E-13 霊長類における旨味受容体 T1R1/T1R3 のアミノ酸応答性の評価

三坂巧, 石丸喜朗, 戸田安香(東大院・農生科) 所内対応者：今井啓雄

旨味受容体 T1R1/T1R3 は多種類のアミノ酸に対し応答することが知られているが、ヒトとマウスでは応答するアミノ酸の種類が異なる。本研究では、味覚受容体発現細胞を用いた味の評価技術を利用し、様々な動物種の旨味受容体のアミノ酸応答性を調査し、旨味受容体のアミノ酸配列の違いとアミノ酸への応答性の違いを比較検討することを目的としている。

まず、リスザル、マントヒヒの肝臓サンプルからゲノム DNA を抽出した。得られたゲノム DNA を鋳型として、旨味受容体遺伝子 TAS1R1 のコード領域をゲノム PCR 法により取得した。配列確認を行ったところ、ヒト T1R1 との相同性は、アミノ酸配列でリスザル T1R1 が 88%、マントヒヒ T1R1 が 93%であった。リスザル、マントヒヒともに、T1R1 のリガンド選択性に関与する残基として推定している残基に、ヒトとは異なるアミノ酸残基を保有していたため、ヒト T1R1 とは異なるアミノ酸応答性を示すことが期待された。続いて、機能解析を行うために、オーバーラッピング PCR 法を用いて TAS1R1 の 6 個のエキソン領域を連結させ、T1R1 コード領域全長を哺乳類細胞発現用ベクター(pEAK10)に挿入した。今後、得られた発現プラスミドを用いて培養細胞系により、これら非ヒト霊長類 T1R1 のアミノ酸応答性を評価する予定である。

E-14 クロリン e6 の逆行性輸送と光反応による投射選択的神経破壊法の開発

纐纈大輔(生理研・生体システム) 所内対応者：宮地重弘

運動情報処理のメカニズムを深く理解するためには、脳の運動関連領野を繋ぐ各経路がどのような運動情報の出力を担っているのか詳細を明らかにすることが必要である。そのためには、特定の投射経路を選択的に破壊できれば、その経路の機能を行動レベルで明らかにできるはずである。そこで本研究では、逆行性神経トレーサーと光増感物質クロリン e6 と近赤外光レーザー照射を利用した経路選択的破壊技術の確立を目指す。クロリン e6 は、近赤外光照射 により活性酸素を発生し、神経細胞を破壊することが知られている。この物質を効果的に神経終末から取り込ませ、逆行性軸索輸送させる ことができれば、きわめて簡便に投射選択的な神経破壊が実現できるはずである。そこで高効率の逆行性輸送物質であるデキストランを利用し、このデキストランとクロリン e6 を化学的に結合したものをサルの一次運動野に注入した。その結果、運動前野へのデキストラン－クロリンの逆行性輸送が組織学的に観察され、より効率的にサルの中枢神経系でクロリン e6 が逆行性輸送されることが確認できた。以上の結果から、デキストラン－クロリンを用いることでサルでの選択的神経破壊が可能になると考えられる。

E-15 ニホンザルを対象とした高解像度 CNV スクリーニング解析

尾崎紀夫, Aleksic Branko, 久島周(名古屋大・院・医学系研究科・精神医学分野) 所内対応者：郷康広

自閉症スペクトラム障害、統合失調症の発症に強い影響を及ぼす稀なゲノムコピー数変異(copynumber variant;CNV)が近年多数同定された。本研究では、精神疾患の妥当性の高いモデル動物を同定することを企図して、ニホンザルを対象とした CNV 解析を実施した。

ニホンザル 198 頭の末梢血から抽出されたゲノムを用い、array CGH(comparativegenomichybridization)で高解像度の CNV 解析を行った。本研究では特に表現型への強い影響が期待される頻度の低い稀な CNV に焦点を当てた。

その結果、数 10kbp 程度の小規模 CNV から数 Mb 程度の大規模 CNV までが同定された。その中には神経発達に関連する遺伝子に機能的な影響を与えるもの(特に遺伝子のコーディング領域と重なる部分の欠失)が含まれていた。さらに精神疾患の発症脆弱性への関与が報告された遺伝子に機能的な影響を与えうる CNV も見出した。

これら CNV を有する個体は精神疾患の霊長類モデルとなる可能性があり、表現型を含めた詳細な検討が必要である。

E-16 チンパンジーiPS 細胞の樹立と薬物動態研究への応用

松永民秀, 中村克徳, 岩尾岳洋, 佐藤大介, 小玉菜央, 奥村啓樹(名市大・院・薬), 鵜飼茜(名市大・薬)
所内対応者：今井啓雄

【目的】本研究は、チンパンジーiPS 細胞由来肝細胞を用いて薬物動態試験等に利用可能なモデル系の構築並びにサルやヒトとの種差の原因を進化の過程から解明することを最終目標とする。本年度は、iPS 細胞樹立及び分化の技術習得のため、チンパンジーの iPS 細胞樹立研修、ヒト及びマーモセットの iPS 細胞樹立及び iPS 細胞の肝細胞への分化と薬物動態試験を目的とした。

【材料】マーモセット線維芽細胞は、鹿児島大学の宮田教授より、ヒト iPS 細胞は国立成育医療研究センターの梅澤博士よりご供与頂いた。ヒト iPS 細胞の樹立は、生体肝移植患者より提供頂いた体細胞を用い、倫理委員会の承認内容を遵守して行った。

【結果】チンパンジー線維芽細胞から iPS 細胞樹立研修は、慶応義塾大学医学部生理学教室にて行った。また、ヒト iPS 細胞は、皮膚及び肝非実質細胞より山中因子を導入することにより樹立し、多能性、未分化マーカー高発現、アルカリホスファターゼ発現を確認した。ヒト iPS 細胞に関しては、低分子化合物を用いることにより効率よく分