

トシの変化なども検討していく予定である。

B-34 マーモセット脳におけるシナプス可塑性関連蛋白ドレブリンの免疫組織化学的解析

白尾智明, 児島伸彦, 梶田裕貴(群大・院・神経薬理) 所内対応者: 中村克樹

冠状断で $12\mu\text{m}$ の凍結切片を作成し、抗ドレブリン A・E 抗体、抗ドレブリン A 抗体、抗シナプトフィジン抗体、抗ダブルコルチン抗体を用い、DAB により免疫組織化学染色を行った。マウスではドレブリンの局在が認められない内側中隔において、ドレブリンの強い染色が見られた。通常はドレブリンが濃染する領域はシナプスマーカーであるシナプトフィジンあるいは幼若神経細胞のマーカーであるダブルコルチン(DCX)が濃染するが、この内側中隔においてはこれらのマーカーは濃染しなかった。また、マウス脳と異なり、海馬歯状回における DCX 陽性細胞が見つからなかったため、マーモセット脳では海馬新生ニューロンが無い、もしくは非常に少ないことが分かった。側脳室下帯においては DCX 陽性細胞が存在し、更にマウスと同じくドレブリン E をもっていることが分かったが、この部位の新生ニューロンもマウスと比較すると数が非常に少なかった。以上のように、マーモセット脳の新生ニューロンやドレブリンの局在はマウスやラットで従来知られているそれとは異なることがわかった。今後より詳細にドレブリンの分布をマウスと比較検討していく必要がある。

B-35 霊長類網膜および脳におけるオプシン発現部位の解析

七田芳則, 山下高廣(京都大・院理), 大内淑代(岡山大・院医歯薬) 所内対応者: 中村克樹

ヒトを含む霊長類のゲノムには、網膜の視細胞に発現し視覚の分子基盤となる光受容タンパク質(オプシン)遺伝子以外にも、いくつかのオプシン遺伝子が確認されている。しかし、それらがどのような分子的性質を有し、どこに発現し、視覚以外のどのような生理機能に関わるか、については未知の部分が多い。

我々は、非視覚機能を担うオプシン *Opn5* について分子特性の解析を行い、紫外光感受性であることを見いだしていた。また昨年度の共同利用・共同研究において、マーモセットの網膜において視細胞以外一部の神経細胞に発現することがわかった。本年度は、マーモセット脳内での発現部位の解析を行った。その結果、脳深部のごく限られた部位に局限して発現していることがわかった。また、*Opn5* の発色団レチナールを供給するのに重要な酵素が、*Opn5* 発現部位のごく近傍に存在することもわかった。この結果から、霊長類脳内においてもレチナールの供給を受けて *Opn5* が光受容体として機能できる可能性が考えられた。

B-36 加齢変化特性を考慮できるニホンザルの四足歩行計算機シミュレーション

長谷和徳(首都大・理工), 西澤教之(首都大・院・理工) 所内対応者: 平崎鋭矢

本研究では、ニホンザルモデルを用いて、霊長類のオトナ期における筋・骨格の加齢変化を調べ、運動能に対するそれらの影響を調べるため、これらの力学的な特性を考慮・反映し得る四足歩行の計算機シミュレーションモデルの構築を試みた。霊長類研より提供を受けたニホンザルのモーションキャプチャデータに基づき、まずはこの動きを追従するため、PD 制御と呼ばれる制御則を採用した。質量などの身体の力学パラメータについても、実測可能な値に基づき、身体の幾何学的な特性を仮定しモデル化を行った。シミュレーションでは運動学的には歩容全体を再現することが可能であった。しかし、地面との接触問題を力学的に矛盾のない形で計算することが困難であり、地面反力などを考慮した力学的な計算には課題が残った。また、別途開発を進めているヒト二足歩行モデルについては、足部モデルを改良することでより妥当性の高い歩容を生成することが可能となった。この二足歩行モデルと四足歩行モデルとの融合が今後の課題と考えられた。

B-37 中部山岳地域のニホンザル遺伝子モニタリング

赤座久明(富山県立八尾高等学校) 所内対応者: 川本芳

過去の共同利用研究で、石川、富山、新潟、長野、岐阜の中部 5 県の山岳地域に生息するニホンザルの群れから、ミトコンドリア DNA の D ループ第 2 可変域(412 塩基対)について、6 タイプの塩基配列の変異を検出した。6 タイプの中の 1 つの JN21 タイプ(Kawamoto et al. 2007 による分類)は近畿地方から中部地方の日本海側に広域的に分布し、ニホンザルの群れの分布拡大の経過を検討する上で重要なタイプである。JN21 タイプの分布域周辺で、これまで遺伝子分析の行われていない、福井県九頭竜川流域に生息する群れを対象にして、DNA 試料(糞)の採集とミトコンドリア DNA の D ループ第 2 可変域(412 塩基対)の遺伝子分析を行った。

九頭竜川本流上流域で JN22 が 6 例、支流の真名川で JN30 が 15 例、新タイプが 3 例、JN35 が 1 例、JN22 が 1 例、笹生川で JN30 が 6 例、大納川で JN30 が 1 例であった。この結果から、九頭竜川流域は、本流上流部に JN21 と近縁の JN22 の群れが生息しているが、支流には広範囲に JN30 の群れが生息していることが分かった。JN30 は滋賀、三重、岐阜に分布するタイプで、九頭竜川はこの集団の北端に位置する。

B-38 Report on “Discrimination of long-tailed(*Macaca fascicularis*), rhesus(*M. mulatta*) macaques and hybrids between the two species using microsatellite DNA”

Janya Jadejaroen(Chulalongkorn University) 所内対応者: 川本芳

I am now studying hybrids between long-tailed and rhesus macaques in Thailand (Khao Khieow Open Zoo, KKZ) based on their morphological, behavioral and genetic characteristics. Morphological study was conducted by using percent relative tail

length, pelage color, crown hair, cheek hair and sexual skin. It was found that morphological characteristics of macaques in the study area are different in between long-tailed and rhesus macaques. Individuals with known morphological characteristics were selected for behavioral study. In addition for comparative study with their morphological and behavioral characteristics, genetic information is needed to discrimination of hybrids from their parental species.

The aim of this study is to screen microsatellite DNA markers for diagnosis of long-tailed and rhesus macaques together with their hybrid offspring. Seventy-seven fecal samples (52 of the KKZ hybrid population, 25 of long-tailed samples from outside the study area, Campus) were extracted using potato starch method developed by Dr. Kawamoto. The extracted samples were tested for macaque specific c-myc gene for the screening of samples with high quantity of DNA. Forty-eight (62.3%, 28 of hybrid population, 20 long-tailed macaques) with DNA concentration > 100 picogram/microlitre were selected for the microsatellite DNA study.

The chosen DNA samples were tested for 8 microsatellite markers (D19S582, D6S493, D3S1768, D6S501, D8S1106, D11S2002, D7S794 and D5S1470) by using double multiplex PCR method developed by Dr. Kawamoto. The first PCR step included all the primers for amplification. The second PCR was with labeled microsatellite markers. Forty DNA samples of the same hybrid population collected in 2006 by Drs. Hamada and Malaivijitmond and 8 blood samples of long-tailed macaques from outside the study area (Wangkeao, WK) collected in 1988 by Dr. Kawamoto were also tested. To ensure the confident results, the test was repeated three times. The PCR products were then applied into 3130xl Genetic Analyzer to detect allelic locations. Peaks of allelic detection were analyzed through Gene mapper v4.1 and Peak scanner v1.0. After electrophoresis, result of D5S1470 was excluded, therefore that of the 7 remaining result was collected. Data of each microsatellite marker was clustered by using STRUCTURE v2.3.4 (Pritchard et al, 2000). STRUCTURE Harvester (Earl et al, 2012) was used in judging the most suitable cluster (K) of microsatellite data.

The comparisons between microsatellite data of KKZ and long-tailed fecal samples (K=3) and KKZ fecal samples and long-tailed DNA samples (K=5) show that KKZ and long-tailed macaques share similar pattern. When comparing KKZ fecal samples and WK long-tailed blood samples (K=5) and KKZ DNA and WK long-tailed blood samples, the results showed different pattern of hybrid population (KKZ) and WK long-tailed population. Both KKZ fecal and DNA samples showed similar pattern (K=2) while long-tailed from different localities showed different structure pattern (K=2). When comparing the four groups, KKZ fecal samples, KKZ DNA samples, Campus long-tailed fecal samples, WK long-tailed blood samples (K=2), the first three groups had similar pattern which was different from the last one.

The results of this study suggested that the 7 microsatellite DNA markers may be used in further study for discrimination of KKZ and WK long-tailed but not Campus. More markers and more control groups should be added in the next experiment step. For this study, we found that fecal samples from the non-invasive sample collecting method, could be used but are relatively difficult for the microsatellite marker analysis.

My next study steps are to collect more control samples and samples of the hybrid population with known morphological characteristics and test for more microsatellite DNA markers.

B-39 下北半島脇野沢における野生ニホンザルの個体群動態と法面利用の関係

松岡史朗, 中山裕理(下北半島のサル調査会) 所内対応者: 古市剛史

下北半島脇野沢 A-87 群の個体数は依然増加傾向にあった。この個体数に増加に対し、今までに遊動面積の増加が観察されている。さらに、栄養価が高い牧草に用いるイネ科草本、シロツメグサなどが播種されている道路、砂防ダムの建設に伴って作られた法面を採食場所に法面を利用することで対応していることが予想された。そこで、10 分ごとに群れの位置を記録し法面滞在時間、季節変化を調査した。過去のデータと比較すると、法面滞在の割合は、1998 年度は 9.0%であったのに対し、2007 年度は、10.3%、2012 年度は 16.8%と増加していることが確かめられた。法面利用の季節変化を見ると、夏が最も高く 16.3%、次いで冬 11.4%、秋 10.6%、春 9.4%の順であった。栄養価の高い新葉や果実、種子といった餌品目が少なく、体重が減少する夏と積雪により落下堅果や草本の採食が困難な冬に法面の利用頻度が高くなっていることがわかった。

栄養状態の悪くなりやすい季節に法面という採食場所を利用していることが、高い増殖率を維持している一因と考えられる。

B-40 霊長類の各組織における味覚情報伝達物質の存在

権田彩(岐阜大・応生) 所内対応者: 今井啓雄

近年、ヒトやげっ歯類において、味覚受容体や味覚情報伝達物質が、口腔だけでなく、消化管や胃臓、脳などの臓器にも存在していることが報告されている。本研究では、消化管における味覚関連物質の役割についての理解を深めるために、霊長類を対象に、舌と消化管に存在する味覚関連物質の発現解析をおこなった。具体的には、味覚情報伝達物質(α -gustducin と TRPM5)と味覚受容体について、RT-qPCR を用いた mRNA の定量測定と、蛍光免疫組織化学的染色法による二重染色をおこなった。

味覚情報伝達物質の RT-qPCR の結果、コモンマーモセットの盲腸と大腸で、舌と同量もしくはそれ以上の mRNA の発現が認められた。一方、マカク類やリスザルではこのような傾向は確認されなかった。また、コモンマーモセット 0 歳において、味覚受容体について調べた結果、盲腸と大腸における顕著な発現は認められなかったが、一部の味覚受容体が消化管においても発現していることが確認された。さらに、コモンマーモセットの盲腸における蛍光免疫組織化学的染色の結果、 α -gustducin と Tas2Rs が同一細胞に発現していることが確認された。盲腸と大腸に