

自由 32

B ウイルス感染に対する遺伝子免疫技術の開発

安倍明弘 (名古屋大・医)

今年度は B ウイルス遺伝子免疫 (DNA ワクチン) の効率的なサルへの遺伝子導入用ベクターおよび導入条件について検討し以下の成績を得た。

遺伝子導入条件・ベクターの比較検討のために、ハイブリッドカチオニックリボソーム (VSVG/リボソーム/ポリブレン混合ミセル; リボソームと略)、アテロコラーゲンを基材にしたミニベレットおよび遺伝子銃を用い、レポーター遺伝子 (GFP; pCI-EGFP plasmid) をマカクサルに投与した。3 者の内、リボソームが調製の簡便性に加え GFP 遺伝子の効果的な導入を示した。リボソームベクター投与部位での GFP タンパク質の発現は、免疫染色で調べると 2 週間後まで続いた。この時、樹状細胞、マクロファージ、血管内皮細胞、および繊維芽細胞で GFP タンパク質が認められ、特に、表皮下の基底膜に沿った細胞に強い発現性が見られた。興味深いのは、投与部位から離れた部位の細胞にも弱いながら GFP タンパク質の発現が観察され、リボソームベクターではリンパ液や血液を介して、導入遺伝子が遠位輸送されることが示唆された。一方、リボソームベクター投与部位の組織損傷やそこへの白血球浸潤は見られなかった。また、炎症サイトカインの TNF および CRP の血中上昇、血小板や白血球の変動および組織因子発現なども認められず、炎症反応や細胞・組織障害の無いことが確認された。

なお、本研究は中村 伸、平野 真、光永総子、清水慶子 (京大霊長類研究所)、恵美宣彦 (名大医学部)、今村隆寿 (熊大医学部)、植田昌宏 (SRL) らとの共同研究。

自由 33

サル網膜の形態学的・分子生物学的研究

高田雄一郎 (慈恵医大)

ヒト網膜には、光受容器である視細胞が存在する。視細胞は、形態学的に錐体と桿体の 2 種類に分類され、その外節には、波長特異的な光受容蛋白「視物質」が存在し、網膜から始まる視覚情報処理の開始点となっている。今回、ヒト類似の色覚を有する旧世界ザル網膜の、視物質蛋白及び mRNA の発現を、分子生物学の方法を用いて形態学的に検討した。

ニホンザルの網膜より RNA を抽出して錐体と桿体視物質に特異的なプライマーを用いて RT-PCR を行い、網膜中の mRNA の発現を確認した。これを用いてジゴキシゲン標識プローブを作成した。一方、サル眼球を 4% パラホルムアルデヒドで固定してパラフィン包埋したのち通常の操作で薄切りした。この標本を用いて、以前に当教室で作成した視物質特異抗体による免疫組織化学を行うとともに、ジゴキシゲン標識視物質プローブをもちいて mRNA の In situ hybridization を行った。

二種の視物質は錐体と桿体の視細胞において、それぞれ mRNA 及び蛋白として発現していることが二重染色法を用いた形態学的な観察により確認された。

自由 34

ヤクシマザルのフンによって散布された種子の発芽促進機能の解明

大谷達也 (森林総研・東北)

屋久島西部林道川原地域において、複数のヤクシマザル個体からフンを採集し、ハマヒサカ

キの種子を取り出した (A)。同時期に、サルによる果実の採食が確認されたハマヒサカキ 6 個体から約 100g ずつ果実を採集した (B)。霊長研で飼育されている 4 頭のニホンザル (オスメス 2 頭ずつ、うちヤクシマザル 1 頭) にそれぞれ果実を与え、消化管通過の際の種子生存率を算出した。B の種子に、ボールミルによる摩滅、塩酸溶液の温浴 (ph=2.0、39℃、1 時間)、および蒸留水の温浴 (39℃、39 時間) の 3 種類の処理をそれぞれ施した (C)。A、B、C の種子について、フォースゲージをもちいて破壊抗力を測定した。

種子の破壊抗力は平均 0.95kgf ($n=1500$ 、 $sd=\pm 0.24$) であった。処理区間に有意な差はなかったが、樹木個体間に有意差が認められた。ヤクシマザルの消化管通過や人工的な処理は、種皮の堅さには影響を与えないことが分かった。飼育個体の消化管通過における種子の生残率は平均 4.5% ($n=24$ 、 $sd=\pm 3.4$ 、0.7 - 16.2%) であった。ハマヒサカキ個体間には有意差はなかったが、サル個体間に有意差が認められた。サルの亜種や雌雄に対応した傾向は見られなかった。ハマヒサカキの種子は、樹木個体間における種子の物理特性のばらつきよりもはるかに大きな外力によってランダムに破壊されていると推察された。

各処理区の種子をもちいて発芽試験を継続中であるが、2001 年 4 月 5 日現在では結果を報告できる段階には至っていない。

自由 35

ニホンザルによる農作物被害防止用資材の構造の検討

井上雅央 (奈良県果樹振興センター)・室山泰之 (京都大・霊長研)

奈良県で開発した簡易猿害防止柵<猿落君; えんらくくん>を第 1 放飼場に設置し、柵内にカボチャなど餌片を置いた上で高浜群 (約 70 頭) を 3 日間放飼し、ニホンザルの行動と柵の耐性を観察した。柵の支柱は長さ 1.4m (直径 19mm) の鉄パイプを 2m 間隔で立て、グラスファイバー製のポール (直径 6mm、長さ 2.7m) 2 本を一組として鉄パイプに差し込む方法で設置した。支柱間を横バー (鉄パイプ、直径 19mm、地面から約 40cm) で連結した上で、この支柱に目合い 3cm のネットを展張した。

ほとんどの生育ステージの個体が柵内の餌片を取ろうと網越しに手指を差し入れる行動を示した。しかし、支柱のぼり、柵ゆすりなど、柵自体に対する直接行動を示した個体は観察期間を通じて 1 歳~5 歳の若い個体に限られた。さらに、これらの個体の中で網を乗り越えて柵内への侵入に成功した個体は数頭に限られた。

多数の個体が同時に支柱のぼりや柵ゆすりを行った場合、個々の支柱は大きく揺れるものの支柱間が横バーで連結されているため、柵の破損や倒壊は観察されなかった。しかしながら、多くの個体が支柱のぼりやぶら下がりを通り抜けた支柱ではグラスファイバー製ポールが鉄パイプの上端部分で破断する例が観察された。

この破断防止技術を考案すれば、<猿落君>は農業現場でニホンザルの圃場への侵入を防止する柵として実用性があると判断された。

自由 36

野生ニホンザルの道路等におけるカウントの精度と移動時のサルの社会的特徴の検討

鈴木 滋 (京都大・理・動物)

サルの群れの構成やサイズは、道路などの開けた場所を群れが通過する際にカウントするこ