

3. オランウータンの現状と研究の進め方
平成 14 年 1 月 11 日～12 日
鈴木 晃・足澤貞成
4. 日本産哺乳類相の成立と変遷
平成 14 年 1 月 24 日～25 日
相見 満・川本 芳・平井 啓久・上原重男
5. 動物園の生物学：動物園動物を研究対象にするためには
平成 14 年 2 月 8 日～9 日
上野吉一・鈴木樹理・マイケル=A=ハフマン
友永雅己
6. 熱帯林における同所的霊長類の種間関係の多様性をさぐる
平成 14 年 2 月 15 日～16 日
大澤秀行・丸橋珠樹
7. 第 31 回ホミニゼーション研究会「知性の進化」
平成 14 年 3 月 14 日～15 日
上原重男・友永雅己・マイケル=A=ハフマン
本郷一美・田中洋行

2. 研究成果

(1) 計画研究

計画 1-2 霊長類の LDL レセプター遺伝子変異と調節領域

竹中晃子 (名古屋文理短大・食物栄養)

野生マカカ属サルの血中コレステロール (Ch) 値は人では危険領域に相当するほど低い。これは LDL レセプターの多量発現との仮説のもとに遺伝子のプロモーター領域を調べた。この領域にはステロール感受性結合タンパク質が結合する領域 (SRE) がある。チンパンジー、テナガザル、ニホンザル、フサオマキザル、ワタボウシタマリンの配列を決定した。その結果、SRE 配列そのものは保存されていたが、SRE を含む配列がパンドロームを形成する配列がヒトとチンパンジーでは等しく、上記他の種間では異なっていた。さらに他の転写調節タンパク質、SP1、が結合する領域もヒトとチンパンジーは共通であった。

さらに、高 Ch 血症のマカカ属サルの LDL レセプター遺伝子変異をこれまでエクソン 1, 3, 5, 7 に見いだしてきた。さらにエクソン 14 にも変異があることが明らかになったので、塩基配列を決定したところ、アカゲザル 1304

では Arg から Met に変異していた。カニクイザル 228 の変異は同義置換であった。アカゲザル 1304 のエクソン 3 の変異は子供の 1557 にも受け継がれ、血漿 Ch 値も高かった。

計画 1-3 高等霊長類特異的糖鎖のサル唾液における分布

金丸義敬 (岐阜大・農・食品科学)

旧世界ザル以降に進化した高等霊長類では発現の見られなくなった Gal・1-3Gal 糖鎖抗原と逆の動物分布を示唆する新規糖鎖抗原の存在が示唆されている。本糖鎖抗原は人乳ミルクムチンを抗原として作製されたモノクローナル抗体のうちの一つである 1CF11 抗体によって認識され、この抗体はさまざまな哺乳動物の乳ではヒトや旧世界ザルのものだけを認識する。本研究では 1CF11 抗原の霊長類における分布をさらに詳しく調べることを目的にした。ヒト唾液の分析から、本糖鎖抗原の唾液における発現レベルには、高発現グループ及び低発現グループの二つがあることがわかってきた。本年度は、ニホンザル 8 匹とリスザル、コモンマーモセット、ワタボウシタマリン、ヨザル、及び、フサオマキザル各 3 匹の新世界ザルの唾液の反応性を競合 ELISA によって調べた。ニホンザルでは低発現グループのヒト唾液に匹敵する反応性がいずれの唾液にも認められたが、高発現グループに匹敵するレベルは観察されなかった。新世界ザルの唾液では、ヨザルのみ 3 匹のいずれにも、低発現グループのヒト唾液よりさらに低いレベルであったが、反応性が認められた。しかし、他の新世界ザルに反応性は認められなかった。サンプルの数が限定されていたので確認には至らなかったが、本糖鎖抗原の発現は新世界ザルから旧世界ザルへの進化とリンクしている可能性が示唆された。

計画 1-4 多数の遺伝子座の塩基配列データに基づく霊長類の系統進化の推定

斎藤成也 (国立遺伝研)

本年度は、特にミトコンドリア DNA について調べた。我々はこの遺伝子座が霊長類の中でどのように進化してきたのかを明らかにするため、チンパンジー 35 個体、ボノボ 13 個体、ゴリラ 10 個体、オランウータン 16 個体、テナガザル 8 種計 22 個体のサンプルを用いて、16S リボソーム RNA 遺伝子約 1.6kb の塩基配列を決定した。既に報告されている他の配列も加えて、系統ネットワークおよび系統樹解析を行った。{結果} (1) すべての種でヒトの塩基多様性 (0.016% ; 世界中の 53 個体のデータに基づく) を上回っていた。(2) オランウータンが明確な 2 グループに分かれ、またスマトラタイプグループが

高い塩基多様度 (0.066%) を示した。(3) テナガザルのいくつかの種で、同一種に属する個体が単系統群とならなかった。

この結果は論文として発表し (文献), またこれらの研究成果を日本進化学会第3回大会, および日本分子生物学会第24回大会において発表した。

文献: Noda, R., Kim, C.-G., Takenaka, O., Ferrell, R. E., Tanoue, T., Hayasaka, I., Ueda, S., Ishida, T. & Saitou, N. (2002) Mitochondrial 16S rRNA sequence diversity of hominoids. *Journal of Heredity* 92: 490-496.

計画 1-5 p53 遺伝子解析による霊長類の種属と進化、分岐に関する研究

安積順一・玉木敬二・松本博志
(札幌医大・医・法医学)

ヒトと非ヒト霊長類の識別および進化、分岐を探る目的で、ヒト p53 遺伝子の第3イントロンと第4イントロンにプライマーを設定し、ヒトと非ヒト霊長類 (13種類) の第4エクソンの塩基配列の解析を行った。

ヒトとチンパンジー、ピグミーチンパンジーおよびゴリラの第4エクソンの塩基配列を比較したところ、チンパンジーとピグミーチンパンジーの12番目の塩基 (コドン36) が G→A に置換していたのを除き塩基配列は同じであった。この部位はヒトにおいて塩基多型がみつかっており、ヒト同様の塩基多型が類人猿にもあることを示唆している。非ヒト霊長類 (上記の3種類を除く) ではヒトに対する共通の塩基置換が、第4エクソンの56番目 (A→C), 103番目 (C→T), 199番目 (T→C) の3カ所にあった。

p53 遺伝子第4エクソンの塩基配列から平均距離法 (UPGMA) で分子系統樹を作成して、霊長類14種類の系統関係を解析したところ、類人猿のフクロテナガザル、シロテナガザルと旧世界ザルのリーフモンキーは同じ分類となり、また新世界ザルのリスザルとは比較的近い関係になったことは非常に興味深いことである。

今後、p53 遺伝子の第4エクソン以外の部分についても塩基配列の解析を行い、霊長類の系統関係をより明らかにしたい。

計画 2-1 光学活性化学物質の立体選択的代謝反応における分子機構

成松鎮雄・比知屋寛之・竹味千恵
・山本重雄 (岡山大・薬)
・佐藤哲男 (霊長類機能研)

ヒトとサルとの薬物代謝機能に関する比較生化学的研究の一環として光学活性なβ遮断薬 Bufuralol (BF) の立

体選択的代謝反応をヒトとニホンザルの間で比較した。BF の側鎖には不斉炭素が一つあることから R-BF と S-BF のエナンチオマーが存在し、β受容体遮断活性は R-BF < S-BF である。ヒト肝ミクロソーム (Ms) においては、いずれの BF エナンチオマーも芳香環7位に付いたエチル基の1"位水酸化が主要な代謝経路であり、新たな不斉炭素を生じる (Fig 参照)。なお1"-OH-BF はβ受容体遮断活性が母化合物を上回る活性代謝物である。ヒト肝で1"位水酸化反応を主に触媒する CYP2D6 は遺伝子多型性を示すことで知られている。

ヒト肝 Ms による R-BF からの1"位水酸化体生成活性は1" R-OH < 1" S-OH, 一方 S-BF からは1" R-OH > 1" S-OH であり、酵母発現 CYP2D6 の選択性と一致した。ニホンザル肝 Ms による BF エナンチオマー酸化反応では、ヒトと同様に1"位水酸化体が主要な代謝物として生成し、代謝物ジアステレオマー生成活性はヒトと同様 R-BF からの1"位水酸化体生成活性は1" R-OH < 1" S-OH, S-BF からは1" R-OH > 1" S-OH であった。そこで、ニホンザル肝に存在する CYP 分子種の性質を検討するために、マーマセット CYP2D19 cDNA の塩基配列に基づいて調製したプライマーを用いた RT-PCR により、ニホンザル肝抽出 total RNA から cDNA を作製し、大腸菌ベクターである pBS にクローニングして塩基配列を決定した。次いでシャトルベクター pGYR1 にサブクローニングした後に酵母細胞にトランスフェクションし、還元酵素と共発現させた。このようにしてニホンザル肝より得られた CYP 分子種は推定アミノ酸配列においてヒト CYP2D6, カニクイザル CYP-2D17 及びマーマセット CYP2D19 と各々 99, 96 及び 88% の相同性を示し、CYP2D29 と命名された。BF 1"位水酸化反応において CYP2D29 発現酵母 Ms はニホンザル肝 Ms と同じ立体選択性を示すと共に、ニホンザル肝 Ms による BF 1"位水酸化反応は、ヒト CYP2D6 の特異的阻害剤 quinidine あるいはラット CYP2D2 抗体添加により、濃度依存的に阻害された。以上の結果より、ニホンザル肝にはヒト CYP2D6 と良く類似する CYP2D29 が存在し、光学活性医薬品の立体選択的酸化反応に寄与することが明らかになった。

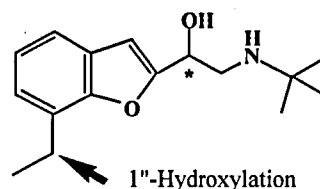


Fig. Bufuralol 1''-Hydroxylation. *Asymmetric carbon.