Vol. 7 No. 3
2001

MHC

Major Histocompatibility Complex

日本組織適合性学会誌　第７巻第３号　平成１３年３月３０日発行

Contents

第10回日本組織適合性学会大会のお知らせ…… 194
第５回HLADNAタイピングQCワークショップのご案内…… 198
〔原著論文〕二重標識蛍光プローブを用いたHLA-Bアリルのリアルタイム PCR-SSP法の開発
松崎雄三，小林　賢，鈴木洋司，向田政博 199
〔総説〕ヒト６番染色体の進化－MHCを中心として－…… 数藤由美子 211
〔シリーズ：異種のMHC〕イヌのMHC…… 大谷文雄 219
〔シリーズ：HLA研究者の個人史〕…… 内藤説也 231
〈国際学会印象記〉第26回ASHI Annual Meeting…… 成瀬妙子 234
〈国際学会印象記〉Comparative evolution of the mammalian MHC 印象記…… 椎名　隆 236
最新アリル情報…… 小林　賢 238
〈Q&A〉…… 小林　賢 284
日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度に関するアンケート結果報告…… 285
認定制度に関するアンケート集計結果…… 286
＜日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定＞…… 294
編集後記…… 296

Major Histocompatibility Complex
Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics
JSHI

A. 第10回日本組織適合性学会大会演題申込票

＊受付番号

（*以外は各自ご記入下さい）

演　　題：

著者氏名：

演者所属：

演者連絡先：〒

TEL　　FAX

B. 第10回日本組織適合性学会大会演題受領通知書

（*以外は各自ご記入下さい）

＊受付番号

＊受　　付　　月　　日

演題

発表者（演者のみ）

上記演題抄録原稿を受領しました。

平成13年　　月　　日

第10回日本組織適合性学会大会
大会長　笹　月　健　彦

（注意：裏面の住所・氏名を必ず記入して50円切手を貼付してください）

C. 第10回日本組織適合性学会大会演題採用通知書

（*以外は各自ご記入下さい）

＊受付番号

演題

発表者（演者のみ）

発表時間は下記の通りに決定致しました。

＊演題番号

＊日　　時　　11　月　　日

＊ポスター・口演

平成13年　　月　　日

第10回日本組織適合性学会大会
大会長　笹　月　健　彦

（注意：裏面の住所・氏名を必ず記入して50円切手を貼付してください）

郵便はがき

50円切手をはって下さい。

殿

〒812-8582
福岡県福岡市東区馬出三―一―一
九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門
第十回日本組織適合性学会大会
大会長　笹月健彦

郵便はがき

50円切手をはって下さい。

殿

〒812-8582
福岡県福岡市東区馬出三―一―一
九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門
第十回日本組織適合性学会大会
大会長　笹月健彦

申込書

第10回　日本組織適合性学会

FAX：092－751－4098

申込み代表者名		大学名（会社名）	
郵送物送付先 ご住所	〒　－ （勤務先・自宅）	TEL	（　）
		FAX	（　）

	フリガナ 氏名	性別	年齢	宿泊 記号	10/31（水）	11/1（木）	11/2（金）	航空NO	同室者名
記入例	フクオカタロウ 福岡太郎	男	40	T	○	○		往路 1 復路 7	福岡花子
1								往路 復路	
2								往路 復路	
3								往路 復路	

＊11/3（土）以降の宿泊希望の方は,ご相談下さい。
＊クレジットカード支払いの方は、カード引き落としを承諾し、下記データをご記入下さい。

カード会社名：＿＿＿＿＿＿＿＿　カードNO：

有効期限：　　年　　月　　サイン：

● 取消料について

お申込後、ご都合で宿泊・航空のご予約を取り消される場合、1名様につきまして下記の取消料がかかりますので、ご了承願います。

※ 宿泊

9日前~前々日	20%	前日	50%	当日	100%

※ 航空(団体便)

（片道）	搭乗日の 20日前～14日前	搭乗日の 13日前～7日前	搭乗日の 6日前～前日	搭乗日の 当日以降
福岡⇔東京/名古屋	1,500円	3,000円	6,000円	9,000円
福岡⇔大阪	1,000円	2,000円	4,000円	6,000円
福岡⇔沖縄	1,500円	3,000円	6,000円	9,000円
福岡⇔宮崎・鹿児島	1,000円	2,000円	4,000円	6,000円

◎ お支払済みの場合、取消料を差し引きました代金を学会終了後に払い戻しさせていただきます。

《お申込み・お問い合せ先》
ＪＴＢコンベンションサポートセンター
TEL：092－751－2102　FAX：092－751－4098
〒810-0072　福岡市中央区長浜1－1－35　新ＫＢＣビル６Ｆ
（営業時間）　月~金曜 9:30~17:30・土曜 9:30~12:30　『日本組織適合性学会』係

第10回　日本組織適合性学会

（宿泊･交通のご案内）

● 宿泊のご案内

［宿泊期間］　平成13年10月31日(水)～11月2日(金)
［宿泊条件］　１泊朝食付、税金５％・サービス料１０％込(お一人様料金)

ランク	ホ テ ル 名	室ﾀｲﾌﾟ	記号	学会宿泊料金 (お一人様)	通常料金 (お一人様)
ＤＸ ﾃﾞﾗｯｸｽ	シーホークホテル&リゾート 〒810－8685　福岡市中央区地行浜2－2－3	シングル	S	12,000円	13,500円
		ツ イ ン 2名利用	T	11,000円	13,500円
		トリプル ３名利用	R	10,000円	12,200円
		フォース ４名利用	F	9,000円	10,500円

＊室タイプのご希望については、お申込み順に予約致しますが、満室の場合は他の室タイプの部屋に変更になることがありますので、ご了承下さい。

● 交通のご案内

ＪＲ・航空・レンタカーの予約を承ります。
下記以外の団体航空券（15名以上同一行動）についても、団体特別割引が可能です。（最大５０%割引）
個人航空券については,事前割引（早割り・特割り・前売り）等のご予約も可能です。ご相談下さい。

＜団体便＞　　単位:円　　単位:円

NO	往路期日	区　間	現地発時間	料金	NO	復路期日	区　間	福岡発時間	料金
1	10／31	東京⇒福岡	16:00～17:30	16,500	7	11／3	福岡⇒東京	10:00～12:00	16,500
2	10／31	名古屋⇒福岡	16:00～17:30	11,500	8	11／3	福岡⇒名古屋	10:00～12:00	11,500
3	10／31	大阪⇒福岡	16:30～17:30	10,000	9	11／3	福岡⇒大阪	9:00～10:30	10,000
4	10／31	沖縄⇒福岡	16:00～17:30	12,500	10	11／3	福岡⇒沖縄	9:00～11:00	12,500
5	10／31	宮崎⇒福岡	17:00～18:30	9,500	11	11／3	福岡⇒宮崎	9:00～11:00	9,500
6	10／31	鹿児島⇒福岡	17:00～19:00	9,000	12	11／3	福岡⇒鹿児島	9:00～11:00	9,000

＊　団体便は、各便15名以上の同一期日・同一便利用にのみ上記団体特別割引料金が適用されます。
＊　各便お申込みが、14名以下の場合は、個人料金か事前割引料金（早割等）の適用となります。

● お申込み方法

別紙申込書に必要事項をご記入の上、下記JTBまでFAXにてお申込み下さい。

● お申込み締切日：平成１３年９月２８日(金)

申込みは、お早めにお願いします。特に、航空関係を同時にお申込みされる方は、席数に限りがございますのでお早目にお願いします。

● 料金のお支払い

宿泊確認証等と同時にご請求書をお送りいたしますので、銀行振込又はクレジットカードにてお支払いをお願います。
宿泊確認証等は、学会開催10日前頃までに発送いたします。
銀行振込における振込手数料は、各自ご負担頂きますようお願いいたします。

第５回HLA DNAタイピングQCワークショップ

参　加　申　込　書

申込送付先：FAX: 0492-26-3091　　TEL: 0492-28-3506

〒350-8550　埼玉県川越市鴨田辻道町1981

埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部

日本組織適合性学会　HLA標準化委員会

委員長　　前田　平生　宛

いずれかに○を付けて下さい。　　継続参加　　新規参加

いずれかに○を付けて下さい。　　個人参加　　施設参加

施　設　名 _____

部　　署 _____

氏　　名 _____

_____

_____

住　　所 〒_____

_____

電　　話 _____ 内線_____

Ｆ　Ａ　Ｘ _____

Ｅ－メール _____

※氏名とは、施設長・所属長などの代表者名ではなく、実際にDNAサンプルや資料などを受け取ってQCワークショップに参加される方の全員のお名前です。

参加費：１．個人参加　　２，０００円　１名のみ参加

２．施設参加　１０，０００円　５名まで参加可能

振　込：下記口座に　　１．すでに振込をした。

２．これから振り込む。

振込口座：

銀行名：　富士銀行　青山支店（211）

口座番号：２９８７８４４

名　　義：日本組織適合性学会　事務局　十字猛夫

日本組織適合性学会誌　第7巻第3号　平成13年3月30日発行

Contents

第10回日本組織適合性学会大会のお知らせ…… 194
第5回HLADNAタイピングQCワークショップのご案内…… 198
〔原著論文〕二重標識蛍光プローブを用いたHLA-Bアリルのリアルタイム PCR-SSP法の開発
松崎雄三，小林　賢，鈴木洋司，向田政博　199
〔総説〕ヒト6番染色体の進化－MHCを中心として－…… 数藤由美子　211
〔シリーズ：異種のMHC〕イヌのMHC…… 大谷文雄　219
〔シリーズ：HLA研究者の個人史〕…… 内藤説也　231
〈国際学会印象記〉第26回ASHI Annual Meeting…… 成瀬妙子　234
〈国際学会印象記〉Comparative evolution of the mammalian MHC 印象記…… 椎名　隆　236
最新アリル情報…… 小林　賢　238
〈Q&A〉…… 小林　賢　284
日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度に関するアンケート結果報告…… 285
認定制度に関するアンケート集計結果…… 286
＜日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定＞…… 294
編集後記…… 296

Major Histocompatibility Complex
Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics
JSHI

第10回日本組織適合性学会大会のご案内

第10回日本組織適合性学会大会
大会長　笹月　健彦

皆様には益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。
第１０回日本組織適合性学会大会を下記の要領で開催致します。皆様の多数のご参加をお待ち致しております。

会　期：２００１年１１月１日（木）～２日（金）

会　場：シーホークホテル＆リゾート
〒810-8650
福岡市中央区地行浜２－２－３
TEL:092-844-8111　FAX:092-844-7887

交　通：タクシー

福岡空港～（福岡都市高速百道ランプ）～ホテル	約20分
博多駅～（福岡都市高速百道ランプ）～ホテル	約15分
地下鉄天神駅～（福岡都市高速百道ランプ）～ホテル	約10分

地下鉄

福岡空港～唐人町駅下車～ホテル	約32分
博多駅～唐人町駅下車～ホテル	約27分
天神駅～唐人町駅下車～ホテル	約20分

＊地下鉄唐人町駅より徒歩約15分を含む

バス

博多駅交通センター～ホテル	約20分
天神西鉄バスセンター前～ホテル	約15分

天神から西鉄バス定期便14、44、45、200、201、204、305番
博多駅から37、39、305、306番をご利用下さい。

Ⅰ．大会内容

今回は以下のような学術プログラムを予定しています。

１．特別講演「International collaboration in studying HLA」

座長：Paul Terasaki (Terasaki Foundation Lab.)

"HLA-the state of the Arts"　Dominique Charron (Inst. Cordeliers, Lab. Immunogenet.)

座長：Takehiko Sasazuki (Kyushu University)

"Development of a human MHC database"　John Hansen (Fred Hutchinson Cancer Res. Ctr.)

2．シンポジウムⅠ「MHC－総合ゲノム科学の視点から」

座長：笠原　正典（総合研究大学院大学）

"MHCから見たゲノム進化の典型と非典型"	五條堀　孝（国立遺伝研）
"MHCのゲノムダイナミクス：ゲノムパラロジーの視点から"	笠原　正典（総合研究大学院大）
"ポストゲノムシークエンシング解析のモデル領域としてのMHC" －ゲノム多様性解析と比較ゲノム解析－	猪子　英俊（東海大）
"硬骨魚メダカを用いたMHCの比較ゲノム学的解析"	野中　勝（東京大）
"Origins and divergence times of different MHC gene clusters in vertebrate"	Masatoshi Nei (Pennsylvania State Univ.)

3．シンポジウムⅡ「MHC－免疫システムの中心に据えて」

座長：福井　宣規（九大）

"HLAクラスⅡ分子を介したシグナルによる免疫応答制御"	松下　祥（熊本大）
"TCR-MHC-ペプチド複合体相互作用の動力学的熱力学的解析"	小園　晴生（東京理科大）
"樹状細胞における抗原プロセシングとMHC分子へのローディングならびにT細胞活性化機構"	稲葉　カヨ（京都大）
"T細胞レパートリー形成におけるTCR-MHC／ペプチド複合体相互作用"	福井　宣規／笹月　健彦（九大）
"TCR-peptide/MHCによる抑制性シグナルと自己免疫応答の制御"	中野　直子（東京理科大）

4．シンポジウムⅢ「MHCと移植」

座長：笹月　健彦（九大）

"Genetics of hematopoietic stem cell transplantation"	John Hansen (Fred Hutchinson Cancer Res. Ctr.)
"HLA多型と非血縁者間骨髄移植－クラス・マッチングの重要性－"	笹月　健彦／山本　健（九大）
"Impact of HLA matching for kidney transplantation"	Paul Terasaki (Terasaki Foundation Lab.)
"アロ認識の分子機構"	宇高　恵子（京都大）
"Ig-like receptorの分子認識機構"	前仲　勝実（国立遺伝研）
"Minor histocompatibility antigens"	十字　猛夫（日赤中央血液セ）

5．シンポジウムⅣ「多因子疾患の遺伝要因としてのHLA」

座長：西村　泰治（熊本大）

"マイクロサテライト多型を用いたHLAと相関する疾患の遺伝子マッピングと同定"	猪子　英俊（東海大）
"多因子疾患におけるHLAとnon-HLA遺伝子の相互作用"	徳永　勝士（東京大）
"HLAクラスⅡ多型と自己免疫疾患"	西村　泰治（熊本大）
"アトピー型喘息とHLA"	有波　忠雄（筑波大）
"慢性関節リウマチの疾患遺伝子－遺伝的寄与に関する検討と考察－"	塩澤　俊一（神戸大）
"自己免疫性甲状腺疾患の疾患感受性遺伝子の同定"	白澤　専二／笹月　健彦（九大）

6．シンポジウムⅤ「Non-classical MHC」

座長：猪子　英俊（東海大）

"CD1－その構造と機能の保存性と多様性－"	松浦　晃洋（藤田保健衛生大）
"MHCクラスI関連遺伝子MR1の解析"	橋本　敬一郎（藤田保健衛生大）
"HLA-Gの発現と機能－HLA-E、-Fとの相互作用において－"	石谷　昭子（奈良県立医大）
"MICとCD1遺伝子領域のゲノム構造"	猪子　英俊（東海大）
"Zn-α2-glycoproteinの構造とその多様な生理機能"	大久保　岩男（滋賀医科大）
"マウスTL抗原"	小幡　裕一（愛知がんセ）

7．会員研究発表

今回は全員の方に口演発表を出来る限り多数の方にして頂けるようプログラム編成を行う予定ですが、発表形式（口演発表と示説発表）につきましてはプログラム委員会に一任下さいますようお願い申し上げます。

Ⅱ．演題抄録申し込み要項

1．申し込み方法

a. 演題抄録

・演題名、発表者名（発表者の前に○印を付記して下さい）、所属、本文の順に記載して下さい。
・抄録本文は、800字以内（25文字×32行）とし、英数字は半角文字を使用して下さい。
・文字の大きさは演題名のみ12pt活字、それ以外は10pt活字を使用して下さい。
・字体は明朝体でお願い致します。
・A4版でプリントアウトした演題抄録原稿１部とそのコピー５部を同封して下さい。

b. フロッピーディスク（3.5インチ, 2HD）

下記の２つのファイルをテキスト形式にて保存し、お送り下さい。
なお、ディスクには所属、氏名、使用したワープロソフト、システム名（Windows または　Macintosh）を記載して下さい。

・演題抄録（ファイル名はローマ字発表者氏名１、例　T.Sasazuki 1）
・演題抄録とは別に、演題名、発表者名、所属（ファイル名はローマ字発表者氏名２、例　T.Sasazuki 2）

c. 演題申込表

演題申込票(A)に必要事項をご記入の上、提出して下さい。

d. 演題抄録受領通知と発表形式通知

演題抄録受領通知及び発表形式通知のハガキ(B、C)に切手と必要事項をご記入の上、提出して下さい。

e. a～dを各自適当な封筒を用意し、表に「抄録在中」と朱書きの上、書留郵便でご送付下さい。

f．演題申し込み用check 項目

・抄録原稿（A4版）１部　コピー　５部　□
・フロッピーディスク（2HD）　□

・演題抄録ファイル □
・演題名、所属、氏名ファイル □
・演題申込票(A) □
・演題抄録受領通知ハガキ(B) □
・発表形式通知ハガキ(C) □

2．演題抄録申し込み締め切り日

２００１年６月３０日（消印有効）

3．演題抄録申し込み先

〒812-8582
福岡市東区馬出3-1-1
九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門
第１０回日本組織適合性学会大会事務局

4．研究発表形式通知

研究発表形式および発表日時につきましては、２００１年７月下旬頃に通知致します。

V．大会参加

大会参加費（5,000円）は大会当日受付でお支払い下さい。
ネームカード（領収書兼用）をお渡し致します。

VI．懇親会

２００１年１１月１日、１９時頃より懇親会を開催致します。
学会受付にて大会参加費をお支払いの際に、お申し込み下さい。
懇親会費：5,000円

VII．宿泊と航空券のご案内

第10回日本組織適合性学会大会を福岡にて開催するにあたり、大会に参加される方の便宜をお図りするため、JTBに宿泊*と航空券のお世話をして頂くことに致しました。皆様の御来福とご利用をお待ち申し上げます。

＊学会会場のシーホークホテル＆リゾートとの交渉により、学会割引でご宿泊ができます。

VIII．大会についてのお問い合わせ

〒812-8582
福岡市東区馬出3-1-1
九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門
第１０回日本組織適合性学会大会事務局
TEL:092-642-6828 FAX:092-632-0150
E-mail: hla2001@bioreg.kyushu-u.ac.jp

第５回HLA DNAタイピングQCワークショップのご案内

日本組織適合性学会
HLA標準化委員会
委員長　前田平生
第10回日本組織適合性学会大会
大会長　笹月健彦

拝　啓

早春の候、先生方におかれましてはご健勝にてご活躍のこととお慶び申し上げます。
さて、日本組織適合性学会では、昨年度に引き続き、タイピング技術・データの信頼性向上を目的に、DNAタイピングのクォリティコントロール（QC）ワークショップを下記の要領で開催いたします。本ワークショップの成果は第10回日本組織適合性学会大会前日に討議されます。また、本年度は認定HLA検査技術者制度の発足も予定されており、本制度とQCワークショップとの関連につきましても、討議を行いたいと考えておりまので、多数の皆様の参加をお待ちしております。

尚、本年度から、QCワークショップへの参加は、有料となります（個人参加 2,000円 １名参加のみ、施設参加 10,000円 ５名まで参加可能)。よろしく御理解下さい。

敬　具

記

１．スケジュール

平成１３年５月中　　血液（DNA）サンプルの配布（６種類を予定）
平成１３年７月下旬　　データ提出締め切り

２．参加申し込み

別紙の申し込み用紙に必要事項を記入の上、FAXまたは郵送にてお送り下さい。
その際、下記の口座に参加費の振込をお願いいたします。

締め切り日は、平成１３年４月２８日（土）です。

３．振込口座

銀行名：富士銀行　青山支店（211）
口座番号：２９８７８４４
名　　義：日本組織適合性学会　事務局　十字猛夫

〔原著論文〕二重標識蛍光プローブを用いたHLA-Bアリルのリアルタイム PCR-SSP法の開発

松崎 雄三[1)], 小林 賢[2)], 鈴木 洋司[3)], 向田 政博[1)]

[1)]防衛医科大学校, 法医学講座 [2)]防衛医科大学校, 検査部 [3)]防衛医科大学校, 輸血部

要約

PCR-SSP法と二重標識蛍光プローブとを組み合わたリアルタイムPCR-SSP法は, ABI PRISM™ 7700シーケンスディテクターを利用して, リアルタイムにPCR産物を測定することで, PCR-SSP増幅後の付加的操作なしに短時間でアリルが決定できるシステムである. 我々は, このシステムを利用することがもっとも困難と思われるHLA-Bアリルに応用し, その実用性と問題点について検討した. HLA-B抗原の特異性が既知の34試料を対象とし, 市販のSSPプライマーキットと我々が設計した7種類の二重標識蛍光プローブを利用して行った. すべてのサンプルは, PCR増幅を35回行うことでもっとも良好な反応態度を示した. プライマーの特異性から増幅が期待されるサンプルはすべてΔRn閾値以上で, 陰性は閾値未満であり, 偽反応はみられなかった. また, 各サンプルでもっとも弱かった陽性ΔRn値と強かった陰性ΔRn値の比は6.18であり, 判定上問題となることはなかった. 今回開発したリアルタイムPCR-SSP HLA-Bタイピングシステムで判定されたアリルタイプはパネルDNAの血清学的特異性とまったく矛盾しなかった. また, DNA抽出からHLA-Bアリル同定までの過程を約2時間で終了することができた. この方法はPCR増幅から反応結果出力までの過程が自動化されるているので人為的ミスを最小限に抑えることができるものと考えられた.

キーワード:

二重標識蛍光プローブ, PCR-SSP, HLA-B, DNAタイピング

はじめに

現在, HLA-DRおよびDQ抗原検査については血清学的手法からpolymerase chain reaction (PCR) 技術を応用したDNAタイピング法に置き換わってきている. また, HLA-A, B, Cについても血清学的方法からDNAタイピングへと置き換わろうとしている. しかしながら, クラスIにおいては血清学的レベルでの多型性がクラスIIに比して高いものがあり, そのDNAタイピング技術はクラスII以上に煩雑となることがある. PCR技術 (1) を応用したHLAのDNAタイピング法としては, restriction fragment length polymorphism (RFLP) (2, 3), sequence specific primers (SSP) (4, 5), sequence specific oligonucleotide (SSO)(6, 7), single strand conformation polymorphism (SSCP) (8) ならびにsequencing based typing (SBT) (9, 10), などと, これらを改良した方法が数多く開発されている. これらのDNAタイピング法の中でPCR-SSP法はPCR増幅と, その後のゲル電気泳動だけでHLAタイプを同定できるため, 比較的短時間で検体の処理が可能である. 我々はPCR-SSP法と

代表者連絡先 〒359-8513 埼玉県所沢市並木3-2
防衛医科大学校法医学講座
松崎 雄三
電 話 042-995-1583
ファックス 042-996-5198
E-mail fmmatsu@cc.ndmc.ac.jp

PCR増幅領域内に設定した二重標識蛍光プローブとを組み合わせた方法を市販のHLA-DRBタイピングキットに応用し，その実用性を本学会誌に報告した(11)．この方法はPCR産物をリアルタイムに検出できるため，煩雑な増幅後の電気泳動を必要としないことから，人為的ミスを最小限度に留めることができると考えられる．今回，我々はHLA-DRBアリルタイピングで蓄積した技術をHLA-Bアリルタイピングに応用し，その実用性と問題点について検討した．

方法および材料

DNAサンプル

血清学的検査法によってHLA-Bのタイプが既に決定している19名の健康なボランティアの末梢血から，フェノール・クロロホルム法を用いてゲノムDNAを抽出した．また，日本人にまれなHLA-Bタイプについては12種類のホモ接合のB細胞株由来DNAを使用した（表1）．

二重標識蛍光プローブの設計

DYNAL Classic SSP HLA-B "low-resolution"プライ

表1　二重標識蛍光プローブの塩基配列

No.	HLA-B allele and serological specificity		HLA-B allele by TaqMan PCR-SSP	
1	B*4101	—	B*41	—
2	B*4701	—	B*4701	—
3	B*0801	—	B*08	—
4	B*3801	—	B*38	—
5	B*1801	—	B*18	—
6	B*1402	—	B*14	—
7	B*4701	—	B*4701	—
8	B*5701	—	B*5701	—
9	B*27052	—	B*27	—
10	B*0801	—	B*08	—
11	B*3701	—	B*3701	—
12	B*27052	—	B*27	—
13	B*0702	B*5101/02/03	B*07	B*51
14	B*1501	B*3501	B*15	B*35
15	B*1501	B*4006	B*15	B*40
16	B35	B61	B*35	B*40
17	B7	B54	B*07	B*5401
18	B35	B61	B*35	B*40
19	B7	B46	B*07	B*4601
20	B39	B52	B*39	B*5201
21	B61	B62	B*40	B*15
22	B48	B61	B*4801/ 04	B*40
23	B46	B52	B*4601	B*5201
24	B46	B52	B*4601	B*5201
25	B51	B54	B*51	B*5401
26	B48	B61	B*4801/ 04	B*40
27	B48	B51	B*4801/ 04	B*51
28	B44	B62	B*4403/ 04/ 07	B*15
29	B52	B52	B*5201	B*5201
30	B39	B44	B*39	B*4403/ 04/ 07
31	B13	B60	B*1301/ 02/ 04	B*4001/ 07

マーキットの設定部位は，図1に示すように上流プライマーが，イントロン内からコドン91あるいは119から162の間に，下流プライマーは，コドン59から107と140から202の間に設定されている．したがって，すべてのアリルを検出できるようにするためにはコドン44から51，76から84，92から101，128から136，146から154，163から170と177から185の7ヶ所に二重標識蛍光プローブを設計する必要がある（図1，表2）．二重標識蛍光プローブの5'末端にはリポーターとなるfluorescein系蛍光色素のVIC（アプライドバイオシステムズ）を，3'末端にはクェンチャーとなるrhodamine系蛍光色素のTAMRA (6-carboxy-N, N, N', N'-tetramethylrhodamine)をそれぞれ標識した．また，結合後の3'末端からの伸長反応を防止するために二重標識蛍光プローブの3'末端をリン酸化した．

二重標識蛍光プローブを利用したPCR-SSP法（リアルタイムPCR-SSP法）

蛍光検出のできるMicroAmp Optical Tube（アプライドバイオシステムズ）に，DNA試料10 ng; 1× Reaction Buffer A（アプライドバイオシステムズ）; 4 mM $MgCl_2$; 0.2 mM dNTP; 100 nM 二重標識蛍光プローブ; 0.5単位のAmpliTaq Goldおよびプライマーセット溶液5 μl（Dynal Classic SSP HLA-B "low resolution"プライマーキット）を加え，全量を10 μlとし，蛍光透過性のOptical Caps（アプライドバイオシステムズ）で蓋をした後PCR増幅を行った．PCR増幅は，AmpliTaq Goldとプライマーキットの能書にしたがい95℃10分を1サイクル，95℃10秒，65℃1分を10サイクルおよび95℃10秒，61℃50秒，72℃30秒を30サイクルの条件で，ABI PRISM™ 7700シーケンスディテクター（アプライドバイオシステムズ）を用いて実施した．

PCR増幅後の解析

ABI PRISMTM 7700シーケンスディテクターに付属された解析アプリケーションであるSequence Detector version 1.6を用いて，99.5%の信頼レベルで計算された閾値以上のΔRn値を陽性，未満を陰性とした．ΔRn値は，PCR増幅終了後のリポーター蛍光強度から増幅初期のバックグラウンドを差し引いた値である．二重標識蛍光プローブを使用したPCR-SSP法で増幅が終了したサンプルについてアガロースゲル電気泳動を行い，ABI PRISM™ 7700シーケンスディテクターで得られた結果と比較検討した．PCRサンプル8 μlにloading buffer（10 mM Tris-HCl, pH7.6; 10 mM EDTA; 8%ショ糖および0.02%ブロモフェノールブルー）を加え，全量を10 μlとし，1%アガロースゲルで電気泳動した．泳動後，エチジウムブロマイドで染色し，UV下で写真撮影した．増幅産物のサイズ測定についてはアトー社のDensitograph version 4.1を使用して行った．

結果

Dynal Classic SSP HLA-B "low resolution"プライマーキットと7種類の二重標識蛍光プローブ（B133，B226，B274R，B384R，B437，B488およびB530）を同一チューブに添加して，31種類のDNAサンプルについてPCR増幅の最適回数を検討した．プライマーの特異性から陽性と考えられるサンプルはすべて35回増幅で99.5%の信頼レベルで計算されたΔRn閾値以上となった（図2）．19名のパネルと12種類の細胞株由来DNAのリアルタイムPCR-SSP法で得られたΔRn値を表3に示した．リアルタイムPCR-SSP法の反応性は，Dynal Classic SSP HLA-B "low resolution"プライマーキットの特異性（表4）から予想される反応パターンと完全に一致していた．この方法で増幅されたPCR反応液をアガロースゲルで電気泳動し，その反応を検討した．電気泳動像においてもプライマーの特異性と矛盾するアンプリコンはみられず，またそのアンプリコンのサイズも一致していた（図3）．99.5%の信頼レベルで計算されたアッセイごとのΔRn閾値に基づいて各反応の陽性と陰性を決定し，Dynal Classic SSP HLA-B "low resolution"プライマーキットの特異性からサンプルのHLA-Bアリルタイプを同定した．リアルタイムPCR-SSP法で得られた反応パターンから同定されたアリルタイプは，19名のパネルおよび12種類の細胞株由来DNAのHLA-B抗原特異性と完全に一致していた（表1）．

リアルタイムPCR-SSP法で得られた陽性反応のΔ

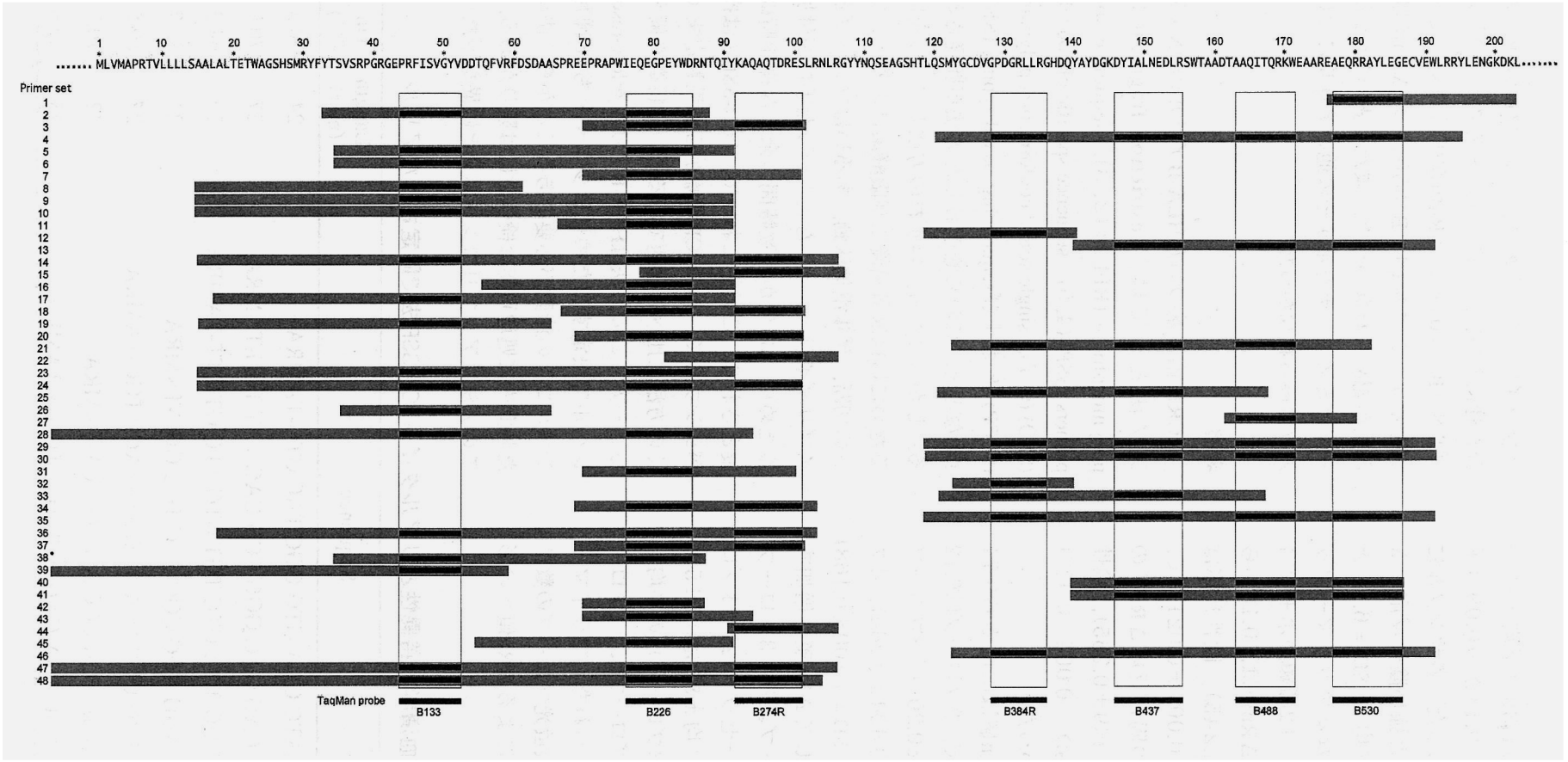


図1　DYNAL SSP HLA-B low resolutionプライマーキットと二重標識蛍光プローブの設定部位

DYNAL SSP HLA-B low-resolutionプライマーキットの設定部位は，上流プライマーが，イントロン内からコドン91あるいは119から162の間に，下流プライマーは，コドン59から107と140から202の間に設定されている．したがって，1種類の二重標識蛍光プローブではすべてのアリルを検出できないため，すべてのアリルが検出できるようにコドン44から51，76から84，92から101，128から136，146から154，163から170と177から185の7ヶ所に二重標識蛍光プローブ（B133, B226, B274R, B384R, B437, B488およびB530）を設計した．

Rn値は対数で表すと0.10から1.39（平均±SD = 0.469 (0.259)，陰性反応は-0.11から0.09（平均±SD = -0.002 (0.022) であった．各サンプルにおいてもっとも弱い陽性反応と強い陰性反応のΔRn値の比は1.25から19.00（平均 ± SD = 6.18 ± 4.77）であり，判定上問題となるプライマーセットは認められなかった．また，12種類のホモ接合の細胞株由来DNAの陽性反応ΔRn値は，0.10から1.24（平均±SD = 0.466±0.245)，陰性反応は-0.07から0.09（平均±SD = -0.001±0.021）で，19種類のヘテロ接合体DNAの陽性反応ΔRn値の0.10から1.39（平均±SD = 0.469±0.265)，陰性反応の-0.11から0.08（平均±SD = -0.004±0.022)と比較して全く差はみられなかった．

1プローブでの陽性反応ΔRn値は0.11から0.71（平均±SD = 0.380±0.131）で，2プローブは0.12から0.90（平均±SD = 0.475±0.204)，3プローブは0.10から1.21（平均±SD = 0.424±0.244)，4プローブは0.88から1.39（平均±SD = 1.100±0.168)であった．プローブ数に依存してΔRn値が増加する傾向がみられたが，2プローブよりも3プローブの方が高値であり，プライマーセット#27（1プローブ）の陽性反応ΔRn値の平均±SDは0.515±0.074であるのに対し，#24（3プローブ）の平均±SDは0.209±0.075となり，3プローブより1プローブのほうが高値である場合もみられた．プライマーセットにより結合する二重標識蛍光プローブの数は1から4種類と異なるが，それによるΔRn値への影響は一定ではなかった．

プライマーセット#12とプローブB384Rとの組み合わせにおいて，プローブにミスマッチのないサンプル8（B*5701）のΔRn値が0.37に対しミスマッチを示すサンプル14（B*3501）のΔRn値は0.36と差が認められなかった．また，表5に示したプローブとミスマッチを示すその他のアリルについても差異はみられなかった．

考察

PCR技術に基づいたHLA-BアリルのDNAタイピング法としては，restriction fragment length polymorphism (RFLP) (2, 3)，sequence specific primers (SSP) (4, 5)，sequence specific oligonucleotide (SSO) (6, 7)，single strand conformation polymorphism (SSCP) (8)およびsequencing based typing (SBT) (9, 10)などと，これらを改良した方法が開発されている．しかしながら，いずれの方法もアリルを同定するためにはPCR増幅後に制限酵素によるアンプリコンの切断，ゲル電気泳動，あるいはプローブとのハイブリダイゼーションなどといった手技が付加されるために，30分から数時間の余分な操作時間が必要とされる．この中において，PCR-SSP法は操作性がシンプルで，かつPCR増幅から結果判定までが多くの方法に比べて迅速であるという特徴を備えている．一方，この方法はHLA-Bアリルをlow-resolutionレベルで決定するためには少なくとも48種類のアンプリコンの泳動が必要であることから，決められた時間内に処理可能な検体数には限りがある．また，この方法はアンプリコンを本来とは異なったウエル

表2　パネルDNAのHLA-B血清学的特異性とリアルタイムPCR-SSP法で同定されたアリル

Probe	Sequence	Langth (mer)	Tm (℃)
B133	VIC-CGC TTC ATC GCA GTG GGC TAC GTG-TAMRA	24	70.3
B226	VIC-ATA GAG CAG GAG GGG CCG GAG TAT TGG-TAMRA	27	70.0
B274R	VIC-TTC TCT CGG TAA GTC TGT GTG TTG GTC TT-TAMRA	29	64.2
B384R	VIC-CCG CGG AGG AGG CGC CCG TCC GGC-TAMRA	24	83.7
B437	VIC-ATT AGA TCG CCC TGA ACG AGG ACC TGC-TAMRA	27	69.5
B488	VIC-CGG CTC AGA TCA CCC AGC GCA A-TAMRA	22	70.3
B530	VIC-CGG AGC AGC TGA GAG CCT ACC TGG A-TAMRA	25	69.5

表3　リアルタイムPCR-SSP法で得られたΔRn値

	Primer set																							
No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	-0.01	0.00	0.01	0.03	0.01	0.00	-0.02	0.01	0.01	-0.01	0.02	0.04	0.00	0.01	0.00	0.01	0.03	0.08	0.08	-0.01	0.03	0.00	-0.02	**0.10**
2	-0.02	0.01	0.00	0.00	-0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	-0.01	-0.01	0.03	-0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	-0.01	0.02	-0.01	0.00	-0.01	0.01
3	-0.01	**0.66**	0.00	-0.02	-0.02	-0.03	-0.02	0.00	0.02	-0.02	0.02	0.03	-0.01	-0.01	0.03	0.01	0.00	0.07	0.00	-0.03	0.03	0.00	-0.02	**0.14**
4	0.00	0.01	-0.02	0.00	**0.54**	-0.01	-0.01	0.00	0.00	-0.02	-0.02	0.00	0.02	0.00	0.04	0.08	-0.01	-0.01	-0.02	-0.01	**1.18**	**0.29**	**0.15**	-0.02
5	-0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	-0.02	0.00	-0.01	0.03	-0.01	-0.01	**0.34**	-0.01	-0.03	**0.59**	-0.01	0.01	0.00	-0.01	-0.01	0.01
6	0.01	-0.01	0.02	**1.24**	0.01	**0.61**	0.00	-0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.04	0.00	0.00	0.01	-0.02	0.02	-0.01	-0.02	-0.02	0.00	0.00	**0.14**	**0.21**
7	-0.01	0.02	0.00	-0.01	-0.04	0.03	0.04	0.01	-0.02	-0.01	-0.01	0.02	-0.03	0.00	0.03	0.00	-0.03	0.01	-0.02	0.03	-0.04	0.00	-0.01	-0.01
8	0.00	-0.02	0.01	-0.04	-0.05	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	**0.37**	-0.04	0.00	0.00	-0.01	0.01	0.00	-0.02	-0.04	-0.01	0.00	-0.01	-0.01
9	0.01	0.01	-0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	-0.01	0.00	-0.02	0.02	-0.01	0.00	0.00	0.00	**0.31**	0.02	-0.02	0.01	0.01	0.01	0.00	0.02	0.00
10	-0.01	**0.83**	-0.07	0.00	0.03	-0.01	0.07	-0.02	-0.05	0.02	0.06	0.01	0.03	-0.03	-0.01	0.02	-0.03	-0.01	0.02	0.04	0.05	-0.06	0.02	**0.32**
11	0.01	0.00	0.00	-0.02	0.00	0.02	0.01	0.00	0.00	-0.01	-0.02	**0.49**	0.02	0.01	0.01	0.04	-0.01	0.01	0.02	**0.71**	0.00	0.02	0.01	0.00
12	0.00	0.02	0.05	-0.02	-0.01	0.00	0.03	-0.03	-0.01	-0.01	0.00	-0.04	-0.01	0.00	-0.04	**0.25**	0.00	0.04	-0.02	-0.03	0.05	-0.01	0.00	-0.02
13	**0.36**	-0.04	-0.02	-0.05	0.01	0.04	0.00	0.01	0.00	-0.02	-0.03	-0.03	0.01	-0.02	-0.01	0.01	**0.20**	-0.01	-0.04	-0.03	-0.01	0.01	-0.02	**0.14**
14	0.04	0.01	0.02	0.02	0.03	0.06	**0.68**	0.02	0.01	0.02	-0.01	**0.36**	0.02	0.00	0.03	0.04	**0.12**	**0.63**	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01
15	-0.01	-0.01	0.00	-0.01	0.00	0.01	**0.71**	-0.01	0.00	-0.01	-0.01	0.01	0.02	0.01	-0.01	-0.02	-0.01	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.01
16	-0.02	-0.02	-0.04	-0.02	-0.08	-0.04	0.00	0.00	-0.01	-0.04	-0.05	**0.33**	-0.06	-0.03	0.00	0.00	**0.29**	**0.61**	-0.03	-0.03	-0.07	-0.01	0.00	-0.07
17	**0.22**	-0.01	0.00	-0.01	0.01	0.00	0.02	-0.01	0.00	-0.01	0.00	-0.04	-0.02	-0.02	0.03	-0.04	-0.01	-0.01	-0.05	-0.02	0.01	0.01	0.00	**0.32**
18	0.02	-0.03	-0.07	-0.01	0.02	0.02	0.02	-0.01	-0.03	0.00	-0.04	**0.41**	0.01	0.01	0.03	0.02	**0.19**	**0.69**	-0.02	-0.01	0.00	0.00	0.01	0.04
19	**0.23**	-0.03	-0.05	-0.02	0.00	-0.02	**0.31**	0.00	-0.01	0.00	-0.05	-0.06	-0.01	-0.01	0.00	0.01	-0.02	-0.06	-0.06	-0.04	0.00	0.03	0.01	**0.27**
20	-0.02	-0.08	-0.04	-0.06	-0.08	0.00	0.02	-0.02	-0.01	0.01	**0.44**	-0.04	-0.05	0.02	0.02	0.03	0.01	-0.05	-0.03	-0.05	**0.53**	-0.01	0.00	**0.25**
21	0.00	-0.01	0.00	-0.02	-0.07	0.02	**0.50**	0.02	0.01	0.00	0.00	-0.02	-0.05	0.00	0.00	0.01	-0.01	0.02	-0.03	-0.04	-0.05	0.01	0.01	-0.02
22	0.00	-0.05	-0.03	0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.01	-0.01	-0.01	**0.34**	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	-0.05	-0.02	-0.02	-0.01	0.00	0.00	**0.18**
23	0.01	0.01	0.00	-0.01	-0.01	-0.01	**0.31**	0.02	-0.03	0.00	-0.01	0.00	-0.02	0.00	-0.01	0.00	-0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.00	-0.01	0.01
24	0.00	0.00	0.02	0.02	0.00	0.01	**0.34**	-0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	-0.01	0.00	0.00	0.05	0.01	0.00
25	0.00	0.00	-0.01	0.02	0.01	0.04	0.00	-0.01	-0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	-0.01	-0.02	**0.27**	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01
26	0.01	-0.01	0.00	-0.02	0.02	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	**0.31**	0.01	0.01	-0.01	0.03	-0.01	-0.03	0.00	-0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	**0.13**
27	-0.01	-0.01	0.01	-0.01	0.03	0.01	0.02	0.01	0.00	0.01	**0.33**	-0.01	-0.01	0.00	0.00	0.00	**0.16**	0.02	-0.02	0.00	0.01	0.02	0.01	**0.15**
28	0.00	-0.01	0.00	-0.01	-0.01	0.00	**0.63**	0.01	-0.01	0.00	-0.02	-0.01	0.01	0.02	0.00	-0.02	-0.01	-0.03	0.01	0.01	-0.02	0.00	0.00	-0.01
29	-0.01	-0.02	0.01	0.01	0.02	-0.02	0.01	0.01	0.00	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	-0.02	0.00	-0.02	0.01	-0.01	0.00	-0.01	0.01	-0.01	0.00	-0.01
30	0.02	-0.01	0.04	0.00	**0.55**	0.03	-0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	-0.01	0.03	0.06	0.00	-0.01	0.02	-0.01	**1.21**	0.00	**0.12**	**0.23**
31	0.00	0.00	**0.66**	0.02	0.00	-0.01	0.00	0.01	-0.01	-0.01	0.01	0.01	0.01	-0.01	0.01	-0.01	0.02	0.05	**0.11**	0.01	-0.01	0.00	-0.01	**0.28**
Positive (mean)	0.270	0.745	0.66	1.24	0.545	0.61	0.500	–	–	–	0.355	0.392	–	–	0.34	0.280	0.205	0.630	0.11	0.71	0.973	0.29	0.137	0.209
(±SD)	0.078	0.120	–	–	0.007	–	0.175	–	–	–	0.058	0.062	–	–	–	0.042	0.065	0.043	–	–	0.384	–	0.015	0.075
Negative (mean)	-0.000	-0.010	-0.005	-0.007	-0.007	0.006	0.008	0.006	-0.005	-0.005	-0.006	-0.001	-0.005	-0.003	0.008	0.006	-0.003	0.003	-0.008	-0.009	0.001	0.002	0.001	-0.006
(±SD)	0.013	0.021	0.028	0.021	0.031	0.021	0.020	0.012	0.014	0.012	0.023	0.026	0.022	0.013	0.018	0.026	0.018	0.033	0.027	0.022	0.026	0.018	0.011	0.022

	Primer set																							
No.	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
1	0.05	0.02	**0.48**	0.01	0.00	0.00	0.00	-0.01	0.02	0.00	-0.01	0.00	**0.65**	**0.31**	-0.01	0.01	0.02	0.00	0.01	0.00	-0.01	-0.01	0.00	**0.59**
2	-0.03	0.00	0.01	0.00	-0.01	0.01	0.00	**0.50**	0.00	0.00	0.01	-0.01	0.01	**0.36**	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	-0.02	-0.04	0.00	**0.24**	0.01
3	-0.01	-0.01	**0.45**	-0.04	0.01	-0.01	0.00	0.00	-0.02	0.00	-0.03	-0.02	-0.01	-0.03	0.01	0.02	0.00	0.00	-0.01	0.00	0.00	-0.01	-0.02	**0.58**
4	-0.02	-0.03	-0.02	0.01	0.01	0.00	-0.01	0.03	0.00	0.00	-0.03	0.01	0.00	0.00	-0.01	-0.01	-0.01	-0.02	-0.01	-0.01	-0.02	-0.01	**0.54**	0.00
5	-0.01	0.01	-0.02	0.00	-0.03	-0.02	0.01	-0.01	0.00	-0.02	0.00	0.00	0.01	-0.01	0.00	0.00	0.01	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	**0.33**
6	0.00	-0.01	-0.02	0.01	-0.01	-0.03	0.00	0.00	-0.01	-0.01	0.00	0.01	-0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.00	-0.01	-0.01	0.02	-0.01	-0.01	0.00	**0.60**
7	-0.03	0.00	0.01	0.00	-0.03	0.01	0.01	**0.51**	0.01	0.00	-0.01	-0.03	-0.03	**0.47**	-0.01	0.00	0.00	-0.02	0.00	-0.04	-0.03	0.01	**0.34**	0.04
8	0.02	0.02	-0.02	-0.03	0.00	0.01	0.00	-0.01	0.03	0.00	0.00	**0.15**	-0.01	0.00	0.01	0.02	0.01	**0.36**	0.08	-0.03	-0.01	0.00	**0.31**	-0.01
9	0.00	0.01	0.01	**0.24**	0.00	0.00	0.02	0.02	-0.01	0.01	0.00	0.02	0.00	-0.01	0.00	0.01	0.01	-0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	**0.27**	0.01
10	0.01	0.01	**0.62**	0.01	0.00	0.04	-0.01	-0.03	0.02	0.04	-0.01	0.08	0.02	0.03	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.04	-0.03	0.00	**0.87**
11	0.01	0.04	**0.51**	0.03	0.03	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.02	0.01	0.02	0.00	0.02	-0.01	-0.01	0.01	0.00	0.01	-0.01	0.00	**0.64**	0.09
12	0.04	-0.01	0.03	**0.54**	0.03	-0.01	-0.02	0.03	0.05	0.03	-0.04	0.00	0.00	0.01	0.05	0.06	0.00	0.04	0.01	-0.03	0.03	-0.01	**0.52**	0.04
13	0.00	-0.02	-0.02	**0.48**	-0.02	-0.01	-0.01	0.08	0.01	-0.01	**1.39**	**0.11**	-0.02	-0.01	-0.02	0.01	0.01	0.00	-0.05	**0.35**	0.01	0.01	**0.60**	**0.57**
14	0.01	0.02	0.00	0.02	0.02	0.02	0.03	0.04	0.00	-0.01	-0.01	0.00	0.06	**0.59**	0.01	0.01	0.03	0.01	0.02	0.00	0.03	0.00	0.04	**0.73**
15	0.01	**0.32**	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.01	0.01	0.01	0.00	0.02	**0.53**	**0.29**	-0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	-0.01	0.00	0.01	0.01	**0.22**
16	-0.02	**0.32**	-0.02	-0.04	-0.06	0.01	-0.04	0.02	0.01	-0.07	-0.04	-0.07	**0.41**	0.01	0.00	0.02	-0.02	-0.02	-0.05	-0.05	-0.03	-0.01	0.02	**0.43**
17	0.04	-0.03	-0.04	**0.24**	0.02	-0.02	0.01	-0.02	0.00	-0.07	-0.02	-0.05	0.02	0.01	**0.33**	**0.84**	0.03	0.01	-0.01	-0.03	0.00	0.00	0.01	**0.36**
18	-0.02	**0.18**	-0.01	0.01	0.03	-0.01	0.00	0.05	-0.01	-0.11	-0.03	0.02	**0.50**	0.01	0.01	0.00	0.01	-0.02	-0.06	0.00	0.02	0.02	0.03	**0.42**
19	0.01	-0.06	-0.04	**0.28**	0.01	-0.02	**0.54**	0.02	0.01	-0.05	-0.06	-0.05	0.04	-0.01	-0.02	-0.01	0.00	-0.04	-0.04	-0.05	-0.05	-0.02	-0.02	**0.31**
20	0.01	-0.03	-0.02	-0.04	-0.07	0.00	0.00	-0.02	0.00	0.08	**0.88**	**0.25**	-0.05	**0.75**	0.00	0.00	-0.01	0.00	-0.04	-0.01	-0.05	0.00	**0.50**	**0.29**
21	0.01	**0.38**	-0.01	-0.03	-0.02	0.00	-0.01	-0.02	-0.02	-0.07	-0.02	-0.06	**0.48**	**0.73**	0.00	0.01	0.00	-0.04	-0.03	-0.04	0.00	0.02	0.01	**0.42**
22	0.01	**0.29**	0.01	0.00	-0.01	0.01	-0.01	-0.01	**0.67**	-0.07	0.01	-0.02	**0.44**	0.00	0.01	0.00	-0.01	-0.07	0.00	-0.03	0.01	-0.01	0.00	**0.36**
23	-0.01	0.01	-0.02	**0.36**	0.02	0.00	**0.34**	0.01	0.01	0.01	**0.95**	**0.12**	-0.01	**0.34**	-0.01	0.01	-0.01	-0.01	0.00	-0.01	-0.01	-0.01	**0.53**	**0.36**
24	-0.01	0.00	-0.01	**0.52**	0.01	0.02	**0.32**	0.06	0.00	0.03	**1.06**	**0.33**	-0.01	**0.58**	0.01	-0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	-0.01	0.01	**0.73**	**0.54**
25	0.01	0.00	-0.02	**0.42**	0.01	0.01	0.00	0.01	-0.02	-0.01	**1.16**	**0.23**	0.01	-0.01	**0.26**	**1.02**	0.01	0.01	0.00	**0.31**	0.00	0.00	**0.51**	**0.39**
26	0.00	**0.30**	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	**0.90**	-0.01	0.01	0.00	**0.52**	0.01	0.00	0.01	0.02	0.00	0.00	0.00	-0.01	0.01	-0.01	**0.53**
27	0.00	0.00	-0.01	0.00	-0.01	0.01	0.01	0.03	**0.79**	0.01	**1.10**	**0.10**	-0.01	0.00	-0.01	0.00	0.01	0.00	0.02	**0.25**	0.01	-0.01	**0.43**	**0.57**
28	0.02	0.00	-0.03	-0.01	**0.98**	0.00	0.00	-0.01	0.01	0.00	-0.02	0.00	0.01	**0.45**	-0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.00	0.00	-0.01	0.01	**0.10**	**0.43**
29	0.00	-0.01	-0.01	0.01	-0.02	0.01	-0.02	0.01	0.01	-0.02	**0.95**	**0.25**	-0.01	**0.55**	0.00	-0.01	0.00	0.00	-0.02	0.01	0.00	0.01	**0.64**	-0.02
30	-0.01	0.01	0.01	0.00	**1.29**	0.01	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	**0.48**	-0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	-0.02	-0.01	**0.24**	**0.55**
31	**0.86**	0.02	0.01	0.01	0.00	-0.01	-0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	**0.50**	**0.37**	0.00	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	**0.48**	**0.52**
Positive (mean)	0.86	0.298	0.515	0.398	1.135	–	0.397	0.505	0.787	–	1.086	0.205	0.559	0.496	0.295	0.930	–	0.36	–	0.303	–	–	0.455	0.480
(±SD)	–	0.066	0.074	0.125	0.219	–	0.124	0.007	0.115	–	0.164	0.079	0.178	0.145	0.050	0.127	–	–	–	0.050	–	–	0.178	0.149
Negative (mean)	0.003	-0.002	-0.009	-0.003	-0.003	0.001	-0.001	0.010	0.003	-0.010	-0.011	-0.006	0.002	-0.001	0.000	0.005	0.005	-0.004	-0.005	-0.011	-0.005	-0.001	0.005	0.020
(±SD)	0.019	0.021	0.017	0.020	0.024	0.015	0.013	0.026	0.015	0.038	0.020	0.032	0.023	0.013	0.014	0.014	0.012	0.021	0.026	0.020	0.021	0.011	0.017	0.035

ΔRn値は35回増幅した場合の値である
太字は陽性ΔRn値を示す

表4 DYNAL SSP HLA-B low-resolutionキットのプライマー特異性

Location	Primer set	Amplified specificities	Other amplified alleles
1A	1	07021-0713, 4015-4017, 4805	
1B	2	0801-0806, 3912	
1C	3	1301-1304, 1536, 4408	
1D	4	1401-1404	
1E	5	1401, 2712, 3801-38022, 39011, 39013, 3903, 3905-3907, 3909, 3911, 3914, 3915	
1F	6	1402-1405, 3904, 3912	
1G	7	15011-1502, 1504-1508, 1511, 1512, 1514, 1515, 1519-1521, 1525-1528, 1530-1535, 1538-1541, 1544, 1545, 1548, 4601	
1H	8	1503, 1509, 1510, 1518, 1523, 1529, 1537, 1547	
2A	9	1516, 1517	
2B	10	1509, 1510, 1518, 1521, 1523, 1537, 1544	
2C	11	0804, 1503, 1547, 3803, 39021, 39022, 3908, 3913, 4012, 4801-4805	
2D	12	1502, 1513, 1520, 1521, 1525, 1536, 1544, 3501, 3503, 3506-3508, 3510, 3511, 3513-3517, 3519-3521, 3523-3525, 3701weakly, 4802, 5301-5303, 5701, 5801	Cw*0710, Cw*1504-15052, Cw*1701weakly, Cw*1702weakly
2E	13	1512, 1514, 1519	
2F	14	1513, 1516, 1517, 1523, 1524, 1536, 1543	
2G	15	1801-1807	
2H	16	2701-2711, 2714	
3A	17	1522, 3501-3519, 3521-3525, 4008, 4406, 51011, 51021-5106, 5108,-5115, 5301-5303, 7801-78022	
3B	18	1522, 1801-1807, 3501-3518, 3520-3524, 7801-7803	
3C	19	40011, 40012, 4007, 4101-4103, 4501, 4502, 4901, 5001, 5002	
3D	20	3701, 3702, 5303	
3E	21	1548, 3801-3803, 39011-3905, 3907, 3908, 3910-3915, 67011, 67012	
3F	22	3801-3803	
3G	23	1401-1405, 3801-38022, 39011, 39013, 3903-3907, 3909, 3911, 3912, 3914, 3915	
3H	24	07021-0710, 0712, 1713, 0801, 0804, 0805, 1401-1405, 39011-3915, 40011, 40012, 4007, 4101-4103, 4201, 4202, 4501, 4502, 4801-4805, 5001, 5002, 67011, 67012, 7301	

Location	Primer set	Amplified specificities	Other amplified alleles
4A	25	40011, 40012, 4007, 4010, 4012, 4803	Cw*1701weakly, Cw*1702weakly
4B	26	4002-4006, 4008, 4009, 4011, 4018-4020	
4C	27	0801-0805, 3701, 4101-4103, 4201, 4202, 4402, 4405, 4406, 4408, 4409, 4411, 4501, 4502, 5108, 8201	Cw*0704, Cw*0711, Cw*0712
4D	28	07021-07023, 0704-0707, 0709-0713, 2701-2711, 2714, 4201, 4202, 4601, 5401, 5501-5505, 5506weakly, 5507, 5508, 5601-5605, 67011, 67012, 7301, 8101, 8201	
4E	29	4402-4411	
4F	30	4501, 4502, 5002	
4G	31	4601	
4H	32	4701-4703	
5A	33	4801, 4804, 8101	
5B	34	4019, 4901	
5C	35	1504weakly, 1516, 4901, 5001, 5002, 51011,-5103, 5107, 5111N-5114, 52011, 52012, 5501, 5503, 5505, 5605, 7801-7803	
5D	36	2702, 4406, 51011, 51021-5115, 52011, 52012, 5301, 5302, 5701,-5705, 5801, 5802	
5E	37	1546, 3519, 40011-4011, 4014-4018, 4020, 4101-4103, 4409, 4501, 4502, 4702, 4703, 5001, 5002	
5F	38	1301-1304, 15011, 15012, 1503-1507, 1512, 1514, 1519, 1520, 1524-1528, 1530, 1532-1536, 1538-1543, 1545-1548, 27053, 3510, 3513, 3516, 40011, 40012, 4007, 4010, 4012-4017, 4101-4103, 4402-4405, 4407-4411, 4501, 4502, 4701-4703, 4901, 5001, 5002, 52011, 52012	
5G	39	5401	
5H	40	5401, 5501-5503, 5505, 5507, 5901	Cw*1502weakly, Cw*1503weakly
6A	41	1303, 4410, 4501, 4901, 5001, 5002, 5115, 5601, 5602, 5604, 8201	
6B	42	1516, 1517, 5701-5705	
6C	43	5801, 5802	
6D	44	0802, 0803, 4406, 51011-5106, 5108-5115, 5301-5303, 5901	
6E	45	0710, 7301	
6F	46	4410weakly, 8201	
6G	47	Bw4	
6H	48	Bw6	

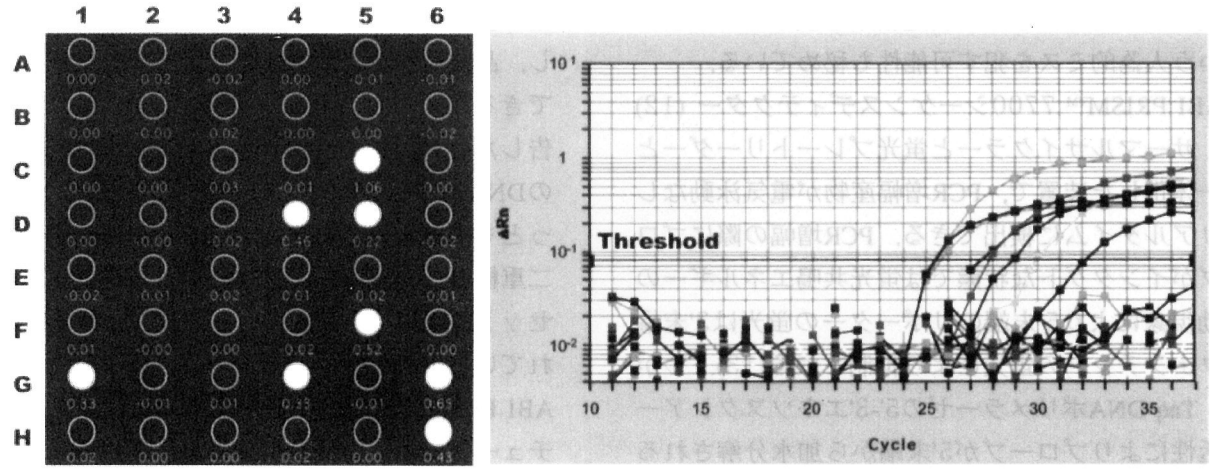


図2　PCR増幅回数の検討

PCR増幅の最適回数を検討した結果，期待される陽性反応がすべて35サイクル目でΔRn閾値以上となった．また，その反応性はプライマーの特異性から予想されるものであり，同定されたアリルタイプは血清学的特異性と矛盾しなかった．図左は35サイクル時点の(Rn値を基にした解析画面を、図右は増幅曲線を示す．○は陽性を，●は陰性をそれぞれ示した．

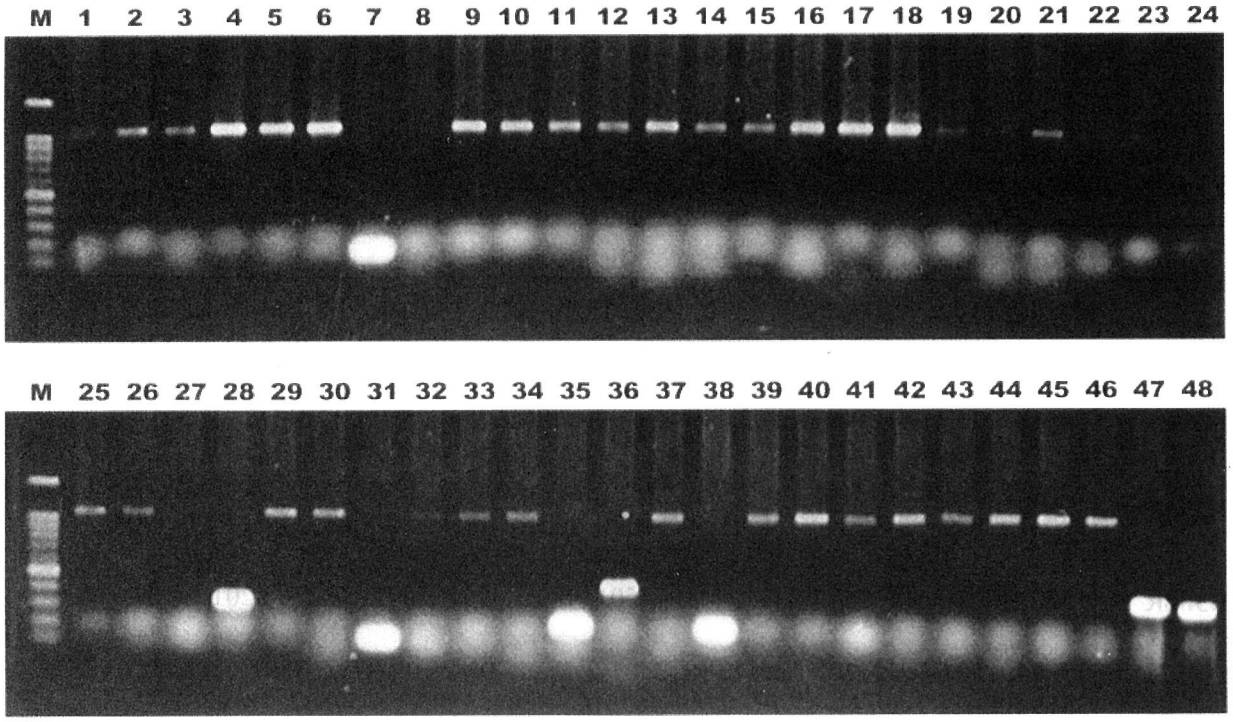


図3　リアルタイムPCR-SSP法で増幅された産物の電気泳動像

図2と同一の増幅産物を1%アガロースゲルで電気泳動した．40回増幅して得られたアンプリコンの反応パターンはプライマーセットの特異性と合致していた．また，ABI PRISMTM 7700シーケンスディテクター（アプライドバイオシステムズ）から得られた反応性とも矛盾はみられなかった．数字はプライマーセットの番号を示した．

に入れることでアリルの判定結果を誤らせてしまうという人為的ミスを犯す可能性も秘めている.

ABI PRISM™ 7700シーケンスディテクター (12)は，サーマルサイクラーと蛍光プレートリーダーとを一体化した装置で，PCR増幅産物が電気泳動なしにリアルタイムに検出できる．PCR増幅の際にプローブがインタクトな状態では蛍光共鳴エネルギーの移動現象により5'末端のリポーターの蛍光は3'末端のクェンチャーの蛍光により抑制される(13)．しかし，Taq DNAポリメラーゼの5'-3'エキソヌクレアーゼ活性によりプローブが5'末端から加水分解されると(14, 15)，リポーターの蛍光色素が遊離し，クェンチャーの蛍光色素との距離が離れることで抑制がはずれ，リポーターの蛍光強度が増加する．この原理を利用し，リポーターの蛍光強度を測定することでPCR増幅の有無を間接的に検出することが可能となる.

この技術を利用したHLAのDNAタイピング法がクラスI (16, 17)とクラスII (18, 19) で一部報告されているが，これらの方法は何れも各施設で独自に開発したプライマーセットが利用されている．そこで我々は，このリアルタイムPCR-SSP法を将来的に日常の検査法として広く利用することを第一の目的とし，品質管理された市販のプライマーキットが利用できるHLA-DRBシステムを開発し，本学会誌に報告した(11)．ここで築かれた経験や手法をクラスIのDNAタイピングにも応用することを計画し，もっとも困難と思われるHLA-Bアリルを対象にして，二重標識蛍光プローブを設計し，市販のプライマーセットを用いて実験を行った．現在一般的に市販されているPCR-SSPプライマーキットは数社あるが，ABI PRISM™ 7700で蛍光検出を行う際に，専用のチューブとキャップとが必要となるため，あらかじめPCR用のマイクロチューブに分注されていないDynal Classic SSP HLA-B "low resolution"プライマーキットを採用した.

このDynal Classic SSP HLA-B "low resolution"プライマーキットのプライマー設定部位は，上流が，イントロン内からコドン91あるいは119から162の間に，下流は，コドン59から107と140から202の間に設定されている（図1）ので，すべてのアンプリコンを検出するためには7種類のプローブを各アリルで塩基配列が共通する領域に設定する必要がある．しかしながら，これらのプローブ設定可能な領

表5　二重標識蛍光プローブでミスマッチがみられるアリル

Probe	Mismatched allele
B133	07, 08, 13, 14, 1503, 1509, 1510, 1518, 1523, 1529, 1537, 18, 27, 37-42, 44, 4501, 47-50, 51011, 51021, 5103, 5104, 5106-5108, 52012, 67, 7301, 7801. 78022, 8101, 8201
B226	14, 18, 2703, 38, 39011-39021, 3903-3909, 3911, 3912, 5505, 67011
B274R	07, 08, 13, 14, 1513, 1516, 1517, 1523, 1524, 1803, 27, 3701, 3702, 38, 39011-3904, 39061, 39062, 3909, 3910, 3912, 4201, 44, 4601, 4701, 4901, 51-59, 67, 7301, 7801, 8101, 8201
B384R	1520, 3501-3511, 3513-3521, 4410, 4501, 4802, 4901, 5001, 53, 58, 8201
B437	13, 14, 1501-1532, 1534-1538, 18, 2701-2706, 2708-2710, 2712, 3501-3508, 3510-3517, 3519-3521, 37-39, 44-47, 4802, 49-54, 5501-5503, 5505, 56-59, 67, 78, 8201
B488	13, 2753, 40011, 40012, 4007, 4012, 4801, 4803, 8101
B530	07, 08, 1403, 1501, 1504, 1507, 1508, 1511, 1512, 1514, 1515, 1519, 1522, 1524, 1526-1528, 1530-1535, 1538, 3508, 3518, 3701, 38, 39, 41, 4201, 4402, 4404-4406, 4408, 4501, 4601, 5105, 5108, 5603, 5702, 5704, 8201

域は各アリルで完全に塩基配列が共通しているとは限らず，一部のアリルでミスマッチを必ず生じることになる．ミスマッチが生じたプローブを使用しても偽反応が認められなかったことから，ミスマッチによる影響はないものと考えられた．また，プライマーセット#44で増幅されるアンプリコンのサイズは85 bpと小さく，二重標識蛍光プローブの設定領域は限定されている．この領域で各アリルに共通する領域にプローブをアンチセンス鎖に設定した場合，プライマーセット#5，9，10，11などの下流プライマーとダイマーを形成するおそれがあるため，センス鎖に結合するプローブ (B274R) を設定した．また，プライマーセット#32についても各アリルでの塩基配列共通領域がプライマー結合部位の近傍にしか存在しないため，センス鎖に結合するプローブ (B384R) を設定した．これらのプローブとDynal Classic SSP HLA-B "low resolution"プライマーキットとを組み合わせてリアルタイムPCR-SSP法の最適増幅サイクル数の検討を行った．その結果，プライマーの特異性から期待される真の陽性反応は35サイクル目ですべてΔRn閾値を超えた．ここで得られた反応性は，すべてのパネルと細胞株由来DNAについてDynal Classic SSP HLA-B "low resolution"プライマーキットの特異性から予想される反応パターンと完全に一致し，この反応から同定されたアリルタイプは血清学的特異性と合致していた．二重標識蛍光プローブB226はプライマーセット#15と#22のプライマー領域と競合し，PCR増幅に影響を及ぼすことが予想されたが，それぞれのΔRn値は0.34と0.29であり，他の陽性反応ΔRn値（平均±SD = 0.380 ±0.131）と比較して問題のない値が得られている．また，プローブB384RはPCRの至適アニーリング温度より約13℃高く設定してあり，プローブの塩基配列に対しミスマッチのない配列（B*5701）とミスマッチを示す配列（B*3501）が同等の反応性であることを示している．他のプローブについてもアニーリング温度を4～10℃高く設定している（表2）．このことから，競合やミスマッチによる反応系への影響はきわめて低いものと考えられた．陽性ΔRn値やΔRn閾値への到達回数にかなりプライマーセット間で差異がみられた（図2）ことから，今後より良好な反応結果を得るためにはプライマーやプローブの設計を見直していく必要があるかもしれない．

プライマーセット#8，#9，#10，#13，#14，#30，#34，#41，#43，#45，#46の11組については，該当する陽性パネルDNAが存在しなかったため，その陽性反応を確認することができなかった．しかしながら，これらのプライマーセットで増幅される領域は，今回検討した増幅領域と同様の配列を含むため，7種類のプローブとの反応性はおそらく正しいものと予測される．

PCR-SSP法は複雑な付加操作がないことから一般的に広く利用されている．しかしながら，PCR増幅により得られたアンプリコンを確認するためのゲル電気泳動のサンプル注入は人為的操作に頼っているのが現状であり，サンプル注入ミスによると思われる誤判定がみられている(20, 21)．今回用いたDynal Classic SSP HLA-B "low resolution"では，1検体に付き48種類のPCR増幅産物を分析する必要がある．このように多数のPCRアンプリコンを同時に電気泳動する際に起こる人為的操作ミスは皆無とはいえない．一方，リアルタイムPCR-SSP法はPCR増幅産物の増加に伴って遊離したリポーター色素の蛍光強度をリアルタイムで検出することで，PCRからアンプリコンの確認までを自動で行える．そのため，ピペッティングや電気泳動時に起こる人為的ミスを極力抑えることが可能である．また，適切な二重標識蛍光プローブとプライマーセットとを組み合わせることで，合成された目的のHLA-B遺伝子DNAのみにハイブリダイズするので，それ以外の領域で増幅されたエキストラバンドを陽性に判定してしまうというミスも防止することが可能である．

我々が開発したリアルタイムPCR-SSPシステムは，DNA抽出からHLA-Bアリル同定までの過程を約2時間で終了することができた．また，この方法ではアンプリコンの数が増えてもPCR増幅以降の操作が自動的であるため，操作性や迅速性への影響は少ないものと考えられた．さらに，PCR増幅から反応結果出力までの過程が自動化されるているので人為的ミスを最小限に抑えることができると考えられた．しかしながら，現行のシーケンスディテクター

では96ウェルのマイクロプレートを使用しているため，これ以上の微量化や操作時間の短縮は不可能である．今後，判定用のアプリケーションの開発と新たな分析装置が開発されれば，より以上にHLAタイピングの自動化に発展をもたらすものと考えられる．

参考文献

1. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, *et al.*: Enzymatic amplification of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* **230**: 1350-1354, 1985.
2. Uryu N, Maeda M, Ota M, *et al.*: A simple and rapid method for HLA-DRB and -DQB typing by digestion of PCR-amplified DNA with allele specific restriction endonucleases. *Tissue Antigens* **35**: 20-31, 1990.
3. Olerup O: HLA class II typing by digestion of PCR-amplified DNA with allele-specific restriction endonucleases will fail to unequivocally identify the genotypes of many homozygous and heterozygous individuals. *Tissue Antigens* **36**: 83-87, 1990.
4. Olerup O, Zetterquist H: HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* **39**: 225-235, 1992.
5. Olerup O, Aldener A, Fogdell A: HLA-DQB1 and -DQA1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. *Tissue Antigens* **41**: 119-134, 1993.
6. Doherty DG, Donaldson PT: HLA-DRB and-DQB typing by a combination of serology, restriction fragment length polymorphism analysis and oligonucleotide probing. *Eur. J. Immunogenet.* **18**: 111-124, 1991.
7. Vaughan RW: PCR-SSO typing for HLA-DRB alleles. *Eur. J. Immunogenet.* **18**: 69-80, 1991.
8. Hoshino S, Kimura A, Fukuda T, *et al.*: Polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism analysis of polymorphism in DPA1 and DPB1 genes: a simple economical, and rapid method for histocompatibility testing. *Hum. Immunol.* **50**: 627-638, 1997.
9. Santamaria O, Lindstrom AL, Boyce-Jacino MT, *et al.*: HLA class I sequence-based typing. *Hum. Immunol.* **37**: 39-50, 1993.
10. McGinnis MD, Conrad MP, Bouwens AGM, et al.: Automated, solid-phase sequencing of DRB region genes using T7 sequencing chemistry and dye-labeled primers. *Tissue Antigens* **46**: 173-179, 1995.
11. 松崎雄三、小林　賢、鈴木洋司ら：二重標識蛍光プローブを用いたHLA-DRBアリルのDNAタイピング法の開発．*MHC* **6**:105-113, 1999.
12. Heid CA, Steven J, Lival KJ, *et al.*: Real time quantitative PCR. *Genome Res.* **6**: 986-994, 1996.
13. Foster VTh: Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz. *Annals of Physics (Leipzig)* **2**: 55-75, 1948.
14. Holland PM, Abramson RD, Watson R, *et al.*: Detection of specific polymerase chain reaction products by utilizing the 5' to 3' exonuclease activity of Thermus aquaticus DNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. of Sci. USA* **88**: 7276-7280, 1991.
15. Lawyer FC, Stoffel S, Sakaki RK, *et al.*: Isolation, characterization, and expression In Eschrechia coli of the DNA polymerase gene from the extreme thermophile, Thermus aquaticus. *J. Biol. Chem.* **264**: 6427-6437, 1989.
16. Slateva K, Camps MA, Blasczyk R: Fluorotyping of HLA-A by Sequence-specific priming and fluorogenic probing. *Tissue Antigens* **52**: 462-472, 1998.
17. Luedeck H, Blasczyk R: Fluorotyping of HLA-C: differntial detection of amplicoms by sequence-specific priming and fluorogenic probing. *Tissue Antigens* **50**: 627-638, 1997.
18. Faas SJ, Menon R, Braun ER, *et al.*: Sequence-specific priming and exonuclease-related fluorescence detection of HLA-DQB1 alleles. *Tissue Antigens* **48**: 97-112, 1996.
19. Albis CM, Blasczyk R: Fluorotyping of HLA-DRB by sequence-specific priming and fluorogenic probing.

Tissue Antigens **53**: 301-307, 1999.
20. 小林　賢，猪子英俊，成瀬妙子ら：第7回日本組織適合性学会大会QCワークショップ報告. *MHC* **5**: 107-121, 1998.
21. 小林　賢，猪子英俊，大谷文雄ら：第6回日本組織適合性学会大会QCワークショップ報告. *MHC* **4**: 100-109, 1997.

Real time PCR-SSP method for HLA-B alleles using dual-labeled fluorogenic probes

Yuzo Takada-Matsuzaki 1), Ken Kobayashi 2), Hiroshi Suzuki 3), Masahiro Mukaida 1)

1) Department of Forensic Medicine,
2) Department of Laboratory Medicine,
3) Department of Blood Transfusion, National Defense Medical College, Saitama, Japan.

Summary

The PCR product is detected using real time PCR-SSP system with the double-labeled fluorogenic probe in a short time without any additional operation. The HLA-B allele typing which seemed to be the most difficult in the class I alleles was studied with this system. Thirty-four samples which the HLA-B antigen types had already-known were measured by ABI PRISM™ 7700 sequence detector using a commercial SSP primer kit and seven kinds of TaqMan probes designed by ourselves. All samples were obtained excellent reactivities in performing PCR amplification of 35 cycles, and they showed the amplifications expected from the specificities of the primers. The ratio of the weakest positive and the strongest negative ΔRn values in each sample was 6.18 in average. Consequently, the identifications of the HLA-B alleles were clear and easy. The allele types identified by our developed real time PCR-SSP HLA-B typing system were in accordance with the serological HLA-B antigen types of panel DNA. The process from DNA extraction to the HLA-B allele identification finished in about two hours and artificial errors could be mininized, as the operation from PCR amplification to detection of amplicon was automatic.

Key words: dual-labeled fluorogenic probe, PCR-SSP, HLA-B, DNA typing

〔総説〕ヒト6番染色体の進化 －MHCを中心として－

数藤 由美子

東京大学理学部，人類学教室

はじめに

ヒトゲノムの全塩基配列情報が決定されようとしている現在、ゲノム構成の機能的意味を知る上で進化学的研究は重要である。主要組織適合抗原複合体(MHC)領域は、ヒトゲノムの中でも特に詳細に解析されており、さらに比較生物学的にもよく研究されていることから、進化にともなうゲノムのダイナミックな変化や機能の多様化を調べるうえで、大変興味深い領域である。MHCの遺伝子構成に関する系統進化学的研究の成果に関してはすでに多くの解説がある。そこで本稿では少し視点を変えて、MHCの染色体領域あるいはさらに巨視的にその領域を含む6番染色体全体の進化を考えてみる。

1．染色体進化の一般的機構

ゲノムは、倍数化・重複による量的増加と、それに引き続く染色体再配列などによるゲノム再編成によって多様化することで進化してきたと考えられている。ここではまず、進化における染色体レベルの変化の一般的機構についてまとめておく。

1－1．倍数化と重複

倍数化によるゲノムの多様化は、現生生物では植物や魚類でひろくみられる。哺乳類ではそのような現象はみられないものと考えられていたが、ごく最近、野生のラットで4倍体の染色体構成を示す種が発見された(1)。

倍数化はゲノム全体にわたるDNAの重複であるが、これに対して部分的に重複が生じたと考えられる染色体領域も知られ、重複領域が同じ染色体上の別の部位や他の染色体へ分散している例が次々に発見されている(2, 3 他)。重複は通常、主としてある部分の遺伝子そのものや（その近傍の）繰り返し配列を使った不均等交叉によって起こると考えられる。そのようにして生じたタンデムな重複（の一部）は、以下に述べる、転座、染色体融合、染色体開裂、逆位、転移因子によるトランスポジションといった染色体再配列の機構によって他の領域へと分散すると考えられる。

1－2．染色体再配列

1－2－1．転座

転座は異なる染色体間で生じるので大規模にゲノムをシャッフルする。最近、比較ゲノム解析に蛍光 in situ hybridization (FISH)法の一種であるZoo-FISHが利用され、転座によるゲノムのシャッフルが効率良く検出できるようになり、多くの情報を提供している(4, 5 他)。Zoo-FISHとは、フローソーティングで分取し、degenerate oligonucleotide-primed polymerase chain reaction (DOP-PCR)法によって作製した特定の染色体全体をカバーするDNAプローブを用いたFISH法（染色体ペインティング：chromosome painting）を比較マッピングに応用したもので、異種由来のプローブを用いて、種間の染色体対応関係を染色体上に配列する遺伝子群の相同性(synteny homology)に基づいて把握する方法である。Zoo-FISHでみた各動物種間の染色体対応関係は、ある生物の染色体（または祖先型染色体）を基準にして、1対1に対応しない場合、転座が生じたということができる。霊長類について例をあげると、キ

代表者連絡先 〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
東京大学理学部人類学教室
数藤 由美子
電 話 03-5841-4496
ファックス 03-5689-7250
E-mail suto@biol.s.u-tokyo.ac.jp

ツネザル類の染色体構成（核型：2N=20~70）の進化は、端部着糸型の染色体同士の相互転座（ロバートソン型転座）によってうまく説明できる(6)。

染色体レベルでのゲノムのシャッフルはどの分類群でも同じように進むわけではない(7-9)。哺乳類における転座による染色体変化は一般に1000万年に1、2回生じると推定されるが、実際にはイヌ、クマ、齧歯類で3~10倍速く変化し、ヒト、ネコ、ミンク、ブタ、トガリネズミ（食虫類）で遅い。近縁種間でも違いがあり、例えば霊長類では、ヒトや幾種かの旧世界ザルに対して、テナガザル（類人猿）、ヨザル（新世界ザル）、キツネザル（原猿類）で遥かに速く（4倍）変化している。

１－２－３．テロメア融合

染色体がテロメアを介して直列融合する例として、ヒト２番染色体があげられる。ヒト２番染色体は霊長類ほか多くの哺乳類では２本の染色体に対応することから、本来は２本の染色体に分離しているのが基本型であると考えられてきた。FISHによりヒト2q13と2q21にそれぞれテロメア、動原体の痕跡が見出された(10)。さらにコスミドクローンを用いた融合領域を含む約2 kbの解析により、この領域にテロメア配列の基本となる$(TTAGGG)_m$と$(CCCTAA)_n$が対向して存在し、それに挟まれたかたちでTTAGCTAAという配列があることが明らかになった(11, 12)。2本の祖先型染色体がテロメア領域で融合し、一方の動原体はそままヒト型2番染色体の動原体として機能し、他方は機能を失ったと考えられる。ヒト2番染色体にみられるような直列融合は、他の種における染色体進化でも大きな役割を果たした(13)。ヒトでも他に何度かテロメア融合が起きていたとしても、古いイベントのため、既に進化の過程でテロメア配列のコピー数を減じて痕跡を失った可能性は高い。ヒト染色体には2q13や動原体周辺（後述）以外にも多数、内在性テロメア配列の存在が報告されているが(14)、それらが２番染色体でみられるようなテロメア配列の対合する形となっているか不明である。

１－２－４．逆位

逆位は同一染色体上で生じ、その規模も様々である。染色体進化上、もっとも頻繁に生じた染色体再配列と考えられる。これまでの比較マッピングのデータから、ヒト染色体進化における染色体再配列の生じる確率は、転座のみで予想されたより2~3倍高くなるという(8)。以下に例をあげる。

・ヒト3番染色体の霊長類各種とツパイ、ブタ、ネコの間の比較マッピング(15)で、遺伝子の配列順序の逆位による変化が証明された。興味深いことにヒト上科の系統ではヒト3番を祖先型とすると最大節約的に進化の過程が説明できるという。

・ヒト4、9、12番染色体とその類人猿における相同な染色体の間で比較すると、逆位が生じている(16-18)。これらの逆位の切断点の多くは動原体近傍に位置し、この領域は染色体進化において可塑性に富むといえる。

なお、ヒト9番染色体については動原体の位置変化が起こっており、進化の過程を最大節約的に再構成するのに逆位のみで説明するのは難しい。むしろ新生動原体の出現と元の動原体の不活性化が提言されている(17)。この考えの基礎となったのは、最近のヒト10番染色体に関する研究(19)で、動原体を含む一部を欠失した10番由来マーカー染色体上に新生動原体が出現した例があり、新生動原体領域と正常10番染色体の対応する領域の塩基配列は一致した。動原体周辺のα-サテライトDNAは動原体の機能にとって必須ではないということになる。染色体上に動原体としての潜在的能力を持つ配列が複数あるのならば、進化の過程で染色体開裂により動原体のない染色体が生じても、新たな動原体の出現によって保持されることになる。

１－２－５．動原体融合と動原体開裂、トランスポジション

染色体進化はしばしば動原体を巻き込んだ開裂と融合の繰り返しによって生じるという(20)。ヒトや他の脊椎動物では、動原体周辺にテロメア関連リピートがしばしばみられるが、開裂後の染色体末端（動原体側）にテロメア配列がキャッピングすることで安定化したことを示す痕跡なのかもしれない。

Eichlerら(21)はCAGGGリピートがヒトや類人猿

の染色体の動原体周辺に存在することを明らかにした。ヒトの場合、これらの配列はゲノム重複とその分散の境界領域に存在する。例えば、16p11領域にはXq28由来のCTR、CDM重複遺伝子セグメントと14q32.3由来のVH IG重複遺伝子セグメントがあり、その間にCAGGGリピート(3.2 kb)、スペーサー、テロメア関連リピート(0.3 kb)がある。同様なことは別の領域でも見出された。動原体周辺領域は染色体再配列のホットスポットなのであろう。おそらくCAGGGリピートとテロメア関連リピートの中に、5'側と3'側の切断点があったものと思われる。これらがトランスポゾンのような転移因子である可能性があるという。ゲノムには様々な転移因子があり(ショウジョウバエや脊椎動物のゲノム全体の10%以上にもなる)、これらは生物の多様性を生み出し、進化上特別な役割を果たしてきたと考えられる(22, 23)。

以上のような染色体進化によって、遺伝子がタンデムな重複の後、分散していった場合、新たに組み込まれた先の配列によっては発現が制御される可能性もある。そのことが増大した遺伝子の機能の喪失や変化に結び付くこともあろう。

2．ヒト主要組織適合抗原複合体(MHC)領域の進化

上述のような染色体レベルでのゲノム変化機構を念頭にして、ヒトMHC領域の進化を考える。ヒト6番染色体p21.3上の約4 MbのMHC領域に、現在、230もの遺伝子が見出されている。近年、哺乳類・両生類・魚類などの比較研究により、この領域の成り立ちが解明されつつある(24, 25)。ヒトMHCクラスⅠ領域とクラスⅡ領域にはには、それぞれクラスⅠα鎖、クラスⅡαならびにβ鎖をコードする遺伝子が多数存在する。また、クラスⅠ分子によって提示される抗原ペプチドの生成と輸送に関わる複数の遺伝子（LMP2/7、TAP1/2）もクラスⅡ領域に存在することから、それらが進化の過程でクラスⅠから転移してきたものとされている。クラスⅢ領域には補体第2成分をはじめとする多様な遺伝子が存在するが、その全てが免疫反応と深く関わっているわけではない。ヒトではクラスⅢはクラスⅠとⅡの間に位置するが、アフリカツメガエル（両生類）ではクラスⅡ－Ⅰ－Ⅲの順で並んでおり、進化上、大規模な位置変化が生じたことを示唆する。哺乳類や両生類ではこのように集中型MHCだが、硬骨魚類（メダカ、ゼブラフィッシュ）では複数の連鎖群に分かれた分散型MHCである。ところが、より原始的な軟骨魚類（サメ）では少なくともクラスⅠとⅡは連鎖しているという(26)。

ヒトMHC領域は、進化の過程で領域内に多くの遺伝子の集合・重複・位置変化を生じただけでなく、より大規模な変化を成し遂げたことが示唆されている。ヒトやマウスの染色体研究から、MHC領域以外にもMHC内の遺伝子と近縁(パラロガス：paralogous)な遺伝子（パラローグ：paralogue）から構成される領域があることが見出された(25, 27)。ヒトの場合、合計４つの異なる染色体上の領域に存在しており、パラローグ群は、脊椎動物出現の初期段階で、少なくとも２回の重複を経て生じたと考えられている。このような4コピーのパラローグ（テトラローグ：tetralogue）は他にもHOX遺伝子クラスターをはじめ多数見いだされているが(28, 29)、無脊椎動物では1コピーしかみられない。このことから、テトラローグの生成は局所的な重複でなく、ゲノム全体の４倍体化とその後の機能喪失または変化による2倍体化が生じた結果とする説もあるが、まだ決定的な証明は成されていない(30-34)。

3．ヒトMHC関連のテトラローグの保存性　－染色体上の位置の種間比較－

ヒトMHC関連のテトラローグの存在する領域は、ヒトの場合、1q21-q25/1p11-p32、6p21.3、9q33-q34、19p13.1-p13.3の4箇所である。少なくとも37個のMHC領域内の遺伝子に対し塩基配列上パラロガスな遺伝子が他の３つの領域の全てあるいは幾つかに見いだされている。完全に4組でない場合は遺伝子の未発見または機能喪失によるためと解釈されている。他の動物種においてもこれらの遺伝子群の位置は染色体再配列の影響を受けず4箇所にまとまって保存されているのか否かを検証するため、ここで幾つかの種間でパラローグの染色体上の位置を比較してみた。

マウスではヒト6番のパラローグに対応する遺伝

子群が13、17番染色体、ヒト1番パラローグに対応するのが1、3、4番染色体、ヒト9番パラローグに対応するのが2、4番染色体、ヒト19番パラローグに対応するのが8、17番染色体上にある(25)。このことから、ヒトと比較するとテトラローグの染色体上の位置的保存性（連鎖性）はマウスでは高くない。マウスの染色体再配列速度は非常に速いので、テトラローグも分散しヒトより複雑な対応となっているのだろうか。試みにヒトの染色体再配列速度と近いブタでもテトラローグを調べた。ブタの遺伝子マッピング(35)はヒト、マウスほど進んでいないため比較できた数は少ないが、表1に示すように、ヒトMHCはブタ7番、ヒト1、9、19番はそれぞれブタ4、1、2番と、染色体としては4組が対応することがわかる。しかし、領域は各染色体上の4箇所に集中しているわけではなく、パラローグ群の遺伝子間の連鎖の度合はヒトほどでない。ウシ(36)でも染色体領域としては必ずしも4箇所に集中していない（表1)。ゼブラフィッシュ(37)では染色体上の位置関係は不明であるが、ヒト6番が第4・8・19・21連鎖群に、ヒト9番が第2・5連鎖群に対応している。いずれの種においても染色体再配列が生じたために各パラローグの分散化が起こったのであろうか。今後より多くの動物種についてより多くの遺伝子がマップされた段階で再度検討する必要がある。

それにしてもなぜヒトのテトラローグには他種のような規模の分散化が生じていないのだろうか。一般に遺伝子重複が生じると、発現物質が大量に必要とされる場合はそのまま残る。不要な場合に、変異が蓄積して関連のある、あるいは新しい別の機能を担う遺伝子に変化して分散しやすくなるか、失われていく。ヒトのもつ何らかの特殊性がこういった領域の位置的保存性を高めているのかはまだ不明である。

表1. ヒトMHCパラロガス領域を構成する遺伝子の例と他の種における相同な遺伝子の染色体上の位置

ヒトMHCパラロガス領域の位置	遺伝子の例	ブタ	ウシ
6p21.3	HLAクラスI HSPA1 RXRB COL11A2 TNX C4A/B	7p12-q12 7p12-q12 7p12-q12	23q22 23
1q23-q25 / 1p11-p32	CD1 HSPA6/7 RXRG COL11A1 TNR ABL2	4q15-q16	 3q13 16
9q33-q34	HSPA5 RXRA COL5A1 HXB ABL1 C5	 1q29-q213	11 11 8
19p13.1-p13.3	C3 INSR	2p14-p17 2q11-q21	

4．ヒト6番染色体の保存的セグメントの数と他の染色体領域との関連

ＭＨＣ領域に関する遺伝子マッピングの進んだ動物種は限られている。この領域の進化を知るために、間接的ではあるが、ヒト6番染色体全体の保存性についてみていこう。データとしては遺伝子マップだけでなく、Zoo-FISHによる結果もとり入れて考察する。Comparative Map X (1999)(38)のデータにより、ヒト、チンパンジー、テナガザル、ニホンザル、キツネザル、ツパイ（進化の系統から、これら霊長類・ツパイを含めて第1群とする)、ネコ、ミンク、クマ、パンダ、ウマ（食肉類とウマ類：第2群)、ブタ、イルカ、ウシ、ヒツジ、インドホエジカ(偶蹄類とイルカ類：第3群)、コウモリ(第4群)、ラット、マウス（齧歯類：第5群)、トガリネズミ（食虫類：第6群)、ゼブラフィッシュ（魚類：第7群）の21種について、ヒト6番染色体の対応関係を調べた。ヒト6番染色体は、第1群では主に1~2個の保存的セグメントに、第2群では1~3個に、第3群では2~3個に、第4群では2個に、第5群では10個に、第6群では1個に、第7群では8個に分かれて対応した。再配列速度の速い齧歯類を

外せば1~3個の保存的セグメントに分かれて対応するといえる。表2には参考にMHCテトラローグが存在するヒト1、6、9、19番染色体の保存的セグメント数を示した。19番染色体は短腕・長腕ほぼ２本の染色体に独立して存在しているようである。

表からわかるように、これらヒト6番を構成する保存的セグメントは、それぞれの種において必ずしも1本の染色体として単独で存在しないで、他のヒト染色体セグメントと再編成されてその種特異的な染色体を成す。これら再編成セグメント間では更に重複、逆位といった再配列による遺伝子配列のシャッフルが起こった可能性がより高くなる。そこで、各種のヒト６番染色体に対応する染色体で存在するセグメントがヒト染色体の何番に対応するかを全ての染色体について調べた（表3)。上記7分類群において、6番との連鎖性が特に弱いのは8、13、18、20、22、Xで、全く隣り合わない染色体は12、13、22番である。一方、分類群3つ以上において6番との連鎖がみられる染色体は1~5、9、10、16、17、19番である。

MHCのテトラローグを構成する４染色体、すなわち1-6-9-19（以下染色体の数字のみで表示）の比較ゲノムのデータ（表4）からみると、9と19が非常に古い時期に独立したと考えられる。さらに1と19の関係性が薄いこと、また遺伝子の解析から1と9のパラローグが最も近縁であること(27)から、魚類の分岐（出現）以前に遺伝子重複が生じ、それが9と19に別れ、9から1が、19から6が生じたと考えることも可能でる。あるいは1と9、6と9、6と19が同じ程度に近縁であることから、9、19をもとに生じた重複が、染色体の再配列により、全く関係のない1や6に転座し分散していったともいえる。

表２. ヒト６番染色体に対応する各動物種の染色体領域（保存的セグメント）数

分類群	動物種	核型(2N)	6 番染色体 (183 Mb)	1 番染色体 (263 Mb)	9 番染色体 (145 Mb)	19 番染色体 (67 Mb)
1	ヒト	46	1	1	1	1
	チンパンジー	48	1	1	1	1
	テナガザル	52	5～6	4	2	3
	ニホンザル	42	1	1	1	1
	キツネザル	60	2	3	1	2
	ツパイ	62	2	2	1	2
2	ネコ	38	1	2	1	2
	ミンク	30	1	2	1	2
	クマ	52	3	3	2	2
	パンダ	42	3	3	1	3
	ウマ	64	2	3	2	2
3	ブタ	38	2	6	1	2
	イルカ	44	2	2	1	2
	ウシ	60	2	3	2	2
	ヒツジ	54	2	3	2	1
	インドホエジカ	6, 7	3	4	3	2
4	コウモリ	32	2	3	1	2
5	ラット	42	１０	5	4	7
	マウス	40	１０	8	5	9
6	トガリネズミ	20	1	2	1	1
7	ゼブラフィッシュ	(25 連鎖群)	8	２０	１１	3

注）テナガザル類においては染色体に多型性がある。インドホエジカにおいては雌雄で核型が異なる。

表３. ヒト６番染色体保存的セグメントが他の動物種において連鎖する染色体セグメントの種類

共通してみられる分類群の数	連鎖する染色体セグメント（対応するヒト染色体番号）
0～1	8, 13, 18, 20, 22, X
2	7, 11, 12, 14, 15, 21
3	1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 17, 19
4	16
5～7	なし

表４. MHC テトラローグ領域をもつ染色体（1、6、9、19 番）間の連鎖性

共通してみられる分類群の数	連鎖する染色体の組み合わせ
0～1	9-19, 1-19
2	1-9
3	1-6, 6-9, 6-19
4	なし
5～7	なし

5．おわりに

本稿のはじめに、4組のパラロガスな染色体領域が生じた機構を説明するのに、進化の過程でその領域の重複が2回生じたとする説とゲノムの倍数体化説を紹介した。染色体進化の初期に生じた倍数体化によるゲノム重複と、その後に起こったゲノムの部分的重複・分散との区別や、それぞれの生じた機構を解明するためには、より多くの種のゲノムと比較していく必要がある。これまでの比較マッピングのデータから、近年急速な展開を遂げた比較ゲノムマッピングによって、哺乳類ゲノムは、染色体レベルの大きな保存的セグメントが単位となって、重複や転座、セグメント内あるいは複数のセグメントを巻き込んだ逆位といった、ダイナミックな再配列を生じながら進化してきたことがわかってきた。今後さらに多くのデータが蓄積されることで、染色体の保存的セグメントがさらに詳細に確定され、染色体再配列の過程が明らかにされるであろう。染色体再配列における進化上の切断点）と、染色体不安定性、脆弱部位(fragile site)、疾患関連の再配列切断点との関連についても明らかにされるであろう。

これまで述べたことは全て相同な遺伝子領域の比較に基づいているが、種特異的なゲノム増幅／欠失領域の探索も始まった(39)。このような染色体レベルの解析により、MHC領域に関連するテトラローグの問題に新たな情報をもたらす日も近いと考えられる。

引用文献

1. Gallardo MH, Bickham J W, Honeycutt RL, *et al.*: Discovery of tetraploidy in a mammal. *Nature* **401**: 341, 1999.
2. Hattori M, Fujiyama A, Taylor TD, *et al.*: The DNA sequence of human chromosome 21. The chromosome 21 mapping and sequencing consortium. *Nature* **405** : 311-319, 2000.
3. Jackson MS, Rocchi M, Thompson G, *et al.*: Sequences flanking the centromere of human chromosome 10 are a complex patchwork of arm-specific sequences, stable duplications and unstable sequences with homologies to telomeric and other centromeric locations. *Hum. Mol. Genet.* **8**: 205-215, 1999.
4. Muller S, Stanyon R, O'Brien PC, *et al.*: Defining the ancestral karyotype of all primates by multidirectional chromosome painting between tree shrews, lemurs and humans. *Chromosoma* **108**:393-400, 1999.
5. Fronicke L, Muller-Navia J, Romanakis K, *et al.*: Chromosomal homeologies between human, harbor seal (*Phoca vitulina*) and the putative ancestral carnivore karyotype revealed by Zoo-FISH. *Chromosoma*, **106**: 108-113, 1997.
6. Muller S, O'Brien P C, Ferguson-Smith MA, *et al.*: Reciprocal chromosome painting between human and prosimians (*Eulemur macaco macaco* and *E. fulvus mayottensis*). *Cytogenet. Cell Genet.* **78**: 260-271, 1997.
7. O'Brien SJ, Menotti-Raymond M, Murphy WJ, *et al.*: The promise of comparative genomes in mammals. *Science* **286**: 458-481, 1999.
8. O'Brien S J, Stanyon R : Ancestral primate viewed. *Nature* **402**: 365-366, 1999.
9. Burt DW, Bruley C, Dunn IC, *et al.*: The dynamics of chromosome evolution in birds and mammals. *Nature* **402**: 411-413, 1999.
10. Baldini A, Ried T, Shrindhar V, *et al.*: An alphoid DNA sequence conserved in all human and great ape chromosomes: evidence for ancient centromeric sequences at human chromosomal regions 2q21 and 9q13. *Hum. Genet.* **90**: 577-583, 1993.
11. Ijdo J W, Baldini A, Ward DC, *et al.* : Origin of human chromosome 2: an ancestral telomere-telomere fusion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**: 9051-9055, 1991.
12. Kasai F, Takahashi E, Kayama K, *et al.*: Comparative FISH-mappping of the ancestral fusion point of human chromosome 2. *Chromosome Res.*, in press.
13. Fronicke L, Scherthan H.: Zoo-fluorescence in situ hybridization analysis of human and Indian muntjac karyotypes (*Muntiacus muntjak vaginalis*) reveals satellite DNA clusters at the margins of conserved

syntenic segments. *Chromosome Res.* **5**: 254-261, 1997.

14. Azzalin CM, Mucciolo E, Bertoni L,*et al.*: Fluorescence in situ hybridization with a synthetic (T2AG3)n polynucleotide detects several intrachromosomal telomere-like repeats on human chromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.* **78**: 112-115, 1997.
15. Muller S, Stanyon R, Finelli P, *et al.*: Molecular cytogenetic dissection of human chromosomes 3 and 21 evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **97**: 206-211, 2000.
16. Nickerson E, Nelson DL.: Molecular definition of pericentric inversion breakpoints occurring during the evolution of humans and chimpanzees. *Genomics* **50** : 368-372, 1998.
17. Montefalcone G, Tempesta S, Rocchi M,*et al.*: Centromere repositioning. *Genome Res.* **9**: 1184-1188, 1999.
18. Marzella R, Viggiano L, Miolla V, *et al.*: Molecular cytogenetic resources for chromosome 4 and comparative analysis of phylogenetic chromosome IV in great apes. *Genomics* **63**: 307-313, 2000.
19. Eichler EE : Repetitive conundrums of centromere structure and function. *Hum. Mol. Genet.* **8**: 151-155, 1999.
20. Kolnicki RL: Kinetochore reproduction in animal evolution: cell biological explanation of karyotypic fission theory. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **97**: 9493-9297, 2000.
21. Eichler EE, Archidiacono N, Rocchi M: CAGGG repeats and the pericentromeric duplication of the hominoid genome. *Genome Res.* **9**: 1048-1058, 1999.
22. 堀　寛：脊椎動物の倍数化と多様化の分子機構－トランスポゾン関与の可能性－. *蛋白質 核酸 酵素* **44**: 234-244, 1999.
23. Kidwell MG, Lisch DR: Transporsable elements and host genome evolution. *TREE.* **15**: 95-99, 2000.
24. Flajnik MF, Ohta Y, Namikawa-Yamada C, *et al.*: Insight into the primordial MHC from studies in ectothermic vertibrates. *Immunol. Rev.* **167**: 59-67, 1999.
25. Kasahara M: Genome dynamics of the major histocompatibility complex: insights from genome paralogy. *Immunogenet.* **50**: 134-145, 1999.
26. Ohta Y, Okamura K, McKinnery EC, *et al.*: Primitive synteny of vertebrate major histocompatibility complex class I and class II genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **97**: 4712-4717, 2000.
27. Kasahara M : The MHC paralogous group: listing of members and a brief overview. (ed. Kasahara M) The Major Histocompatibility Complex: Evolution, Structure, and Function. Springer-Verlag, Tokyo, 2000.
28. Spring J: Hypothesis: vertebrate evolution by interspecific hybridisation - are we polyploid? *FEBS Letters* **400**: 2-8, 1997.
29. Pebusque M-J, Coulier F, Birnbaum D, *et al.*: Ancient large-scale genome duplication: phylogenetic and linkage analyses shed light on chordate genome evolution. *Mol. Biol. Evol.* **15**: 1145-1159, 1998.
30. Hughes AL : Phylogenetic tests of the hypothesis of block duplication of homologous genes on human chromosomes 6, 9, and 1. *Mol. Biol. Evol.* **15**: 854-870, 1998.
31. Hughes A L, Pontarotti P : Gene duplication and MHC origins. *Immunogenet.* **51**: 982-983, 2000.
32. Smith NG, Knight R, Hurst LD: Vertebrate genome evolution: a slow shuffle or a big bang? *BioEssays* **21** : 697-703, 1999.
33. Aparicio S: Vertebrate evolution: recent perspectives from fish. *TIG.* **16**: 54-56, 2000.
34. 菅 裕、星山大介、宮田　隆: カンブリア爆発と遺伝子の多様化. *蛋白質 核酸 酵素* **44**: 207-216, 1999.
35. http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/cyto/gene.htm
36. http://www.ws4.niai.affrc.go.jp/dbsearch2/jgbase.html
37. Postlethwait J H, Yan YL, Gates MA, *et al.*: Vertebrate evolution and the zebrafish gene map. *Nat. Genet.* **18**: 345-349, 1998.

38. O'Brien SJ, Eisenberg JF, Miyamoto M, *et al.*: Genome maps 10. Comparative genomics. Mammalian radiations. Wall chart. *Science* **286**: 463-478, 1999.

39. Toder R, Xia Y, Bausch E: Interspecies comparative genome hybridization and interspecies representational difference analysis reveal gross DNA differences between humans and great apes. *Chromosome Res.* **6**: 487-494, 1998.

〔シリーズ：異種のMHC〕イヌのＭＨＣ（ＤＬＡ）

大谷　文雄

北里大学医学部，免疫学教室

要旨

イヌのＭＨＣ（Dog Lymphocyte Antigen：DLA）はクラスⅠ抗原として４個の遺伝子（DLA-12, DLA-88, DLA-64, DLA-79)が、クラスⅡ抗原としてＤＲＡ，ＤＲＢ１，ＤＱＡ１，ＤＱＢ１がクローニングされ、ＤＲＢ１遺伝子に36、ＤＱＡ１遺伝子に10、ＤＱＢ１遺伝子に21のアリルが確認されている。ＤＬＡのＤＮＡタイピングはクラスⅡ抗原についてＰＣＲ－ＳＳＯ、ＰＣＲ－ＳＳＣＰ、ＰＣＲ－ＳＢＴ法が可能である。イヌ品種間でのＤＬＡ抗原型の違いは認められていない。ＤＬＡ－ＤＲＢ１のＤＮＡタイピングに基ずく計画的交配により、２世代の交配でＭＨＣホモ接合体のイヌの作製が可能である。

はじめに

ＤＬＡ（Dog Lymphocyte Antigen）の研究はマウス、ヒトに次いで古くから行われ、1973年から1987年にかけて3回の国際ワークショップ（International Workshop of Canine Immunogenetics）が開かれている。ＤＬＡの研究はイヌという動物種の進化や品種間の遺伝的違いといった興味よりも、臓器移植への実験動物の開発といった側面が大きい。本稿ではそのようなＤＬＡ研究の歴史と現在までに明らかとなっている各遺伝子の塩基配列並びに遺伝的多型と、ＭＨＣホモ接合体イヌの作製について概説する。

１．ＤＬＡ研究の経緯

ＭＨＣに関係した最初の研究は、1900年代の初めに行われた腫瘍の移植である。腫瘍の研究のため、動物に発生した腫瘍を他の動物に移植しようとしても、同一系内の動物には移植できても他の系の動物には移植できないことから、移植された腫瘍の受容ないしは拒絶に関し何らかの遺伝的要素が関係していることが想像された。Little and Tyzze(1)はこの現象を系統的に検討し、多くの近交系マウスを作製した。これら近交系マウスは移植の対象が腫瘍から皮膚に移っても実験動物として使用されてきたが、1950年代に入り移植の対象が皮膚から臓器へと発展するのに伴い、マウスだけでは実験動物として不充分であることがわかってきた。何しろマウスはヒトに比べあまりにも小さく、実際の手術手技の検討にしても免疫抑制の実験にしても、直接ヒトに応用できる実験結果を得るのには不充分であった。

そこで臓器移植の実験動物として考えられたのがイヌであった。実験動物としてのイヌはパブロフの条件反射の実験（2）で用いられたように古くから使用されてきたが、臓器移植の実験動物として使用するにはＭＨＣの遺伝的背景を明らかにする必要がある。そのために1973年から1986年にかけて三回の国際ワークショップが行われ（3－6)、80頭の近交系のイヌのＤＬＡ－Ｄ（ＭＬＲ）タイピングにより10のクラスター（抗原型）が同定され(5)、また相互免疫により作製した144の抗血清によりＡ，Ｂ，Ｃ３個のクラスⅠ遺伝子座と幾つかの遺伝的多型が検出された（6)。

一方、近交系のイヌの作製はマウスに比べあまりにも大きな問題がありすぎた。マウスは二十日ネズミとも呼ばれるように生後まもなく成熟し二・三カ月に一回の割合で経代することができるが、イヌの成熟には時間がかかり発情期の問題もからんで一年

代表者連絡先　〒228-8555　神奈川県相模原市北里1-15-1
北里大学医学部免疫学
大谷　文雄
電　　話　042-778-8111
ファックス　042-778-8441
E-mail　otani-f@kitasato-u.ac.jp

に一回経代するのが精一杯である。またマウスは小型のケージで多数を飼育できるが、イヌには大型のケージが多数必要である。マウスのように12代にわたる近交交配を行えば、その中に必ずホモ接合体が生じることがわかっていても多数のイヌを12代、12年近くにもわたって経代するのは非常に大がかりな実験となってしまう。このようなことから、ＤＮＡの解析技術が確立されるまでイヌのＭＨＣ（ＤＬＡ）の研究はあまり発展しなかった。そのため、イヌを用いた臓器移植の研究は、ドナーとレシピエントの間での直接のＭＬＲ反応がプラスの組み合わせ、つまり遺伝型は不明であるがＭＨＣ抗原型が違う事だけが確認できる組み合わせで行われて来た(7－9)。

1980年代後半に入り、ＤＮＡ解析技術がＤＬＡの研究にも応用され現在までにクラスⅠ、クラスⅡ合わせ、偽遺伝子を含む21の遺伝子が検出されている（10)。しかし、ジーンウォーキングが完了していない為、特にクラスⅠ抗原では、遺伝子座の違いによる多型なのか、それとも同一遺伝子座内の遺伝的多型なのかの区別がつかないようなばあいもありその解析は未だ不充分である。これはひとえに近交系のイヌの作製に難があることに起因している。最近我々はＤＬＡのＤＮＡタイピングを応用した意図的なメーティングによりＤＬＡホモ接合体のイヌを容易に作製する試みを行っているので合わせて紹介する。

2．ＤＬＡクラスⅠ抗原

1986年の第３回国際ワークショップにより144の抗ＤＬＡ抗血清が解析され、Ａ遺伝子座にＡ2，Ａ3，Ａ9、Ｂ遺伝子座にＢ4，Ｂ5，Ｂ6，Ｂ13、Ｃ遺伝子座にＣ11，Ｃ12の遺伝的多型が認められた（6)。しかしその後の検討により、Ｂ遺伝子座はクラスⅡ抗原であることが示される（11, 12）など問題も多く、現状では血清学によりクラスⅠ抗原の遺伝子座の数を決めたり、抗原型の種類を決定することはできていない。

ＤＬＡクラスⅠｃＤＮＡのクローニングは1990年に最初の報告があり（13)、その後イイントロンを含むゲノムの塩基配列も発表されている（14, 15)。これまでクローニングされたＤＬＡクラスⅠ遺伝子は8個でClassical Class Ⅰ遺伝子1個（DLA-88)、Non-Classical Class Ⅰ遺伝子3個（DLA-79, DLA-12, DLA-64)、偽遺伝子3個（DLA-12a, DLA-53 C1pg-26：C1pg-26はＤＬＡ領域外に存在)、発現は確認されているが未だ性質の明らかでないもの1個（DLA-A）である（10)。

DLA-88, DLA-79, DLA-12, DLA-64は全てリーダーシークエンス，α1，α2，α3，トランスメンブランをコードする各エクソンと細胞内部分をコードする３個のエクソンの合計８個のエクソンから成る。偽遺伝子であるDLA-12aとDLA-53は3ないし5個のエクソンが欠損している。

図1は発現されている4個のＤＬＡクラスⅠ遺伝子座の塩基配列をタンパク質をコードしているエクソン部分に限って並べたものである（15)。DLA-12, DLA-88, DLA-64はほぼ同じ形をしているが、DLA-79には幾つかの塩基の挿入がある。ｃＤＮＡからクローニングされて塩基配列を決められたDLA-A（13）はDLA-12等に比べ３塩基の挿入があるが、このような形式の遺伝子は未だゲノムからはクローニングされておらず詳細は不明である。

DLA-12, DLA-88, DLA-64, DLA-79とHLA-A,B,C及びマウス、ブタ、ネコのクラスⅠ遺伝子相互間の系統樹も書かれているが、際だった特徴は無い(15)。

DLA-12, DLA-88, DLA-64, DLA-79の各アリルはＰＣＲ－ＳＢＴ法でシークエンスされ、DLA-12で２種、DLA-88で44種、DLA-64で２種、DLA-79で10種のアリルが報告されている（16)。

3．ＤＬＡクラスⅡ抗原

ＤＬＡクラスⅡ抗原遺伝子のクローニングは、DR抗原が1990年にＤＲＢ１遺伝子（17)、1995年にＤＲＡ遺伝子（18）がクローニングされ、ＤＱ抗原は1992年にＤＱＡ１遺伝子（19)、1993年にＤＱＢ１遺伝子（20）がクローニングされている。図2はそれぞれの遺伝子のタンパク質コード部分の全長の塩基配列とアミノ酸配列である。これらの塩基配列をもとに、クラスⅡ遺伝子の相互間の関係も調べられているが（19，21，22)、一般的な哺乳

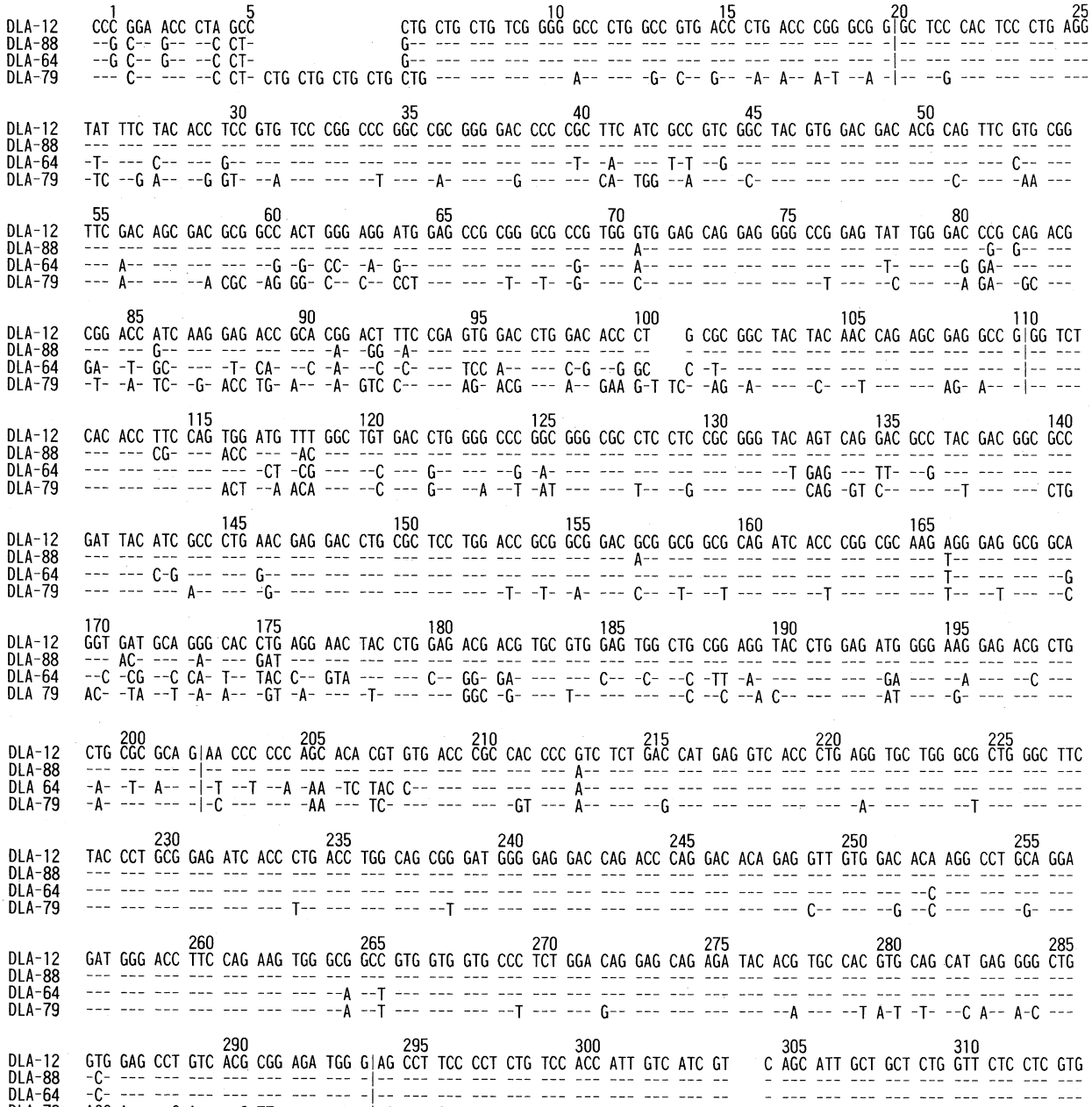


図１　ＤＬＡクラスＩ抗原遺伝子の内、発現が確認されている４個の遺伝子座（DLA-12, DLA-88, DLA-64, DLA-79）の塩基配列（15)。イントロンを含むゲノムの配列よりタンパク質をコードしている部分のみを抽出して示した。数字はDLA-12を基準としたアミノ酸番号。各エクソンの境界は｜で示した。DLA-88は通常のクラスＩ遺伝子、DLA-12,DLA-64,DLA-79はすべて non-classical class Ｉ遺伝子と考えられている（10)。この他にｃＤＮＡクローニングにより見いだされた DLA-A と呼ばれる塩基配列が報告されているが（13)、これが上記４つとは別の遺伝子座に由来するものなのか、あるいは上記の遺伝子座の一つのアリルであるのかはわかっていない。クラスＩ遺伝子座としては上記の他にDLA-12a, DLA-53 と呼ばれる２個の偽遺伝子がＤＬＡ領域内に、C1pg-26 と呼ばれる偽遺伝子がＤＬＡ領域外に存在することが示されている（15)。

動物相互間の関係とほぼ同じ傾向であり、イヌ特別の目立った特徴は無い。

ＤＲＡ遺伝子のアリルはゲノムのＲＦＬＰ法により3種類あると主張されたことがあるが（23）、クローニングされて塩基配列が決定されているのは1種類だけである（18）。ＤＲＢ1遺伝子のアリルは

```
                V  K  E  E  H  V  I  I  Q  A  E  F  Y  L  T  P  D  P  S  G  E  F  M  F  D  F  D  G
DRA             GTC AAA GAG GAG CAC GTA ATC ATC CAG GCT GAG TTC TAT CTG ACC CCT GAC CCA TCA GGC GAG TTC ATG TTT GAC TTC GAT GGT   1-28
                  D  E  I  F  H  V  D  M  E  K  K  E  T  V  W  R  L  E  E  F  G  R  F  A  S  F  E  A
                GAT GAG ATT TTC CAC GTG GAT ATG GAA AAG AAG GAG ACG GTG TGG CGC CTT GAA GAA TTT GGA CGT TTT GCC AGC TTT GAG GCC  29-56
                  Q  G  A  L  A  N  I  A  V  D  K  A  N  V  D  T  M  I  K  R  S  N  H  T  P  N  T  N
                CAG GGT GCC TTG GCC AAC ATA GCT GTG GAC AAA GCT AAC CTT GAC ACA ATG ATA AAG CGC TCC AAC CAC ACC CCG AAC ACC AAT  57-84
                  V  P  P  E  V  T  V  L  S  N  T  P  V  E  L  G  R  P  N  I  L  I  C  F  I  D  K  F
                GTA CCT CCA GAG GTG ACT GTG CTC TCA AAC ACC CCT GTG GAA CTG GGA GAG CCC AAC ATC CTC ATC TGT TTC ATC GAC AAG TTC  85-112
                  S  P  P  V  I  N  V  T  W  L  R  N  G  N  P  V  T  T  G  V  S  E  T  I  F  L  P  R
                TCC CCA CCA GTG ATC AAT GTC ACG TGG CTT CGA AAT GGA AAC CCT GTC ACC ACA GGA GTG TCA GAG ACA ATC TTT TTG CCC AGA 113-140
                  E  D  H  L  F  R  K  F  H  Y  L  P  F  L  P  S  A  E  D  V  Y  D  C  K  V  E  H  W
                GAA GAC CAC CTT TTC CGC AAA TTC CAC TAT CTC CCC TTC CTG CCC TCA GCC GAG GAC GTT TAT GAC TGC AAG GTG GAG CAC TGG 141-168
                  G  L  D  E  P  L  L  K  H  W  E  F  E  P  P  T  P  L  P  E  T  T  E  N  V  V  C  A
                GGT TTG GAT GAA CCT CTT CTC AAG CAC TGG GAG TTT GAA CCA CCA ACC CCC CTC CCA GAG ACA ACA GAG AAT GTG GTG TGT GCC 169-196
                  L  G  L  I  V  G  L  V  G  I  I  T  G  T  I  F  I  I  K  G  M  R  K  V  K  A  G  E
                CTG GGC CTG ATC GTG GGT CTG GTG GGC ATC ATT ACT GGG ACC ATT TTC ATC ATC AAG GGC ATG CGC AAG GTC AAA GCT GGT GAA 197-224
                  R  R  G  P  L
                CGC CGA GGG CCT CTT                                                                                       225-229

                R  D  T  P  P  H  F  L  E  V  A  K  S  E  C  Y  F  T  N  G  T  E  R  V  R  F  V  E
DRB1*00101      AGG GAC ACC CCA CCA CAT TTC TTG GAG GTG GCA AAG TCC GAG TGC TAT TTC ACC AAC GGG AGG GAG CGG GTG CGG TTC GTG GAA   1-28
                  R  Y  I  H  N  R  E  E  F  V  R  F  D  S  D  V  G  E  Y  R  A  V  T  E  L  G  R  P
                AGA TAC ATC CAT AAC CGG GAG GAG TTC GTG CGC TTC GAC AGC GAC GTG GGG GAG TAC CGG GCG GTC ACG GAG CTC GGG CGG CCC  29-56
                  V  A  E  S  W  N  G  Q  K  E  I  L  E  Q  E  R  A  T  V  D  T  Y  C  R  H  N  Y  G
                GTC GCT GAG TCC TGG AAC GGG CAG AAG GAG ATC TTG GAG CAG GAG CGG GCA ACG GTG GAC ACC TAC TGC AGA CAC AAC TAC GGG  57-84
                  V  I  E  S  F  T  V  Q  R  R  V  E  P  T  V  T  V  Y  P  T  K  I  Q  T  L  Q  H  H
                GTG ATT GAG AGC TTC ACG GTG CAG CGG CGA GTC GAG CCT ACA GTG ACT GTG TAT CCT ACG AAG ACT CAG ACC TTG CAG CAT CAC  85-112
                  N  L  L  V  C  S  V  N  G  F  Y  P  G  H  I  E  V  R  W  L  R  N  G  Q  E  E  E  A
                AAC CTC CTG GTC TGC TCT GTG AAT GGT TTC TAT CCA GGC CAC ATT GAA GTC AGG TGG CTC CGG AAT GGC CAG GAA GAG GAA GCT 113-140
                  G  V  V  S  T  G  L  I  R  N  G  D  W  T  F  Q  I  L  V  M  L  E  I  V  P  Q  S  G
                GGG GTT GTG TCC ACA GGC CTA ATC CGT AAT GGA GAC TGG ACC TTC CAG ATC CTG GTG ATG CTG GAG ATA GTT CCT CAG AGC GGA 141-168
                  E  V  Y  T  C  Q  V  E  H  P  S  L  T  S  P  V  T  V  E  W  R  A  Q  S  D  S  A  Q
                GAG GTC TAC ACC TGC CAA GTG GAG CAC CCA AGT TTG ACA AGC CCT GTC ACC GTG GAA TGG AGG GCA CAG TCT GAT TCT GCA CAG 169-196
                  S  K  M  L  S  G  I  G  G  F  V  L  G  L  L  F  L  A  V  G  L  F  I  Y  F  R  N  Q
                AGC AAG ATG CTG AGT GGA ATC GGG GGC TTT GTC CTG GGT CTG CTC TTC CTT GCA GTG GGG CTG TTC ATC TAC TTC AGA AAT CAG 197-224
                  K  G  H  S  G  L  Q  P  T  G  L  L  S
                AAG GGA CAC TCT GGA CTT CAG CCA ACA GGA CTC CTG AGC                                                        225-237

                A  D  H  V  A  N  Y  G  I  N  V  Y  Q  S  Y  G  P  S  C  Q  Y  T  H  E  F  D  G  D
DQA1*00101      GCT GAC CAT GTT GCC AAC TAC GGC ATA AAT GTC TAC CAG TCT TAC GGT CCC TCT GGC CAG TAC ACC CAT GAA TTT GAT GGC GAT   1-28
                  E  E  F  Y  V  D  L  E  K  K  E  T  V  W  R  L  P  D  F  S  T  F  R  S  F  D  P  Q
                GAG GAG TTC TAC GTG GAC CTG GAG AAG AAG GAA ACT GTC TGG CGG CTG CCT GTG TTT AGC ACA TTT AGA AGT TTT GAC CCA CAG  29-56
                  G  A  L  R  N  L  A  I  I  K  Q  N  L  N  I  N  T  K  R  S  N  Q  T  A  A  T  N  E
                GGT GCA CTG AGA AAC TTG GCT ATA ATA AAA CAA AAC TTG AAC ATC ATG ACT AAA AGG TCC AAC CAA ACT GCT GCT ACC AAT GAG  57-84
                  V  P  E  V  T  V  F  S  K  S  P  V  M  L  G  Q  P  N  T  L  I  C  L  V  D  N  I  F
                GTT CCT GAG GTG ACT GTG TTT TCC AAG TCT CCT GTG ATG CTG GGT CAG CCC AAC ACC CTC ATC TGT CTC GTG GAC AAC ATC TTT  85-112
                  P  P  V  I  N  V  T  W  L  K  N  R  H  S  V  T  E  G  V  S  E  T  S  F  F  A  K  G
                CCT CCT GTG ATC AAT GTC ACA TGG TTG AAG AAT AGG CAC TCA GTC ACA GAA GGG GTT TCT GAA ACC AGC TTC TTC GCC AAA GGG 113-140
                  D  H  S  F  S  K  I  S  Y  L  T  F  L  P  S  A  E  D  I  Y  D  C  K  V  E  H  W  G
                GAT CAT TCC TTC TCA AAG ATC AGT TAC CTC ACC TTC CTA CCT TCT GCT GAG GAT ATT TAT GAC TGC AAA GTA GAG CAC TGG GGC 141-168
                  L  D  E  P  L  L  K  H  W  E  P  E  V  P  T  P  M  S  E  L  T  E  T  V  V  C  A  L
                CTG GAT GAG CCA CTT CTG AAA CAC TGG GAA CCT GAG GTT CCA ACC CCT ATG TCA GAG CTG ACA GAG ACT GTG GTC TGT GCC CTG 169-196
                  G  L  A  V  G  L  V  G  I  V  M  G  T  V  F  I  I  Q  G  L  R  S  G  G  T  S  R  H
                GGG TTG GCT GTG GGC CTT GTG GGC ATC GTG ATG GGC ACC GTC TTC ATT ATC CAA GGC CTG CGC TCA GGT GGT ACT TCC AGA CAT 197-224
                  Q  G  P  L
                CAA GGA CCT TTG                                                                                           225-228

                R  D  S  P  Q  D  F  V  F  Q  Y  K  A  E  F  Y  F  T  N  G  T  E  R  V  R  L  L  T
DQB1*00101      AGA GAT TCT CCA CAG GAT TTC GTG TTC CAG TAT AAG GCC GAG TGC TAT TTC ACC AAC GGG ACG GAG CGG GTG CGG CTT CTG ACT   1-28
                  K  Y  I  Y  N  R  E  E  F  V  R  F  D  S  D  V  G  E  F  R  A  V  T  E  L  G  R  P
                AAA TAC ATC TAT AAC CGG GAA GAG TTC GTG CGC TTC GAC AGC GAC GTG GGG GAG TTC CGG GCG GTC ACG GAG CTC GGG CGG CCC  29-56
                  D  A  E  Y  W  N  R  Q  K  D  E  M  D  R  V  R  A  E  L  D  T  V  C  R  H  N  Y  G
                GAC GCT GAG TAC TGG AAC CGA CAG AAG GAC GAG ATG GAC CGG GTA CGG GCC GAG CTG GAC ACG GTG TGC AGA CAC AAC TAC GGG  57-84
                  R  E  E  L  T  T  L  Q  R  R  V  E  P  T  V  T  I  F  P  S  K  T  E  V  L  N  H  H
                AGG GAA GAG CTC ACC ACG TTG CAG CGG CGA GTG GAA CCG ACA GTG ACC ATC TTC CCG TCC AAG ACA GAG GTT CTG AAC CAC CAC  85-112
                  N  L  L  V  C  S  V  T  D  F  Y  P  G  Q  I  K  V  R  W  F  R  N  D  Q  E  Q  T  A
                AAT CTG CTG GTC TGC TCA GTG ACA GAT TTC TAT CCA GGC CAG ATC AAA GTC CGG TGG TTT CGG AAT GAC CAG GAG CAG ACA GCT 113-140
                  G  V  V  S  T  P  L  I  R  N  G  D  W  T  F  Q  I  L  V  M  L  E  M  T  P  Q  R  G
                GGT GTC GTG TCC ACT CCA CTT ATT AGG AAT GGG GAC TGG ACC TTC CAG ATC CTT GTG ATG CTG GAG ATG ACT CCC CAG CGA GGA 141-168
                  D  V  Y  T  C  H  V  E  H  A  S  L  Q  S  P  I  T  V  Q  W  R  A  Q  S  E  S  A  Q
                GAT GTC TAC ACT TGC CAT GTG GAG CAC GCC AGC CTC CAG AGC CCC ATC ACA GTG CAG TGG CGG GCA CAG TCT GAA TGT GCC CAG 169-196
                  S  K  M  L  S  G  I  G  G  F  V  L  G  L  I  F  L  G  L  G  L  I  I  R  H  R  S  Q
                AGC AAG ATG CTG AGT GGC ATT GGT GGC TTC GTG CTG GGG CTG ATC TTC CTT GGG CTT GGC CTT ATC ATC CGT CAC AGG AGC CAG 197-224
                  K  G  S  R  G  S  P  P  A  G  L  L  H
                AAA GGA TCT CGG GGG TCT CCA CCG GCA GGG CTC CTG CAC                                                        225-237
```

図２　ＤＬＡクラスII－ＤＲＡ，ＤＲＢ1，ＤＱＡ1，ＤＱＢ1のＤＮＡ塩基配列とアミノ酸配列。（17）（18）（22）（27）

タンパク質のＮ末端からＣ末端までの全長を示す。ＤＲＢ1としてはＤＲＢ1*00101、ＤＱＡ1としてはＤＱＡ1*00101、ＤＱＢ1としてはＤＱＢ1*00101を代表例として示した。表の右の番号はアミノ酸番号。

	5					10					15					20					25					30				
DRB1*00101	CA	CAT	TTC	TTG	GAG	GTG	GCA	AAG	TCC	GAG	TGC	TAT	TTC	ACC	AAC	GGG	ACG	GAG	CGG	GTG	CGG	TTC	GTG	GAA	AGA	TAC	ATC	CAT	AAC	CGG
DRB1*00102	--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*00201	--	---	---	---	---	A--	-T-	---	-T-	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-AT	C--	-CG	---	G--	---	T--	---	---
DRB1*00202	--	---	---	---	---	A--	-T-	---	-T-	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-AT	C--	-CG	---	G--	---	T--	---	---
DRB1*00301	--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*00401	--	---	---	G--	T-C	CA-	TTT	---	C--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---
DRB1*00501	--	---	---	---	---	A--	TT-	---	-T-	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*00601	--	---	---	---	---	---	---	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	T--	---	---	---
DRB1*00701	--	---	---	---	---	---	---	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	T--	---	---	---
DRB1*00801	--	---	---	G--	A--	A--	TAT	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-AT	C--	ATG	---	G--	---	T--	---	---
DRB1*00802	--	---	---	G--	A--	A--	TAT	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-AT	C--	ATG	---	G--	---	T--	---	---
DRB1*00901	--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*010011				G--	T-C	CA-	TTT	---	C--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*010012				G--	T-C	CA-	TTT	---	C--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--C	---	---
DRB1*01101	--	---	---	G--	A--	A--	TTT	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C-T	C--	-CG	---	AG-	---	T--	---	---
DRB1*01201	--	---	---	G--	AG-	A--	TAT	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--T	C--	-CG	---	AG-	---	T--	---	---
DRB1*01301	--	---	---	G--	T-C	CA-	TTT	---	C--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*01401	--	---	---	---	---	A--	TT-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*01501	--	---	---	---	---	A--	-T-	---	-T-	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C-T	C--	-TG	---	G--	---	T--	---	---
DRB1*01502	--	---	---	---	---	A--	-T-	---	-T-	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C-T	C--	-TG	---	G--	---	T--	---	---
DRB1*01503	--	---	---	---	---	A--	-T-	---	-T-	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C-T	C--	-TG	---	G--	---	T--	---	---
DRB1*01601	--	---	---	---	---	---	---	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*01701	--	---	---	G--	A--	A--	TTT	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--T	C--	-CG	---	AG-	---	T--	---	---
DRB1*01801	--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*01901	--	---	---	G--	AG-	A--	TAT	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--T	C--	-CG	---	AG-	---	T--	---	---
DRB1*02001	--	---	---	---	---	A--	A--	-T-	---	-T-	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	G--	---	T--	---	---
DRB1*02101	--	---	---	G--	A--	A--	TTT	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C-T	C--	-CG	---	AG-	---	T--	---	---
DRB1*02201	--	---	---	G--	T-C	CA-	TTT	---	C--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*02301	--	---	---	---	---	A--	TT-	---	-T-	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*02401	--	---	---	---	---	---	TT-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*02501	--	---	---	---	---	---	TT-	---	-T-	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	---	T--	---	---
DRB1*02601	--	---	---	---	---	A--	TT-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*02701	--	---	---	G--	T-C	CA-	TTT	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*02801	--	---	---	---	---	---	---	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	T--	---	---	---
DRB1*02901	--	---	---	G--	A--	A--	TAT	---	G--	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-AT	C--	ATG	---	G--	---	T--	---	---
DRB1*03001				---	---	A--	-T-	---	-T-	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C-T	C--	-TG	---	G--	---	T--	---	---

	35					40					45					50					55					60				
DRB1*00101	GAG	GAG	TTC	GTG	CGC	TTC	GAC	AGC	GAC	GTG	GGG	GAG	TAC	CGG	GCG	GTC	ACG	GAG	CTC	GGG	CGG	CCC	GTC	GCT	GAG	TCC	TGG	AAC	GGG	CAG
DRB1*00102	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*00201	---	---	A--	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	A--	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*00202	---	---	A--	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	A--	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*00301	---	---	AA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*00401	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*00501	---	---	AA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*00601	---	---	-A-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	-A-	---	---	CC-	---
DRB1*00701	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	-A-	---	---	CC-	---
DRB1*00801	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	-A-	---	---	---	---
DRB1*00802	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	-A-	---	---	---	---
DRB1*00901	---	---	AA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*010011	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*010012	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*01101	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*01201	---	---	---	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*01301	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*01401	---	---	AA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	-A-	---	---	CC-	---
DRB1*01501	---	---	CA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	-A-	---	---	---	---
DRB1*01502	---	---	CA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	-A-	---	---	---	---
DRB1*01503	---	---	CA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	-A-	---	---	---	---
DRB1*01601	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*01701	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*01801	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*01901	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*02001	---	---	-A-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	TGC	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*02101	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*02201	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*02301	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*02401	---	---	AA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*02501	---	---	---	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	---	---	---	C--	---
DRB1*02601	---	---	AA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	-A-	---	---	C--	---
DRB1*02701	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*02801	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	-A-	---	---	CC-	---
DRB1*02901	---	---	AA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-	-A-	---	---	---	---	---	---	---
DRB1*03001	---	---	CA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---	---	C--	---

図3－1

36種がクローニングされ塩基配列が決定されている（10, 21, 24, 25）。図3はＤＲＢ１各アリルのエクソン2の塩基配列の比較で、全アリルで塩基配列が共通の領域とアリル間で塩基配列の異なる領域の配置はＨＬＡ－ＤＲＢ１遺伝子とほぼ同一である。ＤＲＢ2偽遺伝子も1996年にクローニングされβ2ドメイン以降の塩基配列が決定されているがβ1ドメインはエクソンが欠損しているらしく見いだ

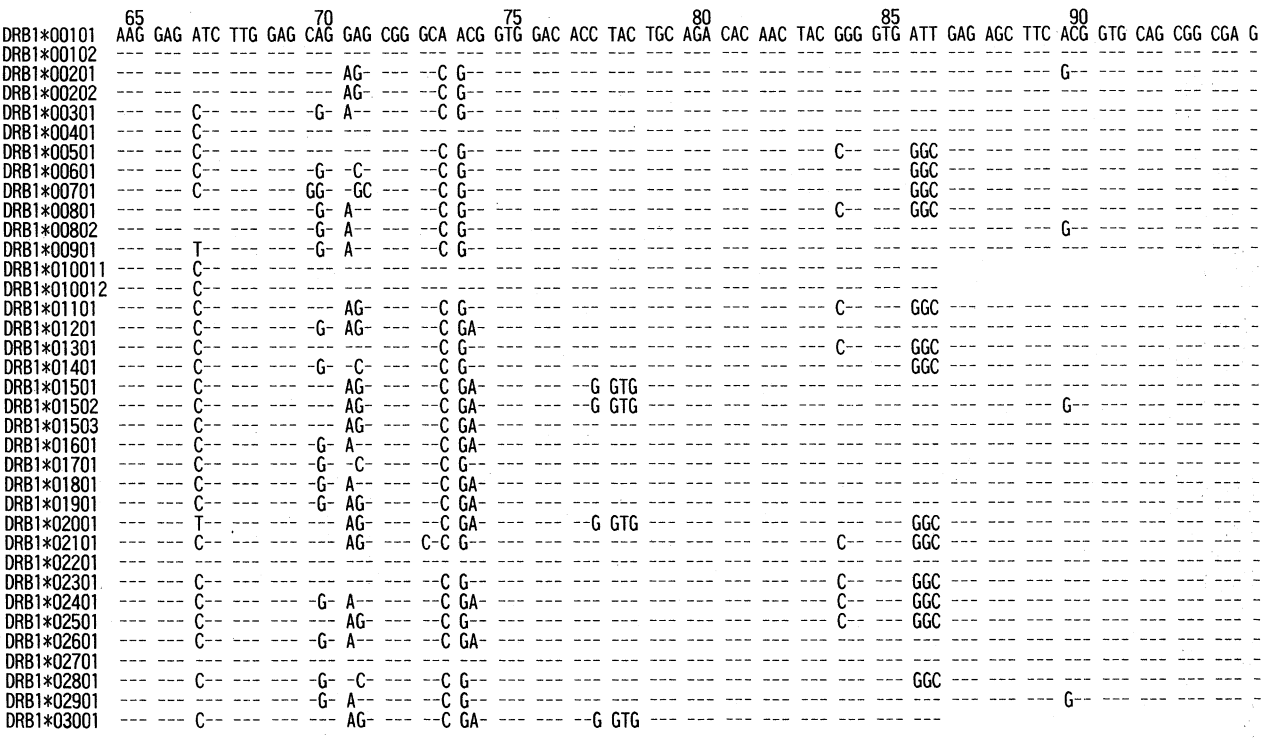


図3－2

図 3 -1, 3-2 DRB1のポリモルフィズム（10）
DRB1遺伝子の中で遺伝的多型の大きい第２エクソン部分の各遺伝子型のＤＮＡ塩基配列をアミノ酸番号と共に示した。

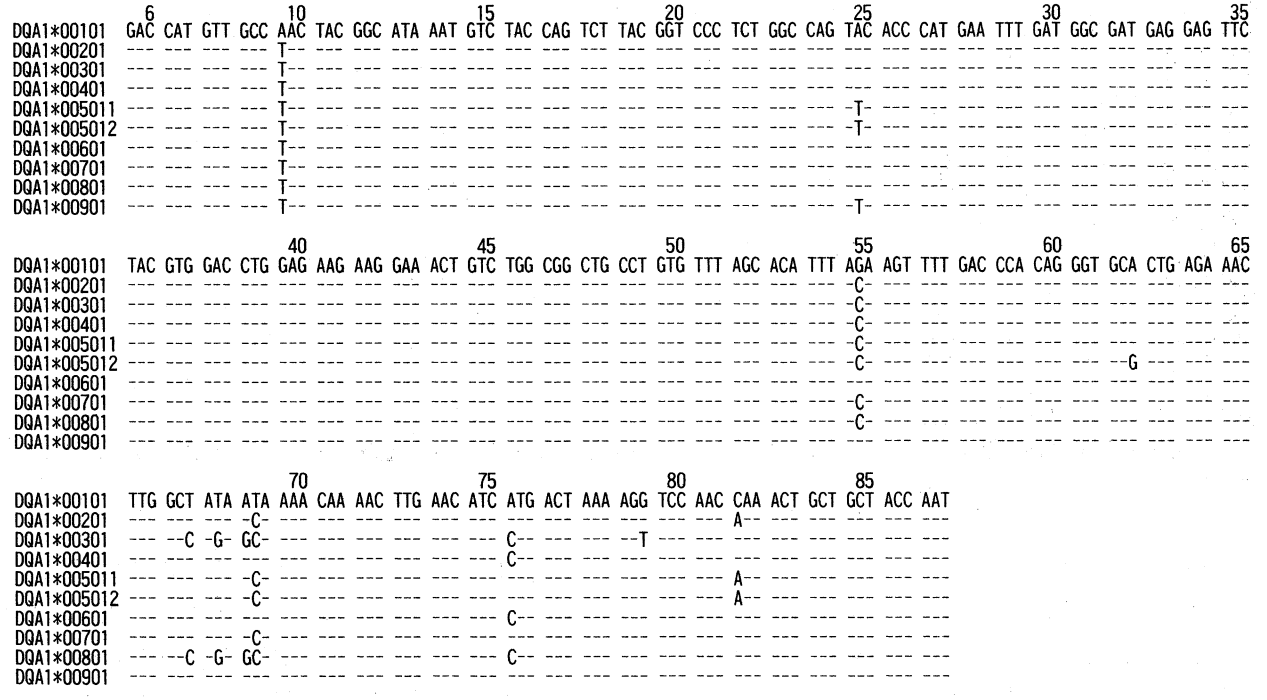


図４ DQA1のポリモルフィズム（10）
DQA1遺伝子の中で遺伝的多型の大きい第２エクソン部分の各遺伝子型のＤＮＡ塩基配列をアミノ酸番号と共に示した。

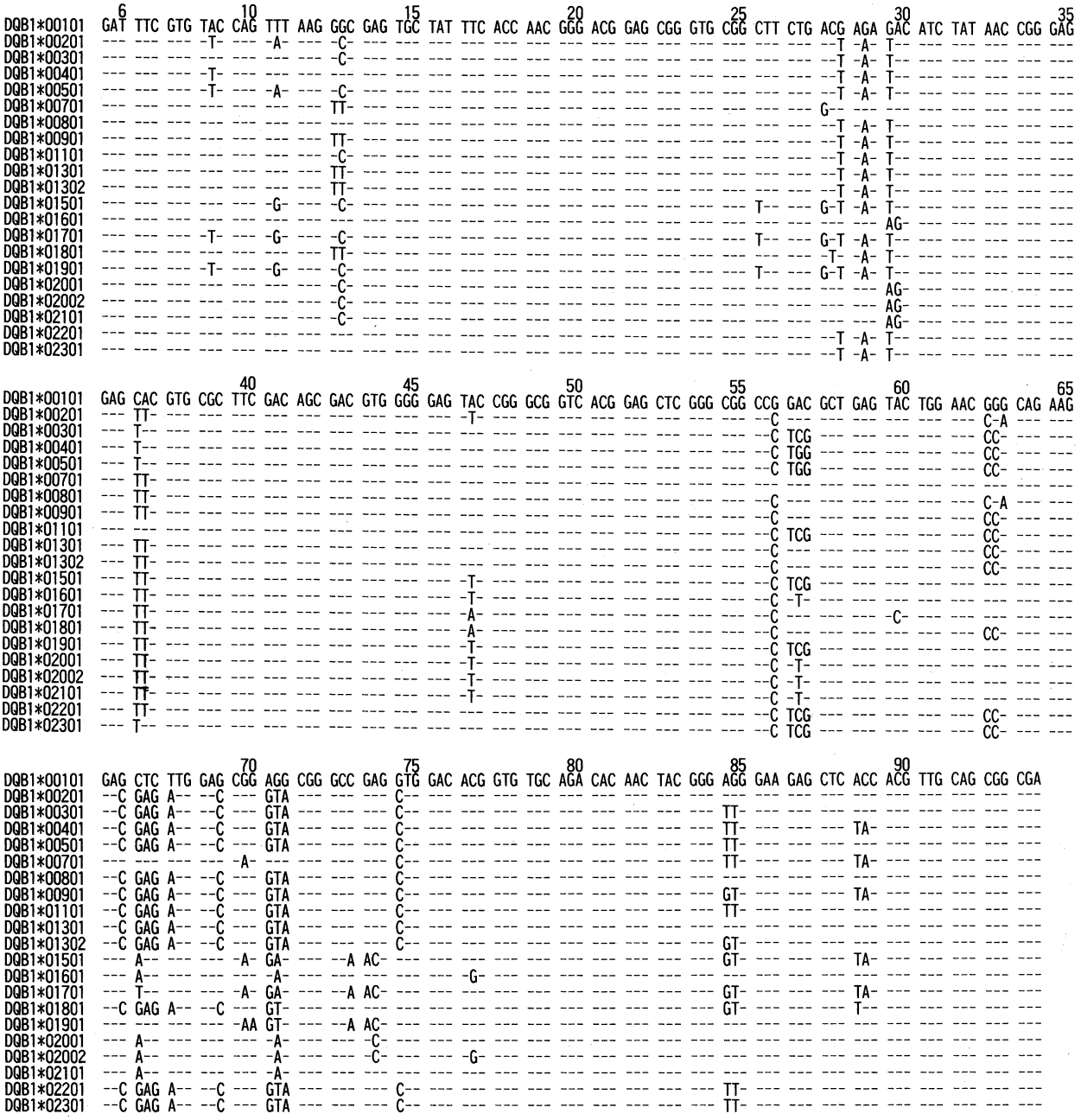


図5 DQB1のポリモルフィズム。(10)
DQB1遺伝子の中で遺伝的多型の大きい第2エクソン部分の各遺伝型のＤＮＡ塩基配列をアミノ酸番号と共に示した。

されていない（26）。

ＤＱＡ１遺伝子は10種のアリルがクローニングされ塩基配列が決定されている（図４）（10, 19, 27, 28）。この図からはＤＱＡ１遺伝子内のアリル間の塩基の変異の度合いはＨＬＡ－ＤＱＡ１のアリル間の変異の度合いに比べ、幾分少ないようにも見受けられる。ＤＱＢ１遺伝子では21種のアリルがクローニングされ塩基配列が決定されている（図5）（10, 22, 28）。ＤＱＢ１遺伝子内のアリル共通塩基配列領域とアリル間で塩基配列が異なる領域の配置はＨＬＡ－ＤＱＢ１遺伝子と類似している。

ゲノムのＲＦＬＰ解析により、ＤＱＡ2, ＤＱＢ

表１　イヌにおける各DRB1アリルの遺伝子頻度とイヌの品種。U.M.Sarumientoら（24）の結果を転載。
表中に示されている各品種を含む50頭のイヌのDRB1アリルタイピングの結果を示す。未だ頭数も少なく正確な遺伝子頻度を出せる段階ではない。特に各品種間の違いについては、同一品種内のブリーダー間での違いもあって結論の出せる段階では無い。

アリル	頭数 (全50頭)	品種
0101	12	Irish Setter(5), Jack Russen Terrior(2), Beagle(1), Poodle(1), West Highland White Terrior(1), Labrador(1), cross-breed(1)
0102	2	Beagle(2)
0201	6	Beagle(4), Irish Wolfhound(1), cross-breed(1)
0202	0	
0401	0	
0402	0	
0601	11	Beagle(2), Bloodhound(1), Foxhound(1), Irish Setter(1), Labrador(1), Retriever(1), Shin Tzu(1), Cocker Spanier(1), Springer Spanier(1),Airedale Terrior(1)
0701	0	
0801	2	Beagle(1), Labrador(1)
0901	2	Pointer(1), cross-breed(1)
0902	1	Airedale Terrior(1)
1301	1	Beagle(1)
1401	0	
1501	12	cross-breed(4), Beagle(2), Chow Chow(1), Fozhound(1), Irish Wolfhound(1), Labrador(1), Retriever(1), unknown(1)
1502	1	Border Collie(1)
1503	1	unknown(1)
1701	0	
1801	3	Bull Mastiff(1), Chow Chow(1), Irish Setter(1)
1901	1	Beagle(1)
1902	7	Labrador(3), Irish Setter(2), Retriever(2)
2001	3	Irish Setter(2), Pointer(1)
2101	0	
2102	3	German Shepherd Dog(2), Beagle(1)
2201	1	Jack Russen Terrior(1)
2301	2	cross-breed(1), unknown(1)
2302	4	Irish Setter(2), Jack Russen Terrior(1), unknown(1)
2401	1	Japanese Akita(1)
2501	1	Shin Tzu(1)
2601	1	Beagle(1)

2，ＤＰＢ1，ＤＰＢ2，ＤＰＡ1，ＤＰＡ2，ＤＺＡ，ＤＯＢなどの存在が示唆されたことがあるが（23)、クローニングされたことは無くその実体は不明である。

４．ＤＬＡのタイピング

ＤＬＡクラスＩの抗血清によるタイピングは1987年にワークショップにより一旦確立されたかに見えたが（6)、その後の研究によりクラスＩに対する抗血清とクラスⅡに対する抗血清の区別に疑義が生じ（11, 12)、その後の発展は無い。

ＤＬＡクラスＩのＤＮＡタイピングは発現が確認されている4個の遺伝子座についてＰＣＲ－ＳＢＴ法によるアリルの検出が行われているが（16)、未だ未知の遺伝子座と未知のアリルが多く、ＰＣＲ－ＳＢＴ法以外の方法は報告されていない。

ＤＬＡクラスⅡの抗血清によるタイピングは適当な抗血清の数も少なく、事実上不可能である。ＤＬＡクラスⅡのＭＬＲによるタイピングは1986年の第3回ワークショップで行われ80のＤＬＡ－Ｄホモ

接合体タイピング細胞を用いて10のクラスターが認められている（5)。

ＤＬＡ－ＤＲＢ1のＤＮＡタイピングは1988年にゲノムＲＦＬＰ法によるタイピングが報告され(29, 30)、その後の遺伝子のクローニングの結果に基づきＰＣＲ－ＳＳＯ法（31, 32, 33, 34)、ＰＣＲ－ＳＳＣＰ法（35, 36)、ＰＣＲ－ＳＢＴ法（24)でのタイピングが報告されている。

ＤＬＡ－ＤＱＢのＤＮＡタイピングも1988年にゲノムＲＦＬＰ法によるタイピングが報告され(29)、その後の遺伝子のクローニングに基づきＰＣＲ－ＳＳＣＰ法（35)、ＰＣＲ－ＳＢＴ法（22)によるタイピングが報告されている。ＤＬＡ－ＤＱＡ遺伝子についてはＰＣＲ－ＳＳＯ法（37)、ＰＣＲ－ＳＢＴ法によるタイピングが報告されている(27)。

5．イヌの品種とＤＬＡタイピング

ＤＬＡの研究はその発祥が臓器移植の実験動物としての使用であったことから、当時最も遺伝的に確立された品種であると考えられたビーグル犬と、最も手に入り易かった雑犬を主な対象として行われてきた。1987年の第３回国際ワークショップでは、ビーグル犬と雑犬の他に、ジャーマンシェパード、ボクサー、ドーベルマン、アイリッシュセッター、シベリアンハスキー、コリー、セントバーナード、コッカースパニエル、ダックスフンド、ポメラニアン、プードル、ポインター等の36品種529頭に対する血清学解析が行われたが、ビーグル犬、雑犬、ジャーマンシェパード以外はどの品種も16頭以下で、多くの品種は１頭だけの解析であり品種による抗原型の違いは認められていない（6)。表１はさまざまな品種50頭のＤＬＡ－ＤＲＢ1遺伝子のＰＣＲ－ＳＢＴ法によるタイピング結果であるが（25)、この程度の頭数では遺伝子頻度や品種間の遺伝的関係についての結論は出せない。

そもそもイヌの品種に対しＤＬＡタイピングを行って品種間の遺伝的関係を明らかにしようという試みには、決定的に重大な問題がある。イヌの各品種はそれぞれの来歴は比較的良くわかっているが、現在現実に供給されているイヌは、各国各地域のブリーダーが当初少数の親イヌを手に入れてそれを基に繁殖したものである。つまり最初にブリーダーが手に入れた親イヌの遺伝型の偏りがそのまま各ブリーダーの供給するイヌの遺伝子頻度に偏りを与えてしまう。我々の経験でも、同じビーグル犬であっても購入したブリーダーが違えばそのＤＬＡ抗原型頻度には著しい差異が認められる。つまり、各品種のＤＬＡ抗原型頻度によりイヌの品種の遺伝的関係を明らかにするためには、各品種に関し、世界中すべてのブリーダーから多数の個体を得てその全てをタイピングし、その結果を各品種の遺伝子頻度としない限り意味が無いことになる。例えば秋田犬や土佐犬のように、少数個体が特定の地域でのみ繁殖されているイヌではその全ての個体をタイピングすることも可能であるかもしれないが、世界中に広まっている品種については非常に難しい。また、例えば特定の品種にだけ見いだされ他の品種には全く検出されない抗原型があれば、そこから品種の由来を推定することも可能であろうが、現在までの所そのようなＤＬＡ抗原型は報告されていない。

6．ＤＮＡタイピングを用いたＤＬＡホモ接合体イヌの作製

全遺伝子が完全にホモ接合体のイヌはその作製の難しさから作製されていない。第3回国際ワークショップにおいて、近親交配のイヌの中から家系内ＭＬＣ反応によりＭＨＣホモ接合体のイヌが80頭選ばれて解析されたことがあるが（5)、その繁殖と維持が難しいことから一般には供給されていない。そこで我々はＤＬＡのＤＮＡタイピングに基づき計画的な交配を行うことにより、容易にＭＨＣホモ接合体のイヌを作り出す方法の開発を行った。一組の親犬とその子犬を全てＤＬＡ－ＤＲＢ１遺伝子のＰＣＲ－ＳＳＣＰ法によりタイピングし、子犬の中から同一抗原型を示す雌雄一組の組み合わせを探し出す。この組み合わせにより第2代の子供を作ると1/4の確率で一つの型のホモ接合体が、1/4の確率で他の型のホモ接合体が見いだされることになる。第2代の子犬のどの個体がどの型のホモ接合体であるかは、ＤＮＡタイピングにより容易に検出できる。このようにすれば三世代、二回の交配によりＭＨＣ

ホモ接合体が作製できる。図6と図7はこのようにして作製したＭＨＣホモ接合体ビーグル犬の家系図とＤＬＡ－ＤＲＢ1ＰＣＲ－ＳＳＣＰタイピングの結果である（36）。第二世代で全く同じ抗原型を持つp853とp855の兄妹を父母とする交配により得た5頭の子供の内、子3（p924）と子4（p925）が共に同一の抗原型のホモ接合体であることがわかる。このようにＭＨＣホモ接合体が自由に容易につくることができるようになれば、ＤＬＡの遺伝子のクローニングとジーンウォーキングも容易になり遺伝子座の数の特定も可能になるし、イヌを用いた臓器移植実験の結果もより良いものになると期待される。また本法はイヌのみならずこれまでホモ接合体作製が事実上不可能であった大型動物のホモ接合体作製にも応用できるものである。

おわりに

イヌＭＨＣ（ＤＬＡ）はヒトＨＬＡ、マウスＨ－２に次いで古くから広く調べられてきたが、クラスⅠ抗原では未だ遺伝子座の数もアリルの数も不明の点が多い。クラスⅡ抗原はＤＲ抗原とＤＱ抗原についてのＤＮＡ解析が比較的良く進んでいるが、偽遺伝子の数や遺伝子間の配列順序、アリルの数などに不明の点がある。ＨＬＡ研究者に比べその1/100にも満たない人数のＤＬＡ研究者でＤＬＡの解析を行うためにはマウスのようなＭＨＣホモ接合体の作製

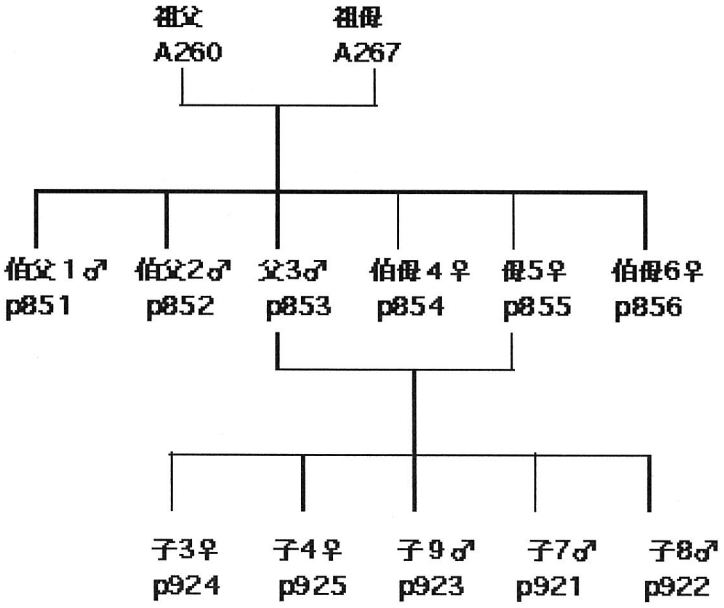


図６　DNAタイピングに基づくDLAホモ接合体イヌの作製に用いたビーグル犬の家系図（36）。
第１代A260とA267から生まれた6頭の中からPCR-SSCPタイピングにより同一遺伝子型と認められたp853とp855を交配し、子犬5頭を得た。

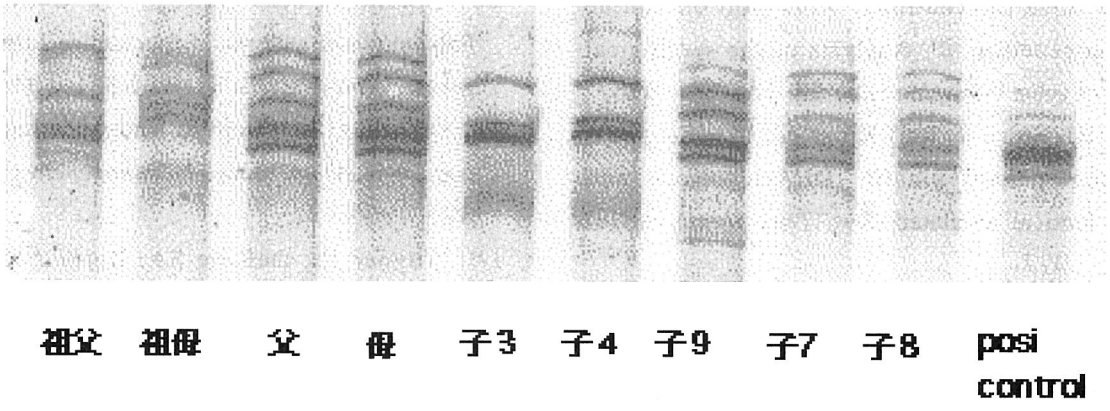


図７　家系内PCR-SSCPタイピングの結果とDLAホモ接合体イヌの検出（36）。
図６に示した家系内のPCR-SSCPタイピングにより子３（p924）と子４（p925）が同一抗原型のDLAホモ接合体であることを確認した。

が不可欠であり、ＤＮＡタイピングに基づく容易なＤＬＡホモ接合体作製方法を考案中である。

謝辞

本稿を書くにあたり北里大学医学部免疫学渡部浩二先生と伊藤京子さんにご協力をいただきました。感謝いたします。

参考文献

1. Little CC, Tyzzer EE: Futher experimental studies on the inheritance of susceptibility to a transplantable tumor, carcinoma (J.w.A.) of the Japanese waltzing mouse. *J. Med. Res.* **33**: 394-453, 1916.
2. Pavlov IP: Conditioned reflexes : an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. GV Anrep, trans, London, Oxford Univ. Press 1927.
3. Vriesesdorp HM, Westbroek DL, Albert ED, *et al.*: Joint report of first international workshop on canine immunogenetics. *Tissue Antigens* **3**:145-163, 1973.
4. Vriesendorp HM, Albert ED, Templeton J.W. *et al.*: Joint report of the second international workshop on canine immunogenetics. *Transplantation Proceedings* **8**: 289-314, 1976
5. Deeg HJ, Raff RF, Grosse-Wilde H. *et al.*: Joint report of the third international workshop on canine immunogenetics. Ⅰ. Analysis of homozygous typing cell. *Transplantation* **41**:111-117, 1986.
6. Bull RW Vriesendorp HM, Cech R, *et al.*: Joint report of the third international workshop on canine immunogenetics. Ⅱ. Analysis of the serological typing of cells. *Transplantation* **43**: 154-161, 1987
7. Deeg HJ, Storb R, Raff RF *et al.*: Marrow grafts between phenotypically DLA-identical and haploidentical unrelated dogs. *Transplantaion* **33**: 17-21, 1977.
8. Watanabe K, Yuge K, Sato K, *et al.*: Donor bone marrow cell facilities induction of tolerance to kidney allografts in dogs treated with fractionated lymphoid irradiation and FK506. *Transplantation Proceedings* **23**: 568-572, 1991
9. Watanabe K, Ito I, Otani F, *et al.*: Factor influencing long-term operational tolerance in dogs treated with fractionated lymphoid irradiation, donor bone marrow cell infusion and FK506. *Transplantation Proceedings* **27**: 221-224, 1995.
10. Kennedy LJ, Altet L, Angles JM, *et al.*: Nomenclature for factors of the dog major histocompatibility system (DLA),1998. First report of the ISAG DLA nomenclature committee. *Tissue Antigens* **54**: 312-321, 1999.
11. Deeg HJ Wulff JC, DeRose S, *et al.*: Unusual distribution of Ia-like antigens on canine lymphocytes. *Innunogenetics* **16**: 445-447, 1982.
12. Doxiadis I, Krumbacher K, Neefjes JJ, *et al.*: Biochmical evidence that the DLA-B locus codes for a class Ⅱ determinant expressed on all canine peripheral blood lymphocytes. Exp. Clin. *Immonogenet.* **6**: 219-224, 1989.
13. Sarmiento U.M. Storb R: Nucleotide sequence of a dog class Ⅰ cDNA clone. *Immunogenetics* **31**: 400-404, 1990.
14. Burnett RC and Geraghty DE: Structure and expression of a divergent canine class Ⅰ gene. *J. Immunol.* **155**: 4278-4285, 1995.
15. Bunnet RC, DeRose SA, Wagner JL, *et al.*: Molecular analysis of six dog leukocyte antigen class Ⅰ sequences including three complete genes, two truncated genes and one full-length processed gene. *Tissue Antigens* **49**: 484-495, 1997.
16. Graumann MB, DeRose SA, Ostrander EA: Polymorphism analysis of four canine MHC class Ⅰ genes. *Tissue Antigens* **51**: 374-381, 1998.
17. Sarmiento UM, Storb R: Nucleotide sequence of a dog DRB cDNA clone. *Immunogenetics* **31**: 396-399, 1990.
18. Wagner JL, DeRose SA, Burnett RC, *et al.*: Nucleotide sequence and polymorphism analysis of canine DRA cDNA clones. *Tissue Antigens* **45**: 284-287, 1995.
19. Sarmiento UM, DeRose S, Sarmiento JI, *et al.*: Allelic variation in the DQ subregion of the canine major histocompatibility complex : Ⅰ. DQA.

Immunogenetics **35**: 416-420, 1992.

20. Sarmiento UM, DeRose S, Sarmiento JI, *et al.*: Allelic variation in the DQ subregion of the canine major histocompatibility complex : Ⅱ. DQB. *Immunogenetics* **37**: 148-152, 1993.
21. Wagner JL, Burnett RC, Works JD: Molecular analysis of DLA-DRBB1 polymorphism. *Tissue Antigens* **48**: 554-561, 1996.
22. Wagner JL Hayes-Lattin B, Works JD, *et al.*: Molecular analysis and polymorphism of the DLA-DQB genes. *Tissue Antigens* **52**: 242-250, 1998
23. Sarmiento UM, Storb RF: Characterization of class Ⅱ alpha genes and DLA-D region allelic association in the dog. *Tissue Antigens* **32**: 224-234, 1988.
24. Sarmiento UM, Sarmiento JI, Storb R: Allelic variation in the DR subregion of the canine major histocompatibility complex. *Immunogenetics* **32**: 13-19, 1990.
25. Kennedy LJ, Carter SD, Barnes A, *et al.*: Nune new dog DLA-DRB1 alleles identified by sequence-based typing. *Immunogenetics* **48**: 296-301, 1998
26. Wagner JL, Burnett RC, Storb R: Molecular analysis of the DLA DR region. *Tissue Antigens* **48**: 549-553, 1996.
27. Wagner JL, Burnett RC, DeRose SA, *et al.*: Molecular analysis and polymorphism of the DLA-DQA gene. *Tissue Antigens* **48**: 199-204, 1996.
28. Polvi A, Garden OA, Elwood CM, *et al.*: Canine major histocompatibility complex genes DQA and DQb in Irish setter dogs. *Tissue Antigens* **49**: 236-243, 1997.
29. Sarmiento UM, Storb RF: Restriction fragment length polymorphism of the major histocompatibility complex of the dog. *Immunogenetics* **28**: 117-124, 1988.
30. Lu P, Zucker KE, Esquenazi V, *et al.*: Correlation of RFLP tpying and MLC reactivity in dogs. *Tissue Antigens* **37**: 224-229, 1991.
31. 大谷文雄、伊東一郎、角田みさをら: イヌMHC(DLA)のPCR-SSO法によるタイピングと新しい抗原型の発見. 第2回日本組織適合性学会大会抄録集 pp72, 1993.
32. 伊東一郎、渡部浩二、大谷文雄ら: 北里自家繁殖mongrel犬の主要組織適合性抗原(DLA)DRB1遺伝子の解析 *MHC & IRS* **1**: 115, 1994.
33. 伊東一郎、渡部浩二、須山出穂ら: DLA-DRB1遺伝子の解析－新しいプローブの作製とその検討 *MHC* **2**: 49, 1995.
34. Kennedy LJ, Carter SD, Barnes A, *et al.*: DLA-DRB1 polymorphisms in dogs defined by sequence-specific oligonucleotide probes (SSOP) *Tissue Antigens* **53**: 184-189, 1999.
35. Wagner J L, Works D, Storb R: DLA-DRB1 and DLA-DQB1 histocompatibility typing by PCR-SSCP and sequencing. *Tissue Antigens* **52**: 397-401, 1998.
36. 伊藤京子、渡部浩二、大谷文雄ら: イヌを用いた臨床応用可能な移植免疫寛容導入法解析のためのPCR-SSCP法によるDLA-DRB1型homozygous犬の作製 日本免疫学会総会・学術集会記録 **30**: 100, 2000.
37. Kennedy LJ, Carter SD, Barnes A, *et al.*: DLA-DQA1 polymorphisms in dogs defined by sequence-specific oligonucleotide probes (SSOP) *Tissue Antigens* **55**: 257-261, 2000.

〔シリーズ：HLA研究者の個人史〕

内藤 説也

福岡大学病院，腎センター

著者が参加した初めてのＩＮＴＥＲＮＡＴＩＯＮＡＬ Ｈｉｓｔｏｃｍｐａｔｉｂｉｌｉｔｙ Ｗｏｒｋｓｈｏｐ及びＣｏｎｆｅｒｅｎｃｅ（ＩＮＨＷ及びＩＮＨＣ）は第４回のものでこのワークショップはパームスプリングでカンファレンスはロスアンゼルスで行われた。このとき米国を主体に世界中の１５の研究室が参加したが、先ずそのメンバーのなかの主な人について述べる。この方面の研究者としては唯一のノーベル賞受賞者Jean Dausset教授がパリのセントルイス病院免疫血液学研究室から参加した。この会議の組織委員はＵＣＬＡの教授で日系二世のPaul Terakaki氏（大会議長）、イタリアトリノ大学のR. Cepperilini 教授（会長)、オランダライデン大学のJ.J.van Rood教授（前回会長)、D.B .Amos 教授（前前会、第１回会長）であった。その他よく知られた研究者としては故人を含めてF.kissmeyer-Nielsen, Peter Morris, Prof.Rose Payne、当時Terasakiの研究室に在席し、後に IBHWを主催したドイツのミュンヘン在住のE.Albert教授、共催したウイーンのMayer教授、オックスフォーのW.F.Bodmer教授などである。Bodmer 氏は当時米国のスタンフォード大学に留学しており、この地より参加した。

先ず最初にこの方面では唯一のノーベル医学生理学賞受賞者のJ.Dauset教授について述べる。教授は１９１６年フランスに生まれパリの大学で医学を学び、血液学を専攻した。１９５８年彼は初めてMAC（後のHLA-A2）について記述した。ＨＬＡの発見者といわれる所以である。これによって１９８０年Shnell, Banaceraefと共にノーベル賞を受けた。Dausetはその後３０の新しいＨＬＡ抗原を発見し、またＨＬＡシステムを確立するのに有力な役割を果たしたと述べている。

次に挙げられるのは、著者の恩師に当たるPaul Terasaki 教授であろう。彼が１９６４年に公表した微小リンパ球毒性テスト（microlymphocyte cytotoxisity test, MLCT）はＨＬＡ型を正確にタイプし、現在のＨＬＡの体系を作り上げたことは広く認めれている。彼はロスアンゼルスのＵＣＬＡから１９５０年代の終りに移植免疫学の創始者でノーベル賞を受賞したロンドンのMedawar のもとへ留学している。１９６９年にはＵＣＬＡの外科学教室移植免疫学研究室の教授となり、１９７０年及び１９８０年にはINHW及びINHCをロスで主催している。彼は又国際移植学会や米国組織適合性兼免疫遺伝学会等を主催し、Medawar 賞、Karl Landsteiner 賞、Emily Cooly 賞、Phillip Levine賞、Starzel 賞等を受け、又パリのソロボンヌ大学からは名誉博士号を受けている。Terasaki 教授は1999年にUCLAを退任したが、すぐにロスに研究所を作り現在でもこの方面の研究で活躍中である。 Terasaki 教授の日本語は現在ではかなり上手になったが著者が留学した当時は殆ど話せないような状態だった。このことは彼が幼少時から非常な秀才で、日本人仲間とは遊ばされず英才教育を施されたものと推察している。

Rose Payne 女史はＨＬＡの女王と称されているように女性ＨＬＡ研究者の第一人者である。彼女はDausset 及び van Rood と共にＨＬＡの発見者の１人と目されており、１９０９年に生まれ、１９９９年９０才になる数ヵ月前に没した。彼女は１９３０年代にワシントン大学に入り、理学士（BS）更に理学修士（MS）の称号を得ている。１９３７年には細菌学でPhD を得た。第二次世界大戦中はPortland 州の造船所で女性職員の顧問などをしてい

たが、戦後はStannford 大学医学部の研究助手となり研究生活を始めた。１９７２年には内科・血液学の教授となり、１９９６年には名誉教授となった。１９８０年にStanford でKatharine D. McCormick 記念講演を行った最初の研究者となった。Payneはこの年にＩＮＷＳ及びＩＮＨＣを主催するように依頼されていたが、この記念講演やその他の理由でTerasaki教授にこれを譲ったといわれている。彼女は米国血液銀行と米国組織適合性兼免疫遺伝学会から名誉称号を与えられ、又後者によりRose Payne 記念科学賞が設立された。

１９６４年に最初のＩＮＷＳを開催し、これを主催したのはD.B.Amos で、彼は英国で１９２３年に生まれているが、１９５５年以降は米国に移り、特にＨＬＡの仕事を始めたのはDuke大学医学部で、その後はずっとノースカロライナ州のDurham で暮らしている。Amos の主な業績はＨＬＡハプロタイプの確立にあるようで家族内のＨＬＡタイピングを数多く行っている。

１９６５年第２回のＩＮＨＷを主催したのはJ.J.van Rood 氏である。彼は１９２６年オランダの生まれでオランダ人である。第二次世界大戦中はナチスドイツ占領下のオランダで投獄されたこともあるようである。１９５２年ライデン大学の医学部を出て医師となり、その後は主として内科の血液学、免疫学を専攻している。１９５８年頃から白血球型の研究を始め、Dausset,Payne とは独立して同年にＨＬＡを発見している。また、ＨＬＡの抗体が輸血を受けた患者以外に妊婦、特に多産妊婦にみられることを見い出したのは、独立してvan RoodとPayneのようである。van Roodは１９６２年にはこの研究で学位を得ている。その後彼は本研究の成果を国際的に広めていき、１９６５年オランダで第２回のＩＮＨＷを主催した。１９６９年には内科学の教授となり、１９７６年には血液学部門の議長となっている。van Rood のその他の業績としては4a, 4b (HLA-Bw4, Bw6)発見と数多くの著書、論文によりＨＬＡを世界的の認めさせたことであろう。彼は自己の研究活動として、組織適合性抗原の遺伝、臓器及び骨髄移植、疾患の遺伝的要因、血液銀行業務などを挙げている。組織適合性、移植、血液学、免疫学などが関係する多くの国際、国内学会の役員を兼ねており、またオランダ腎協会賞を初め、多数の国内外の賞を受けている。ＨＬＡ研究者の中にはノーベル賞はDausset よりもvan Rood が貰うべきだったと考える人も多い。

第３回のＩＮＷＳを１９６７年に主催したのはイタリアのトリノで開催したRuggero Ceppillini である。彼の個人歴については資料に乏しく明らかではないが、ロスでの第４回のＩＮＷＳで右腕を骨折しながら、講演や討議で華々しく活動していたのが、目に浮かんでくる。彼はもともとは遺伝学者でＨＬＡが遺伝形質であることを初めて明らかにしたのはCeppellini であるといわれている。

次に１９７５年第６回のＩＮＷＨをデンマークAarhus で主催したFlemming Kissmeyer-Nielsen（ＫＮ）について述べる。ＫＮは１９２０年代にデンマークで生まれ、１９４７年にコペンハーゲン大学の医学部を卒業し、Aarhus（デンマーク）の病院で臨床医学と血清学の修練を受けた後に、一年間コペンハーゲンにある国立血清研究所で学んだ。その後、Aarhus の大学病院に近代的な血液銀行と血液型判定研究室を設立した。KNは４２年間Aarhusの大学と病院で働いた後、１９８９年に引退した。彼は白血球凝集法や血小板による補体消費法に基ずいたＨＬＡ型判定法を考案し、１９７５年にAarhus で第６回のＩＮＨＷを主催した。相沢等、十字等、辻等、内藤等の日本からの研究室の参加はこのときが初めてである。笹月氏もRose Payne研究室の一員として参加した。このときもいろいろな血清が提出され、いろいろな新しい抗原が認識されたが、特記すべきは日本の三つの研究室から提出された抗原がＨＬＡ－Ｂｗ５４として公認されたことであろう。ＨＬＡクラスⅡ抗原もなお公式には認められなかったが、参加者の大部分からはその存在が確認された。

第７回ＩＮＨＷは Walter.F.Bodmer と Julia.Bodmer によってイギリスのオックスフォードで１９７７年に開催された。W.Bodmer は１９３６年英国の生まれで、オックスフォード大学で数学を専攻し、もともとは数学者兼統計学者である。１９６２年に米国カルフォルニアのスタンフォード大学に移り、ここでRose Payne に紹介されて白血球型の

研究に彼の数学的才能を生かすことを勧められた。彼はその後Payne,Dausset, Terasaki 等の血清学的データを利用してＨＬＡが遺伝形質であり、又これがＬＡ座（現在のHLA-A）と４座（現在のHLA -B）に分けられることを見い出した。彼は又、Ａ座、Ｂ座の連鎖不平衡の存在、ＨＬＡクラスⅡ抗原系の確立にも重要な役割を果たしている。Julia は１９３４年の英国生まれで、もともと大学は文科系の出身である。最初はWalter の原稿のタイプ打ちなどをしていたが、次第に研究にも参加する様になりWalterとの共著論文、更にはトップネームでも論文を出すに至った。１９８９年著者がロンドンに滞在していたときは王立癌研究所の所長をしていた。

Fritz H.Bach はMLC（Mixed Lymphocyte Culture）によるＨＬＡタイピングを開発し、ＨＬＡクラスⅡの確立に最も重要な貢献をした。彼は１９３４年にオーストリアのウイーンで生まれハーバード大学医学部とワシントン大学医学部で教育を受け１９６０年には医師の資格を得ている。以後医師としての訓練を受けるかたわら１９６３－６４年には遺伝学の修練を受けている。１９６６－６９年にはウイスコンシン大学医学遺伝学教室の助手となり、１９６９－７３年には助教授に、１９７３－１９８０年には正教授に昇任している。１９８４年からはミネソタ大学免疫学教室の主任教授となって、米国臨床検査学会、米国免疫学会、米国移植学会、米国心臓学会の評議員に推挙されている。彼は現在、ハーバード医科大学の Lewis Thomas 教授、ボストンの Beth Israel-Deaconess 医学センターの免疫組織学研究室の責任者として活動している。彼の研究業績としては、ＭＬＣの機構の発見とＨＬＡクラスⅡ座位とその抗原を決定したことにあるとされている。

骨髄移植の面で多くの業績を残している F.Carl Grumet はいわゆるスタンフォードグループの一人であるが、１９３７年にニューヨーク市で生まれている。彼は１９６５年にペンシルバニア大学医学部を卒業して医師となり、インターン、レジデントや、Bethesda ＮＩＨの病院での臨床医の経験を経て、１９６９年にスタンフォード大学医学部免疫学教室でＵＳＰＨＳ（米国公衆衛生局）特別研究員として採用されている。１７７０年にはスタンフォード大学メディカルセンターの血液銀行血液成分研究室の主任となっている。１９７２年には同部の血液学教室の助手、同時に組織適合性検査室の共同主任となっている。１９７７年には同部の病理学教室の助教授、１９８７年には正教授となっている。１９９０年には更に組織適合性検査部の部長に任ぜられている。２０００年からは UNOS Region 5, Histocompatibility Representative となっている。研究領域は輸血学、臓器移植適合性検査学、免疫応答の遺伝学的規制、疾患感受性と幅広いが、最も有名な仕事は難治性血小板減少症の患者にＨＬＡのマッチした人の血小板を輸血して治癒に導いたことであろう。

その後のＩＮＷＳとＩＮＨＣを主催したのは１９８４年の第９回はミュンヘンとウイーンでEkkehard AkbertとWolfgang Mayr、１９８７年の第１０回はニューヨークでBo Dupont、１９９１年の第１１回は横浜で辻公美教授、相沢幹教授、笹月健彦教授、第１２回はフランスのSt.MaloとParisでDominique Charronである。これらの人々の経歴についてはなお若い人も多くまた日本のＨＬＡにタッチしている人達にはよく知られているので割愛する。なおBo DupontとErik Thorsbyについては履歴書を送ったという連絡は得たが、実際にはなお受け取っていないので省略している。

〔国際学会印象記〕第26回ASHI Annual Meeting

成瀬　妙子

東海大学医学部、分子生命科学系

第２６回のASHI annual meetingが2000年10月10日から14日の５日間、フロリダ州オーランドにて開かれた。フロリダの10月は暑すぎず、外を歩くと少し汗ばむぐらいのちょうどよい気候である。オーランドと聞けば、なんといってもウォルトディスニーワールドがまっ先に思い浮かぶが、会場はやはりディズニーリゾートの一角に位置するヒルトンホテルにて行われた(写真1)。ホテル内は内装からホテルマンのユニフォームに至るまでディスニーリゾート一色で、日本人新婚旅行者のカップルもあちらこちらにみられる。こんなところで学会が行われているとは誰も信じないだろうと思う程、ビジネスライクの服装にはお目にかかからない。時折、首から学会用ネームカードをぶら下げた参加者が行き来するのを見て、学会に来ていたことを再認識する。海外からの参加者は、Dr. Ekkehard Albert, Dr. Frank Christiansen, Dr. SGE Marsh, Dr. Malcolm Simons など、HLA研究者にとってはお馴染みの顔ぶれで、また、１０日には学会に先立って、2002年に開催が延期された第13回の国際組織適合性ワークショップに関するプレミーティングも行われていた。

学会プログラムは、plenary session、ワークショップ、シンポジウム、一般口演、ポスター展示より構成され、HLAタイピング法、HLA遺伝子とHLA遺伝子領域に存在する遺伝子の多型性、疾患感受性、骨髄移植、腎移植、免疫寛容、拒絶メカニズム、樹状突起細胞の臨床適意義、遺伝子治療など、HLAと関連する様々な演題が発表された。私の興味あるところでは、疾患感受性では、Johns Hopkins 大学より、C型肝炎患者でHLA-C*0401を有していると、 HCV(hepatitis C virus)の消失が起こりにくく、感染が持続すると言う報告があった(Pc<0.04)。従来の報告ではHLA-DQB1*0503-DRB1*0301で感染が持続されるとしているが、Cw*0401はこのハプロタイプと強い連鎖を示すようである。しかし、今回検出されたCw*0401の多くはB53との連鎖が認められ、しかもB53-Cw*0401-DRB1*0301ハプロタイプはAfrican Americanの代表的なハプロタイプだそうだ。逆に、HCVの顕著な消失群としては、American Caucasian ではDQB1*0501-DRB1*0101だそうだが、African Americanにはこのハプロタイプは稀であることから、ディスカッションでは統計学的処理でのコントロール群の用い方が焦点となった。ちなみに昨年報告されたフランス人でのデータでは、消失群ではDR11の増加が認められている。

HLA遺伝子多型に関する演題としては、データベースの構築、各種プログラムの開発といった発表がみられた。中でも目を引いたのは、御存知の方もあろうが、Hildebrand (University of Oklahoma Health Science Center)がプログラミングしたHLAリガンド/モチーフに関するデータベースである。アクセスはフリーで、誰でも自由に検索が行える。筆者も学会での紹介に従ってモチーフの検索を行ってみたが、なかなか便利である。検索は、HLA alleleの特異性からでも、リガンド／モチーフのアミノ酸配列からでも行える。以前より報告されているHLA対立遺伝子特異的なリガンド／モチーフのアミノ酸配列をまとめただけと言えばそれまでであるが、これまで個々の文献に戻ってアミノ酸配列を検索していたことを考えれば、非常に時間が短縮できると思われる。Web site へ入るには、以下のURLアドレスにアクセスする。

http://hlaligand.ouhsc.edu/

トップページには、以下のような画面が出るので、６種の検索法から１つを選択してクリックし、それぞれの検索画面にて、案内に従い検索を行う。

HLA Ligand/Motif DATABASE

Welcome to the HLA Ligand/Motif Online Database system. Select one of the following pre-defined searches:
*Ligand/Motif search by defining allele and specificity
*Ligand search with more criteria
*Ligand/Motif Search by amino acid pattern
*Finding matching ligand/motif in sequence of amino acids
*Ligand/Motif Search by Author's Lastname
*Submit ligand/motif information

Web上ではInternet Explorer 4.0 以上を推奨しているが、筆者の経験では、4.0では検索画面が正常に作動せず、少なくとも4.5以上、可能であればVer. 5での使用をお勧めする。

また、Dr. SGE Marshは、IMGT/HLAワーキンググループで現在取り組んでいる、HLA-A遺伝子イントロンの塩基配列情報の収集について報告した。これまでどちらかと言えば関心の薄かったイントロンの塩基配列情報について、まずA遺伝子よりシークエンシングを行い、イントロンの塩基配列多型をもとにハプロタイプの確立を行う予定だそうだ。2003年に軽井沢で開催される第７回アジアオセアニア組織適合性会議においても、B遺伝子を中心としたアジア人に特徴的なハプロタイプの解析が行われる予定で、イントロンを含めたHLA遺伝子領域の多型情報はさらに重要になりそうだ。

ただひとつ残念だったのは、今年は参加者が少なかったことだ。来年の国際ワークショップに向けて、さらにパワーアップを望みたいところである。

〔国際学会印象記〕
Comparative evolution of the mammalian MHC

椎名 隆

東海大学医学部，分子生命科学系

HLA領域におけるポストシークエンス解析の一つに比較ゲノム解析が挙げられる。これは、様々な生物種におけるMHC領域の塩基配列を比較解析することにより、HLA領域形成の分子機序やHLA抗原の進化の過程を明らかにすることである。私が今回出席したワークショップ「Comparative evolution of the mammalian MHC（ほ乳類MHCの比較進化）」はまさにこの考えに賛同する研究者が一同に会し、マッピングやシークエンシングの経過などの情報交換をおこなう場となった。類似したワークショップには、International Workshop on MHC Evolutionが過去に6回開催されているが、ほ乳類に焦点を絞ったものは今回が初めてである。日程は2000年9月8日から10日の3日間、イギリスのマンチェスター大学のchancellor's会議場にて開催された。大学内の建物はレンガ作りがほとんどで、レンガ色と芝生の緑色との鮮やかなコントラストが印象に残っている。この3日間とも厚い雲に覆われていたが、日本の酷暑に参っていた私にはとても過ごしやすい3日間であった。

さて、ワークショップの中身であるが、出席者は約100人であり、ウシ、ウマ、霊長類、イヌ、ネコ、ブタ、ウサギ、ラット、マウスなどの生物種を中心に43題の口頭発表と11題のポスター発表の合計54演題について以下の5セッションにて報告された。

1、 Genome mapping in man and animals
2、 MHC maps
3、 Polymorphism in MHC molecules
4、 MHC evolution
5、 Functional mechanisms involving the MHC

いずれの演題においてもMHC領域を調べる目的は遺伝性疾患地図の作成、MHC遺伝子の多型解析、MHC 領域の進化に集約される。以下に印象に残った生物種の要約を記したい。

サル

サルの遺伝的地図の作成が進められているバブーンは霊長類旧世界ザルに属し、2000万年前にヒトの祖先と分岐したと推定されている。Dr.Rogersらはヒトの694マイクロサテライトを含む1533マイクロサテライトの使用により、解像度<7cM 、>2000cMをカバーする遺伝的地図を作成した。バブーンのゲノムサイズは1944cMと推定されており、これはヒトゲノム(2489cM)と比較すると28%も短いことを意味する。第4染色体に存在するMHC領域に関する報告はなかったが、この染色体もヒトと比べて56cM短いようである。

Dr.Bontrop は様々なサル（チンパンジー、レーサスザル、タマリン、マーモセット）を用いたクラスII 遺伝子領域の構造解析および多型解析について報告した。これらをまとめると、いずれのサルにおいてもDR, DQ, DP領域は保存されているが、対立遺伝子数はヒトが最も多く、続いて、チンパンジー、レーサスザル、タマリン、マーモセットの順であった。また、DQ領域については、原猿に見られるDQA2-DQB2の祖先領域から重複によりDQA1-DQB1-DQA2-DQB2が形成され、その後DQA2-DQB2領域にAlu配列の挿入によりDQA2とDQB2は偽遺伝子化したと説明した。よって、原猿やマーモセットなどの新世界サルはDQA2とDQB2が発現している。

Dr.ParhamはチンパンジーにHLA-Aのレパートリーに入り、かつB 細胞に発現が認められる新しいクラスⅠ遺伝子(Patr-AL)の存在について報告した。この遺伝子はヒトのHLA-92~ZNF173遺伝子間に相当する領域に存在することが示唆された。

マウス

現在マウスのゲノムシークエンシングは5系統(129, DBA/2, A/J, C57BL/6, B10.P)について決定されつつある。Lindahlらはクラス Ⅰ 領域のQ領域, T1-M2領域の1Mbを超える塩基配列を決定し、HLA領域との比較解析をおこなっている。具体的には、OTF3~SPR1遺伝子間、TFIIH~DDR遺伝子間およびZNF173~HTEX4遺伝子間の構造についてはHLA領域と比較するとよく保存されているが、SPR1~TFIIH遺伝子間については相同性が認められない。また、顕著な重複の痕跡が認められるHLA-J~HLA-F遺伝子間についてはマウスでは重複が起きていないことから、重複の過程を明らかにする上での重要な知見であると考えられた。

ネコ

ネコ科に属する一般的なネコは6900万年前にヒトの祖先と分岐したと推定されている。Dr.O'brienらは229マイクロサテライトの使用により、3300cMをカバーする遺伝的地図が作成した。ネコのMHC領域はB2染色体に存在し、HLAとは逆にセントロメア側にクラスI領域が、また、テロメア側にクラスII領域が存在する。Dr.YuhkiらはクラスII領域633kbおよびクラスI領域362kbの塩基配列を決定し、MHC遺伝子を含む39個の遺伝子をこれまでに見い出している。また、HLAと比較して、クラスII-DQ遺伝子を含むDQ領域が欠落していること、DNA-RING3-DM領域はよく保存されているが、クラスII-DP領域は断片的にしか保存されていないこと、12個のクラスI遺伝子が存在することなど顕著な構造的差異が目立つ。私が衝撃を受けた演題の一つである。

この他の生物種においてもシークエンシングを睨んだMHC領域の物理的地図の作成が盛んにおこなわれており、HLA領域が決定された2年前に比べるとはるかにこの分野の研究者人口が増大しているように思える。また、確実に下位の生物種におけるMHC領域の構造解析あるいはHLA領域との比較ゲノム解析に移行していることを実感した。この機会を与えて頂いた猪子英俊教授に感謝したい。

〔最新情報：“玉手箱”〕最新アリル情報

小林　賢、

防衛医科大学校，検査部

はじめに

最新アリル情報では、今までＨＬＡアリルのシーケンスを掲載してきました。ＨＬＡアリルは前号で記述したように年々増加の一途をたどっています。最新アリル情報がＭＨＣ誌に掲載できるのは年に２回ですので、自ずから限界があります。もっとも最新のシーケンスを調べたい場合は、学会のホームページからリンクで見るのがもっとも簡単な方法です。しかしながら、シーケンスのホームページは英語で書かれており、ちょっと苦手な人には面倒かもしれません。そこで今回はＨＬＡ-Ｂアリルの最新のシーケンスを掲載すると同時に、英語のホームページを日本語化して読む方法を記述したいと思います。

英語ホームページの日本語化

外国のＨＬＡ関係のホームページを読もうとした場合、英語がネックになることもあると思いますが、インターネットにはホームページごと翻訳してくれる非常に便利なサイトがあります。実際に訳してみると、本来の単語の意味とはかけ離れた訳になることがありますが、それなりに意味は通じると思います。これらのサイトを利用して、ＡＳＨＩ（アメリカ組織適合性学会）や第13回国際組織適合性ワークショップのホームページを覗いてみては如何でしょうか。きっとみなさまのお役に立つことと思います。これらのサイトを利用すれば、普段は読むことができない英語以外の韓国語やロシア語なども日本語化することができます。また、テキスト翻訳も用意されており、文献なども日本語化して読むことができます。どのサイトも一長一短ですが、その中でも割合まともなのが「Amikai翻訳」のホームページだと思います。日本語の英語化も行えますので、ちょっとした手紙を書きたい場合などには便利かもしれません。機械翻訳や辞書のリンク集があります。特にhttp://www,kotoba.ne.jp/はありとあらゆる分野の辞書類のホームページが提供されていますし、機械翻訳に関してもすべて掲載されています。自分に合うサイトを探して、試してみてください。

代表者連絡先　〒359-8513　埼玉県所沢市並木3-2
防衛医科大学校検査部
小林　賢

電　　話　042-995-1511　内線3721
ファックス　042-996-5217
E-mail　kobayasi@me.ndmc.ac.jp

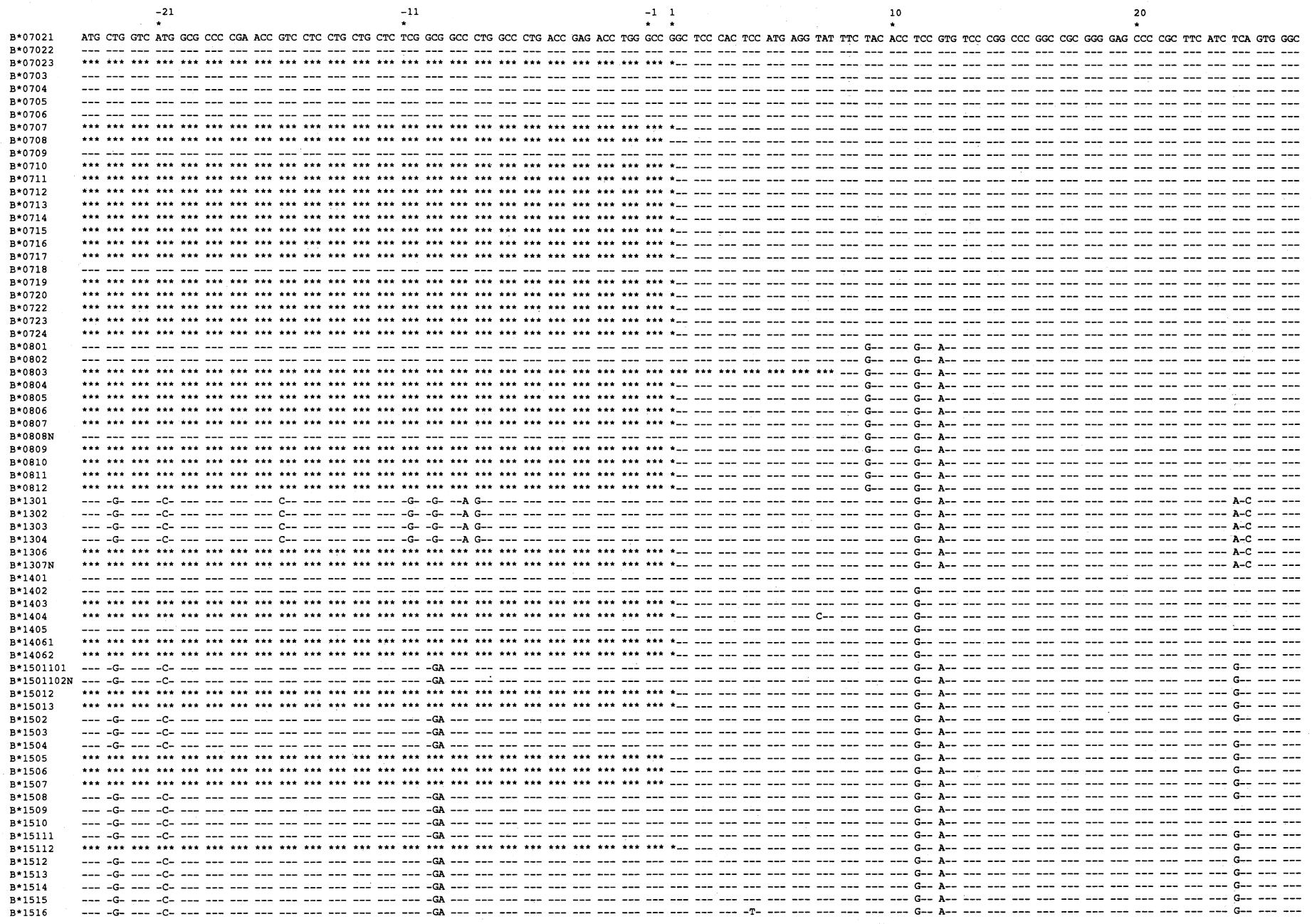
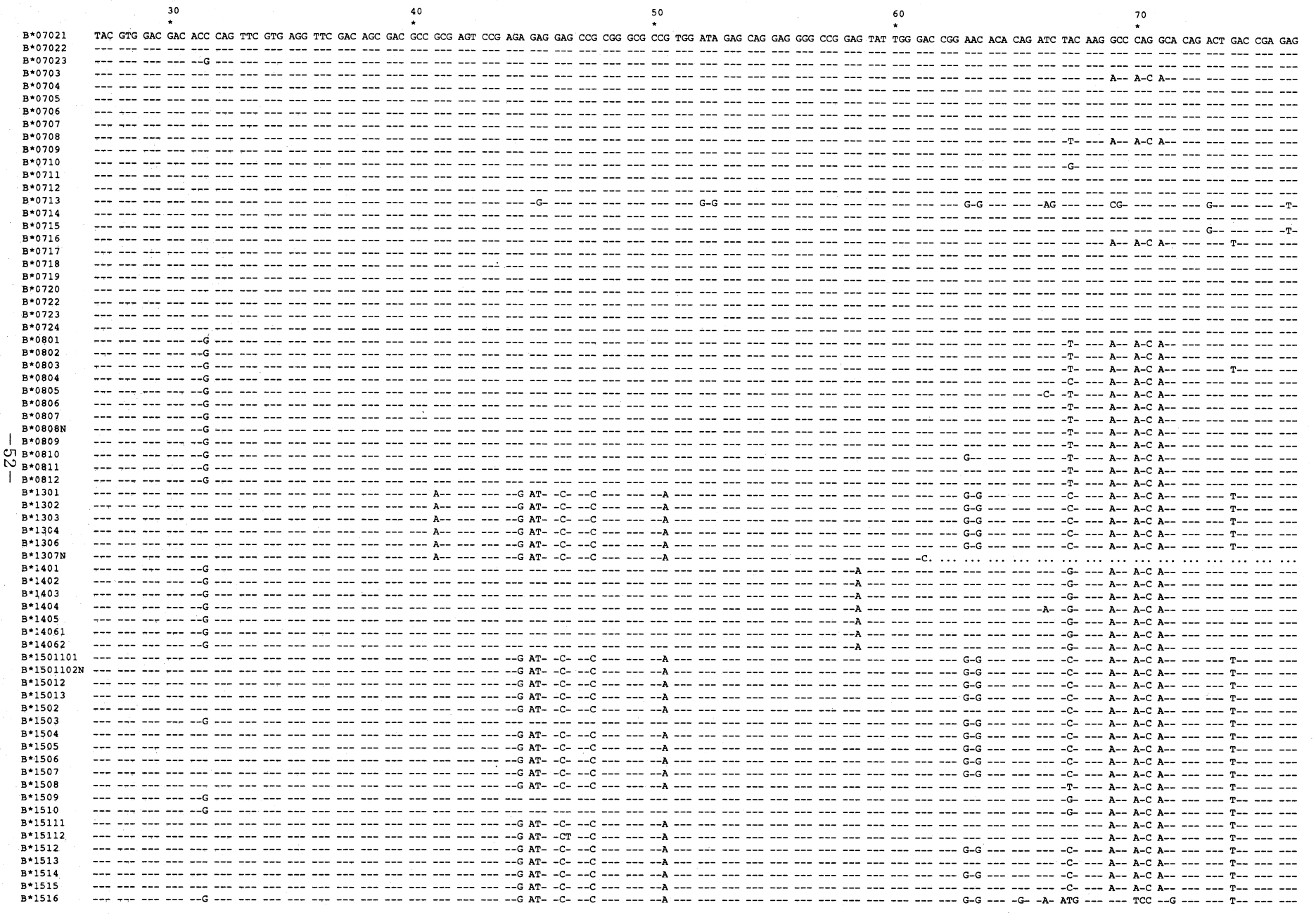
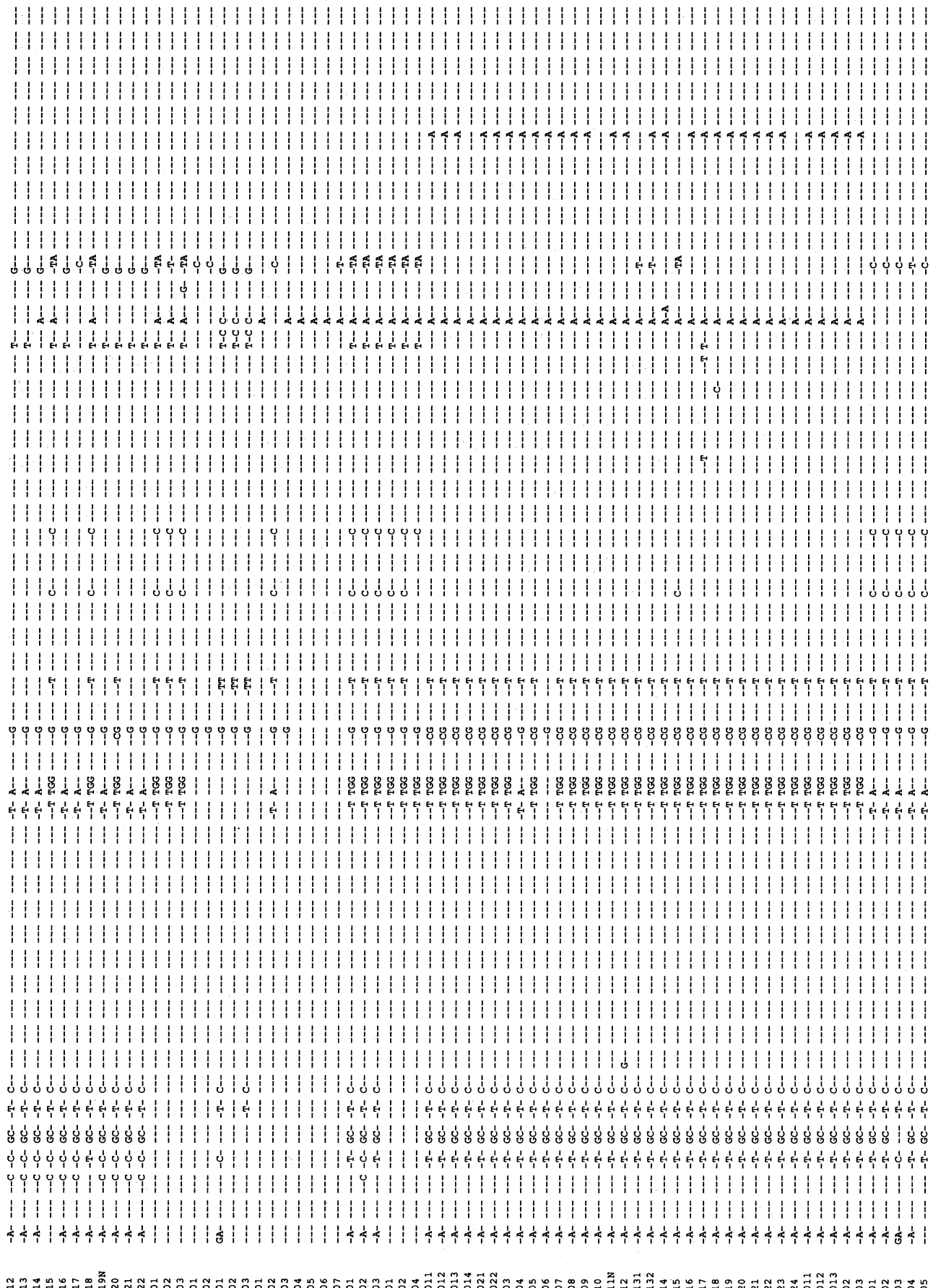


図1　HLA-Bアリル・シーケンス

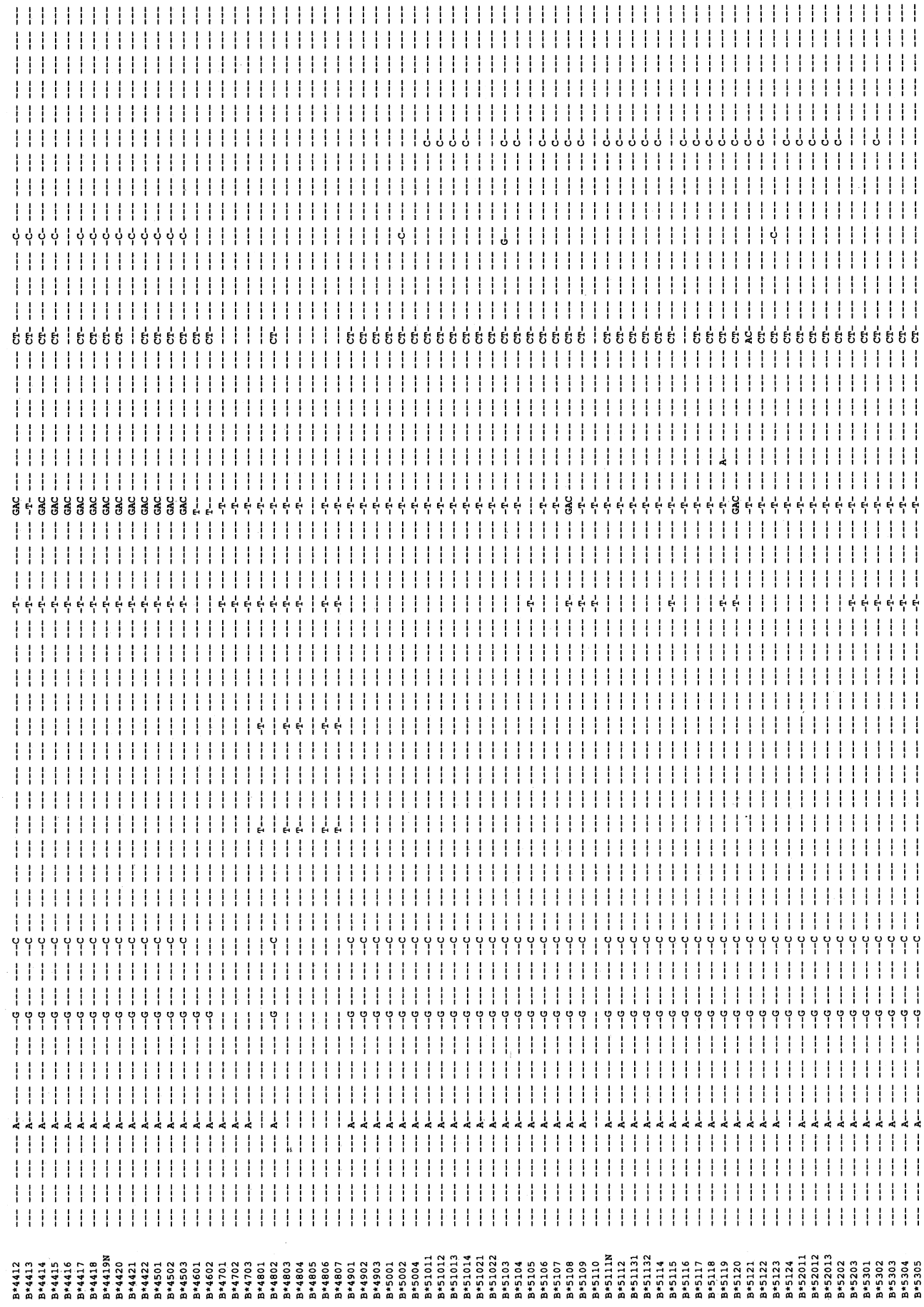

30
40
50
60
70
B*07021 TAC GTG GAC GAC ACC CAG TTC GTG AGG TTC GAC AGC GAC GCC GCG AGT CCG AGA GAG GAG CCG CGG GCG CCG TGG ATA GAG CAG GAG GGG CCG GAG TAT TGG GAC CGG AAC ACA CAG ATC TAC AAG GCC CAG GCA CAG ACT GAC CGA GAG
B*07022
B*07023
B*0703
B*0704
B*0705
B*0706
B*0707
B*0708
B*0709
B*0710
B*0711
B*0712
B*0713
B*0714
B*0715
B*0716
B*0717
B*0718
B*0719
B*0720
B*0722
B*0723
B*0724
B*0801
B*0802
B*0803
B*0804
B*0805
B*0806
B*0807
B*0808N
B*0809
B*0810
B*0811
B*0812
B*1301
B*1302
B*1303
B*1304
B*1306
B*1307N
B*1401
B*1402
B*1403
B*1404
B*1405
B*14061
B*14062
B*1501101
B*1501102N
B*15012
B*15013
B*1502
B*1503
B*1504
B*1505
B*1506
B*1507
B*1508
B*1509
B*1510
B*15111
B*15112
B*1512
B*1513
B*1514
B*1515
B*1516

80
90
100
110
120
AGC CTG CGG AAC CTG CGC GGC TAC TAC AAC CAG AGC GAG GCC GGG TCT CAC ACC CTC CAG AGC ATG TAC GGC TGC GAC GTG GGG CCG GAC GGG CGC CTC CTC CGC GGG CAT GAC CAG TAC GCC TAC GAC GGC AAG GAT TAC ATC GCC CTG
B*07021 ---
B*07022 ---
B*07023 ---
B*0703 ---
B*0704 ---
B*0705 ---
B*0706 ---
B*0707 ---
B*0708 ---
B*0709 ---
B*0710 ---
B*0711 -A- ---
B*0712 ---
B*0713 ---
B*0714 ---
B*0715 ---
B*0716 ---
B*0717 ---
B*0718 ---
B*0719 ---
B*0720 ---
B*0722 ---
B*0723 --- --- --- --- --- C-- ---
B*0724 ---
B*0801 ---
B*0802 -A- --- --C -C- GC- -T- C-- ---
B*0803 -A- --- --- -T- GC- -T- C-- ---
B*0804 ---
B*0805 ---
B*0806 -A- ---
B*0807 ---
B*0808N ---
B*0809 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --T TGG --- --CG --- --T --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0810 ---
B*0811 ---
B*0812 ---
B*1301 -A- --- --C -C- GC- -T- C-- --- --- --- --- --- --- --- --T- A-- --- --G --- --T --- --- C-- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1302 -A- --- --C -C- GC- -T- C-- --- --- --- --- --- --- --- --T TGG --- --CG --- --T --- --- C-- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1303 -A- --- --C -C- GC- -T- C-- --- --- --- --- --- --- --- --T TGG --- --CG --- --T --- --- C-- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1304 -A- --- --C -C- GC- -T- C-- --- --- --- --- --- --- --- --T TGG --- --CG --- --T --- --- C-- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1306 -A- --- --C -C- GC- -T- C-- --- --- --- --- --- --- --- --T A-- --- --G --- --T --- --- C-- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1307N ... ... -T- C-- --- --- --- --- --- --- --- --T A-- --- --G --- --T --- --- C-- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1401 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-G --- --T --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1402 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-G --- --T --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1403 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-G --- --T --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1404 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-G --- --T --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1405 ---
B*14061 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*14062 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --T --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1501101 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1501102N --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*15012 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --A --- ---
B*15013 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1502 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --T A-- --- --G --- --T --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1503 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1504 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --T TGG --- --CG --- --T --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1505 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1506 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --TT --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1507 ---
B*1508 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1509 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --A --- ---
B*1510 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*15111 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*15112 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1512 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1513 -A- --- --- -T- GC- -T- C-- --- --- --- --- --- --- --- --T A-- --- --G --- --T --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1514 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1515 --- --- --- -T- GC- -T- C-- --- --- --- --- --- --- --- --T TGG --- --G --- --T --- --- C-- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1516 -A- --- --- -T- GC- -T- C-- --- --- --- --- --- --- --- --T TGG --- --G --- --T --- --- C-- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---

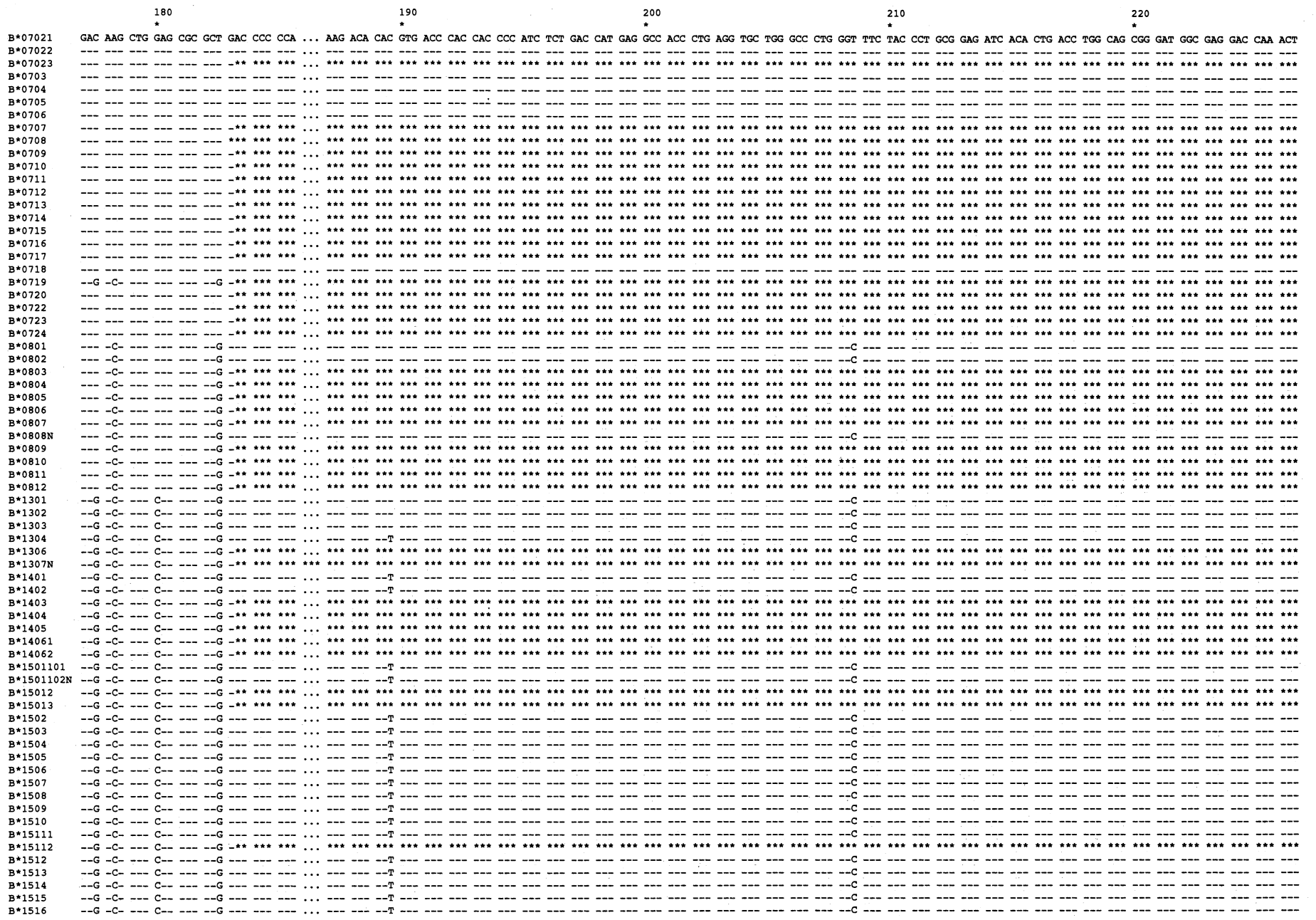


```
                        130                                     140                                     150                                     160                                     170
                         *                                       *                                       *                                       *                                       *
B*07021     AAC GAG GAC CTG CGC TCC TGG ACC GCC GCG GAC ACG GCG GCT CAG ATC ACC CAG CGC AAG TGG GAG GCG GCC CGT GAG GCG GAG CAG CGG AGA GCC TAC CTG GAG GGC GAG TGC GTG GAG TGG CTC CGC AGA TAC CTG GAG AAC GGG AAG
B*07022     --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*07023     --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --- --- --- ---
B*0703      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0704      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0705      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0706      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0707      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0708      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0709      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0710      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0711      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0712      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0713      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0714      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0715      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0716      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0717      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0718      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0719      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0720      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- -C- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0722      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- A-- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0723      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0724      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0801      --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0802      --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0803      --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0804      --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0805      --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0806      --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0807      --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0808N     --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0809      --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0810      --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0811      --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*0812      --- --- --- --- --- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- GAC --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1301      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1302      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1303      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1304      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1306      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1307N     --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1401      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- C-- --- --- --- --- ---
B*1402      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- C-- --- --- --- --- ---
B*1403      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- C-- --- --- --- --- ---
B*1404      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- C-- --- --- --- --- ---
B*1405      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- C-- --- --- --- --- ---
B*14061     --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- C-- --- --- --- --- ---
B*14062     --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --C --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- AC- --- --- --- --- --- --- --- C-- --- --- --- --- ---
B*1501101   --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1501102N  --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*15012     --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*15013     --T --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1502      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1503      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1504      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1505      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1506      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1507      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1508      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1509      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1510      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*15111     --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*15112     --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1512      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --C G-- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1513      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1514      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- -C- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1515      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- T-- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*1516      --- --- --- --- A-- --- --- --- --G --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- -T- --- --- --- --- --- --- CT- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
```

B*2711
B*2712
B*2713
B*2714
B*2715
B*2716
B*2717
B*2718
B*2719
B*2720
B*2721
B*2722
B*35011
B*35012
B*3502
B*3503
B*3504
B*3505
B*3506
B*3507
B*3508
B*35091
B*35092
B*3510
B*3511
B*3512
B*3513
B*3514
B*3515
B*3516
B*3517
B*3518
B*3519
B*3520
B*3521
B*3522
B*3523
B*3524
B*3525
B*3526
B*3527
B*3528
B*3529
B*3530
B*3531
B*3532
B*3533
B*3534
B*3535
B*3536
B*3537
B*3701
B*3702
B*3703N
B*3801
B*38021
B*38022
B*3803
B*3804
B*3805
B*3806
B*39011
B*39013
B*39014
B*39021
B*39022
B*3903
B*3904
B*3905
B*39061
B*39062

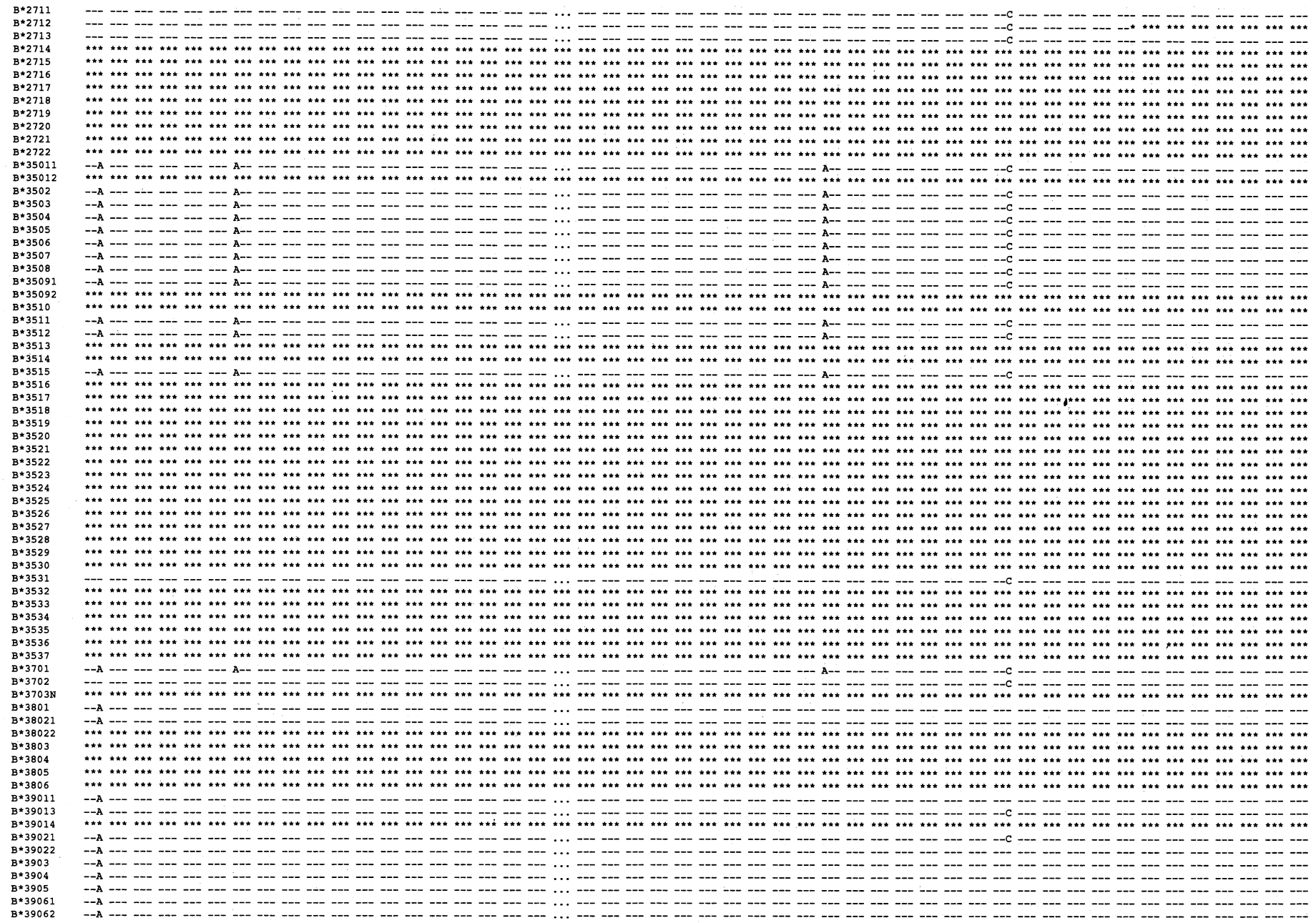


B*5306
B*5307
B*5401
B*5402
B*5501
B*5502
B*5503
B*5504
B*5505
B*5507
B*5508
B*5509
B*5510
B*5601
B*5602
B*5603
B*5604
B*5605
B*5606
B*5607
B*5701
B*5702
B*57031
B*57032
B*5704
B*5705
B*5706
B*5707
B*5801
B*5802
B*5804
B*5805
B*5806
B*5901
B*67011
B*67012
B*7301
B*7801
B*78021
B*78022
B*7803
B*7804
B*8101
B*8201
B*8202
B*8301

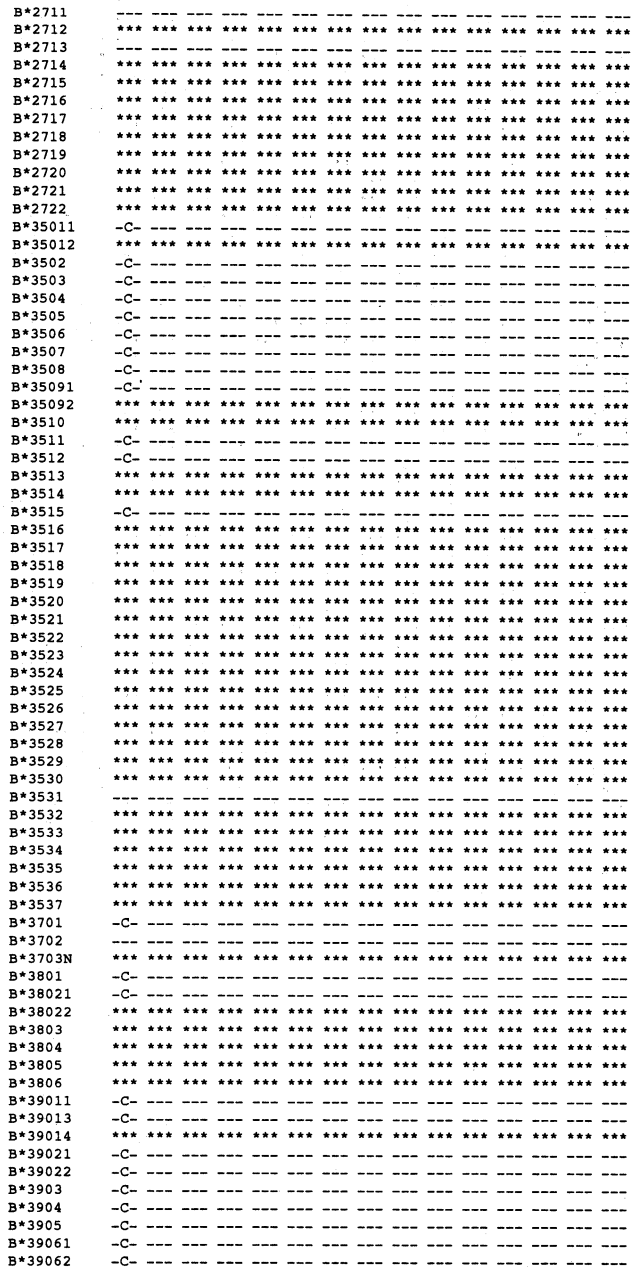


B*2711
B*2712
B*2713
B*2714
B*2715
B*2716
B*2717
B*2718
B*2719
B*2720
B*2721
B*2722
B*35011
B*35012
B*3502
B*3503
B*3504
B*3505
B*3506
B*3507
B*3508
B*35091
B*35092
B*3510
B*3511
B*3512
B*3513
B*3514
B*3515
B*3516
B*3517
B*3518
B*3519
B*3520
B*3521
B*3522
B*3523
B*3524
B*3525
B*3526
B*3527
B*3528
B*3529
B*3530
B*3531
B*3532
B*3533
B*3534
B*3535
B*3536
B*3537
B*3701
B*3702
B*3703N
B*3801
B*38021
B*38022
B*3803
B*3804
B*3805
B*3806
B*39011
B*39013
B*39014
B*39021
B*39022
B*3903
B*3904
B*3905
B*39061
B*39062

B*4412
B*4413
B*4414
B*4415
B*4416
B*4417
B*4418
B*4419N
B*4420
B*4421
B*4422
B*4501
B*4502
B*4503
B*4601
B*4602
B*4701
B*4702
B*4703
B*4801
B*4802
B*4803
B*4804
B*4805
B*4806
B*4807
B*4901
B*4902
B*4903
B*5001
B*5002
B*5004
B*51011
B*51012
B*51013
B*51014
B*51021
B*51022
B*5103
B*5104
B*5105
B*5106
B*5107
B*5108
B*5109
B*5110
B*5111N
B*5112
B*51131
B*51132
B*5114
B*5115
B*5116
B*5117
B*5118
B*5119
B*5120
B*5121
B*5122
B*5123
B*5124
B*52011
B*52012
B*52013
B*5202
B*5203
B*5301
B*5302
B*5303
B*5304
B*5305



	330 *												340 *	
B*07021	TGC	AGC	GAC	AGT	GCC	CAG	GGC	TCT	GAT	GTG	TCT	CTC	ACA	GCT	TGA
B*07022	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*07023	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0703	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*0704	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*0705	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*0706	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*0707	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0708	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0709	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0710	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0711	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0712	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0713	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0714	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0715	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0716	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0717	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0718	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*0719	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0720	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0722	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0723	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0724	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0801	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*0802	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*0803	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0804	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0805	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0806	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0807	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0808N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*0809	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0810	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0811	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*0812	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1301	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1302	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1303	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1304	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1306	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1307N	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1401	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1402	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1403	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1404	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1405	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*14061	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*14062	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1501101	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1501102N	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*15012	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*15013	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1502	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1503	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1504	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1505	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1506	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1507	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1508	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1509	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1510	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*15111	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*15112	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1512	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1513	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1514	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1515	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1516	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1517	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1518	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1519	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1520	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1521	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1522	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1523	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1524	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1525	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1526N	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1527	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1528	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1529	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1530	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1531	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1532	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1533	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1534	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1535	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1536	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1537	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1538	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1539	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1540	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1542	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1543	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1544	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1545	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1546	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1547	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1548	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1549	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1550	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1551	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1552	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1553	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1554	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1555	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1556	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1557	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1558	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1559	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1560	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1561	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1562	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1563	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1564	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1801	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1802	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1803	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1804	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1805	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1806	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*1807	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1808	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1809	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1810	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1811	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*1812	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*2701	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*2702	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*2703	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*2704	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*27052	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*27053	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*27054	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*2706	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*2707	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*2708	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*2709	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*2710	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***


B*2711 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*2712 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*2713 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*2714 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*2715 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*2716 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*2717 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*2718 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*2719 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*2720 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*2721 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*2722 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*35011 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*35012 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3502 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3503 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3504 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3505 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3506 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3507 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3508 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*35091 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*35092 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3510 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3511 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3512 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3513 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3514 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3515 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3516 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3517 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3518 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3519 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3520 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3521 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3522 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3523 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3524 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3525 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3526 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3527 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3528 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3529 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3530 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3531 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3532 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3533 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3534 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3535 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3536 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3537 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3701 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3702 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3703N *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3801 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*38021 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*38022 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3803 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3804 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3805 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3806 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*39011 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*39013 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*39014 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*39021 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*39022 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3903 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3904 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3905 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*39061 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*39062 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3907 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3908 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3909 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3910 -C- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*3911 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3912 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3913 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3914 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3915 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3916 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3917 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3918 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3919 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3920 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3921 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3922 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3923 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*3924 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*40011 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*40012 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4002 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4003 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4004 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4005 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4006 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4007 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4008 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4009 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4010 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4011 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4012 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4013 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4014 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4015 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4016 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4018 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4019 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4020 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4021 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4022N *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4023 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4024 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4025 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4026 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4027 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4028 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4029 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4030 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4031 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4032 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4033 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4034 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4101 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4102 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4103 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4104 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4105 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4201 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4202 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*44021 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*44022 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*44031 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*44032 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4404 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4405 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4406 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4407 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4408 --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---
B*4409 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4410 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***
B*4411 *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** *** ***

B*4412	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4413	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*4414	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4415	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4416	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4417	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4418	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4419N	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*4420	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4421	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4422	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4501	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*4502	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4503	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4601	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*4602	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4701	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*4702	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4703	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4801	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*4802	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*4803	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4804	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4805	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4806	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4807	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4901	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*4902	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*4903	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5001	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5002	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5004	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*51011	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*51012	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*51013	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*51014	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*51021	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*51022	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5103	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5104	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5105	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5106	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5107	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5108	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5109	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5110	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5111N	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5112	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*51131	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*51132	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5114	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5115	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5116	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5117	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5118	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5119	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5120	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5121	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5122	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5123	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5124	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*52011	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*52012	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*52013	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5202	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5203	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5301	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5302	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5303	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5304	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5305	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5306	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5307	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5401	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5402	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5501	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5502	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5503	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5504	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5505	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5507	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5508	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5509	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5510	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5601	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5602	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5603	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5604	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5605	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5606	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5607	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5701	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5702	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*57031	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*57032	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5704	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5705	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5706	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5707	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5801	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5802	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*5804	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5805	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5806	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*5901	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*67011	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*67012	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*7301	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*7801	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*78021	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*78022	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*7803	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*7804	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*8101	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*8201	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B*8202	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B*8301	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***

Q & A

小林 賢

防衛医科大学校，検査部

Q 私はある赤十字血液センターでＨＬＡ関連の仕事をしています。まだＨＬＡの分野にきて間がなく、わからないことばかりなのですが、”ＨＬＡとは“のページを拝見させていただき、わかりやすくたいへん勉強になりました。

ところで質問があるのですが、ＨＬＡのクラスＩは８個のエクソンからなる、とありましたが、この８個のエクソンとα１、α２、α３、ドメインの構造上の位置関係がわからないので、教えていただけると助かります。よろしくお願い致します。

A ＨＬＡクラスＩ抗原遺伝子は、1101個の塩基が８つのエクソンにまたがって存在しています。エクソン１は塩基番号１から72、エクソン２は73～343、エクソン３は344～619、エクソン４は620～895、エクソン５は896～1015、エクソン６は1016～1048、エクソン７は1049～1096、エクソン８は1097～1101です。実際のＨＬＡクラス抗原分子は、73～1098番目の塩基が使用され、342アミノ酸残基からなっています。1099～1101の３塩基はナンセンスコドンですからアミノ酸としては使用されていません。また、最初の24個のアミノ酸（72塩基）は途中で除かれ、抗原分子として使用されていません。ＨＬＡクラスＩ抗原分子のα１、α２、α３、ドメインは、エクソン２、３、４にそれぞれ相当します。アミノ酸残基でいいますと、１～90がα１ドメイン、91～182がα２ドメイン、183～274がα３ドメイン、275～314が細胞膜貫通ドメイン、315～342が細胞内ドメインになります。

代表者連絡先 〒359-8513 埼玉県所沢市並木3-2
防衛医科大学校検査部
小林 賢
電 話 042-995-1511 内線3721
ファックス 042-996-5217
E-mail kobayasi@me.ndmc.ac.jp

日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度に関するアンケート結果報告

日本組織適合性学会認定制度準備委員会

本誌前号（MHC 第７巻第２号）に掲載しました組織適合性技術者認定制度に関するアンケートにご協力いただき、ありがとうございました。アンケートの結果とそれを受けて議論された理事会ならびに認定制度準備委員会の見解についてご報告申し上げます。

アンケートの回収率はMHC発送数425部に対し63通、15%と低い結果となりました。このような低い回収率のアンケートの場合、回答者が特定の年齢層や特定の職域層に偏っていないかと危惧いたしましたが、アンケート回答者の年齢、学会会員歴、HLA検査歴、所属施設、職域の分布は全会員の分布と概ね合致しており、このアンケートは回収率は低いながら会員全階層のご意見を反映しているものと判定しました。

アンケート結果には認定制度そのものについて反対のご意見が２通と、わからないとのご意見が２通ありました。これらのご意見を拝見しますと、１）制度制定発案の経緯が性急であるとのご指摘、２）QCワークショップや標準化委員会との関連がはっきりしないとのご指摘、３）認定は個人の認定ではなく施設の認定であるべきではないかとのご指摘、４）認定の結果が実務にどのように反映されるのか不明といったご指摘でありました。この点につきましては理事会、認定制度準備委員会において慎重な審議をいたしました。

１）制度発案の経緯が性急であるとのご指摘につきましては、認定制度は本学会が発足した当初からの懸案であり、理事会、評議員会において度々議論され、その結果は大会における総会報告の中にも含まれており、性急であるとするご指摘は遺憾です。また認定制度は今回のアンケート結果を参考に、近い内に草案を発表し、次回の評議員会、総会の議を経て決定しようとするものであり、その過程で会員諸子のご意見をできるだけ反映させるべく努力する所存です。２）QCワークショップや標準化委員会との関係がはっきりしないとのご指摘は、認定制度運用にあたり、検査技術面は標準化委員会に、知識面は教育委員会にその判定の中心を担っていただくことにより解決できるものと考えます。３）施設の認定は認定制度準備委員会でも導入を希望し、その実現を検討いたしましたが、欧米のような施設の査察を含む認定は現状では実行不可能なこと、書面やQCワークショップ結果のみによる認定では施設の組織替えや配置換えに伴う変化をどのように把握してゆくかなど問題点が多く、施設の認定はこれからの課題として、とりあえず個人の技術と知識の認定から開始しようではないかと考えました。４）認定結果が実務にどのように反映されるかは現時点では不明と言う他はありませんが、認定制度が発足したことを内外に広報することにより徐々に実務に反映されるようになるものであろうことを期待しています。

アンケートの原案にあります二種類の認定制度に関するご意見として、一種類の認定制度が良いとのご意見が10通、16%ありました。その理由は、１）指導者の定義があいまいである、２）制度は単純なほうが良い、３）技術と知識は不可分であり二種類とする理由がない、４）認定制度はタイピングの技術のみに必要で指導者の認定は不要などでした。

理事会、認定制度準備委員会で検討しております技術認定制度は、これまでのQCワークショップの結果をふまえ、現状の技術は概ね満足すべきレベルにあるとの認識に基づいており、このレベルをいかに維持し且つ向上させるかとの観点に立っています。したがって技術認定を受けた方々の次の目標として、指導者レベルの認定を努力目標として掲げておくのは意味のあることであろうと考えます。ご承

知のとおりHLA検査は、その検査結果の正確さのみならず、その結果をどのように応用してゆくのかも重要な課題であり、指導者にはこの面での貢献を期待しているところです。

その他、認定の技術レベルや知識レベル、更には更新制度などにつきましても様々なご意見をいただきましたが、これら実務面につきましても皆様のご意見を充分に参考にして認定制度を考えて行きたいと思います。

なお、アンケート結果の検討をふまえて、本誌次号（MHC第８巻第１号）におきまして認定制度草案を公表し、次回学会大会（平成13年11月、福岡）における評議員会と総会の議を経て認定制度を立ち上げたいと考えています。今回のアンケートにかかわらず皆様の認定制度に関するご意見を広く募集いたしておりますので、ご遠慮なくご意見をお寄せくださいますようお願い申しあげます。

認定制度に関するアンケート集計結果

対象者数：425
有効回答数：63
有効回収率：15%

右側に示されている数値は、回答率で、かっこ内は回答数を示している。

年齢

20代	5% (3)
30代	32% (20)
40代	42% (26)
50代	16% (10)
60代以上	5% (3)

日本組織適合性学会会員歴

1.1年未満	6% (3)
2.1～3年	17% (9)
3.4～6年	19% (10)
4.7～9年	11% (6)
5.10年以上	47% (25)

HLA検査歴

1.1年未満	3% (2)
2.1～3年	12% (7)
3.4～6年	22% (13)
4.7～9年	12% (7)
5.10年以上	52% (31)

所属施設

1.病院（検査部・輸血部・HLA検査室）	27% (17)
2.検査センター	10% (6)

3.血液センター 37% (23)
4.大学等の研究室 19% (12)
5.研究所等の研究室 5% (3)
6.その他 3% (2)

職域

1.検査技師 46% (29)
2.医師 2% (1)
3.薬剤師 17% (11)
4.技術員/技官 3% (2)
5.研究者 12% (7)
6.教員/教官 17% (11)
7.その他 3% (2)

◆認定制度の基準について

質問1 HLAに関する認定制度について

1.賛成する 94% (59)
2.反対する 3% (2)
3.わからない 3% (2)
4.その他 0% (0)

質問2 二種類の認定制度について

1.二種類の認定制度でよい 75% (46)
2.一種類の認定制度がよい 16% (10)
3.わからない 3% (2)
4.その他 5% (3)

質問3 認定制度を二種類とした場合のその名称、認定レベルや試験方式について

(1)「HLA検査技術者」と「組織適合性指導者」という名称について

1.これでよい 77% (37)
2.「HLA検査技術者」のみを変更した方がよい 0% (0)
3.「組織適合性指導者」のみを変更した方がよい 13% (6)
具体案：1) 組織適合検査指導者 (1)
2) 認定組織適合性検査指導者 (2)
3) MHC専門士 (1)
4) 具体案の記載なし (2)
4.両方変更した方がよい 4% (2)
「HLA検査技術者」
具体案：1) HLA検査士 (1)
2) ティッシュタイパー (1)
「組織適合性指導者」
具体案：1) HLA指導士 (1)
2) HLA-AD (1)

5.わからない 6% (3)

(2)仮称「HLA検査技術者」に関する認定の技術レベル

1.2桁でのDNAタイピングができること 6% (3)
2.2桁でのDNAタイピングと血清学的タイピングの両方ができること 43% (21)
3.4桁以上でのDNAタイピングができること 14% (7)
4.4桁以上でのDNAタイピングと血清学的タイピングの両方ができること 27% (13)
5.技術レベルは認定時において考慮しない 4% (2)
6.わからない 0% (0)
7.その他 6% (3)
1)2桁でのDNAタイピングまたは血清学的タイピングができること (1)
2)「技術レベル」に関しては段階的に（施設間も考慮して)、「施設」の認定条件として、QCワークショップを位置づける (1)
3)DNAタイピングができることまたは血清学的タイピングができること (1)

(3) (2)以外の関連検査の有無

1.はい 24% (11)
具体案：1)抗体検査・クロスマッチ (6)
2)マイクロサテライト(2)
3)血清の評価 (1)
4)血液型 (1)
5)フローサイトメトリー (1)
6)判断材料となる関連検査 (1)
2.いいえ 46% (21)
3.わからない 30% (14)

(4)仮称「HLA検査技術者」に関する認定の知識レベル

1.HLA検査が正確にできる程度の基礎的知識だけでよい 20% (10)
2.MHCに関する基礎的知識だけでよい 0% (0)
3.1と2の両方が必要である 61% (30)
4.3以外に免疫学や人類遺伝学などの関連分野に関する基礎的知識も必要である 18% (9)
5.わからない 0% (0)
6.その他 0% (0)

(5)仮称「HLA検査技術者」の認定時のQCワークショップ参加の義務化

1.はい 88% (43)
2.いいえ 10% (5)
3.わからない 2% (1)

(6)仮称「HLA検査技術者」の試験方式

1.筆記試験のみ 2% (1)
2.実技試験と筆記試験 6% (3)
3.講習会参加と筆記試験 29% (14)
4.講習会参加、実技試験と筆記試験 12% (6)

5.講習会・実技研修会参加と筆記試験 31% (15)
6.講習会・実技研修会参加、実技試験と筆記試験 14% (7)
7.わからない 2% (1)
8.その他 4% (2)
具体案：QCワークショップの実績中心 (1)

(7)仮称「組織適合性指導者」に関する認定の知識レベル

1.HLA検査が正確にできる広範な知識だけでよい 2% (1)
2.MHCを含む組織適合性に関する広範な知識だけでよい 2% (1)
3.1と2の両方が必要である 15% (7)
4.3以外に免疫学や人類遺伝学などの関連分野に関する広範な知識も必要である 79% (38)
5.わからない 2% (1)
6.その他 0% (0)

(8)仮称「組織適合性指導者」の認定時のQCワークショップ参加の義務化

1.はい 65% (32)
2.いいえ 24% (12)
3.わからない 10% (5)

(9)仮称「組織適合性指導者」の試験方式

1.筆記試験のみ 8% (4)
2.実技試験と筆記試験 2% (1)
3.講習会参加と筆記試験 35% (17)
4.講習会参加、実技試験と筆記試験 0% (0)
5.講習会・実技研修会参加と筆記試験 27% (13)
6.講習会・実技研修会参加、実技試験と筆記試験 18% (9)
7.わからない 6% (3)
8.その他 4% (2)
具体案：QCワークショップの実績中心 (1)

質問4　認定制度を一種類とした場合のその名称、認定レベルや試験方式について

(1)一種類とした方がよい理由

1)人が集まらない。
2)指導者というのは定義があいまい。該当者が少ないのでは。
3)1種類の認定制度が定着した後に必要なら2種類に移行するか検討すればよいと思われる。当初は単純な方が良いのでは。
4)技術者は後継者を育成する為に指導力を育成しなければならない。また指導者は実際の検査についても十分な知識が必要と考えます。
5)技術者として認定を受けるためには、当然のごとく組織適合性指導者として必要な知識・資質も含むものとするから、二本立てなどナンセンスである。
6)シリアルなシステムの方がよい。
7)この制度は正確なタイピングのためにだけ必要と思います。指導的立場の人は認定しなくても自然に承認されていると思いますので。

8)キット化されたもので技術を認定してもしょうがない。

(2)具体的な名称

1)HLA検査認定技師 (1)
2)認定HLA検査技術士 (1)
3)認定HLA検査技術者 (1)
4)MHC認定者 (1)
5)HLAタイピング技術者 (1)
6)HLAタイピスト (1)
7)認定組織適合性判定士(1)

(3)認定の技術レベル

1.2桁でのDNAタイピングができること	0% (0)
2.2桁でのDNAタイピングと血清学的タイピングの両方ができること	50% (5)
3.4桁以上でのDNAタイピングができること	0% (0)
4.4桁以上でのDNAタイピングと血清学的タイピングの両方ができること	30% (3)
5.技術レベルは認定時において考慮しない	10% (1)
6.わからない	0% (0)
7.その他	10% (1)

(4)(3)以外の関連検査の有無

1.はい	44% (4)
具体案：1)クロスマッチ (1)	
2)血液型 (1)	
2.いいえ	44% (4)
3.わからない	11% (1)

(5)認定の知識レベル

1.HLA検査が正確にできる程度の基礎的知識だけでよい	10% (1)
2.MHCに関する基礎的知識だけでよい	0% (0)
3.1と2の両方が必要である	30% (3)
4.3以外に免疫学や人類遺伝学などの関連分野に関する基礎的知識も必要である	10% (1)
5.HLA検査が正確にできる広範な知識だけでよい)	10% (1)
6.MHCを含む組織適合性に関する広範な知識だけでよい	0% (0)
7.5と6の両方が必要である	10% (1)
8.7以外に免疫学や人類遺伝学などの関連分野に関する広範な知識も必要である	30% (3)
9.わからない	0% (0)
10.その他	0% (0)

(6)認定時のQCワークショップ参加の義務化

1.はい	70% (7)
2.いいえ	20% (2)
3.わからない	10% (1)

(7)試験方式

1.筆記試験のみ 0% (0)
2.実技試験と筆記試験 10% (1)
3.講習会参加と筆記試験 40% (4)
4.講習会参加、実技試験と筆記試験 0% (0)
5.講習会・実技研修会参加と筆記試験 30% (3)
6.講習会・実技研修会参加、実技試験と筆記試験 10% (1)
7.わからない 10% (1)
8.その他 0% (0)

◆認定制度の更新について

質問5　二種類の認定制度とした場合の更新について

(1)仮称「HLA検査技術者」の定期的な更新制度の必要性

1.必要である 94% (45)
2.必要ない（終身制） 4% (2)
3.わからない 2% (1)

(2)仮称「HLA検査技術者」の更新制度が必要だとした場合の更新年限

1.毎年 0% (0)
2.3年 27% (12)
3.5年 64% (29)
4.わからない 7% (3)
5.その他 2% (1)
具体案：2年 (1)

(3)仮称「HLA検査技術者」の認定更新時に単位制以外に必要な事柄

1.手続きのみ（単位制のみ） 24% (11)
2.講習会参加を加える 58% (26)
3.筆記試験を加える 2% (1)
4.講習会参加と筆記試験を加える 11% (5)
5.講習会参加、実技試験と筆記試験を加える 4% (2)
6.わからない 0% (0)
7.その他 0% (0)

(4)仮称「組織適合性指導者」の定期的な更新制度の必要性

1.必要である 84% (38)
2.必要ない（終身制） 13% (6)
3.わからない 2% (1)

(5)仮称「組織適合性指導者」の更新制度が必要だとした場合の更新年限

1.毎年 0% (0)
2.3年 24% (9)
3.5年 63% (24)
4.わからない 8% (3)

5.その他 5% (2)
具体案：10年 (2)

(6)仮称「組織適合性指導者」の認定更新時に単位制以外に必要な事柄

1.手続きのみ（単位制のみ） 24% (9)
2.講習会参加を加える 41% (15)
3.筆記試験を加える 5% (2)
4.講習会参加と筆記試験を加える 19% (7)
5.講習会参加、実技試験と筆記試験を加える 5% (2)
6.わからない 3% (1)
7.その他 3% (1)
具体案：講習会に参加、それと「HLA検査技術者」に対する指導・教育をポイント制にする

質問6 一種類の認定制度とした場合の更新について

(1)定期的な更新制度の必要性

1.必要である 70% (7)
2.必要ない（終身制） 20% (2)
3.わからない 10% (1)

(2)更新制度が必要だとした場合の更新年限

1.毎年 0% (0)
2.3年 29% (2)
3.5年 71% (5)
4.わからない 0% (0)
5.その他 0% (0)

(3)認定更新時に単位制以外に必要な事柄

1.手続きのみ（単位制のみ） 43% (3)
2.講習会参加を加える 57% (4)
3.筆記試験を加える 0% (0)
4.講習会参加と筆記試験を加える 0% (0)
5.講習会参加、実技試験と筆記試験を加える 0% (0)
6.わからない 0% (0)
7.その他 0% (0)

質問7 認定制度「反対」意見について

(1)認定制度の必要性

1.まったく必要ない 50% (1)
2.今後必要になると思うが、今は必要ない 0% (0)
3.その他 50% (1)
もっと論議を行ってから制度を立ち上げるべきである（HLA検査試薬メーカー、30歳代商品製造開発者）

(2)反対の理由

時期尚早（検査センター、30歳代研究者、HLA検査試薬メーカー、30歳代商品製造開発者）

◆認定制度が発足した場合について

質問8　認定試験受験の希望について

1.すぐにでも受験したい	43% (26)
2.近いうちに受験しようと思う	11% (7)
3.様子をみてからにする	26% (16)
4.受験しない	11% (7)
5.わからない	8% (5)

質問9　認定費用について

(1)二種類の認定制度の場合

仮称「HLA検査技術者」（中央値： 15,000円、範囲：3,000～30,000円）

仮称「組織適合性指導者」（中央値： 27,500円、範囲：3,000～50,000円）

(2)一種類の認定制度の場合（中央値： 20,000円、範囲：5,000～50,000円）

質問10　ご意見・ご質問など

1)検査施設としての認定も必要だと思います。また、組織適合性学会に参加することを必須とすることにできれば良いと思います。（血液センター、30歳代検査技師）

2)認定制度の位置づけを明確にするべきではないでしょうか。（病院輸血部、30歳代検査技師）

3)受験資格として、検査歴2年以上といった条件も必要。随時講習会等を行うとともに、技術者間の会報等で技術向上を計るようにする。（公務員、20歳代技官）

4)QCワークショップへの参加義務は、施設単位でよいと思います。講習会、実習会の回数をポイント制とし、どれかに出席できるようなかたちにしてほしいです。（血液センター、30歳代薬剤師）

5)施設もこの制度の対象としてはどうでしょうか。（血液センター、40歳代薬剤師）

6)もう少し時間をかけて、議論すべきだと思います。(HLA検査試薬メーカー、30歳代製品製造開発者）

質問4(1)、7、10に関するご意見などは紙面の都合から認定制度準備委員会の責任で一部要約させていただきました。

＜日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定＞

1. 投稿規定

1. 1. 原稿様式

提出原稿がそのまま電算写植で印刷できるように，原稿は全て，コンピューターのフロッピーディスクとA４サイズとプリントアウトしたものの両者を提出する．一般的なワープロソフトを使用し，ソフト名を明記する．字体，サイズ，行の字数，行間，などの体裁は自由とする．また，図表については，写植でそのまま掲載できるものを提出するが，挿入箇所を本文に指定する．図については天地を明示する．印刷の際に，縮小または拡大する場合があるので，考慮すること．また，図表の題や説明はワープロで，本文とは別頁に添付する．なお，掲載された論文等の著作権は，日本組織適合性学会に属し，インターネットを通じて電子配信されることがあります．

1.2. 原著論文

会員からの投稿を原則とするが，編集委員会が依頼することもありうる．日本語，英語を問わない．最初の一頁はタイトルページとし，タイトル，著者名，所属，脚注として代表者とその連絡先（電話，FAX, E-mail，郵便番号，住所）を記す．タイトル，著者名，所属は次の様式にしたがう．

Serological and nucleotide sequencing analysis of a novel DR52-associated DRB1 allele with the DR'NJ 25' specificity designated DRB1*1307.

Toshihiko Kaneshige[1], Mitsuo Hashimoto[2], Yayoi Murayama[1], Tomoko Kinoshita[2], Tsutomu Hirasawa[1], Kiyohisa Uchida[1], Hidetoshi Inoko[3]

1） Shionogi Biochemical Laboratories, Shionogi Company, Osaka, Japan
2） Kidney Transplantation Center, Hyogo Prefectual Nishinomiya Hospital, Hyogo, Japan
3） Department of Molecular Life Science, Tokai

HLA class Ⅱの DNA typing と MLC

能勢　義介[1]，稲葉　洋行[1]，荒木　延夫[1]，浜中泰光[1]，阪田　宣彦[1]，土田　文子[2]，辻　公美[2]，成瀬　妙子[3]，猪子　英俊[3]

1） 兵庫県赤十字血液センター，検査課
2） 東海大学医学部，移植免疫学
3） 東海大学医学部，分子生命科学

内容は，二頁目よりはじめ，要約（Summary），はじめに（Introducution），材料と方法（Materials and Methods），結果（Results），考察（Discussion），参考文献（References）の順に記載する．また，要約の末尾に日本語で５語以内のキーワードを加える（英文の場合には英語の Key words を加える）．脚注は適宜，設けてもよい．日本語で投稿の場合には，末尾に英語のタイトル，著者名，所属（様式は上述に従う），英語の要約と英語で５語以内の Key wards をつける．枚数に特に指定はないが，速報的な短報（全体で，2,000～3,000字，出来上がりA４版で２～４枚程度）を中心とする．もちろん，フルペーパー（full paper）も歓迎する．また，新対立遺伝子，日本人に認められた希な対立遺伝子に関する報告も受付ける．なお，参考文献（References）の記載については，下記１.５を参照すること，オリジナル１部にコピー３部を添えて，編集長宛（下記３参照）に送付する．

1.3. 総説，シリーズその他

編集委員会からの依頼を原則とするが，会員からの投稿も大いに歓迎する．日本語を原則とする．タイトル，著者名，所属は上記１.２.の通りにしたがい，要約と要約の末尾に日本語で５語以内のキーワードを添える．その他の体裁は自由とするが，構成がいくつかの章，節などから成る場合には，次の番号に従い，適当な見出しを添える．

1.　2.　3.　4. ……
　1.1.　1.2.　1.3.　1.4.……
　　1.1.1.　1.1.2.　1.1.3.……

脚注は適宜，設けてもよい．なお，参考文献（References）の記載については，下記1.5.を参照すること．

1.4. 校正

校正は編集委員が行い，特別な場合を除き，執筆者は校正を行わない．

1.5. 参考文献

参考文献は，本文中に数字で，例えば（3），の様に表示し，末尾にまとめて，次のようなスタイルで記載する．ただし，著者名，または編集者名は，筆頭3名まで記載し，以下は省略する．

1．Kaneshige T, Hashimoto M, Murayama A, *et al.*: Serological and nucleotide sequenc-ing analysis of a novel DR52-associated DRB1 allele with the DR'NJ25' specificity designated DRB1*1307. *Hum. Immunol.* **41**: 151 - 160, 1994.

2．Inoko H, Ota M: *Handbook for HLA Tissue- Typing Laboratories* (eds. Bidwell J, Hui KM), PCR-RFLP. CRC Press, Boca Raton, 1993: p. 1 - 70.

3．能勢義介，稲葉洋行，荒木延夫ら: HLA class ⅡのDNA TypingとMLC, 輸血, **39**：1031 - 1034, 1993.

4．猪子英俊，木村彰方: 岩波講座分子生物科学11巻，生物体のまもりかた（本庶佑編），自己と他の識別，岩波書店，東京，1991; p.129 - 194.

2．別刷

原著論文については，別刷は有料とする．その費用は部数，頁数による．

3．原稿送付先

〒259 - 1193　神奈川県伊勢原市望星台
東海大学医学部　分子生命科学系遺伝情報部門　日本組織適合性学会誌MHC
編集長　猪子　英俊
TEL：0463 - 93 - 1121　内線2312
FAX：0463 - 94 - 8884
E-mail：hinoko@is.icc.u-tokai.ac.jp

編集後記

21世紀がとうとうやって来てしまいました。私が小学生の頃、何歳になったら21世紀になるかと数えたことがあります。その時はあと30数年という時間があり、「いったいどんな時代になっているのだろうか」と想像したことがあります。今コマーシャルで話題になっている鉄腕アトム（1963年）やスーパージェッタ（1965年）などといったものが本当に実現するのか楽しみでした。でも、実際に21世紀を迎えてもあのころ感じていたワクワクした気持ちになれないのは何故でしょうか。私が小学生時代に描いていた21世紀とあまりにもギャップがあるからなのでしょうか。現実を見過ぎてしまったのでしょうか。

さて、これからの組織適合性の世界はいったいどのように展開していくのでしょうか。ＨＬＡタイピング技術はＤＮＡチップ・マイクロアレイなどで自動化され、簡単に検査できる時代が直ぐに到来することは明らかだと思います。しかし、ＭＨＣの研究分野はそれとは裏腹に多様化していくのではないかと私は思っております。そのような時代に果たして私自身ついていけるのか、ちょっと不安を感じます。

認定制度に関するアンケートで回答された方の年齢層をみてみると30歳代が約30％、40歳代が約40％でした。この学会員に30・40歳代が占める割合が多いのか、30・40歳代が元気なのかは会員の構成年齢分布を調べないと何とも言えませんが、20歳代が３名（５％）とは寂しい限りです。いずれにせよ21世紀はもっと若い方々が主流になって学会をリードして行っていただきたいと思います。この日本組織適合性学会の盛衰は若い方々の活躍如何にかかっています。そのために私たちは大会を合宿制みたいにし、楽しく論議できる場を提供してきました。今年も福岡でそのような大会にしていただけると思いますので、どうか若い方々の活発な討論を期待しています。そのために私たちは部屋の扉を開けて待っています。（小林　賢）

MHCバックナンバー

一冊￥2,000にて購入可能です。学会事務局までお問い合わせください。発行より２年を経過したものは、在庫が少数になっている場合もありますのでご了承下さい。

入会・変更

新入会、住所変更は学会事務センターまでお問い合わせください。また、日本組織適合性学会ホームページの入会申込書もご利用下さい。

（社）学会事務センター
〒113-8622
東京都文京区本駒込5-16-9　学会センターC21
TEL：03-5814-5810
FAX：03-5814-5825

日本組織適合性学会ホームページ

学会活動に関する情報やHLA遺伝子の塩基配列情報が利用できます。

http://square.umin.ac.jp/JSHI/mhc.html
http://jshi.umin.ac.jp/mhc.html

MHC
Major Histomcompatibillity Complex
Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and lmmunogenetics
2001年３月30日発行　　７巻３号，2001
定価　2,000円
発行　日本組織適合性学会（会長　猪子　英俊）
編集　日本組織適合性学会編集委員会（編集担当理事　猪子　英俊）
平成８年７月24日　学術刊行物認可

日本組織適合性学会事務局（事務担当理事　十字　猛夫）
〒150-0012　東京都渋谷区広尾４－１－31　日赤血液センター内
印刷・（株）栄文舎印刷所
〒229-1101　神奈川県相模原市相原２－12－１