

2016-D-25 サル初代分離細胞における変異型サル免疫不全ウイルスの増殖

塩田達雄、中山英美、齊藤暁（大阪大学微生物病研究所） 所内対応者：明里宏文

本年度、3頭のカニクイザル血液から分離したCD4陽性T細胞において、カプシド領域に点変異を導入することで非分裂期細胞に感染しないよう変化させた変異型サル免疫不全ウイルス（SIV）の増殖特性を調べた。その結果、変異型SIVの増殖は野生型SIVとほぼ同程度であることがわかった。今回用いたCD4陽性T細胞はPHAおよびIL-2を用いて活性化状態を誘導してから感染に用いたことから、少なくとも活性化CD4陽性T細胞での増殖において変異の影響は限定的であることが示唆された。次年度以降は、マクロファージおよび静止期CD4陽性T細胞を用いた感染実験を行うことで、これらの細胞種における変異の影響を明らかにしていきたい。また、アカゲザルとカニクイザルではSIVに対する感受性が異なるという過去の報告があるため、それぞれの血液から採取した細胞を用いて、ウイルス感染実験を行い比較検討していきたい。

2016-D-26 Sequencing of huntingtin orthologs in several primate species

Elena Cattaneo、Giulio Paolo Formenti (University of Milan) 所内対応者：今井啓雄

Within the framework of the project "Intermediate allele identification in non-human primates through Htt Exon1 sequencing" I have spent three weeks at Primate Research Institute with the general goal of sequencing Htt orthologs (rHtt – real Htt) and paralogs (pHtt) in up to 107 samples belonging to different individuals from 34 non-human primate species. These samples were available through PRI and their collaborators (essentially Japanese Monkey Center – JMC). We are after the identification, if present, of a primate species with Htt genetic features similar to humans (i. e. high number of CAG repeats). Incidentally, the presence of an Htt pseudogene (pHtt) in the family of Callithricidae could also be investigated.

When at PRI, I immediately met the PRI collaborator from the Japanese Monkey Center at their annual meeting to establish a cooperative research effort that would have allowed samples retrieval. During the same meeting I have also presented in public our experimental plan.

After PRI 50th anniversary I have installed in the laboratory, verified the presence of all consumables that were previously ordered and started a series of preliminary experiments with the DNA already available.

While the preliminary experiments were on-going (PCR amplification, cloning, plasmid extraction and sequencing) I received a first batch of 12 from PRI tissues by Dr. Nagume Tani for DNA extraction, from which DNA was extracted and the samples were also processed. That week I have also presented our experimental plan to the weekly meeting of the Molecular Biology Section.

Finally, we could meet with Dr. Takashi Hayakawa from JMC to decide which samples to process from their tissue bank. We firstly decided to focus on New World Monkeys (100 samples): some of them harbour both rHtt and pHtt and represent a group of usually small primates, potentially suitable for disease modelling.

While I kept processing the first 12 samples from PRI I have prepared the first 21 tissue samples from JMC for DNA extraction. However I have noticed that when amplifying the Callithricidae samples, where both rHtt and pHtt is present, we get preferential amplification of pHtt over rHtt. So I designed a new strategy to selectively amplify the rHtt in those species. Despite this, amplification of rHtt in three new species (*S. sciureus*, *A. trivirgatus*, *A. belzebut*) was achieved.

Results from sequencing of the samples from first 12 samples from PRI suffers the same issue reported above (i. e. preferential amplification of pHtt over rHtt) and moreover in JMC samples pHtt is present where it should not suggesting that there could have been some DNA contamination in the sample. This is possible since Dr. Hayakawa had reported that several of these samples were very old.

I have cloned and sent plasmid for sequencing from tissue samples of JMC, and started to apply the new strategy for assessing only rHtt.

Unexpected events related to personal matters forced me to return back to Italy ahead of time. At that point, results of sequencing for JMC samples were not conclusive. They suggested that some contamination is likely to be present but that it is also possible to sequence rHtt/pHtt from them. I was also unable to obtain results for the new strategy for assessing only rHtt in time. However I have applied it successfully once back in Italy, implying that it can be used also on the Japanese samples.

3. 平成28年度で終了した計画利用研究

アジア産霊長類の進化と保全に関する国際共同研究

実施期間 平成26～28年度

課題推進者 川本芳、マイケル・ハフマン、半谷吾郎、辻大和、アンドリュー・マッキントッシュ、田中洋之

本課題は、生態学・行動学・集団遺伝学・寄生虫学の視点から、アジア産霊長類の進化ならびに保全に関わる研究を推進することを目的に3年計画で実施した。原則的に海外研究者を含む研究課題を採択し、国際共同研究を活性化させることに重点を置く計画とした。この結果、3年間にアジアの6カ国（ミャンマー、スリランカ、ネパール、ブータン、ベトナム、台湾）から7名延べ13件の応募を採択し共同研究を実施した。3年目には研究所で初めて共同利用研究会を海外（スリランカ）で開催し、課題研究の情報交換と研究成果の総括を行った。この結果、①種の多様性と系統あるいは系統地理、②多様な環境における個体群生態、③人との摩擦および保全管

理、④外来種および雑種への対策、に関する研究でアジア各国の霊長類研究者のネットワークを拡大し、進化や保全に関する研究情報や技術の交流を促進することに成功した。

研究実施者

<平成26年度>

H26-A4 Phylogenetic and population genetic studies for conservation of nonhuman primates in Myanmar (Aye Mi San)

H26-A15 The genetic profile of Taiwabese Macaque groups (Su Hsiu-hui・Fok Hoi Ting)

H26-A23 Study on phylogeography of macaques and langurs in Nepal (Mukesh Chalise)

H26-A24 Study of ecology and phylogeography of primates in Sri Lanka (Charmalie Anuradhie Dona Nahallage)

<平成27年度>

H27-A4 MtDNA phylogeography of slow lorises in Vietnam: Conservation and reintroduction program (Hao Luong Van)

H27-A5 Phylogenetic and population genetic studies for conservation of nonhuman primates in Myanmar (Aye Mi San)

H27-A12 Ecological and phylogeographical study on Assamese macaques in Bhutan (Tshewang Norbu)

H27-A26 Molecular classification of the grey langur and purple-faced langur in Sri Lanka (Charmalie AD Nahallage)

H27-A36 The genetic profile of Taiwanese macaque groups (Hsiu-hui Su)

H27-A37 Study on phylogeography of macaques and langurs in Nepal (Mukesh Chalise)

<平成28年度>

H28-A1 Phylogenetic and population genetic studies for conservation of nonhuman primates in Myanmar (Aye Mi San)

H28-A20 Study on phylogeography of macaques and langurs in Nepal (Mukesh Chalise)

H28-A21 Ecological and phylogeographical study on Assamese macaques in Bhutan (Tshewang Norbu)

4. 共同利用研究会

「ニホンザル研究・若手とシニアのクロストーク」

日時：2016年6月25日(土)・26日(日)

場所：京都大学霊長類研究所 大会議室(参加人数：48人)

本研究会は昨年度までの『ニホンザル研究セミナー』を母体に、①若手研究者による修士・博士課程の研究の発表、②シニアの研究者による、若手の発表へのコメントと最近のニホンザル研究のレビュー、③ポスター発表による修士・博士研究の途中経過の発表の3コーナーで構成し、多くのニホンザル研究者に発表の機会を提供した。今回は口頭発表6件、ポスター発表10件の発表があり、行動・生態・保全などさまざまな分野でニホンザルの野外研究を行っている研究者が、討論を通じて相互の連携を強化することができた。

<プログラム>

6月25日(土)

12:55-13:00 趣旨説明

13:00-14:00 勝 野 吏子(大阪大学大学院人間科学研究科) 嵐山集団のニホンザルにおける関係調整音声の用法とその発達

14:00-15:00 谷口 晴香(京都大学大学院 理学研究科) 離乳期のニホンザルのアカンボウにおける採食行動と伴食関係に生息環境が及ぼす影響

15:00-15:15 休憩

15:15-16:15 青木 孝平(東京都恩賜上野動物園) 動物園のニホンザル研究

コメンテーター：中道正之(大阪大学大学院 人間科学研究科)

16:15-17:15 島 悠希(京都大学大学院 理学研究科) 野生ニホンザルにおける休息時の接近行動と他個体間の親和的關係の理解

コメンテーター：小川秀司(中京大学 国際教養学部)

17:15-18:30 ポスター発表

P-1 栗原 洋介(京都大学霊長類研究所) 屋久島西部林道におけるニホンザルの食物受け渡し行動

P-2 井上 光興(東京都調布市)・辻大和(京都大学霊長類研究所) 野生ニホンザルによるモリアオガエル泡巣の採食事例

P-3 橋本 直子(京都大学霊長類研究所) 飼育ニホンザルにおけるコントラフリーローディングにもとづく採食エンリッチメントの検討

P-4 寺山 佳奈(高知大学大学院総合人間自然科学研究科) 高知県中土佐町におけるニホンザルの環境選択

P-5 Lucie Rigail (Primate Research Institute) Does female urine modulate male sexual behaviors in Japanese macaques?

P-6 Julie Dubosq (Wildlife Research Centre, Kyoto University) Connecting the dots: linking host behavior to parasite transmission and infection risk