途定める。

(平成18年8月24日 一部修正)

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

**OFFICERS**

**April 2006-March 2008**

**PRESIDENT**

**Takeshi YOSHIDA**  
Research Institute for  
Spiritual Care  
3-32-11-305 Miyamae  
Suginami-ku  
Tokyo, 168-0081

**VICE PRESIDENT**

**Shunichiro KAWABATA**  
Department of Biology  
Faculty of Sciences  
Kyushu University  
Fukuoka 812-8581

**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

**SECRETARY/TREASURER**

**(assiatant)**  
**Tomonori SOMAMOTO**  
Laboratory of  
Marine Biochemistry  
Department of Bioscience  
and Biotechnology  
Graduate School of  
Bioresource and  
Bioenvironmental Science  
Kyushu University  
Fukuoka 812-8581

**PROGRAM OFFICERS**

**Hiroaki NAKAMURA**  
Department of Biology  
Tokyo Dental College  
1-2-2 Masago, Mihama  
Chiba 261-8502  
  
**Kei-ichiro YAMAGUCHI**  
Institute for Medical Sciences  
Dokkyo Medical University  
Mibu, Tochigi 321-0293

**ABSTRACT OFFICER**

**Ryosuke IJIMA**  
Faculty of Pharmaceutical  
Sciences  
Teikyo University  
Sagamiko  
Kanagawa 199-0195

**TRUSTEES**

**Susumu TOMONAGA**  
Shouyou Gakuin  
1-3-10 Ue-machi  
Ube 755-0051

**Haruhisa WAGO**

Laboratory of Immunology  
School of Medical  
Technology and Health  
Faculty of Health and  
Medical Care  
Saitama Medical University  
1397-1, Yamane, Hidaka  
Saitama 350-1241

# 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) Selection and conferment of Furuta Award and Furuta Young Investigator Award.
  - 7) Other business which considered essential to achieve the Object of the Association.

## **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.
2. An executive board composed of the Association officers can nominate a person with distinctive contributions to the Association as a candidate for Honorary member and Honorary President, upon nominee's agreement. The candidate shall be approved and authorized by the Association members in business meeting.
  - 1) Honorary members and Honorary President are not subjected to payment of fee for annual membership and for scientific meetings.

## **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 of all Active (Individual) members of the Association.

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.
  4. The Secretary-Treasurer can nominate his/her assistant(s).
  5. Only the members of JADCI are permitted to have a talk about the investigation.
  6. Detailed procedures for selection and conferment of Furuta Award and Furuta Young Investigator Award are defined in a fine print.
- 

Approved: November 28, 1989; Revised: August 28, 1991; Revised August 23, 1999  
Revised August 29, 2003; Revised August 24, 2006.

---

*\*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)

<b>【A】</b>		Kawabe, M. (河辺元子)	A3
Abe, T. (阿部健之)	C6	Kawaoka, S. (河岡慎平)	S5
Araki, K. (荒木亨介)	A8, A9, B3	Kikuchi, K. (菊池 潔)	A3, A9, A10
Arisaka, F. (有坂文雄)	C8	Kimura, M. (木村美智代)	C1
Azumi, K. (安住 薫)	S4, C7	Kintou, S. (金藤聡美)	S1
<b>【D】</b>		Kita, Y. (北 夕紀)	S1
Daimon, T. (大門高明)	S5	Kitamura, S. (北村真一)	C7
<b>【F】</b>		Kobayashi, M. (小林睦生)	C5
Fukushima, Y. (福島祐二)	B4	Kondo, M. (近藤昌和)	A6, C9
Funaguma, S. (船隈俊介)	S5	Konishi, M. (小西麻理子)	A8
Furukawa, R. (古川亮平)	C10	Kono, A. (河野あづみ)	S1
Furusawa, S. (古澤修一)	B4	Koshiha, T. (小柴琢己)	C8
<b>【H】</b>		Kurata, R. (倉田里穂)	S1
Hayakawa, Y. (早川洋一)	C3	Kurata, S. (倉田祥一朗)	S6
Horiuchi, H. (堀内浩幸)	B4	<b>【M】</b>	
Hoshino, K. (星野啓太)	C5	Matsuda, H. (松田治男)	B4
Hosomichi, K. (細道一善)	S1	Matsuda, Y. (松田泰幸)	C8
<b>【I】</b>		Matsumoto, Y. (松本恭子)	C2, C3
Inoko, H. (猪子英俊)	S1	Mehta, R.B. (メタ ラトネイツユ バイ)	A1
Isawa, H. (伊澤晴彦)	C5	Mita, K. (三田和英)	S5
Ishii, T. (石井照久)	C6	Miura, F. (三浦 ふみ)	A1
Ito, K. (伊藤克彦)	S5	Miura, M. (三浦正晴)	A9
Iwabuchi, K. (岩淵喜久男)	C2	Miyadai, T. (宮台俊明)	B1, B2
<b>【K】</b>		Moritomo, T. (森友忠昭)	A8, B3
Kadono-Okuda, K. (門野敬子)	S5	Mutoh, Y. (武藤由利絵)	C1
Kaneko, H. (金子洋之)	C10	<b>【N】</b>	
Kato-Unoki, Y. (鶴木陽子)	A4	Nakagami, H. (中上 元)	B2
Katsuma, S. (勝間 進)	S5	Nakaguchi, A. (中口 梓)	C2
Kawabata, S. (川畑俊一郎)	C8	Nakamura, O. (中村 修)	A11
		Nakanishi, T. (中西照幸)	A5, A8, B3
		Nakao, M. (中尾実樹)	A4, A5, A6
		Nonaka, M. (野中 勝)	A1, A2

## 【O】

Oda, Y. (織田康則)	C3
Ogata, K. (尾形 梢)	C1
Ohkawa, M. (大川真梨子)	C1
Ohtake, S. (大竹伸一)	C6
Okazaki, Y. (岡崎優利)	B4
Okura, C. (大蔵千恵)	A6
Osaki, T. (尾崎 司)	C8
Ototake, M. (乙竹 充)	A7, A8, B3

## 【S】

Saito, N. (齋藤典子)	C5
Saito, Y. (齋藤泰孝)	B3
Sameshima, S. (鮫島史朗)	A4
Sasaki, T. (佐々木年則)	C5
Sato, K. (佐藤和広)	S1
Sato, M. (佐藤雅寿)	B1
Sato, R. (佐藤令一)	C4
Sawabe, K. (澤邊京子)	C5
Sawada, T. (澤田知夫)	C6
Shibahara, Y. (柴原 悠)	S1
Shiina, T. (椎名 隆)	S1
Shimada, T. (嶋田 透)	S5
Shimizu, N. (清水信義)	SL
Somamoto, T. (杣本智軌)	A4, A5, A6, B3
Suetake, H. (末武弘章)	S2, A3, A9, A10, B3
Sugamata, R. (菅又龍一)	A10
Sugimura, T. (杉村 隆)	C2
Suyama, H. (陶山晴香)	C8
Suzuki, S. (鈴木 聡)	C7
Suzuki, Y. (鈴木 譲)	A3, A9, A10, B3

## 【T】

Tabei, A. (田部井 彩)	C1
Takada, A. (高田 綾)	B2
Takahashi, Y. (高橋幸則)	C9
Takase, H. (高瀬比菜子)	C4
Takeda, H. (武田洋幸)	S3
Takizawa, F. (瀧澤文雄)	A8, B3
Taniguchi, Y. (谷口善仁)	A7
Toda, H. (戸田秀明)	B3
Toh, Y. (藤 義博)	C8
Tomonaga, S. (友永 進)	C9
Toriyama, Y. (鳥山悠子)	B4
Totsuka, Y. (戸塚ゆ加里)	C2
Tsukamoto, K. (塚本 健太郎)	A1
Tsutsui, S. (筒井繁行)	A11

## 【U】

Urabe, S. (占部慎二)	A5
Uryu, M. (瓜生匡秀)	C3
Usami, T. (宇佐美剛志)	C7

## 【W】

Wago, H. (和合治久)	C1
Wakabayashi, K. (若林敬二)	C2
Watanabe, A. (渡部綾子)	C4
Watanabe, M. (渡辺 舞)	S1
Watanabe, T. (渡邊 翼)	A11

## 【Y】

Yamamoto, M. (山本真史)	C2
Yan Meng (孟 艷)	S5
Yokosawa, H. (横沢英良)	C7
Yoshiura, Y. (吉浦康寿)	A7, A9

## 協賛企業・団体

平成19年7月20日現在

### 【広告協賛】

株式会社国際文献印刷社

株式会社ジーンネット

株式会社三啓

理科研株式会社

株式会社新興精機

正晃株式会社

日本電子株式会社

### 【協賛】

アクア株式会社

日本養鰻漁業協同組合連合会

株式会社カーク

ヤマハ発動機株式会社

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19年7月

日本比較免疫学会会長 吉田 彪  
第19回学術集会会長 鈴木 譲

# Nikon

## 全反射照明蛍光顕微鏡 + 共焦点レーザー顕微鏡システム

マルチモードイメージング顕微鏡

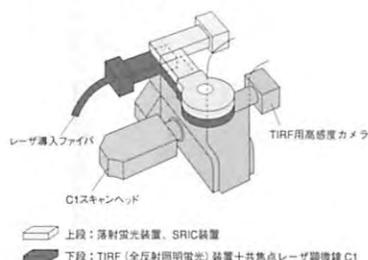
# TIRF-C1

近年、注目を集めている全反射照明蛍光観察 (TIRF) による近接場 (エバネッセント) 光を利用した1分子イメージング技術。ニコンのTIRF-C1なら、一つのレーザーを全反射照明蛍光観察だけでなく、共焦点レーザー顕微鏡観察にも同時に利用することが可能です。



- 一つのレーザーを全反射照明蛍光顕微鏡と共焦点顕微鏡で共有し、省スペースを実現
- ニコン倒立顕微鏡TE2000独自の階層構造により、全反射照明蛍光顕微鏡 + 共焦点顕微鏡 + 落射蛍光装置の同時装着が可能

倒立顕微鏡 TE2000 独自の階層構造



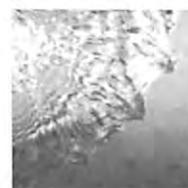
■ マウス骨髄由来のストローマ細胞 (ST2細胞) のマルチモードイメージングによる比較



共焦点 (コンフォーカル) 観察像



全反射照明蛍光 (TIRF) 観察像



表面反射干渉 (SRIC) 観察像

作例ご提供：横浜市立大学医学部解剖学第一講座 小畑秀一先生

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-coitd.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

# 良いデータを簡単に撮りたい

その夢を実現した、簡単操作の120kV高コントラストTEM

電子顕微鏡

# JEM-1400



### ■新しい電子光学系の採用

電子顕微鏡とデジタルCCDカメラを一体設計し、CCDカメラに最適な電子光学系を開発したことにより200倍の低倍率から像回転が無く、高精細・高コントラストな像を得られます。

### ■新しいGUI - TEM Center -

操作は、新デザインのGUIの画面で行い、装置の動作状態や操作内容を鏡筒のユニット順に対応させているため、直感的な操作に役立ちます。

### ■ナビゲーション - JENIE -

さまざまな操作を正しい手順でナビゲーションする機能です。操作項目を選択すると、ウィンドウに実際の操作や動作をビデオ像などで表示されるので、初心者でも安心して操作ができます。

### ■新開発のデジタルCCDカメラ

電子顕微鏡像を撮影する新しいデジタルCCDカメラを開発しました。ビームブランキング不要のインターライン方式CCDの採用により、高速データの取込が可能になりました。

### ■豊富なアプリケーションソフトウェア

電子顕微鏡とデジタルCCDカメラを一体化したことにより、オートフォーカスや自動モニター撮影など数多くの一連操作をアプリケーションソフトとして組み込むことができました。

# 光学顕微鏡のレスポンスで ミリからナノまで連続ズーム

可搬形走査電子顕微鏡

# JCM-5700

ハイスループットと高性能を両立。

サンプルの分類を選ぶだけで起動から3分で画像表示。

低真空機能(LV)やエネルギー分散形X線分光装置(EDS)を付属しても変わらないスペースを実現したフリーレイアウトSEMです。

### ■生産現場・研究室用 SEM

どこでも稼働できる高性能コンパクト SEM  
低ランニングコスト <長期間メンテナンスフリー>

### ■検査項目・研究テーマ毎に条件をメモリー

誰でも同じ検査結果が得られる高い再現性  
自分専用の条件で いつでも使える MY SEM

### ■数万倍を簡単に

誰でも使えるイージーオペレーション  
装置起動は約 3 分



# JEOL

Serving Advanced Technology

日本電子株式会社

本社・昭島製作所 〒196-8558 東京都昭島市武蔵野3-1-2 ☎(042)543-1111  
営業統括本部 〒190-0012 東京都立川市曙町2-8-3 新鈴倉ビル3F ☎(042)528-3381  
札幌 (011) 726-9680・仙台 (022) 222-3324・筑波 (029) 856-3220・東京 (042) 528-3211・横浜 (045) 474-2181  
名古屋 (052) 581-1406・大阪 (06) 6304-3941・広島 (082) 221-2500・福岡 (092) 411-2381

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



生命を構成するDNA。それは宇宙の誕生から現在まで途切れることなく、全ての生命に受け継がれてきました。しかし、もとをたどれば全宇宙に存在する虫も、動物も、そしてヒトも、全て同じものから創られているのです。

そこにはまだ、未知なる宇宙の神秘として医療・研究・開発者の前に立ちほだかり、  
様々な難問を解かれることを待っています。

私たち「理科研」が、この問題へ向かう人々を真心でお手伝い出来るのは、  
設立当初から受け継がれてきた社訓、「誠意」が遺伝子として組み込まれているから。

理科研は、「バイオ研究」に欠かすことのできない機器・試薬の販売を通じ、  
人類の幸せと豊かな社会の実現を願っています。

## 体内宇宙への挑戦。

## 理科研株式会社

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

- 本社 名古屋守山区元郷二丁目107番地  
〒463-8528 TEL 052-798-6151(代) FAX 052-798-6157
- 岐阜営業所 岐阜県岐阜市岩地2丁目25番2号  
〒500-8225 TEL 058-240-0721(代) FAX 058-240-1082
- 津営業所 三重県津市丸之内養正町20番地14号  
〒514-0036 TEL 059-224-6661(代) FAX 059-224-6671
- 四日市営業所 三重県四日市市桜町2129番の1  
〒512-1211 TEL 059-326-0231(代) FAX 059-326-3577
- 静岡営業所 静岡県駿河区広野3丁目29番8号  
〒421-0121 TEL 054-256-3751(代) FAX 054-256-3755

- 東京支店 東京都文京区本郷七丁目2番1号  
〒113-0033 TEL 03-3815-8951(代) FAX 03-3818-0889
- つくば営業所 茨城県つくば市高野台三丁目16-2  
〒305-0074 TEL 029-856-2151(代) FAX 029-856-5071
- 柏営業所 千葉県柏市若柴197番地17  
〒277-0871 TEL 04-7135-6651(代) FAX 04-7135-6751
- 神奈川営業所 横浜市緑区十日市場町901-31  
〒226-0025 TEL 045-989-6551(代) FAX 045-989-6701
- 鶴見営業所 横浜市鶴見区朝日町一丁目49番地  
〒230-0033 TEL 045-500-4551(代) FAX 045-500-4571
- 三島営業所 静岡県駿東郡長泉町下土狩217番地1  
〒411-0943 TEL 055-980-1101(代) FAX 055-980-1105

# 的確な情報で研究開発をバックアップ

最適な研究環境をコンサルティング

ハイレベルな製品のご案内

信頼のサポート体制

あらゆる分野における研究機関において  
長年にわたって携わってきた実績から、  
細かなニーズにお応えする提案力が  
私たち「新興精機」にはあります。



株式会社 新興精機

〒812-0054 福岡市東区馬出1丁目18番3号  
TEL: 092-641-8451 FAX: 092-641-8786

【関連会社】 CAセラピューティック

細胞保存・免疫細胞加工と先端医療技術の開発

佐賀営業所	〒849-0037	佐賀市鍋島3丁目9番6号
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
熊本営業所	〒862-0920	熊本市月出4丁目1番130号
宮崎営業所	〒880-0929	宮崎市まなび野2丁目37番5
鹿児島営業所	〒890-0054	鹿児島市荒田2丁目4番14号-201号
東京営業所	〒101-0021	東京都千代田区外神田6丁目10番12号
工場	〒816-0063	福岡市博多区大字金の隈2丁目3番9号

## One Stop Service

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

PREPRESS・PRESS

DTP, L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X<sub>2</sub>ε, 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

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

# ● 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クエンスサービス!	¥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

お問い合わせは...

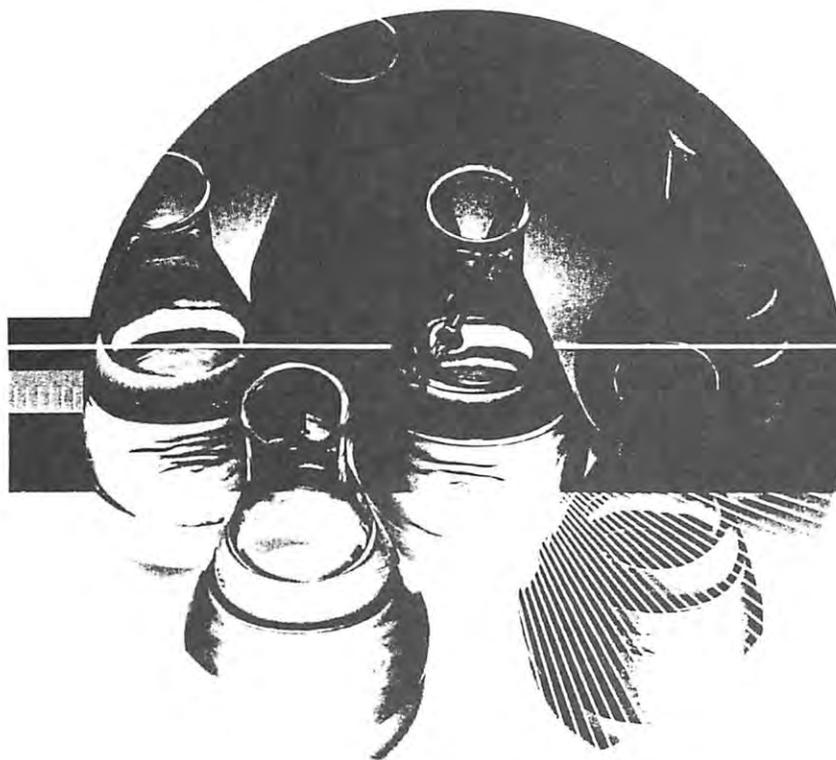
GeneNet 株式会社 ジーンネット

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>

## 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](http://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  | ■理化学機器    | ■家電製品      |
| ■体外診断用医薬品 | ■医療用機器    | ■コンピュータおよび |
| ■動物用医薬品   | ■分析用機器    | 医療関連ソフトウェア |
| ■化学工業薬品   | ■その他機器・器具 | 上記の開発・販売   |
| 上記の販売     | 上記の販売・修理  |            |

日本比較免疫学会

第19回学術集会講演要旨

原稿受付	2007年6月22日
発行日	2007年7月20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、山口恵一郎

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