

ンを微量を直接注入して、複合課題に対する影響を観察する。前頭連合野課題としては、従来から研究してニューロンメカニズムを熟知している、遅延反応と対称性強化ゴーノーゴー反応を用いた。そして、このどちらかを主課題として行っている時に、もう一方の課題を副課題として行わせた（主課題 10 秒、副課題 5 秒）。どちらを主課題にしても、複合課題の成績は悪くなり、多動が引き起こされた。この影響はピククリンの量を増やすと、成績の悪化は強くなり、多動も多くなった。前頭極の注入点によって、用いた前頭連合野課題の成績悪化に敏感なことがあった。前頭連合野課題のみの遂行にはピククリン注入は影響がなかった。前頭極が前頭連合野を必須とする複合課題の遂行に重要であることが解った。この結果は 2002 年の Soc. for Neuroscience の第 32 回 Annual Meeting で発表する。

自由 33 ニホンザルの生殖活動とレプチン分泌の関連について

渡辺元・児嶋千尋（東京農工大・農・家畜生理）
・伊藤麻里子・清水慶子（京都大・霊長研）

レプチンは、白色脂肪細胞から分泌される 16kDa のタンパク質で、摂食行動と体脂肪蓄積を調節するホルモンとして知られている。また、レプチンは生殖活動においても重要な役割を担うこと認識されており、ウマやハムスターなどの季節繁殖動物において、季節繁殖性とレプチンとの関わりが報告されている。ニホンザルは実験飼育下においても明瞭な季節繁殖性を示す唯一のマカクであり、その年の繁殖期に発情が周期的に回帰し、妊娠が成立するには、個体の栄養状態が深く関わっていることが明らかにされてきた。そこで、本研究では、雌ニホンザルを各月毎に一年間採血し、血中レプチン濃度を、ヒト用レプチン RIA キットを用いて測定し、季節変化が観察されるか調べた。また、併せて妊娠期における血中レプチン濃度の推移を調べ、分娩後に採取した胎盤を用いて免疫組織化学的検索によりレプチンの局在を調べた。

非妊娠個体の年間サンプルでは、血中レプチン濃度は 4 月に向けて上昇し、12 月に向けて低下する傾向が認められ、4 月の濃度は、12 月の濃度よりも有意に高値を示した。一方、妊娠期における血中レプチン濃度は、妊娠初期から後期にかけて上昇し、妊娠後期には非妊娠期の 50 倍のレベルに達し、分娩後は急激な低下を示した。胎盤の免疫組織化学的検索により、合胞体性栄養膜細胞にレプチンの局在が認められた。

これらのことから、1) 非妊娠個体では血中レプチン濃度に季節的な変動が認められること、2) 妊娠期における高濃度のレプチンは、主に胎盤から分泌されているこ

とが明らかとなった。

自由 34 アカゲザルの配偶子培養系と受精系の検討

入谷 明・細井美彦（近畿大
・生物理工・遺伝子工学）

近年多くのサル類が生息地を追われ、その個体数は減少の途をたどりつつある。我々は、それらの種の保護を積極的に行わねばならないと考え、配偶子における生理学的情報を集積すると共に、室内人工周年繁殖技術の開発に取り組んできた。特に希少種は利用できる個体も限られており、配偶子の効率の利用は遺伝子資源保護のためにも重要である。

近年、技術的には体外受精（In vitro fertilization）を基盤としたエンブリオロジーが発達し、卵巣より回収された未成熟卵子の体外における発育、さらに体外成熟・体外受精により胚生産が可能になってきた。サル類の研究においても、顕微授精により受精卵や産子を得ることが可能となっている。そこで、我々は、研究所から供給された卵巣と精巣を遺伝資源として活用すべく、胚の生産を試みた。本年度は、共同利用の Macaca 属サル類のサンプリング個体から精巣を得て、精子の凍結保存による運動性の喪失を種毎に検討した。さらに、過剰排卵処理したタイワンザルの卵巣より卵子を回収し、40 時間培養した後、顕微授精を行った。[結果] 回収した精子は、凍結誘拐後も良好な運動性を維持していた。それらを凍結した結果、融解後の運動性回復は、種による差は見られなかった。ただ、季節的には冬季のものが良好であった。卵巣の運搬と体外培養による結果では、成熟率と顕微授精後の胚の発育は、移送しないデータに比べ低率であった。この結果、受精卵を得ることができるが、今後、サンプルの移送と培養系システムの改善を行う必要があると考えられた。

自由 35 房総半島におけるニホンザルと外来種の混血に関する研究

萩原光（房総のサル管理調査会）

千葉県房総半島のニホンザル個体群生息地（以後主要個体群生息地と省略）から約 20km 離れた半島の南端に位置する館山市・白浜町で、1995 年以降、外来種の形態特徴（長尾）をもつ個体を含む一群（96 頭以上）（以後白浜群と省略）の存在が明らかになっている。1997 年の交尾期には白浜群の群れオスが主要個体群生息地を遊動したことも報告されており、房総個体群のニホンザルが外来種と交雑を起こしている可能性が疑われた。その実態把握のために本年度遺伝的に実験分析を行ったので報告する。実験では地域別に 2 種類の異なるサンプルを使

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(Ca²⁺とK⁺)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_f), 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