

1-4 霊長類味覚受容体の同定と味覚修飾物質による甘味増強・酸味抑制機構の解明

石丸喜朗（東京大・院・農学生命科学）

対応者：今井啓雄

行動学的な二瓶嗜好テストと電気生理学的な味神経応答解析から、人工甘味料アスパルテームやサッカリンを甘味として感じるか否かは、進化的には旧世界ザルと新世界ザルの間に境界があると報告されている。本研究では、その分子機構に関する知見を得ることを目的として、アカゲザルとコモンマーモセットの甘味受容体 T1R2/T1R3 を同定し、培養細胞発現系を用いた機能解析と *in situ* ハイブリダイゼーション法による遺伝子発現解析を行った。

まず、RT-PCR 法、3'-RACE 法、及び、オーバーラッピング PCR 法によってゲノム DNA 由来のエキソン領域を連結する方法を用いて、T1R2 と T1R3 のコード領域全長を pBluescript ベクターや pEAK10 発現ベクターに挿入した。次に、T1R2 と T1R3 を G タンパク質 G16/gust44 と共に HEK293T 細胞に発現させて、様々な甘味物質に対する応答をカルシウムイメージング法を用いて解析したところ、行動学的・電気生理学的解析における知見と良く一致する結果が得られた。すなわち、甘味受容体の異なる種間におけるアミノ酸配列の違いが、甘味物質に対する感受性の有無を決定することが明らかとなった。最後に、アカゲザル味蕾における発現解析を行ったところ、T1R ファミリーと酸味受容体候補 PKD1L3 は、茸状・葉状・有郭乳頭全てで発現していた。今後、味覚受容体遺伝子間の発現相関解析を行うことを計画している。

1-5 ゲノム解析によるテナガザル類の種分化過程の解明

天野（早野）あづさ（京大・院・理）

対応者：平井啓久

テナガザル類は短期間のうちに非常に多くの種に分化し、東南アジアの熱帯雨林に適応放散した進化生物学的に興味深い分類群である。しかし、調査や試料採集が困難であるため多数のサンプルに基づいた遺伝学的研究は少ない。本研究では、貴研究所の共同研究プロジェクト等で採集されたフクロテナガザルの DNA サンプルが多数蓄積されて来たことに注目し、それらのサンプルについてミトコンドリア DNA (mtDNA) のコントロール領域の塩基配列を決定し配列変異の解析を行ない、集団内の遺伝的組成や遺伝的多様性について評価することを目的とした。2003、2005、2006 および 2008 年にインドネシア各地の動物園等で飼育されていたフクロテ

ナガザル 34 個体の血液サンプルから抽出された DNA を解析に用いた。これらの個体は全てインドネシアスマトラ島産であると考えられる。MtDNA 塩基配列決定は、Ross and Geissmann (2001, Mol. Phylogenet. Evol. 19:486-494) に記載のプライマーセットを用いてコントロール領域全域を含む約 1,200 塩基対の DNA 断片を PCR 法により増幅し、Andayani et al. (2001, Coserv. Biol. 15:770-775) に記載のプライマー 4 種類をもちいてサイクルシーケンス法により得られた産物を ABI3130XL オートシーケンサーで分析することにより行った。今後は外部形態に差異が見られるといわれるマレー半島産のフクロテナガザルの解析を加え、フクロテナガザルの遺伝的組成の地域差や地理的分化の過程について解明していきたい。

1-6 生体防御系の霊長類比較ゲノム研究とその機能解析研究

安波道郎（長崎大・熱帯医学研究所）

対応者：平井啓久

マカク属霊長類に属するアカゲザル、カニクイザル、ニホンザルは、ヒトの疾患を反映するモデルとして病態解析や治療法開発に有用である。これら 3 種のマカク属霊長類は共通の祖先に由来しているが、種分化に加え種内においても、熱帯感染症感染因子など生息地域によって異なる環境の影響下に、生体防御系の遺伝子に多様性を生じているものと想定される。

これまでに獲得免疫における個体の特性を規定する主要組織適合性複合体 (MHC) クラス I の複雑な多様性を解析する方法を開発したが、免疫が成立する以前に宿主に元々備わっている感染因子に対する自然抵抗性に関しても、遺伝的に規定される個体差があると考えられる。ヒトやマウスでは Toll 様受容体 TLR2 および TLR4 の変異や多型が細菌や真菌由来の物質の認識を変化させることから、3 種のマカク属霊長類について TLR2 および TLR4 遺伝子の塩基配列を解析し、種内および種間での非同義置換頻度を評価した。その結果、遺伝子全体では機能的制約によって非同義置換は頻度が低い傾向にあるが、局所的に非同義置換の集積する部分が認められた。この部位のアミノ酸置換の分子機能への効果を解明する目的で、数種類の TLR2 および TLR4 を HEK293 細胞に強制発現させ、それぞれのリガンドである合成リポペプチドおよびグラム陰性桿菌の LPS への応答を検討したが、応答能には大きな違いは見られなかった。

[文献] 発表準備中