

用した。ひとつは白浜群より6回のサンプリングにより回収された36個の糞試料(2000年10月~2001年1月), もうひとつは主要個体群生息地の個体数管理捕獲個体から採血した75個の血液試料(1996年12月~2002年3月)である。種判別の結果として, 白浜群では糞サンプル表面に付着する腸管細胞のミトコンドリアDNAの分析によりニホンザルとアカゲザルに近い2種類のミトコンドリアDNAタイプが検出された。また主要個体群生息地については, 血液サンプル中の核遺伝子にコードされているタンパク質の分析においてニホンザル固有の遺伝子タイプのみを検出した。以上の結果から, 白浜群はアカゲザルを基礎とする個体群であり, ニホンザルが同群に加入していることが予想された。一方, 主要個体群生息地では外来種との交雑を結論づける証拠は今のところ得られていない。これからも観察と分析を継続して交雑状況の把握を進める予定でいる。

#### 自由36 ヒヒ類ミトコンドリアDNAの全塩基配列決定とその種分化解明への応用

楠田 潤 (国立感染症・遺伝子資源)

ヒトゲノムの解析が終了した現在, ヒト化を中心とした霊長類全体の種分化に関係する遺伝子の探索に興味が集まってきた。種分化に関係する要因のひとつは感染症や薬剤に対する感受性で, ヒヒ類は実験動物としてこれらの確認実験に古くから使われてきた。ヒヒ類ミトコンドリアDNAの全塩基配列を対象に解析することは薬物代謝能の推定や組織のDNAタイピングに有用で, しかもヒヒ類の種分化を類推するための重要な指標となる。

われわれはアヌビスヒヒ(Anubis baboon)ミトコンドリアDNAの全塩基配列決定をめざして解析を進めてきた。しかし部分的にはあるがPCRで増幅が困難なところもあり, 塩基配列を完結するには至っていない。今回, タンパク質をコードする6個の遺伝子について解析を行った。ATPase6, ATPase8, COI, COII, NADH1, NADH6はそれぞれ, 226個, 68個, 513個, 227個, 318個, 174個のアミノ酸をコードする遺伝子で, これらの塩基配列を既知のマントヒヒ(Papio hamadryas)の遺伝子配列と比較したところ, 11個の塩基置換がみられた。そのうち非同義置換はATPase6に存在する1個で, あとの10個は同義置換であった。

#### 自由38 滋賀県のニホンザル個体群管理に向けた遺伝的モニタリング

高木直樹 (獣害総研)

野外での観察調査から, 滋賀県全域には133群のニホンザルの生息が確認されている。

保護管理に関わる遺伝的モニタリングとして, 個々の群れの遺伝的特性を把握するために, 母性遺伝するミトコンドリアDNAの変異を検索している。この調査の目的は, 個体群の遺伝的連続性と多様性, 個体群成立の歴史的背景, オスの移住を介した個体群間の交流を評価することである。

各群れから採取した血液ないし皮膚の試料からDNAを抽出し, ミトコンドリアDNA非コード領域の部分塩基配列を解読してタイピングをおこなっている。これまでに109群についての分析を終了し, 少なくとも8種類のミトコンドリア遺伝子タイプがあること, 個々の群れではタイプがほとんど均一であること, 各タイプの分布には局在傾向が強いこと, 県下のニホンザル個体群は2つの別系統の祖先に由来すること, が判明しつつある。

#### 自由40 サル心臓自動能のイオンチャネル機序

野間昭典 (京都大・医・生理)

・佐藤広康 (奈良医大・薬理)

これまでの共同利用により, サル洞房結節細胞の分離単離法が確立した。これまで通り, 細胞分離までを当研究所でやらせて頂き, 分離した細胞を我大学に持ち帰り電気生理学的実験を行い, 心臓ペースメーカー細胞の膜イオンチャネル電流を解析した。

単離した洞房結節細胞のホールセル・パッチクランプ実験を行なっている。基本的な膜電位依存性イオンチャネル電流の取得には成功していて, 心筋膜イオンチャネル(Ca<sup>2+</sup>とK<sup>+</sup>)電流を解析した。また, 洞房結節細胞に特異的な過分極活性化内向き電流(I<sub>f</sub>), 所謂, ペースメーカー電流の同定と解析を現在行なっている。これまで, 他種属(ウサギ・モルモット・ラット)の洞房結節細胞の自動能イオン電流機序を解明してきたが, 動物種により膜イオン電流系が異なることが判明してきた。この研究では, 今のところ, まだはっきりした差異は分らないが, サル洞房結節細胞は, ラットの膜イオン電流系に類似しているような印象を受けている。

サル洞房結節からの結果は, ヒトの心臓自動能機構にも反映され, 臨床的にも洞性不整脈を含めた疾患治療に大いに役立つと考えられる。今後も共同利用をさせて頂き, サル実験を継続していく所存である。

#### (3) 資料提供

資料1 ニホンザルの保全に関する研究

和田一雄 (野生生物保護学会)

2001年4月に西目屋村田代で成獣メス1頭に発信器を取り付け, その後約1年間その動きを追った。このメ

スが所属する群れは岩木川沿いに田代から上流に向けて川原平に至り、さらに上流川の大沢川まで使っていた。これまでの断片的調査では同じ地域に複数群いることが推測されていたが、1群であることが明らかになった。従って、これまでの同上地域での被害はおそらく1群によって引き起こされていたと考えられる。また、中大秋から白沢に至る被害は別の群れ、すなわち中大秋から白沢、さらに下流にホームレンジをもつものに起因した。なぜなら、同時追跡によって確認したので、西目屋村には大沢川より下流では2群がホームレンジを互いに避け合って使っているからである。発信器をつけた群れは岩木川沿いのリンゴ園と周辺の落葉広葉樹の二次林にホームレンジをつけた群れは岩木川沿いのリンゴ園と周辺の落葉広葉樹の二次林にホームレンジをおいているが、園と林の利用頻度は大部分が二次林で占められ、時折園に侵入する程度であった。

#### 資料2 下垂体特異的遺伝子の霊長類における細胞特異性の解析

異 圭太 (大阪大・院医・生体情報)

脳下垂体前葉からは甲状腺刺激ホルモン(TSH)、成長ホルモン(GH)、プロラクチン(PRL)、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、性腺刺激ホルモン2種類(LH・FSH)の6種類のホルモンが5つの細胞より分泌されており、組織・細胞特異性をみるのに適したモデルである。本研究では、我々がBodyMap法により単離したヒト下垂体特異的遺伝子の細胞特異性の解析を、サルの下垂体組織を用いて解析することにより、霊長類の脳下垂体の特異性を解明する一助にするものである。

本年度は死亡直後のサルの新鮮な下垂体組織を取り出し液体窒素で凍結固定し、組織切片を作製した。これに対し、ヒト下垂体特異的に発現している新規遺伝子(cDNA)の断片をプローブとしてin situ hybridizationを、既知ホルモンの免疫染色と併せて行い、共存細胞を調べた。

#### 資料3 サル肝ミクロソームのNADH依存的アルコール酸化酵素の解明

松永民秀・渡辺和人・  
山本郁男 (北陸大・薬・衛生化学)

大麻成分 $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol( $\Delta^9$ -THC)の代謝中間体7-OH- $\Delta^9$ -THCのケトン(oxo)体への酸化を触媒する酵素Microsomal Alcohol Oxygenase (MALCO)の本体としてニホンザル肝よりCYP3A8を精製した。また、サル肝にはNADHを補酵素とした場合においても高い活性が認められた。そこで本研究では、このNADH依存的な酵

素の性質を明らかにし、本体を解明することを目的とした。その結果、NADPHを補酵素とした場合、活性は低基質濃度側で低く、濃度の増加とともに急激に上昇した。一方、NADHの添加では、低基質濃度においても比較的高い活性を示し、基質濃度55 $\mu$ M以上で活性はほぼ一定となった。その結果として、基質濃度50 $\mu$ M以下においてはMDH依存的活性がNADPHより2倍も高くなった。また、oxo体生成活性は基質濃度150 $\mu$ MにおいてNADH及びNADPHとも補酵素濃度の増加に伴い上昇したのに対し、基質濃度40及び80 $\mu$ MではNADPH依存的活性のみ補酵素濃度が各々40及び1000 $\mu$ M以上において逆に減少した。さらに、CYP3A8の再構成系においてもNADH依存的な活性が認められ、その際シトクロムb5が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。また、再構成系におけるoxo体生成活性は、ミクロソームと同様低基質濃度ではNADHの補酵素要求性が高くなる傾向が認められたことから、NADH依存的なoxo体生成においてもCYP3A8が主要な酵素であることが明らかとなった。しかし、ミクロソームの活性は一酸化炭素で阻害されないことからP450以外の酵素の寄与が考えられた。

#### 資料4 売立目録図版にみられる猿の行動とその背景の評価

都守淳夫 (犬山市・愛知)

売立目録所収の猿猴図絵画の主題、時代、作家系譜による類型分析の一端として本年度は、各図版の猿猴図像の行動的観点からの評価、および景観描写などの記述を画像データベースに加筆した。それは、従来からの絵画分類や主題分析、加えて画題名などだけでは多様な猿猴図の類型分類、とくに作品特定はきわめて難しいためである。目標とする猿図にみられる行動や背景評価は、1, 2回の文字情報検索で一画面に表示される程度に画像サムネイルを絞り込める、誰もが対象の絵画から識別のできる簡明な事項項目(キーワード)の設定である。事項範疇は素材、主題、作風であるが、ここでは「素材」の設定が主であり基本設定は、どんなサルが(種名)、何匹で(頭数)、どこで(地上、岩上、樹上)、なにをしているか(行動や状態)、背景にはなにがあるかなどのキーワードの設定である。これらの情報が作家名、同没年、系譜、画題名、作品掲載誌/所蔵情報などに付加され、検索に供される。

作業対象にした作品は、従来収集の七千余点の売立図版から、無名作家11を含む277作家による1,865件の絵画作品(単幅/半双1,284件、双幅/一雙314件、三幅対241件、画卷類26件)を単一化し、これに「猿猴図摸本および真蹟作品」を加えたものである。