

3-1 原猿類視物質レパートリーの生成と消滅に関する研究

久保寺直也(東京大・新領域・先端生命)

ショウガラゴ, スローロリス, ブラウンレムール及びニシメガネザルの青色視物質遺伝子をゲノムライブラリーよりクローニングし, 塩基配列を決定した. その結果, ブラウンレムールとニシメガネザルの青色視物質遺伝子は, その配列からオプシン遺伝子として正常に機能していることがわかった. 一方, ショウガラゴとスローロリスの青色視物質遺伝子は, すでに青色視物質遺伝子の偽遺伝子化が報告されているオオガラゴと共通した塩基の挿入と欠失が確認され, 偽遺伝子化していることが明らかとなった. このことから, オオガラゴ, ショウガラゴ, スローロリスにおける青色視物質遺伝子の偽遺伝子化は, 3種の共通祖先において生じたことが明らかとなり, ロリス科全体に共通した事象であると考えられる.

オオガラゴの桿体視物質と赤緑視物質については *in vitro* で視物質の再構成を行い, その吸光波長を測定し, 最大吸光波長 (λ_{max}) を決定した. 測定の結果, オオガラゴの桿体視物質と赤緑視物質の λ_{max} はそれぞれ 502 nm と 538 nm であった. 赤緑視物質の λ_{max} の値は一般的な値に比べやや短波長よりの値であった.

3-2 新世界ザル排泄物からの色覚型判定法の確立

平松千尋(東京大・新領域・先端生命)

多くの新世界ザルには色覚に大きな種内変異が存在する. これは, 赤緑視物質遺伝子が X 染色体上一座位に複対立遺伝子として存在することに起因する. 我々は野生新世界ザル集団を対象とし, 色覚の異なる個体の行動観察により遺伝子の機能を行動レベルで検証することを目指している. そのためには行動に影響を与えない非侵襲的な方法により各個体の色覚型を知る必要があるため, 排泄物から抽出した微量 DNA を用いた色覚型判定方法を確立することにした.

まず, 赤緑視物質の最大吸収波長 (λ_{max}) の違いに影響を与えるアミノ酸サイトを確定した. これまで霊長類においては主に3つのサイトで λ_{max} が決定されることがわかっていたが, 新世界ザルではそれらに加えて他の2つのサイトも効果が疑われていた. そこで培養細胞系を用いてリスザルの有する3種類(赤・黄・緑)の赤緑視物質および効果が疑われる2サイトに点変異を導入した視物質を再構成し, λ_{max} を測定した結果, これら2サイトには効果が無いことがわかった. これを受けて, 新世界ザル3種の糞 DNA から上記の3サイトを含む部分の PCR 増幅と塩基配列決定により色覚型を決定した. 判定結果は血液 DNA によるものと一致した. また, ヘテロ接合個体を見逃さないためには, 定量的 PCR で測定した DNA 含有量に基づく判定実験反復回数基準作りが有効と考えられた.

3-4 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(東京都神経研)

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比率を算定した. さらに long-range-PCR 法などの他の方法を駆使することによりこれらの遺伝子の配列順序を決定した. これら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 頭のみチンパンジーの DNA を調べることで 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. 今年度は三上らによってこのチンパンジーが網膜電位図あるいは改良型石原式色覚検査によって, 電気生理学的, 行動学的に色弱であることを証明することができた.

3-5 色覚異常チンパンジーの行動分析

齋藤慈子(東京大・院・総合文化研究科)

色盲・色弱は, 日本人男性では約 5% の割合で存在する. 一方, 旧世界霊長類では稀であり, 報告があるのはカニクイザル 3 頭と (Onishi ら, 1999), チンパンジー 1 頭 (寺尾ら, 未発表; 三上ら, 2002) のみである. 色覚異常の研究は色覚の処理機構解明の有力な手法であるが, 遺伝子型判定の結果が実際の個体の行動レベルまで反映されているか否かを調べる必要がある. 本研究では, 遺伝子解析の結果と行動レベルの表現型が一致するか否かを検証するため, 遺伝子解析と ERG により色覚異常と判定された三和科学研究所熊本霊長類パークのチンパンジー 1 個体 (ラッキー) と, 正常色覚と判定された 4 個体を対象に, WGTA による弁別テストをおこなった. 刺激には, 石原色覚テスト票を模して作成した図形を用いた. その結果, ラッキーは正常個体が弁別できた刺激を弁別できなかった. このことから, チンパンジーの色弱個体の存在を行動レベルで初めて確認することができた.

4-1 ニホンザルの子どもの社会関係の発達に影響を及ぼす社会的要因の研究

柏原将(京都大・霊長研・社会構造)

嵐山 E 群の新生児 10 個体を対象とし, 子どもの社会関係の発達に影響を及ぼす社会的要因について検討した. 新生児を個体追跡法によって観察し, 新生児にかかわる全ての社会交渉を記録した. とくに, 生後 3 ヶ月齢頃に頻繁に見られた母親以外の個体からの子守り行動について分析を行った. その結果, オスはほとんどこの時期の赤ん坊とかかわることはなく, 子守り行動のほとんどがメスによって行われることが明らかになった. また, 子守り行動を受ける頻度には, 赤ん坊の性別や母親の順位による明確な差はみとめられなかった. ただし, グルーミングに関しては, 母親の順位が高いほど, その赤ん坊は母親以外の個体からグルーミングされる頻度

が高い傾向があった。また、赤ん坊の母親より高順位のメスが、より頻繁に子守り行動を行う傾向があることも明らかになった。さらに、子守り行動の種類によって分けて分析した場合、「運ぶ」、「抱く」、「つかむ」といった比較的強引であると考えられる行動では、母親より低順位のメスよりも、母親より高順位のメスによって多く行われる傾向が明確であったが、「触る」、「グルーミングする」といった比較的穏やかな行動では順位による差はあまり明確ではなかった。子守り行動の中にみとめられるこのような高順位メスとのかかわりが、今後の子どもの社会的発達に及ぼす影響を検討することが必要であると考えられた。

4-2 野生ニホンザル・群れ外オスのグループ形成過程の研究

金森朝子

これまでの調査で、群れ外オスは、流動的なグルーピングを頻繁に行っていることが明らかになってきた。グルーピング初期に見られる群れ外オス同士の親和的交渉はその社会関係を形成・維持する上で重要な意味を持つと予想され、実際にどのような交渉をしているのかは非常に興味深い。これまで、オスグループの形成過程においては、出会いの直後にマウンティングとグルーミングが一連の行動として見られ、一方、解消の過程では、両者とも、特別な反応は示さずに離れて行くことが分かっている。

調査は、宮城県金華山島で行った。平成14年度の調査により群れ外オスの全観察時間が30時間(計30日間)増加し、識別個体は、4頭増加し、21個体になった。平成13、14年の調査で、グルーピング初期にマウンティング→グルーミングが行われたのは7例、マウンティングのみは1例、特に社会的交渉がないのは1例であった。特に両者に年齢差がある場合は、年長者のマウンティングによって、親和的行動が開始されていた。一方、グルーミングは、マウンティである年少者から開始され、かつ、年少者はグルーマーとして長く振舞うという傾向がみられた。例数は少ないものの、年齢差または体格差がある場合に見られる社会的交渉の特性が見られた。

4-4 高崎山ニホンザルにおける幼児成長の性差について

栗田博之(大分市・企画)

高崎山自然動物園で餌付けしている群れで2002年に出生した個体を対象として、体重成長の性差を調べた。なお、研究期間途中でA群が餌場に出現しなくなったため、C群のみでの調査となった。

体重測定の方法はKurita et al. (2002: Int J Primatol, 23: 411-428)と同様である。また、調査期間および時間帯は、2002年4月から2003年4月までの午前10時から12時までである。

性差を比較した項目は、120日齢・180日齢時体重および生後240日間のデータに基づく成長速度である(前述の先行研究より、生後240日間はほぼ直線的に体重が増加することがわかっており、一次回帰式の傾きを成長速度とした)。

120日齢時体重の性ごとの標本数、平均値および標

準偏差は、オス: 6; 1,190±180 g; メス: 5; 1,100±87 g, 180日齢時体重では、オス: 5; 1,400±257 g; メス: 6; 1,320±172 g, 成長速度では、オス: 5; 3.9±1.59 g/day; メス: 5; 3.9±0.67 g/dayであった。いずれも明確な性差は認められなかったが、メス個体間よりもオス個体間でばらつきが大きい傾向があった。

5-1 サルのストレス関与酵素系に関する基礎的研究

手塚修文(名古屋大・人間情報学)

サルは他の動物と同様、生活環境などの違いにより、行動・体調・病的症状などに変化が見られる。これらの変化は一種のストレス応答に関連する酵素活性の変動・遺伝子の発現機構に関与していると思われる。2002年度は、ニホンザルの肝臓からの酵素のなかで有機ゲルマニウム $[(\text{GeCH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_2\text{O}_3]$ が $1\mu\text{M}$ の低濃度で活性酸素種のうち $[\text{O}_2^-]$ を生成するNAD(P)H酸化酵素ならびにキサントニン酸化酵素の活性を(非競争阻害的モジュレーターとして)50~80%抑制し、 $[\text{O}_2^-]$ の分解と同時に $[\text{H}_2\text{O}_2]$ を生成するスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)、並びに $[\text{H}_2\text{O}_2]$ を分解するカタラーゼ活性を80~90%以上もの著しく促進することを明らかにした。

因みに、この有機ゲルマニウムは、医学領域においてガン・ウイルス感染・白内障・老人性アミロイドーシス形成高血圧・骨粗しょう症・脳障害・などの進行抑制、インターフェロン・インターロイキン産生促進などの効果を示すことが知られている。特に免疫細胞に対する活性化作用は著しい。また、有機ゲルマニウムには抗酸化作用・臓器保護作用などの生理的効果が知られていることから、この化学物質をエサに添加して摂取させれば、例えサルは不良環境における生活を余儀なくされた状況下でも抗ストレス、つまりストレスを軽減する酵素系の調節機構が有効に働いて、体調不良・感染症などの病状に陥る確率は低くなるかもしれない。

5-2 T細胞分化過程におけるレトロウイルス感染と分化異常の解析

速水正憲, 伊吹謙太郎, 大倉定之,

元原麻貴子(京都大・ウイルス研・感染症態)

今年度は、供与していただいた正常アカゲザル胸腺(6歳令 1頭)を用いて、xenogenic monkey-mouse fetal thymus organ culture (FTOC) system で immature thymocyte(CD3-/4-/8-)を mature thymocyte (CD3+/4+/8+)に分化させることが可能かどうか検討を行った。まず、胸腺細胞から sortingにより immature thymocyte のポピュレーションを採取した。それを deoxyguanosine 処理し上皮ネットワーク様構造のみにしたマウス胎仔胸腺に加えて高酸素浸漬培養(HOS培養)を行ったところ、培養8日目では immature thymocyte のままであったが、13日目になると細胞増殖が認められ、27%が mature thymocyte に分化していた。さらに16日目では69%が mature thymocyte に分化・増殖する事が明らかになった。以上のことから、この系を用いることにより in vitro で胸腺細胞の増殖・分化過程をより in vivo に近い状態で観察することが可能になった。今後さらに例数を増やすことによりこの系の評価を行っていくと共に、この系を用いてウイルス感染による胸腺細胞の分化過程への影響を検討していきたい。