

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 5 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2012

課題番号：21310150

研究課題名（和文）希少野生動物の DNA Zoo と遺伝子解析による行動予測システムの構築

研究課題名（英文）Construction of DNA database and analysis of genetic background of behavior in endangered wild animals.

研究代表者

村山 美穂（MURAYAMA MIHO）

京都大学・野生動物研究センター・教授

研究者番号：60293552

研究成果の概要（和文）：本課題では、絶滅の危機に瀕した野生動物の保全遺伝学を目指して、動物園や国内の野外ステーションとの連携を活用して、非侵襲的な DNA 採取法の開発に取り組むとともに、血縁や亜種判定の基礎となる多様性データを集積し、多数種、多数試料からなる詳細情報つきの DNA Zoo を整備した。またストレスや行動との関連が予想される遺伝子と性格評定などのデータとの比較により、ゲノム情報による野生動物の行動や繁殖の予測システムを構築した。

研究成果の概要（英文）：In this study we developed DNA Zoo consisting of many samples from various endangered species with precise individual information through collaboration with keeping facilities and field stations. The DNA Zoo is used for genotype analysis for conservation issue. We non-invasively collected DNA in the field, and compared each sample's genotype of candidate genes for stress susceptibility and observed data of personality/behavior/cognition. By using this result we are developing behavior-prediction system of animals kept in zoo by genotyping. The information will be useful for their welfare by reducing stress.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2010 年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2011 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2012 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
年度			
総計	13,000,000	3,900,000	16,900,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：資源保全学・資源保全学

キーワード：遺伝資源保全、野生動物、血縁解析、遺伝子多様性

## 1. 研究開始当初の背景

レッドリストに掲載された野生動物はお

よそ 45,000 種にのぼり、緊急の対応が求められている。動物園など飼育施設においても、

野生動物の新規導入は困難であり、小数集団での繁殖、遺伝的多様性の保全、動物福祉の実現は、深刻な課題となっている。現有個体群の遺伝資源保存、および福祉や繁殖に有用な遺伝情報の解析は、早急に行う必要がある。

## 2. 研究の目的

本課題では動物園や国内の野外ステーションとの連携を活用して、非侵襲的なDNA採取法の開発に取り組みとともに、血縁や亜種判定の基礎となる多様性データを集積し、多数種、多数試料からなる詳細情報付きのDNA Zooを整備した。また性格評定、行動観察、認知などのデータと、ストレスや行動との関連が予想される遺伝子との比較により、ゲノム情報による野生動物の行動や繁殖の予測システムを構築した。

## 3. 研究の方法

(1) DNAバンクの整備を目指して、飼育施設や野外観察フィールドでDNAを抽出した。

(2) これらの試料の個体情報をさらに充実させるため、また飼育園館や飼い主の協力を得て性格評定を行った。

(3) DNAバンクの遺伝子多型にもとづき、性格との関連解析や集団の多様性解析を行った。

## 4. 研究成果

(1) これまでに、総計 24,578 個体のDNAを得て、ホームページでも広報活動を行った。また野生動物研究センターが2011年度に全国共同利用研究施設となり、試料の集積及び活用がさらに活発化した。

(2) これらの試料のうちチンパンジー、ゴリラ、テナガザルについて、質問紙による性格評定を行った。またイヌでも、飼い主との親和性や新奇性追求傾向について、行動観察などによる性格評定を行った。

(3) 性格評定と神経伝達関連遺伝子の型と比較した結果、チンパンジーの性格とセロトニン合成酵素の遺伝子型、イヌの性格とアンドロゲン受容体の遺伝子型に関連を見いだした。多様性解析については、イヌワシ、ニホンザル、野生ネコ、ゴリラで、マイクロサテライト領域による血縁判定を行い、血縁と社会行動の関連性を解析した。今後は、飼育施設との連携を深めてさらに試料数を増やし、培養細胞での保存も視野に入れた、ゲノ

ム細胞バンクへと発展させることで、さらにデータベースの価値を高め、多様な研究への活用度を上げたいと考えている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 39 件)

①Akomo-Okoue EF, Inoue E, Adenyo C, Hayano A, Inoue-Murayama M: Development of microsatellite markers for blue duikers (*Cephalophus monticola*) using next-generation sequencing and cross-amplification in other duikers. Conservation Genetics Resources, 14 March 2013. 査読有り

DOI: 10.1007/s12686-013-9906-8

②Yoshikawa N, Matsui M, Inoue-Murayama M: Characterization of nineteen microsatellite markers for the Japanese clouded salamander, *Hynobius nebulosus*, using the NGS. Conservation Genetics Resources, in press. 査読有り

DOI: 10.1007/s12686-013-9861-4

③Hori Y, Kishi H, Inoue-Murayama M, and Fujita K: Dopamine receptor D4 gene (*DRD4*) is associated with gazing toward humans in domestic dogs (*Canis familiaris*). Open Journal of Animal Sciences 3: 54-58, 2013. 査読有り

DOI: 10.4236/ojas.2013.31008

④Ito H, Hayano A, Langenhorst T, Sakamoto H, Inoue-Murayama M: Using next generation sequencing to develop Microsatellite Markers for Endangered Grevy's Zebra (*Equus grevyi*).

Conservation Genetics

Resources 5:507-510, 2013. 査読有り

DOI : 10.1007/s12686-012-9839-7

⑤Ramadan S, Miyake T, Yamaura J, Inoue-Murayama M: DNA polymorphism within LDH-A gene in pigeon (*Columba livia*). The Journal of Poultry Science, in press, 2013. 査読有り

DOI: 10.2141/jpsa.0120137

⑥Abe H, Takeuchi H, Yamada S, Nakamura A, Nagao K, Hayakawa H, Nirasawa K, Ito S, Inoue-Murayama M: Intronic VNTR

- polymorphism in a paralog of chicken serotonin transporter gene. *Animal Science Journal* 84, 281-288, 2013. 査読有り  
DOI : 10.1111/asj.12011.
- ⑦ Sakata Y, Kaneko S, Hayano A, Inoue-Murayama M, Ohgushi T, Isagi Y: Isolation and characterization of microsatellite loci in the invasive herb *Solidago altissima* (Asteraceae). *Applications in Plant Sciences*, 1(4):1200313. 2013. 査読有り  
<http://dx.doi.org/10.3732/apps.1200313>
- ⑧ Yasui S, Konno A, Tanaka M, Idani G, Ludwig A, Lieckfeldt D, Inoue-Murayama M: Personality assessment and its association with genetic factors in captive Asian and African elephants. *Zoo Biology* 32(1):70-78, 2013. 査読有り  
DOI: 10.1002/zoo.21045
- ⑨ Iida GE, Ogawa H, Idani G: Mammalian fauna of the miombo forest in the Ugalla area, Western Tanzania. *African Study Monographs*, 33(4): 253-270, 2013. 査読有り  
<http://hdl.handle.net/2433/169670>
- ⑩ Inoue E, Tashiro Y, Ogawa H, Inoue-Murayama M, Nishida T, Takenaka O: Gene flow and genetic diversity of chimpanzees in Tanzanian habitats. *Primate Conservation*, 26: 67-74. 2013. 査読有り  
<http://dx.doi.org/10.1896/052.026.0105>
- ⑪ Mochida K, Inoue-E, Kurita K, Hayano A, Inoue-Murayama M: Development of Microsatellite Markers for *Cynops ensicauda* (Amphibia: Caudata) by Using Next-generation Sequencing Technology. *Current Herpetology* 31(2): 117-120, 2012. 査読有り  
<http://dx.doi.org/10.5358/hsj.31.117>
- ⑫ Fukuda T, Kurota J, Saito T, Yusasa K, Kurita M, Donai K, Nitto H, Soichi M, Nishimori K, Uchida T, Isogai E, Onuma M, Sone H, Seko N, Inoue-Murayama M: Efficient establishment of primary fibroblast cultures from the hawksbill sea turtle (*Eretmochelys imbricata*). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal* 48:660-665, 2012. 査読有り  
DOI: 10.1007/s11626-012-9565-1.
- ⑬ Takenaka A, Nakamura S, Mitsunaga F, Inoue-Murayama M, Udono T, Suryobroto B.: Human-Specific SNP in Obesity Genes, Adrenergic Receptor Beta2 (ADRB2), Beta3 (ADRB3), and PPAR  $\gamma$  2 (PPARG), during Primate Evolution. *PLoS One*. 7(8):e43461, 2012. 査読有り  
DOI: 10.1371/journal.pone.0043461
- ⑭ Chan YC, Roos C, Inoue-Murayama M, Inoue E, Shih CC, Vigilant L: A comparative analysis of Y chromosome and mtDNA phylogenies of the *Hylobates* gibbons. *BMC Evol Biol*. 12(1):150, 2012. 査読有り  
DOI: 10.1186/1471-2148-12-150.
- ⑮ Adenyo C, Hayano A, Inoue E, Kayang BB, Inoue-Murayama M: Development of microsatellite markers for grasscutter (*Thryonomys swinderianus*, RODENTIA) using next-generation sequencing technology. *Conservation Genetics Resources*, 4(4) 1011-1014, 2012. 査読有り  
DOI: 10.1007/s12686-012-9695-5
- ⑯ Ramadan S, Kayang BB, Inoue E, Nirasawa K, Hayakawa H, Ito S, Inoue-Murayama M: Evaluation of genetic diversity and conservation priorities for Egyptian chickens. *Open Journal of Animal Sciences* 2: 183-190, 2012. 査読有り  
DOI: 10.4236/ojas.2012.23025
- ⑰ Yoshikawa N, Matsui M, Hayano A, Inoue-Murayama M: Development of microsatellite markers for the Japanese giant salamander (*Andrias japonicus*) through next-generation sequencing, and cross-amplification in its congener. *Conservation Genetics Resources* 4: 971-974, 2012. 査読有り  
DOI: 10.1007/s12686-012-9685-7
- ⑱ Weiss A, King JE, Inoue-Murayama M, Matsuzawa T, Oswald AJ: Evidence for a 'Midlife Crisis' in Great Apes Consistent with the U-Shape in Human

- Well-Being. PNAS 109 (49):19949-52.  
2012. 査読有り  
DOI: 10.1073/pnas.1212592109.
- ①⑨ Weiss A, Inoue-Murayama M, King JE, Adams MJ, Matsuzawa T: All too human? Chimpanzee and orang-utan personalities are not anthropomorphic projections. *Animal Behaviour* 83: 1355-1365, 2012. 査読有り  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2012.02.024>
- ②⑩ Nakahama N, Kaneko S, Hayano A, Isagi Y, Inoue-Murayama M, Tominaga T: Development of microsatellite markers for the endangered grassland species *Vincetoxicum pycnostelma* (Apocynaceae) by using next-generation sequencing technology. *Conservation Genetics Resources*, 669-671, 2012. 査読有り  
DOI: 10.1007/s12686-012-9619-4
- ②⑪ Abe H, Watanabe Y, Inoue-Murayama M: Genetic variation in the C-terminal domain of arginine vasotocin receptor in avian species. *Gene* 494:174-180, 2012. 査読有り  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2011.12.019>
- ②⑫ Abe H, Hayano A, Inoue-Murayama M: Forensic species identification of large macaws using DNA barcodes and microsatellite profiles. *Mol Biol Rep.* 39:693-699, 2012. 査読有り  
DOI: 10.1007/s11033-011-0787-1
- ②⑬ Idani G :Dr. Julius Keyyu Visits WRC. *Pan African News*, 19 (1): 11-12, 2012. 査読有り  
<http://hdl.handle.net/2433/157935>
- ②⑭ Hong KW, Weiss A, Morimura N, Udono T, Hayasaka I, Humle T, Murayama Y, Ito S, Inoue-Murayama M: Polymorphism of the tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) gene is associated with chimpanzee neuroticism. *PLoS One*. 2011; 6:e22144. 査読有り  
DOI: 10.1371/journal.pone.0022144
- ②⑮ Konno A, Inoue-Murayama M, Hasegawa T. : Androgen receptor gene polymorphisms are associated with aggression in Japanese Akita Inu. *Biol Lett.* 7(5):658-660, 2011. 査読有り  
DOI: 10.1098/rsbl.2011.0087
- ②⑯ Abe H, Ito S, Inoue-Murayama M: Polymorphisms in the Extracellular Region of Dopamine Receptor D4 within and among Avian Orders. *Journal of Molecular Evolution*, 72: 253-264, 2011. 査読有り  
DOI: 10.1007/s00239-011-9432-9
- ②⑰ Ramadan S, Abe H, Hayano A, Yamaura J, Tomoaki Onoda T, Miyake T, Inoue-Murayama M: Analysis of genetic diversity of Egyptian pigeon breeds. *The Journal of Poultry Science* 48: 79-84, 2011. 査読有り  
<http://dx.doi.org/10.2141/jpsa.010109>
- ②⑱ Langergraber KE, Boesch C, Inoue E, Inoue-Murayama M, Mitani JC, Nishida T, Pusey A, Reynolds V, Schubert G, Wrangham RW, Wroblewski E, Vigilant L: Genetic and 'cultural' similarity in wild chimpanzees. *Proc Biol Sci.* 278:408-416, 2011. 査読有り  
DOI: 10.1098/rspb.2010.1112
- ②⑲ Sin HS, Koh E, Kim DS, Murayama M, Sugimoto K, Maeda Y, Yoshida A, Namiki M. : Human endogenous retrovirus K14C drove genomic diversification of the Y chromosome during primate evolution. *J Hum Genet.* 55:717-725, 2010. 査読有り  
DOI: 10.1038/jhg.2010.94
- ③⑩ Chan Y-C, Roos C, Inoue-Murayama M, Inoue E, Shih C-C, Pei K J-C, Vigilant L: Mitochondrial Genome Sequences Effectively Reveal the Phylogeny of *Hylobates* Gibbons. *PLOS ONE*, e14419, 2010. 査読有り  
DOI: 10.1371/journal.pone.0014419
- ③⑪ Nakashima Y, Inoue E, Inoue-Murayama M, Abd Sukor JR: Functional uniqueness of a small carnivore as seed dispersal agents: a case s Inoue-Murayama M tudy of the common palm civets in the Tabin Wildlife Reserve, Sabah, Malaysia. *Oecologia* 164:721-730, 2010. 査読有り  
DOI: 10.1007/s00442-010-1714-1
- ③⑫ Nakashima Y, Inoue E, Inoue-Murayama M, Sukor JA. High potential of a disturbance-tolerant frugivore, the common palm civet *Paradoxurus*

- hermaphrodites* (Viverridae), as a seed disperser for larger-seeded plants. Mammal Study 35: 209-215, 2010. 査読有り  
<http://dx.doi.org/10.3106/041.035.0307>
- ③③ Kayang BB, Youssao I, Inoue E, Naazie A, Abe H, Ito S, Inoue-Murayama M: Genetic Diversity of Helmeted Guineafowl (*Numida meleagris*) Based on Microsatellite Analysis. Japan Poultry Science 47: 120-124, 2010. 査読有り  
<http://dx.doi.org/10.2141/jpsa.009103>
- ③④ Minvielle F, Bed'hom B, Coville JL, Ito S, Inoue-Murayama M, Gourichon D: The "silver" Japanese quail and the MITF gene: causal mutation, associated traits and homology with the "blue" chicken plumage. BMC Genet. 11:15, 2010. 査読有り  
 DOI: 10.1186/1471-2156-11-15
- ③⑤ Hong K-W, Matsukawa R, Hirata Y, Hayasaka I, Murayama Y, Ito S, Inoue-Murayama M: Allele distribution and effect on reporter gene expression of vasopressin receptor gene (*AVPR1a*)-linked VNTR in primates. Journal of Neural Transmission 116: 535-538, 2009. 査読有り  
 DOI: 10.1007/s00702-009-0219-8
- ③⑥ Takeuchi, Y, Kaneko F, Hashizume C, Masuda K, Ogata N, Maki T, Inoue-Murayama M, Hart B L, Mori Y: Association analysis between canine behavioural traits and genetic polymorphisms in the Shiba Inu breed. Anim. Genet. 40: 616-622, 2009. 査読有り  
 DOI: 10.1111/j.1365-2052.2009.01888.x
- ③⑦ Weiss A, Inoue-Murayama M, Hong K-W, Inoue E, Uono T, Ochiai T, Matsuzawa T, Hirata S, King JE: Assessing Chimpanzee Personality and Subjective Well-Being in Japan. Am. J. Primatol. 71: 283-292, 2009. 査読有り  
 DOI: 10.1002/ajp.20649
- ③⑧ Takeuchi Y, Hashizume C, Arata S, Inoue-Murayama M, Maki T, Hart BL, Mori Y: An approach to canine behavioural genetics employing guide dogs for the blind. Anim. Genet. 40: 217-224, 2009. 査読有り  
 DOI: 10.1111/j.1365-2052.2008.01823.x
- ③⑨ Inoue-Murayama M: Genetic polymorphism as a background of animal behavior (review). Anim. Sci. J. 80: 113-120, 2009. 査読有り  
 DOI: 10.1111/j.1740-0929.2008.00623.x
- [学会発表] (計 件)
- ①阿部秀明、長尾健二、中村明弘、村山美穂：ニワトリ第1染色体におけるコピー数多型と緊張性不動との関連解析 分子生物学会 35 回大会、2012 年 12 月 13 日 福岡
- ②Adenyo C, Hayano A, Kayang BB, Owusu EH, Inoue E, Inoue-Murayama M: Genetic analysis of grasscutter in Ghana. Special Seminar: Conservation and Sustainable Use of Ghanaian Wildlife: Summary and Future Plan. 2012 年 9 月 27 日 京都
- ③Tani A, Ishihara A, Kasuya E, Inoue-Murayama M: The signal function of feces to other individuals in the feral cats. The 5<sup>th</sup> EAFES International Congress, 2012 年 3 月 19 日 大津
- ④Yamada K, Inoue-Murayama M: Intra-species differences in tolerance and genetic polymorphisms in Japanese macaques (*Macaca fuscata*) Symposium "Beyond the back cross: Recent research on the genetics of nonhuman animal behavior" by Alexander Weiss and Miho Inoue-Murayama. The 2012 Behavior Genetics Association meeting, 2012 年 6 月 22-25 日 Edinburgh, UK.
- ⑤Abe H, Nagao K, Nakamura A, Inoue-Murayama M: The association between copy number variants in chicken chromosome 1 and tonic immobility. Symposium "Beyond the back cross: Recent research on the genetics of nonhuman animal behavior" by Alexander Weiss and

Miho Inoue-Murayama. The 2012 Behavior Genetics Association meeting, 2012年6月22-25日 Edinburgh, UK.

- ⑥ Yasui S, Konno A, Tanaka M, Idani G, Inoue-Murayama M: Personality assessment and factors influencing personality in captive elephants. 2011 International Elephant and Rhino Conservation and Research Symposium 10月10-14日 2011, Rotterdam, The netherland
- ⑦ Chan Y-C, Christian Roos C, Inoue-Murayama M, Inoue E, Shih C-C, Pei K. J-C, Vigilant L: Phylogenetic analyses and mitochondrial gene evolution of the gibbon taxa based on the complete mitochondrial genome sequences. ESEB 12th Congress 2009年8月24-29日 Torino, Italy.

[その他]

ホームページ等

<http://miho-murayama.sakura.ne.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

村山 美穂 ( MURAYAMA MIHO )  
京都大学・野生動物研究センター・教授  
研究者番号 : 60293552

### (2) 研究分担者

中村 美知夫 ( NAKAMURA MICHIO )  
京都大学・野生動物研究センター・准教授  
研究者番号 : 30322647

幸島 司郎 ( KOSHIMA SHIRO )  
京都大学・野生動物研究センター・教授  
研究者番号 : 60183802

伊谷 原一 ( IDANI GENICHI )  
京都大学・野生動物研究センター・教授  
研究者番号 : 70396224

井上 英治 ( INOUE EIJI )  
京都大学・理学(系)研究科(研究院)・助教  
研究者番号 : 70527895

田中 正之 ( TANAKA MASAYUKI )  
京都大学・野生動物研究センター・准教授  
研究者番号 : 80280775

杉浦 秀樹 ( SUGIURA HIDEKI )

京都大学・野生動物研究センター・准教授  
研究者番号 : 80314243  
森村 成樹 ( MORIMURA NARUKI )  
京都大学・霊長類研究所・助教  
研究者番号 : 90396226