

リン)の至適添加濃度を知る目的で、2.5%と5.0%の比較を行った結果、2.5%のほうが融解後の精子の性状の回復は良好であった。さらに、保存容器として家畜で常用されているストローとバイアルの比較を行ったところ、ストローのほうが、融解後に良好な精子性状が得られた。

本研究で得られたニホンザルにおける以上の至適凍結条件は、昨年度までの共同利用研究において代表研究者がチンパンジーで得た至適条件とは若干異なっていた。

#### 34 アフリカ産霊長類の多様化過程に関する集団遺伝学的研究

嶋田誠(国立遺伝学研究所)

##### ガラダヒヒのABO血液型に関する研究

昨年度より引き続いて、ガラダヒヒ(*Theropithecus gelada*)のエチオピア3地点由来の血液標本をもちいた、ABO遺伝子のエクソン6および7領域の塩基配列および血清学的表現型に関する研究を行っている。

現在までのところ、遺伝子型判定の結果ではAB型4個体、B型1個体が確認されており、飼育個体約20頭における先行研究で記載されているすべてO型とする結果とは異なっていた。この結果の方が先行研究の結果より、他の旧世界ザルでO型が稀なタイプである事実と、整合性がある。今後検体数を増やし、血清学的表現型の検査を加えて総合的に考察したい。

##### ガラダヒヒのミトコンドリアDNA多型に関する研究

上記の研究で抽出したDNA試料をもちいて、ミトコンドリアDNA超可変領域1における塩基配列多型の検出を行っている。

#### 35 ニホンザルゲノム研究の基盤整備

斎藤成也(国立遺伝学研究所)

現在、日本にはヒト以外の霊長類のゲノムライブラリーとして、チンパンジーのBACライブラリーPTB(国立情報学研究所/理化学研究所ゲノム総合科学研究所の藤山秋佐夫教授が作成;文献1)、ゴリラのフォスミドライブラリー(国立遺伝学研究所の金衝坤・斎藤成也らが作成;論文投稿中)などが存在するが、日本に分布する旧世界ザルであるニホンザルのゲノムライブラリーは存在しない。そこで、藤山秋佐夫教授と共同で、ニホンザルのBACライブラリーを作成することになった。景山節教授の協力により、霊長類研究所で飼育維持しているオスのニホンザル1頭から血液を採取した。これをもとに、BACライブラリーの作成を進めている。作業が少し遅れているので、2003年度中に作成する予定である。作成したBACライブラリーは、霊長類の比較ゲノム研究にとって重要なリソースになることが期待される。

文献1:

Fujiyama A. and others. (2001) Construction and Analysis of a Human-Chimpanzee Comparative Clone Map. *Science*, vol. 295, No. 5552, pp. 131-134.

#### 37 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)

レプチンは主に白色脂肪細胞で産生され、脂質代謝や採食行動を調節するホルモンである。レプチン産生能を欠くob/obマウスは雌雄ともに不妊を示すことから、近年レプチンと生殖に関する数々の報告がなされている。

温帯以北に生息する多くのほ乳類は、季節繁殖性を示す。また、環境の温度変化に適応するため、食欲や代謝機構も季節によって変化しており、これらが季節繁殖のリズムと深く関わっていることが考えられる。熱帯-亜熱帯に生息するカニクイザルは周年繁殖動物であるが、温帯に生息するニホンザルは短日繁殖動物であり、実験室飼育下でも明瞭な季節繁殖性を示すことが知られている。そこで本研究では、雌カニクイザルと雄ニホンザルにおいて、人工照明下で12時間毎の明暗期に調節された室内飼育施設での1年間の血中レプチン濃度の変化を、ヒトレプチンRIA法で測定し、昨年(2002年)の雌ニホンザルの結果と併せて季節繁殖に伴うレプチンの役割を検討した。その結果、カニクイザルでは一年を通して血中レプチン濃度が同程度のレベルで推移することが明らかとなった。一方、雄ニホンザルでは、全体では血中レプチン濃度は有意な変化は示さなかったが、個々では、昨年(2002年)の雌の結果と同様に半数の個体では4月頃に高く、12月頃に低くなる傾向を示し、一定飼育条件下でも季節変化することが示唆された。本研究から、代謝機構が一年を通してあまり変化しないカニクイザルと比べ、ニホンザルでは、食物の少なくなる冬に、レプチン分泌を低下させる等、代謝機構を変化させ、脂肪を蓄積させるものと推察された。また、この脂肪蓄積が繁殖活動にとって重要な作用を及ぼしているものと推察された。

#### 38 霊長類における橈骨遠位部形状・力学特性の定量分析

菊池泰弘(佐賀医大・医・生体構造機能),

濱田穰(京都大・霊長研・形態進化)

行動様式の違いが知られているマカク3種(半地上性のニホンザル、樹上性のカニクイザル、地上性傾向のアカゲザル)を対象に、橈骨遠位部・断面形状の定量比較分析を行った。pQCT(末梢部定量的X線断層撮影装置)を用いて、全180個体を対象に下腕尺関節部位を撮像し、得られたCT画像から外部輪郭形状を抽出した。それらを極座標化することにより、変曲点として現れる輪郭上の5つのランドマークを決定した。それらによって区切られる5つの輪郭形状は、個体間・種間のいずれにおいても、腱溝や関節面と相同な解剖学的特徴と一致することが示された。この5つの輪郭形状サイズの比を、各部位に隣接する腱や骨の発達指標として種間比較分析を行った。分析の結果、アカゲザルがほかの2よりも相対的に大きな長母指外転筋を持ち、逆に、相対的に長・短橈側手根伸筋が小さいことが示された。アカゲザルでは手根関節が歩行時に内転傾向にあり、この結果はそうした歩行時の姿勢に関連する筋活動パターンと一

致することが示唆される。また、カニクイザルはほかの2種に比べ、相対的に尺骨切痕が小さく屈筋群が大きいことが示唆された。カニクイザルは、この3種の中では相対的に樹上性であり、強い把握力に関連して屈筋が発達し、大きな関節運動域のため関節面が小さいと考えられる。

#### 39 サルにおける環境化学物質の新しい代謝経路と内分泌攪乱作用

小嶋伸夫(名城大・薬)

我々は既に、フタル酸エステル類の新しい代謝経路を見出している。この経路は微量のアルコール存在下で進行し、アルコールとのエステル交換により、非対称あるいはアルキル鎖が短くなったジエステルを中間的に生成する。今年度は、フタル酸ジブチル(DBP)に対する肝酵素の代謝特性を調べるとともに、このエステル交換反応に関わる酵素群について検討した。

ニホンザル(雄)およびラット(SD雄)の肝抽出液を分析し、そのDBP分解活性を調べたところ、両者ともにミクロソーム画分の活性が最も高かった。代謝物の種類はブタ肝由来カルボキシルエステラーゼによるものと一致した。しかし、非変性PAGE・4-methylumbelliferone蛍光染色により非特異的エステラーゼを分離・検出した結果、ブタ肝カルボキシルエステラーゼで2種類の酵素が検出されたのに対し、サルおよびラット肝ミクロソームでは3種類の酵素を認めた。そのうちの1つはその泳動度からココインのエステル交換反応に関与する酵素に相当すると考えられる。これらの酵素を用いてDBPの代謝反応を行ったところ、上記3つのアイソザイムでそれぞれ異なるエステラーゼ・トランスエステラーゼ活性を示した。

また、これらの代謝物のin vitroにおける内分泌攪乱作用は親物質と同程度であった。

#### 41 秋から冬にかけてサルの主食となる果実の結実の年次変動

高槻成紀(東京大・博物館)

冷温帯に生息するニホンザルにとって秋から冬にかけての食物は樹木の果実であることが多い。これらの生産量は年次変動が大きく、そのことはサルにとって重大な意味をもつと考えられるが、これまで定量的な調査は行われていない。金華山島においてはブナ、ケヤキ、イヌシデがこれらに該当するので、その定量的把握を調査した。

2001年は3種とも凶作であったが、2002年は種ごとに結実が違った。ブナでは樹ごとに36-1252粒/km<sup>2</sup>と大きい個体変異があり、少なくとも一部の個体は豊作であった。これは2000年以降最多であったが、虫食いや「しいな」も多かった。これらを含めてさらに継続する必要がある。ケヤキも15-563粒/km<sup>2</sup>と変異が大きかった。大豊作であった2000年には1500-3000粒/km<sup>2</sup>もの結実数があったから、これに比較すると少なかった。またケヤキは小型種子を大量に生産するから個体ごとの結実数の変異は小さいと予想していたが、個体変異が大きいことが判った。イヌシデは31-51粒/km<sup>2</sup>と少なく、個体変異も小さかった。

このように凶作年の翌年であったが、結実量は樹種

ごとに違っていた。なお凶作年であった2000年にはカヤを集中的に採食したので、カヤにも5個のトラップを設置した。

#### 43 神経細胞の選択的破壊による運動視の阻害と神経再生

久恒辰博, 瀧瀬大輔(東京大・院・新領域)

本研究では、単一の神経情報伝達経路を物理的に破壊する技術の確立を目指した。更にこの方法により同期的に神経細胞死を起すと、破壊した場所で新たに神経細胞が生まれることが報告されており、神経細胞破壊後の神経細胞の再生を誘導することも試みた。

視覚情報の処理はまず網膜で光に関する情報が入力され、外側膝状体(LGN)を經由して大脳皮質の一次視覚野(V1)に入り、更にV2, V3, V4, MT野へと進み、視覚情報の処理は階層的に進むように見える。しかし、そうした階層化とは相容れない結合も多数ある。V1からMT野に直接投射する繊維もあれば、上位から下位へ逆行性に送られる繊維も存在しており、視覚情報は順次階層的に処理されるのではなく、複雑な経路を辿ることが分かっている。特に逆行性の神経投射が果たす役割はほとんど分かっていない。そこで本研究では、V1からLGNへ逆行性に投射する経路に着目し、この経路の選択的破壊を試みた。LGNに入力する最も多くの神経線維はV1からのものであり、このV1からLGNへの逆行性投射経路がLGNの機能に大きな役割を担っていると考えられる。

そして選択的神経細胞破壊を試みた後に、共焦点レーザー顕微鏡により蛍光免疫染色組織を三次元的に解析を行ったところ、幼弱神経細胞のマーカーたんぱく質を発現している新生細胞がV1で観察され、神経細胞の再生が誘導されている可能性が示唆された。

#### 44 霊長類の血中コレステロール値と遺伝子

竹中晃子(名古屋文理短大・食物栄養),

竹中修(京都大・霊長研・遺伝子情報)

アカゲザル#1334(インド群)は高コレステロール(CH)血症(283mg/dl)を示し、エクソン3に<sup>68</sup>Cys→Tyrの変異を有していることは既に明らかにしている。今回エクソン14にも<sup>648</sup>Arg→Metの変異も有していることが分かったので、どちらの変異が高コレステロール血症に関与しているか検討した。#1334の子供の#1557の総CH値は335mg/dlと高く、<sup>68</sup>Cys→Tyrだけの変異を有していた。同一家系の2頭はエクソン3の変異は有しておらず、また総CH値も低かった。

エクソン4はこれまでヒトのプライマーでは増幅できなかった。イントロン4のプライマーを既に配列を決定したマカクのエクソン5に置き換えたところ増幅できたので、塩基配列を決定した。ヒトのプライマーとは4塩基も異なっていた。また、エクソン4の381塩基の内26塩基がヒトと異なっており、異義置換が9つあり、6アミノ酸の置換は162から171番目に集中し、そのうち4つは荷電の変化を伴っていた。マカク用プライマーを新たに設定しDGGE分析を行った。カニクイザルとニホンザルに変異が見出され、現在塩基配列を決定中である。