

## 課題 9

### 計画：9-1

#### 血漿アミラーゼのカニクイザル種内変異に関する研究

近藤美希子 (名古屋大・農)

これまでマカクを対象とした遺伝学的研究においてアミラーゼ (Amy) はアガロースゲル電気泳動法により分析されていたが、多型は観察されていなかった。最近、等電点電気泳動法 (IEF) などの手法により、マカクの唾液性及び膵臓性アミラーゼ多型が報告されている。

本研究では、カニクイザル及びその近縁種であるアカゲザル、ニホンザルのアミラーゼを IEF により分析した。まず膵臓、3種の唾液腺、唾液及び血漿試料を分析することにより、血漿アミラーゼの由来臓器を明らかにした。カニクイザル及びニホンザルにおいて、家系の明瞭な個体の血漿及び唾液試料を分析し遺伝様式の検討を行い、野生由来個体群の血漿試料を分析し変異の地理的分布を調査した。

血漿中のアミラーゼは、唾液性アミラーゼ及び膵臓性アミラーゼからなることが明らかになった。また、血漿試料の泳動像から唾液性アミラーゼ (Amy-S) 及び膵臓性アミラーゼ (Amy-P) の表現型判定が可能となった。カニクイザルにおいて唾液性及び膵臓性の区別できないバンドがあった。

家系解析の結果から、Amy-S と Amy-P の変異はそれぞれ常染色体上の共優性遺伝子に支配されることが予想された。カニクイザルにおいてどちらかの遺伝子重複の可能性が、カニクイザルとニホンザルにおいて欠損型または低活性アミラーゼの存在が示唆された。

3種のマカクにおいて Amy-S 及び Amy-P は共に多型的であった。カニクイザルでは38種類の表現型が観察され、表現型の分布に地域差がみられたが、ある地域集団に固有の変異型はなかった。ニホンザルでは20種類の表現型が観察され、対立遺伝子頻度に地域差がみられた。ニホンザルの Amy-S と Amy-P 遺伝子座間の連鎖について検討したところ、移植集団である若桜及び嵐山集団では有意な連鎖不平衡がみられ、臥牛山集団ではみられなかった。このことは、集団設立から

の時間や集団サイズを反映していると考えられた。

今回の研究から、アミラーゼは連鎖した遺伝標識として、集団遺伝学的研究やコロニーマネジメントに利用できると考えられる。

### 計画：9-2

#### カニクイザルにおけるオロソムコイド型の地理的分布に関する研究

湯浅 勲 (鳥取大・医)

マカカはオロソムコイド (ORM) 型できわめて高い多型性を示し、少なくとも25種の共優性の対立遺伝子からなる。とりわけ、カニクイザルは変異に富み、15種の遺伝子が観察されている。今回は野生個体群の地理的変異を調べるために、保存血液試料を等電点電気泳動と免疫固定法によって分析した。

今回の調査 (n=270) では、12種の遺伝子が観察された。もっとも高いヘテロ接合度 (h) を示したのは南タイの集団で、85.8%で8種の遺伝子からなっていた。一方、中北タイでは75.7% (6種)、東北タイでは41.5% (3種) と低くなった。次に、高いhを示したのは北スマトラの83.3% (9種) であった。西スマトラは55.9% (4種) と低くなり、ジャワ、バリ、ロムボク島ではいずれも共通の2種の遺伝子 ORM\*1, ORM\*9 からなり、h はそれぞれ49.5, 18.0, 25.5% と変異性が乏しく、かなり均一な集団であった。これらの島嶼に隣接したスマバワ島では6種の遺伝子が認められ、h は75.8% と比較的高かった。人類が持ち込んだといわれているモーリシャス諸島やパラオ諸島では30.5% (3種)、66.7% (5種) と多型的であり、均一な集団ではなかった。

大陸部のカニクイザルは島嶼部の集団より高い多型性を有することがORM型でも示されていたが、今回のデータもほぼこれを支持するものであった。すなわち、タイからマレーシアを通して北スマトラにかけては、きわめて変異に富み、他の地域には見られない等電点の高い産物 ORM\*18 が特異的に観察され、同じく ORM\*16 はタイのみに認められた。等電点の低い産物はどの集団にも共通して見られたが、すべての集団に出現する遺伝子はなかった。出現率の高いものは ORM\*1 や ORM\*9 であった。パラオでは新変異型遺伝子が15%の頻度で特異的に認められた。

このように、ORM型はカニクイザルの地理的分化を考察するのに、有用な標識遺伝子である。しかも、東南アジアの出自のカニクイザルはDNAのVNTR多型に匹敵する程のhを示し、親子関係の調査にも十分利用可能な形質である。

#### 計画：9-3

マカカ属サルの種内、種間変異に関する研究  
—とくに糖脂質、脂肪酸による変異の定量化—  
中野 益男（帯広畜産大・生物資源化学）

動物体の脂質を構成する脂肪酸の組成は種内で化学的特徴があり、安定して保持されていることから、脂肪酸の構成パターンは種間の関係を解明する標識になると考えられる。これまでに、マカカ属の頭骨、大腿骨の脂質を構成する脂肪酸組成は、種間で特徴のあるパターンを示すことがわかった。この成績から、脂肪酸組成のパターンをもとにして霊長類の種内、種間の遺伝学的変異性の定量化は可能と考えられる。本年度は霊長類の胎盤脂質を構成する脂肪酸と脂質クラス、とくに糖脂質のガングリオシドとその構成脂肪酸を調べ、その化学的特徴から、遺伝学的変異の定量化を試みた。

新世界ザルのオマキザル科リスザル8試料、ヨザル2試料とマーモセット科のコモンマーモセット3試料、旧世界ザルのオナガザル科ニホンザル7試料、ヤクシマザル1試料、アカゲザル3試料とボンネットザル2試料、およびヒト科チンパンジー1試料を調べた。脂肪酸組成は重回帰分析により種間の変異関係の定量化を試みた。

胎盤の全脂質および糖脂質の主要な脂肪酸はパルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、アラキドン酸であった。とくに胎盤に特徴的に見られるアラキドン酸は旧世界ザルが新世界ザルよりも高い割合で分布していて、種間に明確な距離が観察された。脂肪酸パターンによる重回帰分析の結果、新世界ザルと旧世界ザルとでは0.12~0.14の相間距離で変異していた。これをヘモグロビンβ鎖の分子系統樹をもとにした変異量と比較するとマカカ属内を分岐点とする旧世界ザルと新世界ザルの分岐点はよく一致していた。

ガングリオシド糖脂質はG-1, G-2, G-3, G-4, の他に4つのガングリオシド系列の糖脂質が検出された。このうち、G-1の化学構

造はNeuAc ( $\alpha$ 2-3) Gal ( $\beta$ 1-4) Glc ( $\beta$ 1-1) セラミドと同定された。これはヒト胎盤・肝臓から分離されたGM<sub>3</sub>と同じ化学構造であった。新世界ザルではG-1が欠損していた。

これらの結果は、脂肪酸パターンおよび糖脂質クラスにより種内・種間の変異を定量化できることを示唆している。

#### 課 題 10

##### 計画：10-1

ニホンザルのスギ花粉症に関する研究

橋本 道子（日獣大・野生動物）  
横田 明（名古屋市立東市民病院）  
峰澤 満（農水省・北海道農業試験場）

ニホンザルの花粉症の存在が、これまでの研究で明らかになっている。今回ニホンザルがヒトの花粉症の実験・研究モデルと成り得るかどうかを明らかにするために、アレルギー反応に関与する末梢血の好塩基球 (basophil) について、細胞数、細胞形態、ヒスタミン含有量、およびスギ抗原特異的ヒスタミン遊離能に関して、ヒトと比較検討した。

ヒトおよびニホンザル由来の末梢血にデキストラント2000を加え赤血球を除去。次にトリス Buffer (pH7.2) で洗浄してbasophil richな白血球サスペンションを得て、以下の実験に用いた。

1. サイトスピンで細胞スミアをつくり May-Grue-Wald Giemsa染色後、顕微鏡下でカウントし、白血球中のbasophil分率を計算した。
2. 総ヒスタミン量は、白血球サスペンションに、過塩素酸 (final 2%) を加え煮沸後、遊離したヒスタミンをHPLCを利用した蛍光ポストカラム法で測定した。
3. スギ花粉抗原特異的ヒスタミン遊離量は、感作白血球資料にスギ花粉抗原を加えて、インキュベーション後遊離ヒスタミン量を前述のHPLC法で測定した。

白血球中のbasophil分率はニホンザルで0.17% ヒトでは0.32%であった。また、basophil 1細胞当たりのヒスタミン含量は、ニホンザルで1.3pg、ヒトでは2.8pgであった。この結果より、ニホンザルのbasophil分率はヒトの1/2、更にbasophil