

した。また、近位から遠位にわたる各筋（特に大殿筋）の大腿骨における停止領域が確認された。これらの画像データは、筋の収縮力や作用する方向を考慮しながら、ヒト上科の種間で移動運動の発達過程について比較分析するための材料となるものと期待される。MR 画像の撮像にあたり、西村剛氏にお世話になった。

計画 8-1 新世界ザル視物質レパトリーの生成と消滅に関する研究

竹中直美（東京大・新領域・先端生命）

ヨザルは真猿類中唯一夜行性であり、単一の赤-緑型錐体視物質しか有しない完全色盲と考えられている。哺乳類の赤-緑型視物質は X 染色体性であるが、我々は本研究に先立ちヨザルは同遺伝子を Y 染色体にも有することを明らかにしていた。京都大学霊長類研究所のヨザルはすべて 2 頭のオスと 2 頭のメスに由来している。その 2 頭のオスの一方（#24）の Y 染色体は常染色体と融合しており、多数の赤-緑型視物質の偽遺伝子を保有している。本研究において私は、サザンハイブリダイゼーションおよび染色体に対する蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) 法によって、もう一方のオス（#14）の Y 染色体は単独で存在する標準型であり赤-緑型視物質遺伝子を単一コピーで保有することを明らかにした。次にこの Y 染色体性の赤-緑型視物質遺伝子が #24 におけるように偽遺伝子であるか否かを検証するために、この個体の末梢血 DNA からゲノムライブラリーを作成し、X 染色体性 Y 染色体性それぞれの完全長赤-緑型視物質遺伝子を単離して塩基配列を決定した。その結果、両遺伝子のタンパク質コード領域の塩基配列は完全に同一であり、スプライシングシグナル、TATA box、poly A 付加シグナル等の非コード領域中の重要配列も保存されていることを明らかにした。このことは Y 染色体性の赤-緑型視物質遺伝子が機能していることを示唆している。その生物学的意義を明らかにするためには、今後 1) #24 型の Y 染色体にも赤-緑型視物質の機能遺伝子が存在するか否か、2) Y 染色体性遺伝子が転写翻訳されているかを明らかにしていく必要がある。

計画 8-2 マカクザル視覚皮質 VP 野の色認識への関与

伊藤和夫（岐阜大・医・神経高次機能）

視覚皮質 VP 野 (ventral posterior visual area, 腹側後部皮質) は、二次視覚皮質 V2 野の腹側部と四次視覚皮質 V4 野の腹側部との間に存在し、腹側皮質視覚路 (ventral stream) の中継皮質と考えられている。V2 野ではサイトクロームオキシダーゼ反応で濃染する細い帯

の神経細胞が視覚刺激の波長の違い (色) に、濃染する太い帯の神経細胞が視覚刺激の動きや位置と立体的な奥行きに、帯の間で染まらない領域の神経細胞が視覚刺激の傾きに反応する。V2 野のそれぞれのモジュールが背側皮質視覚路と腹側皮質視覚路に別々に投射する。色に反応する腹側視覚皮質たとえば V4 野は、V2 野の細い帯と帯の間で染まらない領域とから投射を受ける。したがって、もし VP 野が色や形の視覚に関与していれば、同様の投射を受けるはずである。

VP 野に限局してトレーサーを微量注入すると、V2 野の主にサイトクロームオキシダーゼで濃染する細い帯と帯の間の領域に逆行性に標識される神経細胞が出現した。しかし太い帯にも多数の標識細胞が発見された。したがって、VP 野は色や形の視覚だけでなく、奥行きや動きの視覚にも関与していることが示唆された。

計画 8-3 旧世界霊長類の錐体視物質遺伝子の多様性に関する研究

小池智・細沼美樹・寺尾健一（東京都神経科学総研）
大西暁士（京都大・理）

旧世界霊長類の長波長ならびに中波長感受性視物質（以後赤、緑視物質と略す）は X 染色体上に並んで存在しており、しかも非常に高い相同性を示す。そのため、組み換え時のエラーによってこれらの遺伝子の一方を欠損したり、両者のキメラ遺伝子ができることがあり、これが色覚異常の原因となっている。ヒトにおいては男性の数%にも及ぶ色覚異常について旧世界霊長類に於いては多くの研究はない。

我々は PCR-SSCP 法により赤、緑視物質の exon 3, exon 5 領域などを増幅した後に分離し、2 つの遺伝子の有無あるいは存在している比率を算定することができた。これによって片方の遺伝子を欠損している色盲や赤と緑視物質遺伝子の融合した遺伝子をもつ色弱の可能性のある個体を分別することができる。この方法を用いて 62 頭のチンパンジーの DNA を調べたところほとんどの個体は正常色覚をもつと推測される遺伝子型を示したが、数頭の色覚異常の可能性のある個体を選抜することができた。さらに long-range-PCR 法などの他の方法を駆使することにより 1 頭が色弱の遺伝子型をもつ個体であることを発見した。この個体は赤/緑キメラ遺伝子ひとつと正常の緑遺伝子をもっていて、長波長域の光に対する感受性が低く、赤、緑波長域の弁別する能力が低いと考えられた。これは色覚異常をもつチンパンジーの初めての報告である。

計画 8-4 新世界ザルにおける色覚の個体差と行動

齋藤慈子・長谷川寿一（東京大・総合文化）

新世界ザルでは2色型色覚と3色型色覚が同種内に混在している。各色覚の有利性の有無を、フサオマキザル (*Cebus apella*) (3色型: n=1; 2色型 n=3) を対象として、WGTAを用いた弁別課題をおこなうことによって検証した。

実験1では、3色型色覚の有利性を確認するため、石原色盲検査票を模して作成した刺激を用いた。サルの課題は、緑の背景の中に赤い丸印のある刺激と、緑のみの刺激を弁別することであった。3色型色覚の個体は有意に弁別できたが、2色型色覚の個体は弁別できなかった。つまり、この課題において3色型色覚の個体は2色型色覚よりも有利であったといえ、3色型色覚の有利性が示唆された。

実験2では、2色型色覚の有利性の有無を検証するため、カラーカモフラージュされた「きめ」の異なる領域を検出する課題をおこなった。その結果、色覚の違いによる弁別能力の違いはみられず、2色型の有利性を支持する結果は得られなかった。しかし刺激や提示方法に問題点があったという可能性もあるため、この結果だけから、2色型は有利性をもたないとは言いきれないであろう。

(2) 自由研究

自由1 遺伝子導入マテリアルの安全性について

恵美宣彦 (名古屋大・医)

目的: 遺伝子治療・遺伝子ワクチンにおいて目的遺伝子を生体導入するための delivery system は極めて重要な要素で、遺伝子の導入担体・ベクターや導入方法の開発と共に、それらの有効性、安全性を検証するための評価実験系の確立も必須である。こうした視点から、サルモデルを用いた評価実験系に関する研究を進めている。

昨年度評価実験系までの研究では、非ウイルス性の遺伝子導入担体 (以後、ベクター) として、カチオニックリポソームを用いてきた。今回、こうしたリポソームベクターよりも少量の遺伝子・DNA 量の導入で効果が期待される、遺伝子銃 (gene gun) を用いて、ニホンザルにマーカー遺伝子・GFP (オワンクラゲ由来の green fluorescence protein) 導入を試み、その遺伝子導入効率と安全性を検討した。

研究計画・方法: 遺伝子銃としては、海外で遺伝子治療用として一部利用されている gene gun (ヘリオス社製) を用いた。発現ベクター・pC-EGFP plasmid を金粒子と混和し、その混和物を 300 psi の純正アルゴン加圧下 (ラットでの予備実験知見を参考にして; この圧を設

定) で、ニホンザル背部にリポソームベクターの 1/10 量の 5 マイクログラム/頭を皮内投与した。なお、比較実験のカチオニックリポソームでの遺伝子導入はこれまでの条件で実施した。

結果・考察: 投与 (遺伝子導入) 後の血中 GFP DNA (PCR 法) は、いずれの時間 (~48 時間) においても、PCR 法で検出限界以下であった。また、投与部位皮膚組織での GFP タンパク質発現性を、抗 GFP 抗体を用いて免疫組織化学的に精査したが、リポソームベクターの際に観察された、dendritic cells, macrophages および endothelial cells 等でのポジティブシグナルは認められなかった。さらに、炎症性サイトカインの TNF- α ならびに末梢血血球像の変化など炎症応答を指標にした安全性も検討した。TNF- α の産生や好中球増大などは見られず、炎症反応や投与部位の細胞・組織障害も認められず、安全性に関しては問題無いことが示された。

以上の結果から、サルモデルにおいては遺伝子銃 (gene gun) での GFP 遺伝子導入法はリポソームベクターに比べ、遺伝子導入効率および遺伝子産物 (タンパク質) 発現効率とも低く、今後の課題として投与条件 (300 psi) 等の検討の必要性が示された。

自由2 サルの G タンパク質共役受容体の研究

武田茂樹 (群馬大・工・生物化学工学)

我々はヒトのゲノム情報から新規 G タンパク質共役受容体遺伝子を予想し、それらのクローニングを行った。その機能の解明およびヒトとサルの生体内情報伝達の違いを明らかにする一環として、今回サルの脳の各部位および嗅上皮から mRNA を抽出し、RT-PCR によって各種 G タンパク質共役受容体遺伝子の発現状況を調べてヒトとの比較を試みた。霊長類研究所では実験殺後速やかに脳や嗅上皮を採取することができたため、良質の RNA 画分が調製できた。しかしヒトの遺伝子配列を基に設計した RT-PCR 用プライマーはあまり効率よくサルの遺伝子を増幅することができず、ヒトとサルの遺伝子配列はそれほど高い一致を示さないことを示唆した。これらのプライマーの多くはヒトの遺伝子を増幅する時と比べ、アニーリング温度を 5°C 前後下げることによってサルの遺伝子を増幅することができ、我々が新規に同定した G タンパク質共役受容体遺伝子ではヒトとサルでは発現状況に大きな違いは見られなかった。現在、げっ歯類のフェロモン受容体と相同性が見られる受容体遺伝子および我々が新たにリガンドを同定した新規受容体遺伝子について、サルのホモログ遺伝子をクローニングするためのライブラリーを構築している。