

なかった

19 霊長類研究所のチンパンジーをモデルとした基礎研究

郡山尚紀 (財) 日本モンキーセンター)

エコツーリズムが行われているアフリカの国立公園では、大型類人猿の大量死が起こることが報告されてきた。これらの原因がヒトであるかを探る手がかりとして、チンパンジーとヒト由来病原体との関係を調べた。霊長類研究所で飼育されている11頭のチンパンジーから得た血清をもとに、彼らが有している呼吸器系ウイルスと細菌に対する抗体の検出を試みた。検出には補体結合反応 (CF)、酵素抗体法 (EIA)、間接酵素抗体法 (ELISA)、赤血球凝集反応 (HI)、パンニング法 (PA) を用いた。結果、百日咳菌、パラインフルエンザウイルス III 型に対して高い反応が見られ、これに続いて RS ウイルス、麻疹ウイルス、アデノウイルスの抗体が証明された。これら呼吸器系に感染する病原体は飛沫感染、空気感染、間接的感染 (病原体が付着した物体を経口的に取り込んでしまう) によって伝播が起きる。当然、ヒトと接触の機会が多いチンパンジーがこれらの病原体にさらされた事が推測される。今後、抗体が証明された病原体はチンパンジーにとって致死的であるのか、感染は起こすが発症はしないのかを調べる。

20 視覚機能解剖学

平岡満里, 高田昌彦 (東京都医学研究機構・東京都神経科学研究所)

1) 新生児サルにおいて水晶体調節機構における毛様小帯の発達過程について新知見が得られた。すなわち (1) 生後短期間においては全周に亘って水晶体嚢に血管が残存している。 (2) 将来毛様突起になるべき色素上皮を伴った虹彩と連続した組織には嚢と連続した網状膜がそんざいする。この膜は免疫染色で Fibrillin-1 であることが確認された。

2) 成熟サルにおいては前嚢に結合した小帯は主に毛様突起部から発して円周状に連結しており、調節において嚢自体を角膜方向に牽引して水晶体の前後径を変動させている。一方後嚢に結合した小帯は毛様体扁平部から発しており前嚢の動きに対して水晶体を支持していると考えられる (投稿準備中)。

3) 網状膜がどの月齢で前嚢・後嚢に結合する三角形の毛様小帯に分化するかは未知である。ヒトにおいても視機能の発達には時間を要する。すなわち調節が可能になるためには小帯の機能的分化が必須であると考えられた。

4) in situ hybridization により毛様体無色素上皮で Fibrillin-1 が産生されており、その量は新生児のほうが成熟サルよりも有意に多量であった (投稿準備中)。

5) 今後幼弱サルの調節機構に関わる構造変化を検討したいと考えている。

21 東南アジアの熱帯雨林伐採に対するジャコウネコのストレスホルモン応答

小野口剛 (京都大・生態研)

本研究では熱帯雨林の伐採が野生動物に与える影響を、糞中に含まれる生理ホルモンを用いることにより明らかにすることを目的とした。マレーシア・サバ州の

デラマコット森林管理区において、持続的森林伐採が行われている管理区と、従来型の破壊的伐採が行われている管理区において早朝に中型哺乳類の糞を回収し、mt-DNA を用いて種同定を行った。うち2種食肉目 Common palm civet (*Paradoxurus hermaphroditus*) と Leopard cat (*Prionailurus bengalensis*) の糞に関して、EIA 法を用いてコルチゾール濃度を測定した。いずれの種に関しても持続的伐採が行われている森で平均コルチゾール濃度は低かったものの、有意な差を得るには至っていない。今後はコルチゾール濃度地の季節的变化、GIS を用いたデータ解析によりより詳細にストレス変化の環境要因を分析する予定である。

22 霊長類における酸味受容体の同定と味覚修飾物質による酸味抑制機構の解明

石丸喜朗 (東京大・院・農学生命科学)

研究者自らが発見した酸味受容体候補 PKD1L3/PKD2L1 と甘味受容体 TIR2/TIR3 のアカゲサル相同遺伝子の同定を試みた。

まず、アカゲサルの舌試料より、有郭乳頭が含まれる舌後部の上皮層を摘出した。ISOGEN を用いて全 RNA を抽出した後、RNeasy Mini Kit で精製した。オリゴdT プライマーやランダムヘキサマープライマーと逆転写酵素 Superscript II を用いて逆転写反応を行った。アカゲサルゲノムデータベースの相同性検索により、PKD1L3、PKD2L1 それぞれに特異的なプライマーを設計し、PCR 酵素 ExTaq を用いて PCR 反応を行った。PCR 産物が得られたものに関しては pBluescript ベクターに挿入し、塩基配列を解析した。その結果、PKD1L3 に関しては、N 末端細胞外領域に相当する cDNA 断片が得られた。この N 末端細胞外領域と、それ以降の領域がマウス PKD1L3 から成るキメラ体を作製して、発現ベクター pDisplay に挿入した。現在、このキメラ体 PKD1L3 をマウス PKD2L1 と共に HEK293T 細胞に発現させて、Ca²⁺ イメージング法による機能解析を行っている。PKD2L1 は PCR 増幅産物が得られていない。

甘味受容体 TIR2/TIR3 に関しては、上記と同様の方法でプライマーを設計し、RT-PCR を行った。得られた PCR 産物を pBluescript ベクターに挿入し、塩基配列を解析した。その結果、アカゲサル TIR2 全長 cDNA の獲得に成功した。一方、TIR3 に関しては、C 末端領域に相当するゲノム配列の情報が、データベース未整備のために得られなかった。今後、異なる種間で保存されたアミノ酸配列に対する縮重プライマーを設計して、TIR3 全長 cDNA 断片の獲得を目指す。

23 老齢ザルにおける認知機能の変化

久保 (川合) 南海子 (京都大・こころの未来研究センター)

これまでに明らかにした老齢ザルの補完的な行動方略の背景には、作動記憶および行動のプランニングの低下や外部環境への依存が存在すると考えられる。そこで、身体的な手がかりが使いにくい実験事態を設定することで、老齢ザルにおいてそれまで可能であった記憶の身体的な外化が無効になった場合、記憶が困難になるのか、あるいはどのような情報を利用すれば記憶できるのかを検討するため、これまで WGTA を用い

ておこなってきた記憶課題を、コンピュータで制御するタッチパネルを用いた手続きでおこなうことにした。本年度は年度途中での採択となり実施期間が短かったため、現在は若齢個体を対象に訓練を継続し、次年度に老齢ザルが配分されれば、これらの個体も訓練をして比較分析をおこなう予定である。

24 ヒト・チンパンジー間におけるエピゲノム・バリエーションの網羅的解析

一柳健司, 佐々木裕之, 新田洋久 (国立遺伝学研究所)

ヒト・チンパンジーゲノム間の塩基配列の違いはわずか1%強であるが、表現型には大きな違いがある。本研究では、表現型や遺伝子発現と関連の深いDNAメチル化パターンにどの程度、どのような遺伝子で相違があるか、またそのようなエピジェネティックな相違とゲノム配列の相違(ジェネティックな相違)にはどのような関係があるのかを明らかにするため、チンパンジーおよびヒト白血球細胞のDNAを調製、解析した。チンパンジー標本として、平成20年1月にプチ、同年3月にベンデーサから血液標本を得た。ヒト血液標本は国立遺伝学研究所にて得た。これらの標本を用い、今後のゲノムワイドな研究のための基礎情報を得る目的で8遺伝子のプロモーター領域のDNAメチル化状態をバイサルファイト法にて解析した。プチおよびベンデーサの標本共に、調べた領域のメチル化状態はヒトにおけるメチル化状態とほぼ同じ状態であることが分かった。今後はこれらの領域を内部標準として抗メチル化シトシン抗体による免疫沈降とその沈降物のマイクロアレイ(ゲノムタイリングアレイ)解析を行い、ヒト・チンパンジー間でメチル化状態の異なる領域を同定・解析していく予定である。

25 他者の存在は自己鏡像認知の成立に必要なか?

草山太一 (昭和大・教育)

動物に鏡を提示し、その自己の反射像を自己と認知するかどうかを調べる研究は自己鏡像認知と呼ばれ、多くの動物種を対象に検討されている。そして、鏡を使うことで、直接に見えない身体のある特定の部分を見ることができるかどうかという点から、自己鏡像認知の成立を確認する方法(マークテスト)では、チンパンジーなどの大型類人猿、イルカ、ゾウにおいて、その成立が認められている。一方、その他の多くの動物では、まるで他個体がいるかのように鏡に対して反応することが知られている。自己鏡像認知に関する研究は、行動観察するために対象を1個体に絞った検討が主流であるが、本研究では一緒に他の個体が映り込むことが成立条件と考えた。つまり、他者の鏡映像と実物との対応関係から、自己の反射物を自己と認識するようになると考えたのである。

本年度は、年度の途中での採択ということもあり、簡易的な装置でニホンザル2頭を対象に予備観察を実施した。透明なアクリル箱に入れて、普段から給餌などで信頼関係の厚い人物と一緒に鏡の前で過ごしたときの反応をビデオ記録した。2回の提示で、1頭は人物が指し示す鏡像に注意を払うなど、一緒に鏡に映り込むということに意味があることが示唆された。もう1頭については、ほとんど鏡に対して興味を示さず、個体によって

反応が異なっていた。次年度は観察装置を新規に作成し、提示回数による行動の変化を調べることを目標にしたい。

26 大型類人猿におけるMC1R遺伝子の多様性解析

本川智紀 (ポーラ化成工業(株) 皮膚薬剤)

MC1R (melanocortin-1 receptor) は色素細胞表面に存在する色素産生に関与するレセプターである。ヒトにおいてMC1R遺伝子は、多様性が高く人種特異的変異が存在する。そのためMC1R変異データは、ホモサピエンスの分岐過程を考察する際に有益な情報のひとつとなっている。

我々は、ヒト以外の霊長類においても、当遺伝子のデータは分岐過程を考察する上で有益な情報となると考えた。そこで大型類人猿におけるMC1R遺伝子の多型解析を行いこの遺伝子の進化過程を比較解析する研究を開始した。

現在までにチンパンジーのMC1R遺伝子解析条件を決定し、10例のコーディング領域の配列解読が完了した。その結果、10例すべて同じ配列で、ヒト配列に対し8つのnonsynonymous variantが存在していた。今後はプロモーター領域の解析を開始すると同時に、他の類人猿の遺伝子解析にも着手していく。

27 IGC法を用いたマカク近縁種の種判別DNAマーカーの効率的単離

後藤幸七 (財) かずさDNA研究所)

千葉県房総半島には、天然記念物生息域に指定された地域を含み、ニホンザル生息域が広がっている。近年この地域に、移入種とみられるアカゲザルとの交雑個体が発見され、千葉県では外来生物法に則り、アカゲザルのこの地域からの防除を決定した。これに伴い、我々は本研究において、交雑状況の把握、及び、交雑のモニタリングシステム構築の為、アカゲザル、ニホンザルの種判別DNAマーカーを取得することとした。

まず、我々が開発してきたDNAサブトラクション法であるIGC法(In-gel competitive reassociation法, Gotoh and Oishi, 2003)を用いて、房総半島で捕獲されたアカゲザル1頭、ニホンザル1頭との間のRFLP多型部位を多数単離した。次にこの中から、房総半島アカゲザル6頭には検出されるが、房総半島ニホンザル21頭では全く検出されなかったDNA多型を、染色体上の29箇所に同定したので、これらをアカゲザル特異的マーカーとした。また、これらのマーカーは、インド原産、中国原産のアカゲザルを用いても、アカゲザル特異的マーカーとして確認できた。

3. 平成19年度で終了した計画研究(本年度該当なし)