

可能になった。現在はさらなるアミノ酸の変異体実験を進行中であり、並行して赤・緑感受性視物質間におけるアミノ酸及び水分子によって形成される水素結合ネットワークの違いが波長制御に及ぼす影響について論文を作成中である。

霊長類色覚視物質の構造解析は、今もって達成できているグループは世界中で我々だけであるが、本共同研究プロジェクト始動から6年目を迎える段階にきてようやく、構造基盤に立脚した詳細な赤・緑の波長制御機構が議論できるようになった。平成25年度は青視物質の構造解析に挑戦する予定であり、今後も色覚視物質の構造解析の成果を世界に発信できる点を踏まえ、支援いただいている霊長研に改めて謝意を表したい。

B-11 遺伝子分析を利用した飼育下のワオキツネザルの父系判定の研究

佐藤百恵, 中尾汐莉, 高木幸恵, 清水大輔((財)日本モンキーセンター) 所内対応者: 川本芳

マダガスカルのパレンティ保護区のワオキツネザル調査で父子判定に利用されているマイクロサテライト DNA マーカーのうち、Lc5、Lc6、Lc8、Lc9、47HDZ236、69HDZ208、69HDZ091、69HDZ03 の8遺伝子座について日本モンキーセンター(以下JMC)で飼育するワオキツネザルの遺伝的多型を検索した。溶解緩衝液入りチューブに体毛を採取し、そこから Kawamoto et al. (2013)の方法に従って抽出したDNAを分析試料とした。プライマーによる増幅がみられるか、現存する若齢個体の父親になる可能性があるすべての性成熟雄14個体と、試験的に雌2個体で実験したところ、いずれのマーカーでも顕著な遺伝子多型がみられた。

結果の再現性が十分に確認できていない Lc9 と 47HDZ236 を除き、6種類のマーカーの結果からソフトウェア GenAlEx6.5 で計算した結果、個体判別確率は0.9947、一般父権否定確率は0.9871となった。この6種類のマーカーを利用すれば、JMC内で産まれたワオキツネザルの父親を高い確率で判定することができることがわかった。来年度の研究では、実験条件と標識特性が確認できたこれらのマーカーを利用し、母子の遺伝子型を調べて父親を特定しコロニーの家系図を作成する予定である。

B-12 霊長類の各種の組織の加齢変化

東超(奈良県医大・医) 所内対応者: 大石高生

加齢に伴う喉頭の甲状軟骨のミネラル蓄積の特徴を明らかにするために、サルの甲状軟骨の元素含量の加齢変化を調べた。用いたサルはアカゲザル10頭、ニホンザル1頭、カニクイザル3頭、年齢は1月から27歳、雄雌は雄9頭と雌5頭である。サルより甲状軟骨を採取し、硝酸と過塩素酸を加えて、加熱して灰化し、元素含量を高周波プラズマ発光分析装置(ICPS-7510、島津製)で分析し、次のような結果が得られた。

- ①サルの甲状軟骨のカルシウム平均含量は30.9 mg/gで、カルシウム蓄積が生じやすい軟骨であることが分かった。
- ②サルの甲状軟骨のカルシウム、リン平均含量は年齢とともに有意に増加した。
- ③サルの甲状軟骨のカルシウム含量は7歳以上になると顕著に増加した。この結果からサルの甲状軟骨において一定年齢を超えると石灰化が始まることが分かった。
- ④カルシウム、リン、マグネシウム元素間に非常に高い有意相関が認められ、カルシウム、リン、マグネシウムが甲状軟骨に同時に蓄積されることを示している。

B-13 サル脊髄由来間質系幹細胞の培養とその移植によるラット脊髄損傷修復効果の検討

古川昭栄, 福光秀文, 宗宮仁美(岐阜薬大・分子生物) 所内対応者: 大石高生

ラット脊髄損傷部位に FGF-2 を注入すると脊髄に固有の間葉系細胞(FGF-2誘導性フィブロネクチン陽性細胞: FIF)が増殖し運動機能が改善される。又、培養下で増殖させた FIF 細胞の移植によっても同等の効果が認められる。そこで本研究では、FIF 様細胞をサルの脊髄組織から培養し、これをラット脊髄損傷モデルに移植してその効果を評価することを計画した。ラットの場合、0.3-1.0 mm厚に薄切した脊髄実質部をコラーゲンコート皿に静置し、FGF-2 と血清を含む培養液で培養すると組織周囲から無数の細胞が遊走するのでこれを増殖させる方法が確立している。サルの脊髄について同様に試みたところ、初期段階での細胞の遊走や増殖性が悪く、最終的に移植に必要な細胞数が確保するのが困難であった。そこで、ヒト間質系幹細胞を培養した調整培養液(conditioned medium)を用いたところ効果がありこの点が改善されたように思われる。現在、同細胞の培養を継続中であり、ラット脊髄損傷モデルに移植して効果を検討する。

B-14 マカク種における仙骨湾曲と尾長との相関

東島沙弥佳(京都大・院・理) 所内対応者: 濱田穰

霊長類における顕著な尾の形態変異は、系統進化と適応に関わる重要な指標であるが、詳細な研究は少ない。筆者はこれまで尾長変異が仙尾部骨格形態に与える影響に着目し、旧世界ザルにおいて尾長に関連する仙骨特徴の解明と尾長推定法の開発を行ってきた。結果、短尾の狭鼻猿については信頼性の高い推定式が得られたが、これは長尾、超短尾種で大きな推定誤差を生じ、そうした種では、従来の直線計測では評価できなかった仙骨形態が尾長と強く関与している可能性が示唆された。そこで本研究では、仙骨正中矢状面形態に着目し、尾長の異なる狭鼻猿種において尾長との関連性を調査した。中～超短尾マカク(*M. cyclopis*, *M. mulatta*, *M. fuscata*, *M. assamensis*, *M. nemestrina*, *M. arctoides*)成熟個体(歯列完全萌出以後)の仙骨を用い、三次元的幾何学的形態分析を行った結果、短尾

種ほど仙骨は湾曲し背部棘突起は減退する傾向のあることを明らかにした。また、この骨格形態変異との関連を探るため、尾長の異なる狭鼻猿 6 種(*M. fascicularis*, *Papio hamadryas*, *M. mulatta*, *M. fuscata*, *M. arctoides*, *Pan troglodytes*) で尾筋の比較解剖を行い、尾長短縮に伴い尾筋停止位置に明瞭な変異の見られることを明らかにした。

B-15 霊長類の網膜黄斑に特異的に発現する遺伝子群の同定

古川貴久, 佐貫理佳子(大阪大・蛋白質研, (財)大阪バイオサイエンス研), 荒木章之((財)大阪バイオサイエンス研)
所内対応者: 大石高生

ヒトを含めた霊長類の網膜は中心部に黄斑という錐体細胞の密度が高く、視力の発現に重要な機能を持つ。私たちは、黄斑発生に関わる遺伝子群の同定を目的として、周産期アカゲザルの網膜を黄斑部と周辺部に分けて採取し、それぞれの総 RNA についてマイクロアレイを用いて遺伝子発現を比較した。そこで得られた候補遺伝子の中でも特に SREBP2 に着目している。SREBP2 は脂質代謝に関わる遺伝子群の発現を制御する転写因子であり、*in situ* ハイブリダイゼーションによってマウス網膜においても発生期視細胞に発現を認める。昨年に引き続き、SREBP2 の網膜における機能の解析を行っている。

B-16 霊長類の老化小脳で変化する遺伝子発現の解明

石川欽也(東京医科歯科大・医学部附属病院・神経内科学), 佐藤望, 太田浄文, 橋本祐二, 尾崎心, 水澤英洋(東京医科歯科大・院・脳神経病態学) 所内対応者: 大石高生

小脳の老化でどのような遺伝子発現の変化が起き、それがどのような小脳機能の変化に関連しているかは全く不明である。我々はヒトにおける小脳の老化の遺伝子変化を検索してきたが、ヒトでは様々な個体差や環境差による影響によって、2 次的に遺伝子発現が影響される欠点がある。このため、ヒトより均一な環境に近い条件で生育した霊長類での検索を行い、ヒトでの解析結果と比較することで、真の老化関連遺伝子を発見することを目的として、本研究を行った。

平成 24 年度までで合計老齢ニホンザル 2 頭(28 歳、26 歳、いずれも雌)とアカゲザル 1 頭(5 歳、雄)について、小脳をヒトと同じ 3 か所ずつ採取した。並行して行ったヒトの解析結果で、老化によって変動する遺伝子群が確認されたので、これを本年度末より検証を開始した。今後、種を超えた小脳老化変動遺伝子を RT-PCR と microarray 法で解析し、検証する計画である。

本研究の難点としては、得られる個体数に限りがあることである。このため、3 年程度の単位で個体を集積する必要があることが想定された。

B-17 農地依存度の異なるニホンザル 2 群の行動圏利用—既存植生図の再検討

海老原寛(麻布大・院) 所内対応者: 辻大和

本研究では、農地を利用しない自然群と利用する加害群の群落利用を比較し、農地の存在がニホンザル(以下、サル)の生活に与える影響を検討した。この際、既存の植生図をそのまま用いるだけではサルの生活を表すには限界があるため、群落の境界から 50m を「林縁」とすることで工夫した。神奈川県丹沢地域個体群に属する自然群(A 群)と加害群(B 群)を対象とし、ラジオテレメトリ法により得られた群れの位置を、GIS を用いて解析した。群落の選択性は、Manly の選択指数を用いて検討した。A 群は初夏の針葉樹林と秋の広葉樹林をそれぞれ選択し、初夏は広葉樹林、秋は針葉樹林をそれぞれ忌避した。一方、B 群はどの季節も広葉樹林を選択した。各季節ともに農地を利用したが、どの季節も選択性は見られなかった。林縁の利用頻度は、A 群では初夏、晩夏、初冬、春において 40%前後だったが、秋や晩冬には 10%前後と低かった。B 群では、どの季節でも 50%前後は林縁を利用していた。また、そのうち少なくとも 50%が農地から 50m の林縁利用で占められていた。以上のことから、A 群は利用する群落や林縁の利用率が季節変化していたのに対し、B 群は農地を中心に様な生活をしていることが示され、農地の存在がサルの群落選択に影響を与えていることが示された。

B-18 チンパンジーiPS 細胞の樹立と神経細胞分化誘導

今村公紀, 矢野真人, 岡野ジェイムス洋尚(慶應大・医・生理学) 所内対応者: 今井啓雄

チンパンジー繊維芽細胞(新生仔皮膚由来/♀、成体精巣由来/♂)から iPS 細胞を誘導するために、まずヒト iPS 細胞を樹立する条件を用いて誘導培養を試みたが、チンパンジーiPS 細胞のコロニーを得ることはできなかった。そこで、繊維芽細胞にエピソーマルベクターで初期化 6 因子(OCT4, SOX2, KLF4, LIN28, L-MYC P53 shRNA)を導入し、グラウンドステート条件による培養に変更したところ、iPS 細胞コロニーを高頻度に誘導することが可能であった。これまでに本手法を用いて 18 株のチンパンジーiPS 細胞を樹立しており、凍結保存の有効性も確認している。得られたチンパンジーiPS 細胞はアルカリホスファターゼ活性や多能性マーカー遺伝子の発現が陽性である一方、コロニー形態や増殖速度などにおいてヒトともマウスとも異なる特性を示した。また、チンパンジーiPS 細胞のニューロスフェア分化誘導により、一次・二次スフェアが形成されること、さらに Tuj1 陽性のニューロンおよび GFAP 陽性のアストロサイトへと分化し得ることが確認された。

B-19 音声を利用したニホンザル個体群モニタリング手法の開発

江成広斗(宇都宮大・農・里山科学センター) 所内対応者: 半谷吾郎