

45 熊本県に生息する野生ザルの個体群管理に向けた遺伝的モニタリング法の開発

藤井尚教(尚絅大・文)

熊本県に生息する野生ニホンザル集団のうち、球磨地域から5集団35個の糞と阿蘇地域3集団から10個の糞、さらにその他の地域から2個の糞を採取し、全47個の糞を室温保存で試料化を行った。

この中から、サル集団と糞の状態をもとに17個の糞からミトコンドリアのDNA抽出を試み、16個で成功した。

その結果、球磨郡地域では、5個中3個はコントロールとして使われた鹿屋の資料と同じであったが、残りの2個は次に述べる阿蘇地域のそれと同じであった。

阿蘇地域の9個中7個はコントロールの久木野のそれと同じであったが、1個は球磨地域のそれと同じであり、もう1個は熊本市内で捕獲されたサルのそれと同じであった。市内で捕獲された2頭は同じ遺伝子であった。

以上から、球磨地域と阿蘇地域では遺伝子配列のタイプが異なり、球磨地域は南九州型、阿蘇地域は北九州型に分けられるが、一部相互の混入が見られており、さらには球磨地域では細分化の可能性が認められた。

なお、熊本市内で捕獲されたサルについては今後検討が必要である。

次年度では地域間変異の確定と地域内での集団間の細分化を試みる予定である。

46 マカクザルの配偶子培養系と受精系の検討

細井美彦(近畿大・生物理工・遺伝子工学)

現在、絶滅が危惧されているサルの個体数を増やし、少しでも、その生態系を維持するためには繁殖技術の確立は重要な課題となる。しかし、僅かな個体しか存在しないサル類の生殖特性を正確に把握することは困難である。しかし、これらの動物に対し、十分な個体数を持つヒトで開発された生殖医療技術が積極的に利用されねばならないと考えられる。我々は、長年にわたり配偶子における生理学的情報を集積すると共に、室内人工周年繁殖技術の開発に取り組んできた。本年は、卵巣中より回収された未成熟な卵母細胞の成熟を検討した。ヒト体外受精(In vitro fertilization)プロトコールでは、卵巣より回収された未成熟卵子の体外における核ならびに細胞質の成熟に新たなホルモン刺激は必要ではなく、単純培養液で体外成熟させた卵子の体外受精により産児を得ることが可能になってきた。サル類の研究においても、顕微授精により受精卵や産子を得ることが可能となっている。しかし、マカク属のカニクイザルの未刺激の卵巣から得られた卵子を用いて顕微授精を行う場合、その成熟率のみならず受精後の発生が著しく低いことが判明した。そこで、我々は、研究所から供給された卵巣と精巣を遺伝資源として活用して、この問題の解明を試みている。特に共同利用のMacaca属サル類のサンプリング個体から精巣を得て、精子の凍結保存後の顕微授精プロトコールを検証した。その結果、回収後凍結した精子は、過剰排卵処理したカニクイザルの卵巣より得られた卵子を受精することは可能であり、試験管内では発育も認められる。しかし、季節的な変化も大きく、前年と運動性実験の結果と同様に冬季のものが良好であった。また、卵巣や精巣の運搬による比較結果では、成熟率と

顕微授精後の胚の発育は、研究所から移送することにより、その発生率は低下した。この結果、今後サンプルの移送システムに抗酸化剤の添加や温度管理の根本的な改善が必要があると考えられた。

47 房総半島におけるニホンザルと外来種の温血に関する研究

萩原光,

川本芳(京都大・霊長研・集団遺伝)

千葉県房総半島のニホンザル個体群生息地(以後主要個体群)から約20km離れた半島南端(館山市・白浜町)で、1995年以来外来種の形態特徴(長尾)をもつ個体を含む群(96頭以上/1群)(以後白浜群)が確認された。1997年の交尾期には白浜群行動域内捕獲オス個体が主要個体(ニホンザル)群に加入し遊動したと報告されており、主要個体群と外来種の交雑が疑われた。その実態把握の為に本研究(遺伝的分析)を行った。地域別に2種類の異なるサンプルを使用した。白浜群からの糞資料(36個/6回サンプリング)(2000年10月~2001年1月)と、主要個体群生息地からの血液資料75個(1996年12月~2002年3月)である。その結果、白浜群のミトコンドリアDNA(糞サンプル表面に付着する腸管細胞内)分析によりニホンザルとアカゲザルに近い2種類のDNAタイプを検出した。また主要個体群生息地の血中タンパク質(核遺伝子にコードされている)分析によりニホンザルに固有の遺伝子タイプのみ検出した。よって、白浜群はアカゲザルとニホンザルから成る群であることが予想できた。一方主要個体群生息地では交雑を結論付ける証拠は得られなかった。

48 保護管理にむけた中部山岳地域のニホンザルの遺伝的多様性解析

森光由樹(野生動物保護管理事務所)

近年、わが国の森林断片化は著しく、自然林に生息する野生動物のなかには、個体群サイズの低下や孤立化により、存続が危ぶまれている例が少なくない。特に長野県に生息するニホンザルは、有害駆除による捕獲頭数が全国で最も多く、個体群の衰退傾向が顕在化しはじめ、一部の地域個体群は「保護すべき個体群」に指定されている。分断化の進む地域個体群を適正に保護・管理するためには、各地域集団の遺伝的特性を調査して、孤立化や集団間交流の程度を把握する必要がある。そこで初年度の研究では、核DNA変異からニホンザル地域個体群の遺伝的特性を分析するために必要な試料の調製法、実験条件の検討をおこなった。分析に用いた試料は、1992年に地獄谷野猿公苑で学術捕獲された個体、同一群、計16個体のDNA試料を用いた。血液から調製したゲノムDNAを鋳型に6種類のマイクロサテライト遺伝子座(D20S484, D10S611, D5S1470, D19S582, D1S533, D1S548)の遺伝子型をタッチダウン法によるPCRで判定した。PCR産物はABI PRISM 3100によるフラグメント解析により、タイピングした。今後、同一個体群から採取・保存されている試料を分析して、標識遺伝子頻度の時間的変化の有無を検討する予定でいる。さらに、異なった地域個体群の遺伝的多様性、遺伝的分化の比較の検討を行う計画である。