

〔最新情報：“玉手箱”〕 血清学的タイピングと 遺伝子タイピングの異同 (2)

中島 文明

神奈川県赤十字血液センター，検査課

前回は1度で書ききれなかったため，その続きとなります。

15. B22new

福岡県赤十字血液センターの徳永らが第8回日本HLA ワークショップで提唱したB56に関連した抗原である(1)。B56 monospecific血清に反応し，B54+55.1+B56という血清に反応しないことが特徴である。B56がA31-Cw4-B56となるのに対し，B22newはA11.1-Cw1-B22newというハプロタイプを持つ。さきほどのB55.1/B55.2もそうであったが，提唱された時はBw55.1/Bw55.2/Bw22newとそれぞれ“w”が付いていた。その後，第11回国際組織適合性ワークショップの後，HLA 抗原名から“w”が取れたことから，習慣的にこれらも“w”抜きで呼ぶようになっていく。

16. B39N

これは我々が第1回日本組織適合性学会で報告したB39のサブタイプ抗原である。B3901(+), B3902(+), B39N(-)という抗血清があり，他のB39関連抗血清との組み合わせでタイプできる。対立遺伝子の解析も済みでありB*3904と命名されている(2)。頻度はB3902の半分ほどで，A2-Cw7-B39N-DR4.2(DRB1*0403)-DQ3というハプロタイプが家系調査から確認されている。

17. FU

福岡県赤十字血液センターの徳永らが第9回日本HLA ワークショップで提唱したB48に関連した抗原である(3)。B48を含むB40関連の長い血清に反応するものがあり，一方，B48 monospecific血清には

反応しないことが特徴であり，B48というよりもむしろB40のサブタイプとした方が妥当かもしれない。family studyでA24-Cw4-FUというハプロタイプが報告されている。非常に低頻度である。対立遺伝子の解析も済みであり，B*4007と命名されており，現在，論文を投稿中である。

18. B48A1/B48A2/B48A3

湘南赤十字血液センターの安藤らが提唱しているB48のサブタイプ抗原である。FUとは異なりB48 monospecific血清にすべて反応する。そして，B60+B61+B13といった特異性の抗血清のtail部分に反応するものがB48A1，反応しないものがB48A2という定義である。その後，別の反応パターンからB48A3が提唱されている。

19. B13N

我々が見いだしたB60+B61+B41という特異性の抗血清に反応するB13と反応しないB13があり，反応する方をB13Nと呼んでる。日本人ではA30-Cw6-B13N-DR7-DQ2, A3A2-Cw6-B13N-DR7-DQ2が低頻度ながら同程度存在し，外国人ではこれ以外のハプロタイプがあり必ずCw6-DR7とassociateしている。これに対しconventionalな方のB13はA2(A24)-Cw10-B13-DR12-DQ7というassociationで存在する。B13の対立遺伝子およびIEFのパターンともすでに報告されており，最近，B13Nとこれらとの対応も確認された。すなわち，B13N=B*1302, B13(conventionalな方)=B*1301で日赤中央血液センターLing LinらがHuman Immunologyに報告している(4)。

20. CX4451

兵庫県赤十字血液センターの荒木らが第33回日本組織適合性研究会で報告した B44, B51 に associate する C ローカス抗原である (5). Cw1 + CX4451 という血清でタイプできる. A33-CBL-B44, A31-CBL-B51 に反応し, A3-Cw5-B44 などには反応しない. 日本人では 20% 以上の頻度が確認されている. C ローカスの片方に Cw1 があるとアサインできないため正確な頻度は計算できない.

21. CX44

これは, 第10回日本 HLA ワークショップ共同報告書で我々が報告したものである (6). 上記の CX4451 の B44 にのみ associate する部分をみている Cw9 + Cw10 + CX44 という血清でタイプできる. 日赤中央血液センター Wang らが対立遺伝子の解析をし, C*1403 と新しいアレル名が付いた. 現在, 論文を投稿中である.

22. CX52

A24-B52 に associate する C ローカス抗原として transfectant を用いて同定した抗血清に関する論文を, 湘南赤十字血液センターの安藤らが Human Immunology に報告している (7). C*1201 として解析されており, B52 と思われた抗血清のなかに CX52 特異性のものが存在するというものである. B52 との association が強いので証明が難しい.

23. Cw1N

第3回日本組織適合性学会で我々が報告した Cw1 のサブタイプである (8). Cw1 抗原でありながら Cw1 monospecific 血清に反応陰性のパネルがあり, ほとんどが A24-Cw1-B46-DR9-DQ3 であった. これは, 前述の A24AK とおなじハプロタイプで非常に興味深いものがある. しかも, このハプロタイプであるとすべてが A24AK であり Cw1N であるかということ, そうではないところがなおさらと思わせるものがある. A24AK 同様非常に低頻度である.

24. Cw8N

第2回日本組織適合性学会で我々が報告した Cw8 のサブタイプである. 以前, 白井松新薬の日暮らが近畿 HLA 研究会で日本人の Cw8 抗原について報告していたが, そのときの抗血清よりも短いところを見ている. association は B61, B48, B70, B15N, B35 で, 外国人の B14-Cw8 には反応しないことがポイントである. これまでは日本人で C ローカスブランクの部分であり, ここがタイプできると約 13% 埋まることとなる (9). 現在, 塩基配列を解析中である.

25. DR8.1/DR8.2

第7回日本 HLA ワークショップから提唱されてきた DR8 のスプリット抗原である. 完全に確立されているにもかかわらず, 海外では未だに信じられていない向きがある. 対立遺伝子, IEF とともに解析され尽くされている (10). 特に, 第11回日本 HLA ワークショップにおける京都府赤十字血液センター丸屋らの報告は詳細であり興味深い (11). DR8.1 = DRB1*0803, DR8.2 = DRB1*0801/0802 でそれぞれ monospecific な抗血清がある. 頻度は DR8.1 : DR8.2 = 2 : 1 となる.

26. DR4.1/DR4.2

これも第7回日本 HLA ワークショップから提唱されてきた DR4 のスプリット抗原である. DR4.1/4.2 それぞれ monospecific な抗血清と DR1 + DR4.1 + HR5 という抗血清と DR4.2 + DR14 というモノクローナル抗体がある. 第11回国際組織適合性ワークショップ以降 DR4 各対立遺伝子との対応も明確になった (12). すなわち DR4.1 = DRB1*0401/0404/0405/0408/0409/0410/0413, DR4.2 = DRB1*0403/0406/0407/0411 である. これは, アミノ酸配列で No.33 (His) - No.67 (Leu) - No.70 (Gln) - No.74 (Ala) が DR4.1, No.33 (His) - No.67 (Leu) - No.70 (Gln) - No.74 (Glu) が DR4.2 の抗血清が反応している部位と推測される. DR1 + DR4.1 + HR5 の抗血清は No.67 (Leu) - No.70 (Gln) - No.74 (Ala) をエピトープとして認識しているものと考えられ, 上記 DR4.1 各アレルの他 DRB1*0101/0102/1402/1406/

1409が共通のアミノ酸配列を有している, DR4.2+DR14の抗体は, No.67(Leu)-No.74(Glu) を認識しているものと考えられ, 上記DR4.2各アレルの他DRB1*1401/1404/1405/1407/1408/1410/1411 が共通のアミノ酸配列を有している.

27. DR4N

これは結論から言ってしまうとDRB1*0402に対応している. 我々が見いだした日本人由来の抗血清を用いて外国人のDR4をタイプングしていたところ, 一部のDR4パネルが反応陰性であり, これが遺伝子タイプングでDRB1*0402と判明した. この血清はアミノ酸配列でNo.33(His)-No.67(Leu)-No.70(Gln)を認識しているものと考えられる. DRB1*0402はNo.67(Ile)-No.70(Asp)なのでこの血清に反応せず, 前述のDR4.1/4.2 monospecific血清にも全く反応しない. 他に, DRB1*0412/0414/0415もDRB1*0402同様No.67(Leu)-No.70(Gln)と異なるので, この血清に反応せずDR4Nの範疇にはいると推測される. 日本人由来の抗血清で外国人のDR4をアレルレベルまでタイプできてしまうところがなんとも皮肉な現象である.

28. DR14.1/DR14.5

埼玉医大の平田, 前田らが第42回日本輸血学会で報告した血清学的に分類できるDR14抗原である. DR14 monospecificな抗血清と, その一部分にしか反応しない抗血清があり, その陽性部分がDRB1*1401で陰性部分がDRB1*1405であることがわかり, 前者をDR14.1, 後者をDR14.5と呼んでいる. ここで述べるDR14にはHR5とDR1403(いわゆるNJ25)は含まれていない. このDR14に一部分しか反応しない抗血清はアミノ酸配列でNo.57(Ala)-No.60(His)を認識しているものと考えられる. したがって, DRB1*1404/1407/1410もDR14.1のグループにはいると推測される. また, DR14すべてと反応する血清はNo.37(Phe)-No.67(Leu)-No.70(Arg)-No.74(Glu)を認識していると考えられ, DRB1*1408/1411もDR14.5のグループにはいることが推測される.

29. HR5

これも埼玉医大の平田, 前田らが提唱してきたDR抗原である(13).当初はDR5グループであったところ, 遺伝子解析でDRB1*1402/1406とallele名が付いてしまい, いつのまにかDR14グループになってしまっている(14).日本人はほとんどDRB1*1406である. また, 外国ではDR3x6などと呼ばれていた. DR4のところでふれたとおりDR1+DR4.1+HR5の抗血清に反応し, DRB3遺伝子(=DR52)を持ち, DQ7とassociateしていることが特徴である.

以上でひととおり終わりますが, 足りない分についてはどなたか補足編をやっていただけるとありがたいと思います.

参考文献

1. 徳永和夫, 河賀泰子, 藤沢優子ら: Bw22newに対する抗血清の評価: 第8回日本HLAワークショップ共同報告, 移植, 18: 526-527, 1983.
2. Ogawa A, Tokunaga K, Nakajima F, *et al.*: Identification of gene encoding novel HLA-B39 subtype. *Hum. Immunol.* (in press).
3. 河賀泰子, 吉川啓子, 徳永和夫ら: Bw48のスプリット抗原と思われるFU抗原について: 第9回日本HLAワークショップ共同報告書, 移植, 18: 168-169, 1985.
4. Lin L, Tokunaga K, Nakajima F, *et al.*: Both HLA-B*1301 and B*1302 exist in Asian populations and are associated with different haplotypes. *Hum. Immunol.* (in press).
5. 荒木延夫, 成瀬妙子, 坊地義浩ら: 新しいC座抗原Cw11new, CX4451について: 第10回日本HLAワークショップ共同報告, 今日の移植, 4・別冊: 105-112, 1991.
6. 中島文明, 中村淳子, 岡野俊生ら: B44パネルのCローカス・ブランク部分に反応する血清の評価: 第10回日本HLAワークショップ共同報告, 今日の移植, 4・別冊: 76-77, 1991.
7. Ando H, Miyata Y, Takata H, *et al.*:

- Identification of alloantisera reacting with HLA-C blank (Cx52) using a mouse L-cell transfected with the HLA - Cw*1201 allele. *Hum Immunol.* **36**: 76-80, 1993.
8. 中島文明, 中村淳子, 岡野俊生ら: HLA-Cw のサブタイプ "Cw1N" を認識するアロ抗血清について, *MHC & IRS* (日本組織適合性学会誌), **1**: 41-42, 1994.
 9. Tongio MM, Betuel H, Gandini E, *et al.*: *HLA 1991* Vol. 1 (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Antigen Society no. 114: HLA-C. Oxford Science Publications, Oxford, 1992; p. 340-345.
 10. Watanabe Y, Matsushita S, Kohsaka T, *et al.*: Sequence variation in Japanese HLA - DRw8 specificity. *Hum Immunol.* **34**: 162-166, 1992.
 11. 丸屋悦子, 佐治博夫: 血清学で分類できる HLADR8.1/8.2 と DRB1*08 allele の相関について: 第11回日本 HLA ワークショップ報告, *MHC & IRS* (日本組織適合性学会誌), **1**: Supplement: 203-205, 1994.
 12. Williamson J, Brown J, Charoenwongse P, *et al.*: *HLA 1991* Vol. 1 (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Antigen Society no. 204, : HLA - DR4, - DR9. Oxford Science Publications, Oxford, 1992; p. 361 - 364.
 13. Maeda H, Hirata R, Matuki K, *et al.*: *HLA 1991* vol 1. (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Antigen Society no.214, part 1: two new DR14-related antigens, HR5 and DR1403(HR6). Oxford Science Publications, Oxford, 1992; p. 386-391.
 14. Schreuder GMTH, Brown J, Hasimoto M, *et al.*: *HLA 1991* vol 1. (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Antigen Society no. 206: HLA - DR6, - DR13, - DR14, and the new specificities, HLA - DR1403(HR6) and - DR1404(DR8x14, DR8I). Oxford University Press, Oxford, 1992; p. 366-372.

〔最新情報：“玉手箱”〕

最新アレル情報

小林 賢

防衛医科大学校, 検査部

はじめに

HLA の命名は、従来国際ワークショップ終了後に開催される命名委員会で決められてきた。しかしながら、HLA の研究が進むにつれ、新たな HLA アレル (allele) が毎月何種類も報告されるようになり、ワークショップごとの命名ではとても対応することができなくなってきた。そこで年に一回改訂されるようになったのだが、それでも新しいアレルがどんどん報告されるためこの間隔でも対応できなくなってきたことから、1995年から遺伝子に関する命名が毎月更新されるようになった。ただし今までのように抗原に関してはワークショップで決められるようである。このように HLA アレルが複雑化してきている現在、組織適合性学会として学会員のみならず最新のアレルをこの学会誌を通じて提供することになった。

1995年3月に開催された WHO 命名委員会の決定内容が “Nomenclature for factors of the HLA system, 1995” として6月 (Human Immunology (1)), 7月 (Tissue Antigens (2)) に発表された。そこで公認された遺伝子座は表1に示す如くである。クラス I 遺伝子として10種類 (A, B, C, E, F, G, H, J, K, L) が、クラス II 遺伝子として23種類 (DRA, DRB1, DRB2, DRB3, DRB4, DRB5, DRB6, DRB7, DRB8, DRB9, DQA1, DQB1, DQA2, DQB2, DQB3, DOB, DMA, DMB, DNA, DPA1, DPB1, DPA2, DPB2) がそれぞれ公認されている。また HLA 関連遺伝子として TAP1 と TAP2 および LMP2 と LMP7 遺伝子座がそれぞれ認められている。

以下に “Nomenclature for factors of the HLA system, 1995” (1, 2) で報告された内容を抜粋して紹介する。現在公認されている HLA アレルの塩基

配列については、クラス I が KL Arnett と P Parham (3) によって、またクラス II が SGE Marsh と JG Bodmer (4) によってそれぞれ記載されている。

1. 塩基配列エラーについての方針

以前に公認されたアレルであっても塩基配列にエラーが含まれているということが多くの新しい塩基配列の提出で明らかとなってきた。これらは既知のサンプルを再シーケンスすることによって検出されている。ある HLA 抗原のアレルについて塩基

表1. HLA領域に存在する遺伝子の名称

名 称	分子の性質
HLA-A	クラスIα鎖
HLA-B	クラスIα鎖
HLA-C	クラスIα鎖
HLA-E	クラスI 6.2 kB HindIII断片に連鎖
HLA-F	クラスI 5.4 kB HindIII断片に連鎖
HLA-G	クラスI 6.0 kB HindIII断片に連鎖
HLA-H	5.4 kB HindIII断片に連鎖したクラスI偽遺伝子
HLA-J	5.9 kB HindIII断片に連鎖したクラスI偽遺伝子
HLA-K	7.0 kB HindIII断片に連鎖したクラスI偽遺伝子
HLA-L	9.2 kB HindIII断片に連鎖したクラスI偽遺伝子
HLA-DRA	DRα鎖
HLA-DRB1	DR1, DR2, DR3, DR4, DR5などの特異性を決定するDRβ1鎖
HLA-DRB2	DRβ1鎖様配列を有する偽遺伝子
HLA-DRB3	DR52とDw24, Dw25, Dw26特異性を決定するDRβ3鎖
HLA-DRB4	DR53を決定するDRβ4鎖
HLA-DRB5	DR51を決定するDRβ5鎖
HLA-DRB6	DR1, DR2とDR10ハプロタイプにみられるDRβ偽遺伝子
HLA-DRB7	DR4, DR7とDR9ハプロタイプにみられるDRβ偽遺伝子
HLA-DRB8	DR4, DR7とDR9ハプロタイプにみられるDRβ偽遺伝子
HLA-DRB9	DRβ偽遺伝子
HLA-DQA1	発現されているDQα鎖
HLA-DQB1	発現されているDQβ鎖
HLA-DQA2	発現が確認されていないDQα鎖関連遺伝子
HLA-DQB2	発現が確認されていないDQβ鎖関連遺伝子
HLA-DQB3	発現が確認されていないDQβ鎖関連遺伝子
HLA-DOB	DOβ鎖
HLA-DMA	DMα鎖
HLA-DMB	DMβ鎖
HLA-DNA	DNα鎖
HLA-DPA1	発現されているDPα鎖
HLA-DPB1	発現されているDPβ鎖
HLA-DPA2	DPα鎖関連偽遺伝子
HLA-DPB2	DPβ鎖関連偽遺伝子
TAP1	ABC(ATP結合カセット)トランスポーター
TAP2	ABC(ATP結合カセット)トランスポーター
LMP2	プロテアソーム関連遺伝子
LMP7	プロテアソーム関連遺伝子

配列が報告されればそれに名称が付与される。また、それと同じ抗原性を有していてそのアレルと異なった塩基配列が認められればこれにも新しい名称が付けられることになる。しかし、最初に報告された塩基配列に誤りがあった場合には、正しい塩基配列に関連した方の名前が維持され、誤った塩基配列に関連した名前が削除されることになった。例えば Cw*0301 と Cw*0302 はともに HLA-Cw3 のアレルであるが、Cw*0301 には塩基配列のエラーがあり、正しくは Cw*0302 と同じであったためにエラーのある Cw*0301 は削除されることになった。今回この基準に基づいて削除されたアレルは B*27051, Cw*0301, Cw*0601, DQA1*03012, DQB1*03031, DPA1*0101 と DPA1*0102 である。また、塩基配列エラーの存在が広く疑われていて、オリジナルサンプルが再シーケンスできないような場合にも混乱をさけるためにそのアレル名が削除される。

2. 新しい対立遺伝子のネーミング

a. 新アレルシーケンスの受理条件

以前に報告されているように、オフィシャルネームについて新塩基配列の受理に関して以下の条件が要求される。

1. いくつかのクローンがシーケンスされていなければならない。
2. 塩基配列決定法が両方向で行われていなければならない。
3. データバンクにアクセスナンバーを取得しなくてはならない。
4. 全長の塩基配列が望ましいが必須なものではない。しかしながら、最低クラス I ではエクソン2と3を、クラス II ではエクソン2の塩基配列が要求される。
5. 論文が投稿されていなければならない。
6. DNA あるいは他の材料(特にセルライン)が公共のアクセス可能な保管場所あるいは少なくともオリジナルラボで利用できるようになっていなければならない。
7. 命名委員会への塩基配列提出はコンピューターで読み込み可能なコピーを含んでいなくてはならない。研究者は塩基配列に関する質問を完成

表2. HLA-Aアレルの名称

HLA Alleles	HLA -A Serological Specificities	HLA Alleles	HLA -A Serological Specificities	HLA Alleles	HLA -A Serological Specificities
A*0101	A1	A*1101	A11	A*3005	A30(19)
A*0102	A1	A*1102	A11	A*31011	A31(19)
A*0201	A2	A*2301	A23(9)	A*31012	A31(19)
A*0202	A2	A*2402	A24(9)	A*3201	A32(19)
A*0203	A203	A*2403	A2403	A*3301	A33(19)
A*0204	A2	A*2404	A24(9)	A*3302	A33(19)
A*0205	A2	A*2405	A24(9)	A*3303	A33(19)
A*0206	A2	A*2406	A24(9)	A*3401	A34(10)
A*0207	A2	A*2407	A24(9)	A*3402	A34(10)
A*0208	A2	A*2501	A25(10)	A*3601	A36
A*0209	A2	A*2601	A26(10)	A*4301	A43
A*0210	A210	A*2602	A26(10)	A*6601	A66(10)
A*0211	A2	A*2603	A26(10)	A*6602	A66(10)
A*0212	A2	A*2604	A26(10)	A*6811	A68(28)
A*0213	A2	A*2605	A26(10)	A*68012	A68(28)
A*0214	A2	A*2901	A29(19)	A*6802	A68(28)
A*0215N	-	A*2902	A29(19)	A*6901	A69(28)
A*0216	A2	A*3001	A30(19)	A*7401	A74(19)
A*0217	A2	A*3002	A30(19)	A*8001	-
A*0301	A3	A*3003	A30(19)		
A*0302	A3	A*3004	A30(19)		

することが期待され、既知の関連アレルと新しい塩基配列との比較を提供する。

b. アレル名

今回、クラス I 領域では新たに12種類の HLA-A、33種類の HLA-B と4種類の HLA-C アレルが表2, 3, 4 に示すように命名された(太字で示す)。HLA-B*27051, Cw*0301 および Cw*0601 はそれぞれ B*27052, Cw*0302 および Cw*0602 と同一であることが判明したため、HLA-B*27051, Cw*0301 と Cw*0601 は削除された。加えて、HLA-A*2401 と B*0701 はいくつかの塩基配列エラーがあると信じられており、引き続き掲載することは混乱のもととなるので削除された。

また、クラス II 領域では28種類の DRB1、3種類の DQA1、3種類の DPA1 と7種類の DPB1 アレルが新たに表5, 6, 7 に示すように命名された(太字で示す)。また TAP2 遺伝子にも1種類新たに追加された(表8)(太字で示す)。DRB1*1313の塩基配列は疑わしい部分が存在していたために報告者により取り下げられたので削除された。DQA1*03012 と DQB1*03031 は DQA1*0302 と DQB1*03032 とそれぞれ同一であったために除かれた。DQA1*0101 と DPA1*0102 は再シーケンスの結果 DPA1*0103 と同一であることが示されたので削除された。

表3. HLA-Bアレルの名称

HLA Alleles	HLA-B Serological Specificities	HLA Alleles	HLA-B Serological Specificities	HLA Alleles	HLA-B Serological Specificities
B*0702	B7	B*2703	B27	B*4101	B41
B*0703	B703	B*27052	B27	B*4102	B41
B*0704	B7	B*27053	B27	B*4201	B42
B*0705	B7	B*2706	B27	B*4402	B44(12)
B*0801	B8	B*2707	B27	B*44031	B44(12)
B*0802	B8	B*2708	-	B*44032	B44(12)
B*1301	B13	B*2709	B27	B*4404	B44(12)
B*1302	B13	B*3501	B35	B*4405	B44(12)
B*1303	-	B*3502	B35	B*4406	B44(12)
B*1401	B64(14)	B*3503	B35	B*4501	B45(12)
B*1402	B65(14)	B*3504	B35	B*4601	B46
B*1501	B62(15)	B*3505	B35	B*4701	B47
B*1502	B75(15)	B*3506	B35	B*4801	B48
B*1503	B72(70)	B*3507	B35	B*4802	B48
B*1504	B62(15)	B*3508	B35	B*4901	B49(21)
B*1505	B62(15)	B*3509	B35	B*5001	B50(21)
B*1506	B62(15)	B*3510	-	B*5101	B51(5)
B*1507	B62(15)	B*3511	-	B*5102	B5102
B*1508	B62(15)	B*3512	-	B*5103	B5103
B*1509	B70	B*3513	-	B*5104	B51(5)
B*1510	B71(70)	B*3701	B37	B*5105	B51(5)
B*1511	B15	B*3801	B38(16)	B*52011	B52(5)
B*1512	B76(15)	B*3802	B38(16)	B*52012	B52(5)
B*1513	B77(15)	B*39011	B3901	B*5301	B53
B*1514	B76(15)	B*39013	B3901	B*5401	B54(22)
B*1515	B62(15)	B*39021	B3902	B*5501	B55(22)
B*1516	B63(15)	B*39022	B3902	B*5502	B55(22)
B*1517	B63(15)	B*3903	B39(16)	B*5601	B56(22)
B*1518	B71(70)	B*3904	B39(16)	B*5602	B56(22)
B*1519	B76(15)	B*3905	-	B*5701	B57(17)
B*1520	B62(15)	B*39061	B39(16)	B*5702	B57(17)
B*1521	B15	B*39062	B39(16)	B*5703	B57(17)
B*1522	-	B*3907	-	B*5801	B58(17)
B*1523	-	B*3908	-	B*5802	-
B*1524	B62(15)	B*40011	B60(40)	B*5901	B59
B*1525	B15	B*40012	B60(40)	B*67011	B67
B*1526N	-	B*4002	B61(40)	B*67012	B67
B*1527	-	B*4003	B40	B*7301	B73
B*1528	-	B*4004	B40	B*7801	B7801
B*1529	-	B*4005	B4005	B*7802	-
B*1801	B18	B*4006	B61(40)	B*8101	-
B*1802	B18	B*4007	-		
B*2702	B27	B*4008	-		

表4. HLA-C, -E, -Gアレルの名称

HLA Alleles	HLA-C Serological Specificities	HLA Alleles	HLA-C Serological Specificities	HLA Alleles
Cw*0101	Cw1	Cw*0803	Cw8	E*0101
Cw*0102	Cw1	Cw*1201	-	E*0102
Cw*0201	Cw2	Cw*12021	-	E*0103
Cw*02021	Cw2	Cw*12022	-	E*0104
Cw*02022	Cw2	Cw*1203	-	
Cw*0302	Cw3	Cw*1301	-	G*01011
Cw*0303	Cw3	Cw*1401	-	G*01012
Cw*0304	Cw3	Cw*1402	-	G*01013
Cw*0401	Cw4	Cw*1403	-	G*0102
Cw*0402	Cw4	Cw*1501	-	G*0103
Cw*0501	Cw5	Cw*1502	-	
Cw*0602	Cw6	Cw*1503	-	
Cw*0701	Cw7	Cw*1504	-	
Cw*0702	Cw7	Cw*1505	-	
Cw*0703	Cw7	Cw*1601	-	
Cw*0704	Cw7	Cw*1602	-	
Cw*0801	Cw8	Cw*1603	-	
Cw*0802	Cw8	Cw*1701	-	

表5. HLA-DRアレルの名称

HLA Alleles	HLA-DR Serological Specificities	HLA-D-associated Specificity	HLA Alleles	HLA-DR Serological Specificities	HLA-D-associated Specificity
DRA*0101	-	-	DRB1*0420	DR4	-
DRA*0102	-	-	DRB1*0421	DR4	-
			DRB1*0422	DR4	-
DRB1*0101	DR1	Dq1	DRB1*11011	DR11(5)	Dw5
DRB1*0102	DR1	Dw20	DRB1*11012	DR11(5)	Dw5
DRB1*0103	DR103	Dw'BON'	DRB1*1102	DR11(5)	Dw'JVM'
DRB1*0104	DR1	-	DRB1*1103	DR11(5)	-
DRB1*15011	DR15(2)	Dw2	DRB1*11041	DR11(5)	Dw'FS'
DRB1*15012	DR15(2)	Dw2	DRB1*11042	DR11(5)	-
DRB1*15021	DR15(2)	Dw12	DRB1*1105	DR11(5)	-
DRB1*15022	DR15(2)	Dw12	DRB1*1106	DR11(5)	-
DRB1*1503	DR15(2)	-	DRB1*1107	-	-
DRB1*1504	DR15(2)	-	DRB1*11081	DR11(5)	-
DRB1*1505	-	-	DRB1*11082	DR11(5)	-
DRB1*1601	DR16(2)	Dw21	DRB1*1109	DR11(5)	-
DRB1*1602	DR16(2)	Dw22	DRB1*1110	-	-
DRB1*1603	-	-	DRB1*1111	-	-
DRB1*1604	DR16(2)	-	DRB1*1112	-	-
DRB1*1605	-	-	DRB1*1113	DR11(5)	-
DRB1*1606	DR2	-	DRB1*1114	-	-
DRB1*03011	DR17(3)	Dw3	DRB1*1115	DR11(5)	-
DRB1*03012	DR17(3)	Dw3	DRB1*1116	-	-
DRB1*0302	DR18(3)	Dw'RSH'	DRB1*1117	-	-
DRB1*0303	DR18(3)	-	DRB1*1118	-	-
DRB1*0304	DR3	-	DRB1*1119	-	-
DRB1*0305	DR3	-	DRB1*1120	-	-
DRB1*0401	DR4	Dw4	DRB1*1121	-	-
DRB1*0402	DR4	Dw10	DRB1*1122	-	-
DRB1*0403	DR4	Dw13	DRB1*1201	DR12(5)	Dw'DB6'
DRB1*0404	DR4	Dw14	DRB1*12021	DR12(5)	-
DRB1*0405	DR4	Dw15	DRB1*12022	DR12(5)	-
DRB1*0406	DR4	Dw'KT2'	DRB1*12031	DR12(5)	-
DRB1*0407	DR4	Dw13	DRB1*12032	DR12(5)	-
DRB1*0408	DR4	Dw14	DRB1*1301	DR13(6)	Dw18
DRB1*0409	DR4	-	DRB1*1302	DR13(6)	Dw19
DRB1*0410	DR4	-	DRB1*1303	DR13(6)	Dw'HAG'
DRB1*0411	DR4	-	DRB1*1304	DR13(6)	-
DRB1*0412	DR4	-	DRB1*1305	DR13(6)	-
DRB1*0413	DR4	-	DRB1*1306	DR13(6)	-
DRB1*0414	DR4	-	DRB1*1307	-	-
DRB1*0415	DR4	-	DRB1*1308	DR13(6)	-
DRB1*0416	DR4	-	DRB1*1309	DR13(6)	-
DRB1*0417	DR4	-	DRB1*1310	DR13(6)	-
DRB1*0418	DR4	-	DRB1*1311	DR13(6)	-
DRB1*0419	DR4	-			

3. イントロンとフランキングシーケンス多型に関するネーミング

同じアレルであってもプロモーター領域にも多型性が見つかってきていたので命名委員会では承認されているアレル名の6桁と7桁目にその多型を表現することとなった。サイレントミューテーションを表す5桁目の数字に続いてイントロンや5'または3'フランキング領域における多型性を示すようになった。すなわちDRB4*0101101のように示す。

DR53をコードするDRB4遺伝子とはならずDR4, DR7かDR9をコードする遺伝子とハプロタイプを形成しているが, DR7(Dw11)はDR53をコードするDRB4*0101遺伝子を有しているもののsplice siteに変異があるために発現されていない。このよ

表5. 続き

HLA Alleles	HLA -DR Serological Specificities	HLA-D- associated Specificity	HLA Alleles	HLA -DR Serological Specificities	HLA-D- associated Specificity
DRB1*1312	-	-	DRB1*08042	DR8	-
DRB1*1314	DR13(6)	-	DRB1*0805	DR8	-
DRB1*1315	-	-	DRB1*0806	DR8	-
DRB1*1316	-	-	DRB1*0807	DR8	-
DRB1*1317	-	-	DRB1*0808	DR8	-
DRB1*1318	-	-	DRB1*0809	DR8	-
DRB1*1319	-	-	DRB1*0810	DR8	-
DRB1*1320	-	-	DRB1*0811	DR8	-
DRB1*1321	-	-	DRB1*09011	DR9	Dw23
DRB1*1322	-	-	DRB1*09012	DR9	Dw23
DRB1*1401	DR14(6)	Dw9	DRB1*1001	DR10	-
DRB1*1402	DR14(6)	Dw16	-	-	-
DRB1*1403	DR14(6)	-	DRB3*0101	DR52	Dw24
DRB1*1404	DR14(6)	-	DRB3*0201	DR52	Dw25
DRB1*1405	DR14(6)	-	DRB3*0202	DR52	Dw25
DRB1*1406	DR14(6)	-	DRB3*0203	-	-
DRB1*1407	DR14(6)	-	DRB3*0301	DR52	Dw26
DRB1*1408	DR14(6)	-	-	-	-
DRB1*1409	DR14(6)	-	DRB4*01	DR53	Dw4, Dw10, Dw13, Dw14, Dw15, Dw17, Dw23
DRB1*1410	-	-	DRB4*0101101	DR53	Dw17
DRB1*1411	-	-	DRB4*0101102	-	Dw11
DRB1*1412	-	-	DRB4*0102	DR53	-
DRB1*1413	-	-	DRB4*0103	DR53	Dw4
DRB1*1415	-	-	-	-	-
DRB1*1416	-	-	DRB5*0101	DR51	Dw2
DRB1*1417	-	-	DRB5*0102	DR51	Dw12
DRB1*1418	-	-	DRB5*0103	-	-
DRB1*1419	-	-	DRB5*0201	DR51	Dw21
DRB1*1420	-	-	DRB5*0202	DR51	Dw22
DRB1*1421	-	-	DRB5*0203	DR51	-
DRB1*0701	DR7	Dw17, Dw'DB1'	-	-	-
DRB1*0801	DR8	Dw8.1	DRB6*0101	-	-
DRB1*08021	DR8	Dw8.2	DRB6*0201	-	-
DRB1*08022	DR8	Dw8.2	DRB6*0202	-	-
DRB1*08031	DR8	Dw8.3	-	-	-
DRB1*08032	DR8	Dw8.3	DRB7*01011	-	-
DRB1*08041	DR8	-	DRB7*01012	-	-

表6. HLA-DQアレルの名称

HLA Alleles	HLA -DQ Serological Specificities	HLA-D- associated Specificity	HLA Alleles	HLA -DQ Serological Specificities	HLA-D- associated Specificity
DQA1*0101	-	Dw1	DQB1*0504	-	-
DQA1*01021	-	Dw2, Dw21, Dw19	DQB1*06011	DQ6(1)	Dw12, Dw8
DQA1*01022	-	Dw21	DQB1*06012	DQ6(1)	Dw12, Dw8
DQA1*0103	-	Dw18, Dw12, Dw8	DQB1*0602	DQ6(1)	Dw2
DQA1*0104	-	Dw9	DQB1*0603	DQ6(1)	Dw18, DwFS'
DQA1*0201	-	Dw7, Dw11	DQB1*0604	DQ6(1)	Dw19
DQA1*03011	-	Dw4, Dw10, Dw13, Dw14, Dw15	DQB1*06051	DQ6(1)	Dw19
DQA1*0302	-	Dw23	DQB1*06052	DQ6(1)	Dw19
DQA1*0401	-	Dw8, Dw'RSF'	DQB1*0606	-	-
DQA1*0501	-	Dw3, Dw5, Dw22	DQB1*0607	-	-
DQA1*05011	-	Dw3	DQB1*0608	-	-
DQA1*05012	-	Dw5	DQB1*0609	-	-
DQA1*05013	-	Dw22	DQB1*0201	DQ2	Dw3
DQA1*0502	-	-	DQB1*0202	DQ2	Dw7
DQA1*0503	-	Dw16	DQB1*0301	DQ7(3)	Dw4, Dw5, Dw8, Dw13
DQA1*0601	-	Dw8	DQB1*0302	DQ8(3)	Dw4, Dw10, Dw13, Dw14
DQB1*0501	DQ5(1)	Dw1	DQB1*03032	DQ9(3)	Dw23, Dw11
DQB1*0502	DQ5(1)	Dw21	DQB1*0304	DQ7(3)	-
DQB1*05031	DQ5(1)	Dw9	DQB1*0305	-	-
DQB1*05032	DQ5(1)	Dw9	DQB1*0401	DQ4	Dw15
			DQB1*0402	DQ4	Dw8, Dw'RSF'

表7. HLA-DP, -DMアレルの名称

HLA Alleles	Associated HLA -DP Specificities	HLA Alleles	Associated HLA -DP Specificities	HLA Alleles	Associated HLA -DP Specificities
DPA1*0103	-	DPB1*1701	-	DPB1*4601	-
DPA1*0104	-	DPB1*1801	-	DPB1*4701	-
DPA1*02011	-	DPB1*1901	-	DPB1*4801	-
DPA1*02012	-	DPB1*20011	-	DPB1*4901	-
DPA1*02021	-	DPB1*20012	-	DPB1*5001	-
DPA1*02022	-	DPB1*2101	-	DPB1*5101	-
DPA1*0301	-	DPB1*2201	-	DPB1*5201	-
DPA1*0401	-	DPB1*2301	-	DPB1*5301	-
		DPB1*2401	-	DPB1*5401	-
		DPB1*2501	-	DPB1*5501	-
DPB1*01011	DPw1	DPB1*26011	-	DPB1*5601	-
DPB1*01012	DPw1	DPB1*26012	-	DPB1*5701	-
DPB1*0201	DPw2	DPB1*2701	-	DPB1*5801	-
DPB1*02011	DPw2	DPB1*2801	-	DPB1*5901	-
DPB1*02012	DPw2	DPB1*2901	-	DPB1*6001	-
DPB1*0202	DPw2	DPB1*3001	-	DPB1*6101N	-
DPB1*0301	DPw3	DPB1*3101	-	DPB1*6201	-
DPB1*0401	DPw4	DPB1*3201	-		
DPB1*0402	DPw4	DPB1*3301	-		
DPB1*0501	DPw5	DPB1*3401	-		
DPB1*0601	DPw6	DPB1*3501	-		
DPB1*0801	-	DPB1*3601	-		
DPB1*0901	-	DPB1*3701	-		
DPB1*1001	-	DPB1*3801	-		
DPB1*11011	-	DPB1*3901	-		
DPB1*11012	-	DPB1*4001	-		
DPB1*1301	-	DPB1*4101	-		
DPB1*1401	-	DPB1*4401	-		
DPB1*1501	-	DPB1*4501	-		
DPB1*1601	-				

表8. TAPアレルの名称

TAP alleles	TAP alleles
TAP1*0101	TAP2*0101
TAP1*02011	TAP2*0102
TAP1*02012	TAP2*0103
TAP1*0301	TAP2*0201
TAP1*0401	

うに通常は発現している遺伝子でもその中に変異などが存在していて発現されなかったり (non-expressed), ヌルアレル(null allele)となっているような場合にはその意味を表すために DRB4*0101102 N のように "N" を最後に付加することになった。

A*68011と A*68012との区別ができない場合には A*6801だけで十分である。また, A2には17種類のアレルがあるが, それらが区別できない場合には A*02を充当する。

4. 新塩基配列の公表

命名に関する更新は毎月 Tissue Antigens, Human Immunology および Immunogenetics に発表される。これらは, 訂正塩基配列の詳細, 新塩基配列や確認塩基配列に関して命名委員会に報告された情報が含まれている。

以上のように HLA アレルの命名法もかなり複雑化してきている。今後, いろいろな民族の HLA タイ

ピングが実施されてくるとますますアレルが増え、より複雑化することが予想される。そのため、DNA タイピングする上でいろいろと問題も発生してくるかと思われる。

参考文献

1. Bodmer JG, Marsh SGE, Albert ED, *et al.*: Nomenclature for factors of the HLA system, 1995. *Tissue Antigens* **46**: 1-18, 1995.
2. Bodmer JG, Marsh SGE, Albert ED, *et al.*: Nomenclature for factors of the HLA system, 1995. *Hum. Immunol.* **43**: 149-164, 1995.
3. Arnett KL, Parham P: HLA class I nucleotide sequences, 1995. *Tissue Antigens* **46**: 217-257, 1995.
4. Marsh SGE, Bodmer JG: HLA class II nucleotide sequences, 1995. *Tissue Antigens* **46**: 258-280, 1995.

〔最新情報:“玉手箱”〕最新 PCR-RFLP 情報:1995年版 Nomenclature for factors of the HLA system を対象とした, PCR-RFLP 法による DRB1, DPB1 タイピング

兼重 俊彦¹⁾, 稲川 明¹⁾, 福森 泰雄²⁾, 猪子 英俊³⁾

¹⁾ シオノギ製薬, 診断医学部 ²⁾ 大阪府赤十字血液センター, 研究部 ³⁾ 東海大医学部, 分子生命科学

PCR 法によるクラス II 遺伝子タイピングの実用化とその普及により, 公認されたクラス II 抗原の各遺伝子座の対立遺伝子 (アリル) の数は増加の一端を辿っている。これらは従来より WHO Nomenclature Committee より 1~2 年の間隔で, Nomenclature として公表されて来たが, 本年より月毎に追加, 改訂されており, 6月に1995年版の Nomenclature for factors of the HLA system として整理された (1)。通常新規アリルの塩基配列は論文や accession number の検索より調べることができる

(注 1)。われわれはこれらから塩基配列を検索して定期的に研究室のデータベースに入れ, 日常的に実施しているタイピング技法で検出が可能か否かを確認し, 必要に応じてタイピング法の改良を行ってきた。最近新たに発見されたアリルの多くは極めて低頻度で存在するものであると考えられるが, 遺伝子タイピングのデータが普遍的な性格を持つものであり, また現時点で個々の塩基置換の持つ意味が明確でない以上, それらのアリルを対象とし既存のアリルとの異同の判別が可能でタイピングが行われる必要があるとわれわれは考えている。

周知の通り, 遺伝子タイピング技法として種々の方法がこれまでに開発されており, 既に利用する立場に応じて, それぞれの技法の特徴を生かして選択ができる状況にあると思われる。これらのタイピング技法の中で, 1989年に猪子らのグループにより開発された PCR-RFLP 法 (2, 3) は, 主要なクラス II 遺伝子 (DRB1, DQA1, DQB1, DPB1) 全てでも 20種類程度のオリゴプライマーと市販の制限酵素を調達さえすれば基本的に遺伝子タイピングが可能であり, 技術的にも容易で再現性の高いデータが得られることから, 数多くの研究室や検査室で利用され

ている方法である。しかしながら方法の特性として, 多型性部位の検出においてはそれを識別可能な制限酵素の有無に依存することは否めない。今回, '95 年版の Nomenclature for factors of the HLA system の全ての DRB1 および DPB1 アリルを対象として, PCR-RFLP 法による遺伝子タイピングでいずれの範囲までのアリルの検出が可能なのかを, われわれが日常的に用いている方法により紹介することにする。

1. '95 年版の Nomenclature for factors of the HLA system の DRB1, DPB1 アリル

'95 年版の Nomenclature for factors of the HLA system (1) に公認されている DRB1 アリルは 124 個, そのうち同義置換のものは 11 個, また第 4 回本学会大会において報告された DRB1*1123, DRB1*04052 を加えると現在 126 個のアリルが認められている。

一方 DPB1 アリルは 62 個 (その内, 同義置換のものは 6 個) が '95 年版の Nomenclature for factors of the HLA system に公認されている。この中で DPB1*5701 は塩基配列が公開されていない。

2. PCR 増幅

DRB1 アリルの遺伝子タイピングでは他の DRB 遺伝子の増幅を避けるために, 第 11 回国際組織適合性ワークショップの頃より, DRB1 アリルグループ特異的な PCR が導入されており, PCR-RFLP 法では太田らによる改良法の報告の中でも用いられている (4)。更にこのグループ特異的な PCR 増幅はヘテロ接合体の 2 つの HLA 遺伝子が別々のグループに属する場合には, 個々にそれらを解析できるので,

表1
DRB1, DPB1 第2エクソン増幅のためのPCRプライマーセット

group	sense	antisense	size(bp)
[DRB1]			
DR1	RB-1 (5'-GGTTGCTGGAAAGATGCATCT)	DRBAMP-B (5'-CCGCTGCACTGTGAAGCTCT)	206
DR2	DRBAMP-2 (5'-TTCTGTGGCAGCCTAAGAGG)	DRBAMP-B	261
DR52A(86:Gly)	DRBAMP-3 (5'-CACGTTTCTTGGAGTACTCTAC)	R86-A (5'-CTGCACTGTGAAGCTCTCAC)	263
DR52B(86:Val)	DRBAMP-3	R86-B (5'-CTGCACTGTGAAGCTCTCCA)	263
DR4	DRBAMP-4 (5'-GTTTCTTGGAGCAGGTTAAAC)	DRBAMP-B	263
DR7	RB-7 (5'-CTGTGGCAGGGTAAGTATAAG)	DRBAMP-B	259
DR9	RB-9 (5'-GGTATCTGCACAGGCATCT)	RBR-92 (5'-CGTAGTTGTCTGCACAC)	177
DR10	RB-10 (5'-TTGAGGAGGTTAAGTTTGGAG)	RBR-10 (5'-TCCTCTTGGTTATGGACGCG)	86
[DPB1]			
P1	PB5'7 (5'-CTCCCCGAGAGAATTACGTG)	PB3'4 (5'-CAGGGTCACGGCCTCGT)	264
P2	PB5'7	PB3'6 (5'-CTGCAGGGTCATGGCCC)	267
P3	PB5'5 (5'-CCCAGAGAGAATTACCTTTT)	PB3'4	261
P4	PB5'5	PB3'6	264
NP2	PB36-2C (5'-AACCGGGAGGAGT(A/T)CGC)	PB3'6	180
NP4	PB36-2T (5'-CAACCGGGAGGAGT(A/T)CGT)	PB3'6	179

多型性領域の組み合わせのみが異なるヘテロ接合体に由来する問題(3)(例えば特定のヘテロ接合体の組み合わせが決定できない, heteroduplex バンドの出現など)の回避に有効である。われわれも表1に示したグループ特異的なプライマーを用いている。この中でDR7, DR10については対応するアレルの種類が1種類であり, またDR9は同義置換のDRB1*09011と09012が存在するが, この区別がPCR-RFLP法で不可能であるため, PCR増幅の有無により, それぞれDRB1*0701, 1001, 0901としてアレルを決定する。またDR52(DR3,5,6,8)関連アレルグループには多くの種類のアレルが存在することから, コドン86のGTG(Gly), GGT(Val)に対応した2種類のアンチセンスプライマー(注2)を用いて, 更に2つのグループに分けている。これと同様のものが第12回国際組織適合性ワークショップのプロトコールにも示されている。但し, コドン86が上記以外のものが2種類(DRB1*08042, 1316)あり, これらのアレルに対しては表1の「R86-A」, 「R86-B」プライマーでは増幅が困難と思われる。また日常には用いていないが, DR52関連アレルグループと同様にDR4アレルグループでもヘテロ接合体の両方のDRB1アレルがここに属する場合に必要な応じてこの「R86-A」, 「R86-B」プライマーを使用して別々に増幅し, それぞれを制限酵素で処理する。

DPB1アレルのタイピングでは福森らが第2エクソン内の両端に存在する可変部位に着目し, センス

プライマー, アンチセンスプライマー各々2種類のもの(表1, オリジナルの5'3は5'7に改変)を用いて4つのグループ(P1~P4)に選別するPCRを第11回国際組織適合性ワークショップのカンファレンスで発表した(5)。DPB1アレル数の増加を想定した場合, これも前述のDRB1タイピングと同様に有効である。但し, その後P4グループのアレルの数が増加したことで, 日本人集団ではこのグループに属するアレルの出現頻度が高いため, コドン36(BstUIの認識部位)の可変部位を利用したプライマーを設定し, 同じく「PB3'7」プライマーにより増幅可能なP2グループと合わせ, 新たなグループをNP2, NP4を設定した(表1)。

3. RFLP パターン

ここで示すRFLPパターンは, いわゆる「yes/no」方式のmodified PCR-RFLP法ではなく, 制限酵素処理により得られるバンドのサイズにより判別する方法であることを最初にお断りしておく。

使用する制限酵素は「standard」と「supplementary」に分け, 後者は必要に応じて用いる(表中, 下線で示したサイズの違いで区別可能)。同義置換のアレルについては特にそれらの区別を目的として「supplementary」の制限酵素処理をしないものとした。尚, 各々の制限酵素断片のサイズは表に切断順に並記している。

表2-1
DR1 及び DR2 グループの RFLP パターン

[DR 1]		Standard			Supplementary		
DRB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Hph</i> I	<i>Pst</i> I				
0102	206	86,120	206				
0104	206	86,120	165,41				
0101	206	86,109,11	165,41				
0103	111,95	86,109,11	165,41				

[DR 2]		Standard			Supplementary		
DRB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Hph</i> I	<i>Bpm</i> I	<i>Ava</i> II	<i>Sac</i> II	<i>Hha</i> I	
1504	261	141,120	205,56	261	203,58	98,97,66	
1604	261	141,109,11	261	261	261	98,163	
1603	261	141,109,11	261	261	203,58	98,163	
1601	261	141,109,11	261	261	203,58	98,99,2,62	
1602	261	141,109,11	261	177,84	203,58	98,99,2,62	
1501=1503	166,95	141,120	205,56	261	203,58	98,97,66	
1605	166,95	141,109,11	261	261	203,58	98,99,2,62	
1606	166,95	141,109,11	261	261	203,58	98,163	
1502(1,2)	166,95	141,109,11	205,56	261	203,58	98,97,66	

表2-2
DR52A グループの RFLP パターン

[DR52A]		Standard					Supplementary					
DRB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Hha</i> I	<i>Sac</i> II	<i>Hph</i> I	<i>Rsa</i> I	<i>Sfa</i> NI	<i>Ava</i> II	<i>Bpm</i> I	<i>Bsr</i> BI	<i>Bso</i> FI	<i>Scr</i> FI	
1407	263	103,160	263	146,109,8	15,111,137	263	182,81	210,53	53,141,69	150,7,106	66,21,42,60,74	
1111	263	103,160	263	146,109,8	15,111,39,98	146,117	263	263	53,210	150,113	66,21,42,60,74	
0302	263	103,160	263	146,109,8	15,111,39,98	146,117	182,81	87,123,53	53,210	150,113	66,21,42,60,18,56	
1403	263	103,160	263	146,109,8	15,111,39,98	146,117	182,81	87,176	53,210	150,113	66,21,42,60,18,56	
1414	263	103,160	263	146,109,8	15,111,39,98	146,117	182,81	210,53	53,141,69	150,113	66,21,42,60,74	
1123	263	103,160	263	146,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
0305	263	103,160	263	146,109,8	15,48,102,98	146,117	182,81	210,53	53,210	150,113	66,21,42,60,18,56	
0808	263	103,160	263	36,110,109,8	15,81,30,137	263	263	263	53,210	150,7,106	66,63,60,18,56	
0802(1,2)	263	103,160	263	36,110,109,8	15,81,30,39,98	146,117	263	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
0807	263	103,160	263	36,110,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
0811	263	103,160	263	36,110,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,7,106	66,63,60,18,56	
1112	263	103,160	208,55	146,109,8	15,150,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1109	263	103,160	208,55	146,109,8	15,150,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,21,42,60,74	
1305	263	103,160	208,55	146,109,8	15,150,98	146,117	263	263	53,210	150,55,53	66,21,42,60,74	
1402	263	103,160	208,55	146,109,8	15,111,39,98	146,117	182,81	87,123,53	53,210	150,55,53	66,21,42,60,74	
1409	263	103,160	208,55	146,109,8	15,111,39,98	146,117	182,81	210,53	53,210	150,55,53	66,21,42,60,74	
1101(1,2)	263	103,160	208,55	146,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1108(1,2)	263	103,160	208,55	146,109,8	15,81,69,98	263	182,81	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1307	263	103,160	208,55	146,109,8	15,81,30,39,98	146,117	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1115	263	103,160	208,55	146,99,10,8	15,150,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
0809	263	103,160	208,55	36,110,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,147,63	150,55,53	66,63,60,74	
1105	263	103,160	208,55	36,110,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
0801	263	103,56,104	263	36,110,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
1413	263	103,56,104	208,55	146,109,8	15,111,39,98	263	182,81	87,123,53	53,210	150,55,53	66,21,42,60,74	
0805	263	103,56,104	208,55	36,110,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1302	171,92	103,160	208,55	146,109,8	15,150,98	146,117	263	263	53,147,63	150,55,53	66,21,42,60,74	
1114	171,92	103,160	208,55	146,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,147,63	150,55,53	66,63,60,74	
1119	171,92	103,160	208,55	146,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1313	171,92	103,56,104	263	146,109,8	15,81,30,39,98	263	202,61	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
08031	171,92	103,56,104	263	36,110,109,8	15,111,39,98	263	263	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
08032	171,92	103,56,104	263	36,110,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,113	66,63,60,74	
1303=1312	171,92	103,56,104	208,55	146,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	

3.1. DRB1の RFLP パターン

制限酵素部位の解析より、これらのグループ毎の RFLP パターンは表2-1~2-4に示した通りである。尚、登録された accession number や論文に掲載さ

れた塩基配列の間で整合性のない場合には、掲載論文の塩基配列より RFLP パターンを検索した。表の RFLP パターンより区別できないものは、1501=1503, 1110=1117, 1104=1106, 1303=1312, 1306=

表 2-3
DR52B グループの RFLP パターン

[DR 52 B]		Standard					Supplementary			
DRB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Hha</i> I	<i>Hinf</i> I	<i>Sac</i> II	<i>Hph</i> I	<i>Rsa</i> I	<i>Sfa</i> NI	<i>Bpm</i> I	<i>Bsr</i> BI	<i>Pst</i> I
1318	263	103,160	263	263	146,117	15,150,98	146,117	263	53,210	225,38
1401	263	103,160	263	263	146,117	15,111,137	263	210,53	53,141,69	263
1408	263	103,160	263	263	146,117	15,111,137	146,117	210,53	53,141,69	263
0303	263	103,160	263	263	146,117	15,111,39,98	146,117	87,123,53	53,210	225,38
1418	263	103,160	263	263	146,117	15,111,39,98	146,117	87,123,53	53,141,69	263
1110=1117	263	103,160	263	263	146,117	15,111,39,98	263	210,53	53,141,69	263
1412	263	103,160	263	263	146,117	15,111,39,98	146,117	87,176	53,210	225,38
1405	263	103,160	263	263	146,117	15,111,39,98	146,117	210,53	53,141,69	263
0301(1,2)	263	103,160	263	263	146,117	15,48,102,98	146,117	210,53	53,210	225,38
1107	263	103,160	263	263	146,117	15,81,69,98	263	210,53	53,210	225,38
1314	263	103,160	263	263	146,117	15,81,69,98	146,117	263	53,210	225,38
1404	263	103,160	263	263	36,110,117	15,111,137	263	210,53	53,141,69	263
1415	263	103,160	263	263	36,110,117	15,111,39,98	146,117	263	53,210	225,38
1411	263	103,160	263	263	36,110,117	15,111,39,98	263	210,53	53,141,69	263
08041	263	103,160	263	263	36,110,117	15,81,30,39,98	146,117	263	53,210	225,38
1417	263	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	146,117	210,53	53,210	225,38
1113	263	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	263	210,53	53,141,69	263
1406	263	103,160	263	208,55	146,117	15,111,39,98	146,117	87,123,53	53,210	225,38
1311	263	103,160	263	208,55	146,117	15,81,69,98	146,117	263	53,210	225,38
1103	263	103,160	263	208,55	146,117	15,81,69,98	263	263	53,147,63	225,38
1104(1,2)=1106	263	103,160	263	208,55	146,117	15,81,69,98	263	263	53,210	225,38
0304	263	103,160	93,170	263	146,117	15,48,102,98	146,117	210,53	53,210	225,38
0806	263	103,56,104	263	263	36,110,117	15,81,30,39,98	263	263	53,210	225,38
12021	263	103,99,2,59	162,101	208,55	36,110,117	15,248	263	87,176	53,210	263
12022	263	103,99,2,59	162,101	208,55	36,110,117	15,248	263	87,176	53,210	225,38
1116	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	263	263	53,147,63	225,38
1301	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	146,117	263	53,147,63	225,38
1306=1310	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	146,117	263	53,210	225,38
1315	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	146,117	87,176	53,147,63	225,38
1416	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,111,137	263	263	53,147,63	225,38
1308	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,111,39,98	146,117	263	53,147,63	225,38
1319	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,111,39,98	146,117	87,176	53,147,63	225,38
1102	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,81,69,98	263	263	53,147,63	225,38
1118	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,81,69,98	263	263	53,210	225,38
1317	171,92	103,160	263	208,55	36,110,117	15,81,69,98	146,117	263	53,147,63	225,38
12031	171,92	103,160	162,101	208,55	36,110,117	15,248	263	87,176	53,210	263
0810	171,92	103,56,104	263	263	36,110,117	15,81,30,39,98	263	263	53,210	225,38
1304	171,92	103,56,104	263	208,55	146,117	15,81,69,98	263	263	53,147,63	225,38
1309	171,92	103,97,63	263	208,55	146,117	15,150,98	146,117	210,53	53,210	225,38
1201	171,92	103,99,2,59	162,101	208,55	36,110,117	15,248	263	87,176	53,210	263
12032	171,92	103,99,2,59	162,101	208,55	36,110,117	15,248	263	87,176	53,210	225,38

表 2-4

DR4 グループの RFLP パターン

DR4 グループの *Mnl*I 処理では認識部位と切断部位が重複するため、実際の RFLP パターンは表に示したサイズ以外のものが観察され複雑になる。われわれは日本人集団で頻度の高い DRB1*0401 (typeI), 0403=0406 (typeIII), 0405 (typeV) の増幅産物を酵素処理しコントロールとして並列し電気泳動を行っている。

[DR 4]		Standard						
DRB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Hha</i> I	<i>Hinf</i> I	<i>Sac</i> II	<i>Hph</i> I	<i>Mnl</i> I	< type >	
1410	263	100,163	263	263	143,120	79,107,6,4,67	III	
0422	263	100,163	263	263	72,71,120	79,113,71	I	
0403	263	100,163	263	263	72,71,120	79,107,6,4,67	III	
0407	263	100,163	263	263	72,71,109,11	79,107,6,4,67	III	
0415	263	100,163	263	205,58	72,71,120	79,69,115	-	
0404	263	100,163	263	205,58	72,71,120	79,107,6,71	V	
0413	263	100,163	263	205,58	72,71,120	79,113,71	I	
*0401=0416	263	100,163	263	205,58	72,71,109,11	79,113,71	I	
0408	263	100,163	263	205,58	72,71,109,11	79,107,6,71	V	
0406	263	100,163	90,173	263	72,71,120	79,107,6,4,67	III	
0420	263	100,163	90,173	263	72,71,109,11	79,107,6,4,67	III	
0421	263	100,163	90,173	205,58	72,71,109,11	79,113,71	I	
0419	263	100,163	90,173	205,58	72,71,109,11	79,107,6,71	V	
04052	263	156,107	263	205,58	72,71,109,11	79,107,6,71	V	
0411	263	100,56,107	263	263	72,71,120	79,107,6,4,67	III	
0417	263	100,56,107	263	263	72,71,109,11	79,107,6,4,67	III	
0410	263	100,56,107	263	205,58	72,71,120	79,107,6,71	V	
04051	263	100,56,107	263	205,58	72,71,109,11	79,107,6,71	V	
0409	263	100,56,107	263	205,58	72,71,109,11	79,113,71	I	
0418	168,95	100,163	263	263	72,71,120	79,184	-	
0402	168,95	100,163	263	205,58	72,71,120	79,184	-	
0414	168,95	100,163	263	205,58	72,71,109,11	79,184	-	
0412	168,95	100,56,107	263	263	72,71,120	79,184	-	

**Hha* I + *Bsr* I; 0416: 100,58,(10),95 / 04 others,1410: 100,68,95

表3-1
DPB1-P1 グループの RFLP パターン

[P 1]	Standard				Supplementary			
	DPB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Bst</i> UI	<i>Eco</i> NI	<i>Rsa</i> I	<i>Bbv</i> I	<i>Sac</i> I	<i>Dde</i> I
1401	264	46,218	193,71	264	264	264	264	264
4501	264	46,218	193,71	169,95	264	264	264	264
2501	264	46,218	193,71	22,147,95	264	264	264	264
5201	264	46,218	193,71	22,147,95	147,117	264	264	264
0301=2901	264	46,218	193,71(3,68)	22,242	264	264	264	264
5001	264	46,218	196,68	22,242	264	264	264	24,230
4401	264	46,218	193,3,68	22,242	264	101,163	264	264
5601	264	46,57,2,159	193,71	22,147,95	147,117	264	264	264
0601=2001	234,30	46,218	193,3,68(71)	22,242	264	264	264	264
3001	234,30	46,218	196,68	169,95	264	264	158,106	264
1101	234,30	46,57,2,159	193,71	22,78,69,95	147,117	264	264	264
3501	175,89	46,218	264	264	264	264	264	264
0901	175,89	46,218	196,68	264	264	264	264	264
1001	175,89	46,218	196,68	169,95	264	264	264	264
5401	175,89	46,218	196,68	169,95	264	264	158,106	264
3701	175,89	46,218	196,68	22,147,95	264	264	264	264
0101(1,2)	175,89	46,57,2,159	264	22,78,69,95	147,117	264	264	24,230
2601(1,2)	175,89	46,57,2,159	264	22,78,69,95	147,117	264	264	264
1301	175,89	46,57,2,159	196,68	22,78,69,95	147,117	264	264	264
3601	175,59,30	46,218	264	22,147,95	264	101,163	158,106	264
1701	175,59,30	46,218	196,68	264	264	264	264	264
5501	175,59,30	46,218	196,68	169,95	147,117	264	264	264
5801	175,59,30	46,218	196,68	169,95	147,117	101,163	264	264
2101	175,59,30	46,218	196,68	22,147,95	264	101,163	158,106	264
2701	175,59,30	46,57,2,159	264	22,78,69,95	147,117	264	264	264

表3-2
DPB1-P2 及び P3 グループの RFLP パターン

[P 2]	Standard			[P 3]	Standard			
DPB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Bst</i> UI	<i>Eco</i> NI	DPB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Bst</i> UI	<i>Eco</i> NI	<i>Dde</i> I
1501	234,33	46,57,2,162	193,74	0801	172,89	43,218	19,174,68	261
1801	175,59,33	46,221	267	1901	172,89	43,218	19,174,68	155,106
				3101	231,30	43,57,2,159	19,171,71	261
				3801	172,59,30	261	19,242	155,106
				0501	172,59,30	43,218	19,242	155,106
				1601	172,59,30	43,218	19,174,68	261
				2201	172,59,30	43,218	19,174,68	155,106

1310であり、また先の2章の「R86-A/B」により増幅できないと思われる DRB1*08042, 1316については掲載していないが、プライマー「DRBAMP-B」を用いた場合にはそれぞれ DRB1*08041, 1301と区別できない。

3.2. DPB1の RFLP パターン

DPB1のグループ毎の RFLP パターンを表3-1~3-4に示した(DPB1*5701は除外した)。RFLPパ

ターンにより区別できないものは、0301=2901, 0601=2001, 3901=4001, 4901=5301の4組である。これらのうち0301=2901, 0601=2001では *Eco*NI 切断片サイズがわずかに異なるが、そのサイズが小さいため通常のゲルでは判別が困難と思われる。

尚、新たに設定した「NP4」では、0402=1801の区別が不可能であり(表3-4)、従来のグループセットとの併用が適当と思われる。

表3-3
DPB1-P4 グループのRFLPパターン

DPB1 allele	Standard							
	<i>Bst</i> UI	<i>Eco</i> NI	<i>MnI</i> I	<i>Dde</i> I	<i>Sca</i> I	<i>Fok</i> I	<i>Sac</i> I	<i>Rsa</i> I
2301	43,221	19,245	83,102,79	264	166,98	172,59,33	264	166,98
0402	43,221	19,245	83,69,33,79	264	166,98	172,59,33	264	166,98
4701	43,221	19,174,71	83,102,3,76	264	166,98	172,59,33	264	166,98
3401	43,221	19,171,74	83,102,11,68	264	166,98	231,33	98,166	166,98
4101	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	264	166,98	231,33	264	166,98
0201(1,2)	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	264	166,98	172,59,33	264	166,98
4801	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	264	166,98	172,59,33	98,166	166,98
3201	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	264	264	172,59,33	264	166,98
4601	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	264	264	172,59,33	264	264
0202	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	155,109	166,98	172,59,33	98,166	166,98
0401	43,57,2,162	19,245	83,102,79	264	166,98	172,59,33	264	166,98
3901=4001	43,57,2,162	19,245	83,102,79	264	166,98	172,59,33	264	98,69,98
5101	43,57,2,162	19,245	83,69,33,3,76	264	166,98	172,59,33	264	166,98
4901=5301	43,57,2,162	19,245	83,69,33,3,76	264	166,98	172,59,33	264	98,69,98
2401	43,57,2,162	19,245	83,69,33,3,76	155,109	166,98	172,59,33	264	166,98
3301	43,57,2,162	19,174,71	83,102,3,76	264	166,98	172,59,33	264	166,98
2801	43,57,2,162	19,171,74	83,69,33,11,68	264	166,98	231,33	264	166,98

表3-4
DPB1-NP2 及び NP4 グループのRFLPパターン

DPB1 allele	Standard			
	<i>Eco</i> NI	<i>MnI</i> I	<i>Dde</i> I	<i>Rsa</i> I
0401	180	101,79	180	82,98
3901=4001	180	101,79	180	11,69,98
5101	180	68,33,3,76	180	82,98
4901=5301	180	68,33,3,76	180	11,69,98
2401	180	68,33,3,76	71,109	82,98
3301	109,71	101,3,76	180	82,98
1501	109,71	101,5,6,68	180	11,69,98
2801	106,74	68,33,11,68	180	82,98

DPB1 allele	Standard						
	<i>Eco</i> NI	<i>MnI</i> I	<i>Dde</i> I	<i>Sca</i> I	<i>Fok</i> I	<i>Sac</i> I	<i>Rsa</i> I
2301	179	100,79	179	81,98	87,59,33	179	81,98
1801=0402	179	67,33,79	179	81,98	87,59,33	179	81,98
4701	108,71	100,3,76	179	81,98	87,59,33	179	81,98
3401	108,71	100,11,68	179	81,98	146,33	13,166	81,98
4101	108,71	67,33,3,76	179	81,98	146,33	179	81,98
0201(1,2)	108,71	67,33,3,76	179	81,98	87,59,33	179	81,98
4801	108,71	67,33,3,76	179	81,98	87,59,33	13,166	81,98
3201	108,71	67,33,3,76	179	179	87,59,33	179	81,98
4601	108,71	67,33,3,76	179	179	87,59,33	179	179
0202	108,71	67,33,3,76	70,109	81,98	87,59,33	13,166	81,98

4. すべての多型性部位について、PCR-RFLP 法による識別を可能にするミスマッチプライマー法
PCR-RFLP 法は多型性部位を認識する制限酵素

がなければ識別できないという弱点があるが、最近この弱点を克服する手段が開発されている。すなわちその多型性部位を含む領域に PCR プライマーの

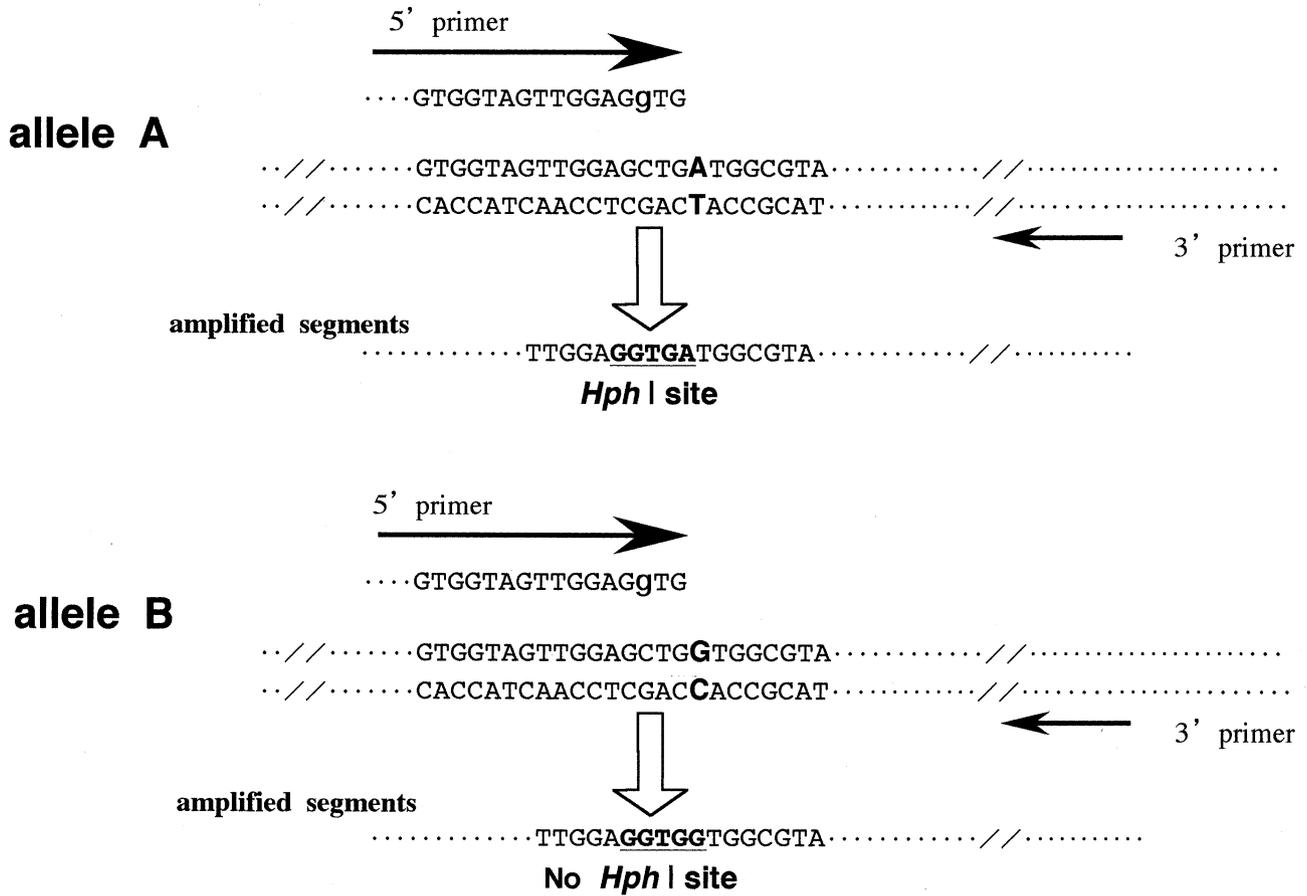


図1
 ミスマッチプライマー法の原理 (文献6より改変)

一方を設定し、しかもそのプライマーには一方のアリルにのみに、ある制限酵素の認識部位が出現するように1塩基の置換を導入する(図1)(6)(一般的には1塩基のミスマッチ程度ではPCR反応のアニーリングに問題は生じない)。

したがって、このミスマッチプライマーで増幅されたPCR産物の制限酵素による切断の有無でアリルの識別が可能となる。このミスマッチプライマー法はすべての多型性部位をPCR-RFLP法で識別しうる有力な方法であり、従来のPCR-RFLP法で同定できないアリルについて、必要に応じ採用すべきであろう。

5. 日常検査におけるPCR-RFLP法の補助的手段

5.1. PCR-SSP法

これまで示したPCR-RFLP法により識別の不可能で、比較的遺伝子頻度の高いと思われるものについては、便宜的にPCR-SSP法を用いて何れかのア

リルを決定している(表4)。

5.2. 同一グループ内で多型性領域の組み合わせのみが異なるヘテロ接合体への対応

同一のグループ内にヘテロ接合体の両方のアリルが含まれる場合に、少数ながら、多型性領域の組み合わせのみが異なるため、ヘテロ接合体アリルの組み合わせが決定できないことがある(3)が、両者のRFLPパターンの異なる制限酵素の認識部位に対応した配列のプライマーを用いて、別個に増幅しRFLP解析することで特定のアリルを決めることができる。

5.3 クラスII遺伝子ハプロタイプからのデータの検証

DRB1タイピングにおいて検出されるアリルがホモ接合体となった場合や稀少なアリルが検出された場合には、連鎖不平衡を示すDQA1, DQB1とのハ

表4
PCR-SSP 法による DRB1, DPB1 タイピング用のプライマー塩基配列を示していないプライマーは表1を参照。

combination	specificity	primer		size (bp)
		sense	antisense	
DRB1*1501=1503	1501,1502	DRBAMP-2	RB30-2T	90
	1503	DRBAMP-2	RB30-2C	90

RB30-2T	5'-CTCCTCCTGGTTATAGAAGTA		anneal. temp. : 62°C	
RB30-2C	5'-CTCCTCCTGGTTATAGAAGTG			
DRB1*1104=1106	1106,1201,1202	DRBAMP-3	RB85-2C	258
	52B other	DRBAMP-3	RB85-2T	258

RB85-2T	5'-CCGTGAAGCTCTCCACAA		anneal. temp. : 62°C	
RB85-2C	5'-CCGTGAAGCTCTCCACAG			
DPB1*0301=2901	Eco NI/ 193+3+68	PB5'7	PB69-1A	217
DPB1*0601=2001	Eco NI/ 193+71	PB5'7	PB69-1G	217

PB69-1A	5'-CCGGCACTGCCCGCTT		anneal. temp. : 64°C	
PB69-1G	5'-CCGGCACTGCCCGCTC			

プロタイプ(7)の検証を行い、データの妥当性の評価が必要である。

6. まとめ

クラス II 遺伝子タイピングの普及に伴い多くの新規アレルが発見され、タイピングの実用化が始まった1992年当時の Nomenclature for factors of the HLA system (8)に掲載されるアレルは DRB1 60 (そのうち, DRB1*0702はその後削除された), DPB1 36であるのに対し, '95年の Nomenclature for factors of the HLA system では何れもその約2倍の数のものが公認されている。これらの新規アレルに対応するために、既に実用化されている種々のタイピング法は複雑なものになることが予想されるが、PCR-RFLP 法においてはここで示したように、基本的に当初設定した方法(5, 9)を用い、特に大きな改良の必要もなく、ほとんどのもののタイピングが可能であると思われる。

注釈

- 1つのアレルに対し、複数の accession number が登録されている場合、それらの間で塩基配列が異なっているものが見受けられ、混乱を生じたことがある。結果的には発表された掲載論文の配列を採用するのが妥当と思われる。
- 一般的なプライマー「DRBAMP-B」による増幅産物では、制限酵素 HphI 処理により区別が可能な部位である。

参考文献

1. Bodomer, JG, Marsh, SGE, Albert, ED, *et al.*: Nomenclature for factors of the HLA system, 1995. *Tissue Antigens* **46**: 1-18, 1995.
2. Maeda, M, Murayama, N, Ishii, H, *et al.*: A simple and rapid method for HLA-DQA1 genotyping by digestion of PCR-amplified DNA with allele specific restric-

- tion endonucleases. *Tissue Antigens* **34**: 290-298, 1989.
3. Inoko, H: PCR - RFLP method holds great promise for complete HLA classII genotyping. *Tissue Antigens* **36**: 88 - 92, 1990.
 4. Ota M, Seki T, Fukushima H, *et al.* : HLA-DRB1 genotyping by modified PCR-RFLP method combined with group - specific primers. *Tissue Antigens* **39**: 187-202, 1992.
 5. Fukumori, Y, Nagao, N, Ohnoki, S, *et al.* : *HLA 1991* Vol. 2 (eds. Tsuji, K, Aizawa, M, Sasazuki, T), A polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism method with allele - specific primers for HLA - DPB1 genotyping. Oxford Science Publications, Oxford, 1992 ; p. 331-333.
 6. Kuman, R, Dunn, LL: Designed diagnostic restriction fragment length polymorphisms for the detection of point mutations in ras oncogenes. *Oncogene Res.* **1**: 235-241, 1989.
 7. Hashimoto, M, Kinoshita, T, Yamasaki, M, *et al.* : Gene frequencies and haplotypic associations within the HLA region in 916 unrelated Japanese individuals. *Tissue Antigens* **44**: 166-173, 1994.
 8. Bodmer, JG, Marsh, SGE, Albert, ED, *et al.* : Nomenclature for factors of the HLA system, 1991. *Hum. Immunol.* **34**: 4 - 18, 1992.
 9. Kaneshige, T, Hashimoto, M, Matsumoto, Y, *et al.* : Serologic and nucleotide sequencing analyses of a novel DR52-associated DRB1 allele with the DR'NJ25' specificity, designated DRB1*1307. *Hum. Immunol.* **41**: 151-159, 1994.