

から、再現性の高いニホンザル精子の精液採取法と凍結保存技術の確立に関する研究を行っている。

これまでの研究で、電気刺激による精液採取法は確立したが、昨年度に引き続いての凍結保存法の開発は、シーズン初めの霊長研の分析装置の故障により、今年度は実施できなかった。

しかしながらこれまでの予備的な実験の結果から、ニホンザルにおける精子の至適凍結条件は、代表研究者が以前、チンパンジーで得た至適条件とはかなり異なり、希釈液と保存容器については、それぞれ修正 TTE とプラスチック製ストローが、また凍害防止剤については DMSO よりもグリセリンが好適で、その濃度は 2.5% が最適であった。また冷媒には、液体窒素ガスを用いて急速に凍結するほうが適当と思われた。今後、分析装置の再導入を待って、確認の実験を行いたい。

### 5-3 テナガザル類の Y 染色体解析用分子マーカーの作製

田口尚弘 (高知大・黒潮圏海洋科学・海洋健康医科学)

染色体顕微切断法を使って、テナガザルの微小 Y 染色体を標的としたプローブの作製、およびクローニングを施行した。テナガザル Y 染色体から顕微切断で得られた DNA 断片を PCR で増幅し、得られた産物の由来部位を FISH 法で確認した。プローブ化した PCR 産物はテナガザルの微小 Y 染色体全体に分子雑種形成したので、プローブ作製の成功を確認できた。次にこのプローブの TA クローニングを行い、2 つのクローンからシークエンスを得ることができた。両者はほぼ同じ塩基配列であった。データベースでその塩基配列を検索したところ、チンパンジー Y 染色体で報告されているクローンと類似性を得た。また、ヒトの Y 染色体上の DAZ (無精子症欠失部) 遺伝子中の反復配列と高度の類似性を示した。さらに、FISH 解析で、このプローブの存在部位の種間比較を行った。アカゲザル Y 染色体ではシグナルは得られなかったものの、チンパンジーとヒトの Y 染色体ではユークロマチン部分にシグナルが得られた。従って、このプローブは類人猿、ヒトの Y 染色体のマーカーとして有用であることが分かった。

### 5-4 霊長類培養細胞株の樹立

明里宏文 (国立感染症研究所・筑波霊長類センター)

本研究では、報告者が以前確立した HVS 不死化法に基づく霊長類機能細胞の不死化技術を応用して、多

様な霊長類由来細胞株の樹立を試みた。その結果、今年度は新たに旧世界ザルとしてブタオザル (3 株)、新世界ザルとしてコモンマーモセット (2 株)、アカタマリン (1 株)、コモンリスザル (1 株)、ヨザル (1 株) の樹立に成功した。昨年度までに独自に樹立したものと合わせて、これまでに 9 種類 26 細胞株が樹立されている。今後はアフリカミドリザル、ヨザル、コモンリスザル、テナガザル、フサオマキザル等の不死化細胞株の樹立を進めるとともに、それぞれの樹立細胞株についての特性解析を行う予定である。

本研究成果により、サル類による動物モデル研究・開発等トランスレーショナルリサーチにおいて、細胞レベルの解析が可能となる。このことは動物実験を極力避けるべきとする国際的傾向とも合致するものであり非常に有意義であると考えられた。

### 5-5 ヒト特異的機能遺伝子およびヒト特異的偽遺伝子の探索

郷康広 (総合研究大学院大・先端科学)

本研究は、種の個別性・特異性の遺伝的基盤を明らかにするために、ヒトおよび旧世界ザルの各臓器において種特異的に発現している、もしくは発現していない (偽遺伝子化も含む) 遺伝子を探索することを目的とした。

昨年度、方法を確立するために行った実験の結果、ヒト上皮細胞でマウス上皮細胞と比較した結果、発現が有意に低下している 51 個の候補遺伝子 (多くの RNA 遺伝子を含む) を同定した。本年度は、その結果を受け、系統的によりヒトに近いマカク属を対象とし、より広範におよぶ解析をするために、各種臓器 (肝臓・膵臓・脾臓・精巣・胎盤) の収集につとめた。また、遺伝子発現の個体差を考慮し、各臓器に対して、4 個体以上からのサンプルの収集を行い、RNA 抽出・cDNA 合成まで行った。すでに方法は確立されているので、次年度以降、引き続きのサンプル収集を行うとともに、実験・解析をすすめ、ヒト化に至る過程で発現が亢進・抑制された候補遺伝子を絞り込み、その生物学的・進化的な意味付けを行う。

### 5-6 霊長類染色体の 3 次元核内配置と核型進化・系統進化に関する研究

田辺秀之、宝来聡 (総合研究大学院大・先端研・生命体)

本研究は、霊長類各種における核型分析データを参照しながら、間期核における染色体テリトリーの 3