

日本人類学会進化人類学分科会

ニュースレター

2016/9



目次

次回案内

第 37 回シンポジウム 「形態と発生」	2
----------------------	---

平成 28 年度 開催シンポジウム

第 36 回シンポジウム「フィールドサイエンスにおける分析科学の応用 : DNA、ホルモン、同位体」	3
---	---

早川 卓志（京都大学霊長類研究所／公益財団法人日本モンキーセンター） 「野生動物ゲノム・メタゲノム研究－できるようになったこと－」	4
--	---

木下 こづえ（京都大学霊長類研究所） 「野生動物におけるホルモン分析－できること・わかること－」	7
---	---

蔦谷 匠（京都大学大学院理学研究科） 「安定同位体分析の応用－わかることとわからないこと－」	11
---	----

蔦谷 匠（京都大学大学院理学研究科） 「サンプル採取における注意事項－法規と倫理－」	17
---	----

「形態と発生」

日時： 2016年 10月10日（月・祝）13:00～15:00

場所： NSG 学生総合プラザ STEP A 会場（新潟市）

オーガナイザー：森本 直記（京都大学大学院理学研究科）

森本 直記（京都大学大学院理学研究科）

「マクロ形態の発生：ヒトと大型類人猿の長骨形態とロコモーション」

森田 航（北海道大学大学院歯学研究科）

「臼歯の形態と発生」

山中 敦之（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科）

「現生トガリネズミ科の臼歯歯冠の発生と中生代哺乳類のトリボスフェニック型臼歯の進化の関係」

＜シンポジウム要旨＞

個体発生と系統発生とのつながりを解明する研究は、様々な生物において、また様々なレベルで進められ、Evo-Devo (Evolutionary Developmental Biology) として広く知られるところである。進化を発生から理解しようとする試みの重要性は、人類学の分野においてもかわらない。古人類学においては多くの場合、化石の形態がほとんど唯一の直接的な手がかりであることから、比較形態学的に発生を理解することが重要である。本シンポジウムでは、歯と長骨の発生研究について報告してもらい、それらの知見をふまえて、「比較形態発生」の今後の発展について議論したい。

「フィールドサイエンスにおける分析科学の応用

: DNA、ホルモン、同位体」

2016 年 6 月 18 日(土) 京都大学理学研究科セミナーハウス (吉田キャンパス北部構内)

オーガナイザー: 蔦谷 匠 (京都大学大学院理学研究科、日本学術振興会)

蔦谷 匠 (京都大学大学院理学研究科)

「趣旨説明」

早川 卓志 (京都大学霊長類研究所／公益財団)

「野生動物ゲノム・メタゲノム研究 ーできるようになったことー」

木下 こづえ (京都大学霊長類研究所)

「野生動物におけるホルモン分析 ーできること・わかることー」

蔦谷 匠 (京都大学大学院理学研究科)

「安定同位体分析の応用 ーわかることとわからないことー」

総合討論

〈シンポジウム要旨〉

さまざまなフィールドから得られた試料に対して、最先端の分析手法を適用し、観察や計測のみからは推定できなかった事実を明らかにする研究が増えている。本シンポジウムでは、DNA、ホルモン、同位体について、霊長類を含む大型哺乳類の行動生態学のフィールドにおいて、それらを分析することで何がわかるか、フィールドでどのようにサンプルを採取し保存すれば良いか、フィールドでそのまま、あるいは実験室に持ち帰って、どのようにして分析するのかを、それぞれ報告してもらう。また、試料を採取する・持ち帰る過程で考慮しなければならない法規的な側面にも触れる予定である。

本シンポジウムでは、以下ふたつの目的が達成されることを目指している。主たる対象は研究者を想定しているが、これから研究テーマを決める学生にも役立つ内容にしたい。

1. テクニカルな側面: こうした分析手法の採用にも興味を持っている研究者が、分析によって何を知ることができる／知ることができないかを学べて、実際に応用を試みられるようになる。

2. 分野の展望: これまでこうした分析に馴染みがなかった研究者が、これらの分析手法を使用した研究における現在のホットトピックスや、これから予想される展開を理解できるようになる。

もともとこうした分析手法は、分子生物学や地球化学など、別な学問分野から人類学やフィールドサイエンスに「輸入」されてきたものである。また、諸分野のなかでも、手法のやり取りが行われている。たとえば、生態学分野で基礎を確立した同位体分析は、1980年代以降、考古学への応用が主だったが、最近では、古人骨の研究で得られた知見も参考にしながら、霊長類学や生態人類学への応用が盛んになってきている。一見縁遠い分野に見えても、応用のアイデアはかしこにある。講演と総合討論を通して、そうした新たな研究のタネをみつけていただければ幸いである。

はじめに

野生動物の生態の研究にはさまざまな目的があり、多様な手法が用いられているが、その一つが直接観察に基づく行動の理解である。行動を観察することで、発達、採食、繁殖、社会といった、その対象種を理解する直接的な情報を得ることができる。しかしながら、そうした行動をつかさどる感覚や生理については、観察だけでは「見えない」部分も多く、分子生物学の手法を導入する試みが多くの研究者によってなされてきた。例えば、採食行動をひとつ例にとっても、そこにはさまざまな個体が持つ遺伝子に関与している。動物は採食時において、適切な食物を環境中から探索し、その栄養価や毒性を判断する必要がある。そのときに用いられるのは、例えば熟果と未熟果を識別する色覚、嗅覚、味覚といった感覚であり、光受容体遺伝子、嗅覚受容体遺伝子、味覚受容体遺伝子によってコードされた受容体タンパク質をそれぞれの感覚器官において用いている。他にも食物の探索時には時として経験のない新奇の食物を口にする必要があり、そうした挑戦（新奇性探索）には脳神経系に発現している神経伝達物質を制御する遺伝子に関与している。

味覚受容体遺伝子の地域変異と自然選択

こうした採食に影響する遺伝子の例の一つとして、私はチンパンジーにおいて、味覚受容体の一つである苦味受容体の機能的な地域変異が、自然選択を伴って生じていることを発見した (Hayakawa et al. 2012)。チンパンジーは 28 個の苦味受容体を持っており、それぞれが異なる複数の毒性のある分子を苦味として受容する。苦味受容体がコードする遺伝子に変異が入ると、受容できる苦味分子に変化が生まれるが、その変異の入り方にチンパンジーは地域差があった。28 個の苦味受容体の一つ、TAS2R38 はアブラナ目植物や柑橘類の苦味を受容するが、この

TAS2R38 の機能の消失した偽遺伝子を、西アフリカに分布する亜種であるニシチンパンジーのみが持っていた。このことは、「多くのニシチンパンジーはこれらの味を苦味として感じない（忌避しない）」という行動学的解釈、自然選択を伴っていることから「西アフリカの食物環境が異なっている」という生態学的解釈、そして「苦味を感じないことが何らかの形で有利に働いた」という進化学的解釈を与えてくれる。

野外での遺伝子試料の非侵襲的な収集と保存

こうして、味覚受容体の例をとっても、野生動物の行動・生態・進化の理解には、遺伝子の個体差、地域差、種差を知ることが不可欠だといえる。次の課題は、どのようにして野生動物の遺伝子を解析するかということである。対象は野生動物（特に中・大型の哺乳類など）なので、捕獲して遺伝子試料を採取するというのは容易な手段ではない。そこで非侵襲的に採集できる遺伝子試料からの分析手法が多くの研究で利用されている。すなわち、糞や尿、食べかす（ワッジ）、ネストやこすりつけられた部位から回収できる体毛、そのほか偶発的に回収できる血液や分泌物などである。特に糞や尿という排泄物は対象動物の踏み跡においてや、排泄を直接観察することによって、ほぼ確実に採集できるので、入手機会が多い反面、非宿主 DNA の混入（糞であれば腸内細菌や消化物の混入など）や、DNA の分解など、量・質ともに劣化が著しい (Morin et al. 2001)。また野外での収集となるので、実験室への運搬を待つ間、しばしば常温で長期の保存が要求される。DNA の劣化は基本的に、生体試料に含まれている DNA 分解酵素による加水分解によって生じるため、シリカゲルによる試料の乾燥、エタノールや高濃度の塩による脱水、界面活性剤 (SDS など) や金属キレーション剤と緩衝液 (Tris-EDTA など) などによる加水

分解酵素の阻害などが、野外での常温での保存に用いられる。いずれにしても、急速に加水分解を停止させることが目的である。

簡便な方法のひとつである lysis buffer 法は、SDS と Tris-EDTA を含む溶液に糞の表面を綿棒でぬぐって溶かし込む方法である (Hayaishi and Kawamoto 2006)。糞の表面をぬぐうだけで済むため、コンパクトなチューブに保管でき、運搬も容易である。私がこの手法で過去に野生霊長類の DNA を分析したところ、1 ミリリットルの lysis buffer が入った 2 ミリリットルのチューブに採集された糞から、おおよそ 100 回分は数百塩基分の配列の PCR が可能なホスト由来 DNA を得ることができた。したがって単純に計算して、一回の採集から数万塩基長の遺伝子配列を解析することができる。マイクロサテライト多型による血縁判定や、ハプロタイプ解析による地域変異・系統分類などに十分に活用することができる。

古典的な DNA 解析から次世代シーケンサーの活用へ

それでは、野生動物の遺伝研究は、究極的にはどれくらいの塩基配列長を決定することが理想だろうか。哺乳類ゲノムはおおよそ 30 億塩基長の DNA で構成されている。そのうち、タンパク質をコードする遺伝子数は 3 万個、塩基長で約 1 パーセント (約 3000 万塩基) と考えられている。したがって、PCR を用いた古典的な手法では、タンパク質をコードする遺伝子配列でさえ網羅的に解析することはできず、限界がある。しかし 2007 年に登場した次世代シーケンサーと呼ばれる塩基配列決定装置は、こうした問題を見事に解決した。古典的なシーケンス手法であるサンガー法とまったく異なる原理を用いることで、高速かつ大量に塩基配列を決定することが可能になったのである。現在、1000 ドルゲノムと呼称されるように、1000 ドルのコストでヒトゲノムの全配列を数日で決定するシーケンサーも登場している。

こうした手法は野生動物の遺伝研究にも導入され始めようとしている。糞には非ホストの DNA (腸内細菌や食べかすの DNA) も含まれており、ホスト由

来の DNA はおおよそ数パーセントであるが、DNA キャプチャー法という技術によってホスト DNA のみを濃縮することができる。この濃縮過程で、次世代シーケンサーでの解析を可能なライブラリを作成し、次世代シーケンサーで分析することで、糞からも個体の遺伝子を網羅的に決定することができる

(Perry et al. 2010)。全遺伝子の解析が糞から可能になれば、冒頭に述べたような行動に関する遺伝子多型との関連を調査することが可能であり、野外での分子生態学・行動遺伝学の研究が大きく前進するものと思われる。

メタゲノム解析の登場と今後できるようになること

また、コンタミネーションとして「邪魔者」扱いされていた糞に含まれている非ホスト DNA も、見方を変えれば重要な情報を提供してくれる。腸内細菌は個体の食性や健康を反映するし、また消化物は採食レパートリーそのものを反映する。哺乳類の腸内には 1000 種以上の細菌が含まれており、これらの DNA 配列を古典的な手法でひとつひとつ決定し、種同定していくことは非常に労力を要するものであったが、現在では次世代シーケンサーによって容易に網羅決定することが可能になっている。さらに腸内細菌が持っている機能的な遺伝子配列を調べることで、腸内細菌がどのような生理的な影響を与えているかを知ることができる。また消化物についても、餌生物特異的なプライマーによって増幅し、次世代シーケンサーを用いることで、採食レパートリーをただちに解読することができる。ホストゲノムの遺伝子情報のみならないゲノム情報という意味で、こうした解析はメタゲノム解析と呼ばれている。

バッファーなどの収集法の工夫や、次世代シーケンサーの登場によって、ゲノムワイドな解析や非ホスト由来の群衆解析が可能になり、より詳細な野生動物の分子生態研究が可能になっている。次世代シーケンサーのコストの減少と性能の上昇は指数関数的に変化しているため、今後、共生細菌の機能遺伝子 (メタゲノム) の網羅的な理解や、DNA だけ

でなく発現情報 (RNA) の解析など、さらに先進的な研究が遠くない将来、可能になることだろう。

文献

- Hayaishi S, Kawamoto Y. (2006) Low genetic diversity and biased distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Japanese macaque (*Macaca fuscata yakui*) on Yakushima Island. *Primates* 47:158-164.
- Hayakawa T, Sugawara T, Go Y, Uono T, Hirai H, Imai H. (2012) Eco-Geographical Diversification of Bitter Taste Receptor Genes (TAS2Rs) among Subspecies of Chimpanzees (*Pan troglodytes*). *PLOS ONE* 7: e43277.
- Morin PA, Chambers KE, Boesch C, Vigilant L. (2001) Quantitative polymerase chain reaction analysis of DNA from noninvasive samples for accurate microsatellite genotyping of wild chimpanzees (*Pan troglodytes verus*). *Molecular Ecology* 10:1835-1844.
- Perry GH, Marioni JC, Melsted P, Gilad Y. (2010) Genomic-scale capture and sequencing of endogenous DNA from feces. *Molecular Ecology* 19:5332-5344.

はじめに

近年、分析手法の発展に伴って、野外で採取されたサンプルの生化学分析に関する研究が盛んに行われている。ホルモン分析についても同様であり、さまざまな生体試料に応用されている。その研究内容は、雄性および雌性行動、子育て、攻撃行動および種内コミュニケーション、生育環境や生息環境への応答など多様である。ここでは、ホルモン濃度を測定することで何が分かるのか、どのように試料を採取しデータを評価するのかについて紹介したいと思う。

ホルモン分析について

動物と外界環境は脳を介してつながっており、ホルモンはその伝達物質としての役割を担っている。例えば、外界環境を抽象して体内を調整し（例えばストレスホルモン）、それと同時に、動物が生理的にどのような状態にあるのか、体内の状態も保持している（例えば性ホルモン）。つまりホルモンは、外界（自然環境、社会環境など）から受ける影響と体内（生理状態、栄養状態、健康状態など）から受ける影響の両者を調整し変動しているのである。よってホルモン濃度変化を分析することによって、動物の体内で起こっている目では見えない状態変化を知ることができる。

ホルモンとは、体液中に存在する生理学的調整因子であり、ペプチド（タンパク）、ステロイド、そしてモノアミンがある。内分泌腺の産生物であり、血中に分泌されたホルモンは全身の細胞へといきわたり、それぞれ特定の受容体でしか作用をしない。主な内分泌器は、松果体、下垂体、甲状腺・副甲状腺、副腎、ランゲルハンス島、精巣、卵巣および子宮（胎盤）である。ホルモンの代表的な濃度測定方法は免疫学的測定方法であり、抗体を結合試薬として利用した測定手法である。方法には、競合的結合による

測定方法と、非競合的結合（サンドウィッチ）による測定方法がある。また、測定に用いる標識物は、以前は感度の高い放射性同位体元素が主流であったが、測定に特別な研究施設を必要とするため、近年は酵素を標識物に用いている研究が多い。

測定対象ホルモンについて

どのホルモンを測定するかは、研究目的によって決まる。しかし、野外でサンプルを採取する際は、①採取できるサンプルと②採材頻度によって、目的のホルモンを測定できるのかどうか検討しなければならない。

まず、①採取できるサンプルについては、血液、唾液、尿、糞、毛および垢などがある。血中濃度は、常に現時点のホルモン値を反映する。その他のサンプルの中で、最も血中濃度を反映しているは唾液である（Vining and McGinley 1987）。種によって異なるが、例えば尿は約1日、糞は数日間プールされた値を示す（清水 2009, Mostl et al. 1999）。そして、毛や垢は過去の長期間に蓄積された値を反映する（Koren et al. 2002）。サンプルを採材する際は、「どの時点（一過性、慢性など）のホルモン量を調べたいのか」によって、得るべきサンプルは異なってくる。しかし、野外で採材できるサンプルには採材環境などによって制約があるだろう。そのため、間接的（動物に対して非侵襲的）に採材可能な尿や糞などの排泄物を用いて研究を実施するしか方法がない場合が多い。その際は、得られたホルモン値がどの時点の値を反映しているのか、しっかりと考慮したうえで値を分析しなければならない。

そして、多くの研究を見ていて盲点となっているのが種によるホルモンの排泄経路の違いである。上述のように排泄物を用いたホルモン分析例が多くあるが、血中を流れたホルモンが糞または尿に排泄される経路が動物種によって異なる点に留意しなければ

ばならない (Erb et al. 1977, Schwarzenberger 2007)。ホルモンは主に肝臓で代謝され、水溶性のものは腎臓から尿中へ、不溶性のものは胆汁に運ばれ腸肝循環を経て糞中に排泄される。例えば、イエネコの場合、ホルモンの9割は糞に排泄され、そのホルモンは1:1の割合で抱合型および非抱合型として排泄される (Graham et al. 1995)。このように、ホルモンの種類によって排泄経路は異なり、また抱合型あるいは非抱合型として代謝の仕方も異なることを考慮して分析を行わなければならない。そして、血中を流れたホルモンがそれぞれに排泄されるまでの時間も動物種によって異なる点に留意して、測定結果を分析しなければならない。

次に重要なのは②採材頻度である。野外でサンプルを採取できる頻度が、数時間ごと、数日ごと、数週間ごと、数カ月ごと、あるいは特定の季節のみといったように、調査環境によって採材頻度も異なる。その他にも、一度に複数頭から採材し、採材地域箇所の違いを調べるといった採材方法もあるだろう。研究目的に合ったホルモン分析を実施するためには、どの程度の採材頻度が必要なのか、研究前によく計画を立てておかなければならない。例えば、雌の発情ホルモン濃度を調べたい場合、動物種によって、季節性多発情、周年性多発情、または単発情と発情回数や時期が異なってくる。また、発情ホルモン濃度動態は細かい波形を示すため、ピーク日を捉えなければ発情状態を評価することは難しい。動物種によって発情期間の日数が異なるため、どの時期にどのような採材頻度でサンプルを採取すべきか、ある程度事前にホルモン濃度動態の情報を得ていなければ、採材頻度を決めることも困難である。しかし、当初の計画通りに採材できるかどうかは、調査環境に左右される。これら①および②の条件をよく考慮した上で、研究対象のホルモン濃度測定が可能かどうか考え、結果を考察してほしい。

また、ホルモンは種類によって安定性および種特異性が異なってくる。例えば、ステロイド系のホルモンはペプチド系よりも分解速度が遅く安定的であり、種特異性がない。そのため、野外での測定対象ホルモンとして焦点を当て易いという利点がある。

それでも、ホルモンの分解は、サンプル中の細菌やその酵素 (Woods 1975)、気温および紫外線

(Matkovics 1972) が原因で起こる (Khan et al. 2002, Wasser et al. 1988)。特に、食性 (肉食性、雑食性など) の違いや、草食性であれば発酵部位 (前腸または後腸) の違いなど、消化方法の違いによって、ホルモンの分解程度は異なる (Palme 2005, Pettitt et al. 2007)。新鮮糞を採取することが困難な場合は、可能であれば、飼育下などで研究対象動物の糞を採取し、ホルモン分解の時間経過を予備実験として調べておくことと実験結果の解釈に役立つだろう。

サンプルの保存方法について

サンプルを採材した後は、その保存方法の検討も重要である。安定した結果を得るためには、サンプルを実験室に運ぶまで、調査地で適切にサンプルを保存しなければならない。最も適切なサンプル保存方法は凍結保存であるが、十分な電気を確保できない調査地では凍結保存方法は有用ではない。研究によっては、有機溶媒中 (エタノールやメタノールなど) に保存している例もある (Fichtel et al. 2007, Khan et al. 2002, Galama et al. 2004, Terio et al. 2002, Ziegler and Wittwer 2005, Lynch et al. 2003, Whitten et al. 1998)。保存方法も予備実験として検討しておくことを勧める。また、保存過程を経ずに野外で直接ホルモンを抽出し実験室にサンプルを持ち帰っている研究例もある (Kalbitzer and Heistermann 2013, Murray et al. 2013, Shutt et al. 2012)。

さらに、研究対象動物のホルモン上昇濃度や個体差の程度の確認も必要である。ホルモン濃度は使用する測定系 (抗体、標識物、発色液、測定波長など) によって測定感度が異なる。そのため、同種の動物であっても、異なる測定系で測定した研究結果 (発表論文の測定値など) は、濃度動態は自身の測定結果と比較の対象になっても、測定値を比較し議論することはできない。ぜひ、自身の測定系を用いた際の研究対象動物のホルモン上昇値がどの程度なのか、飼育下の個体などで値を確認しておくことと良いだろう。また、可能であれば、濃度の違いにどの程度の個体

差があるのかについても把握しておく結果の議論に役立つ。

まとめ

野外の個体は、同種間または異種間の影響、生息環境の影響、および季節変化などの気候による影響を受けて、外部環境を抽象して体内を調整し、内因性の周期的変化とともにホルモン分泌を促している。私は、ホルモン分析を行うことで、目では見えない動物たちの体内情報（こころ）を知ることができると考えている。しかし、野外で採取できるサンプルは、糞尿などの排泄物や毛など、動物に対して間接的および非侵襲的に採取できるサンプルが大半である。これらのサンプルは採材が容易である反面、安定した測定結果を得るまでに、上述のようにさまざまな予備実験（条件検討）が必要である。その条件検討を行う場所として大変有効であるのが、動物園などの飼育個体からのサンプル採取である。高い採材頻度、かつ新鮮なサンプルを採取できる飼育個体は、野外でホルモン研究を実施する上で大変貴重なデータを提供してくれる。ぜひとも、野外で採取したサンプルを生かすためにも、サンプルの採取、および保存方法の最適条件の検討も研究の一部として実施していただきたい。野生個体は複雑な外部環境の中で生きている。ホルモン分析を通して、その複雑な野生個体の「こころ」を知るためにも、さらなる分析手法の発展が望まれる。

文献

清水慶子 (2009) 尿および糞を用いたサル類の非侵襲的ホルモン測定法とその応用—Field Endocrinology のすすめ—. 霊長類研究 24: 367-383.

Erb RE, Chew BP, Keller HF. (1977) Relative concentration of estrogen and progesterone in milk and blood, and excretion of estrogen in urine. Journal of Animal Science 45: 617-626.

Graham LH, Goodrowe KL, Raeside JI, Liptrap RM. (1995) Non-invasive monitoring of ovarian function in several felid species by measurement of fecal estradiol-17 β and progestins.

Zoo Biology 14: 223-237.

Kalbitzer U, Heistermann M, Cheney D, Seyfarth R, Fischer J. (2015) Social behavior and patterns of testosterone and glucocorticoid levels differ between male chacma and Guinea baboons. Hormones and Behavior 75:100-110.

Khan MZ, Altmann J, Isani SS, Yu J. (2002) A matter of time: evaluating the storage of fecal samples for steroid analysis. General and Comparative Endocrinology 128: 57-64.

Koren L, Mokady O, Karaskov T, Klein J, Koren G, Geffen E. (2002) A novel method using hair for determining hormonal levels in wildlife. Animal Behaviour 63: 403-406.

Lynch JW, Khan MZ, Altmann J, Njahira MN, Rubenstein N. (2003) Concentrations of four fecal steroids in wild baboons: short-term storage conditions and consequences for data interpretation. General and Comparative Endocrinology 132: 264-271.

Matkovics. (1972) In vitro transformation of steroids as a substitute of microbial transformation. Steroids Lipids Research 3: 1-7.

Mostl E, Messmann S, Bagu E, Robia C, Palme R. (1999) Measurement of glucocorticoid metabolite concentrations in faces of domestic livestock. Journal of Veterinary Medicine 46: 621-631.

Murray CM, Heintz MR, Lonsdorf EV, Parr LA, Santymire RM. (2013) Validation of a field technique and characterization of fecal glucocorticoid metabolite analysis in wild chimpanzees (*Pan troglodytes*). American Journal of Primatology 75:57-64.

Palme R. (2005) Measuring fecal steroids: guidelines for practical application. Annals New York Academy of Sciences 1046: 75-80.

Pettitt BA, Wheaton CJ, Waterman JM. (2007) Effects of storage treatment on fecal steroid

- hormone concentraions of a rodent, the Cape ground squirrel (*Xerus inauris*). General and Comparative Endocrinology 150: 1-11.
- Shutt K, Setchell JM, Heistermann M. (2012) Non-invasive monitoring of physiological stress in the Western lowland gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*): validation of a fecal glucocorticoid assay and methods for practical application in the field. General and Comparative Endocrinology 179:167-177.
- Schwarzenberger F. (2007) Non-invasive endocrine monitoring using fecal steroid analysis: opportunities and challenges. Revista Brasileira de Zootecnia 36: 87-88.
- Terio KA, Brown JL, Moreland R, Munson L. (2002) Comparison of different drying and storage methods on quantifiable concentrations of fecal steroids in the cheetah. Zoo Biology 21: 215-222.
- Vining RS and McGinley RA. (1987) The measurement of hormones in saliva: possibilities and pitfalls. Journal of Steroid Biochemistry 27: 81-94.
- Wasser SK, Risler L, Steiner RA. (1988) Excreted steroids in primate feces over the menstrual cycle and pregnancy. Biology of Reproduction 39: 862-872.
- Whitten PL, Brockman DK, Stavisky RC. (1998) Recent advances in noninvasive techniques to monitor hormone-behavior interactions. Yearbook of Physical Anthropology 41:1-23
- Woods GF. (1975) Chemical and microbiological transformation of steroids. In: Cameron EHD (Ed.), Steroid immunoassay. Alpha Omega Publishing Ltd., Cardiff, pp. 5-10.
- Ziegler TE, Wittwer DJ. (2005) Fecal steroid research in the field and laboratory improved methods for storage, transport, processing, and analysis. American Journal of Primatology 67: 159-174.

安定同位体分析は、生物の食性や生息環境の推定に使われる手法である。本稿では、霊長類を含む大型哺乳類の行動生態学のフィールドにおける安定同位体分析の応用について概説する。原理、使いどころ、他の分析と比べた特徴、応用の際のテクニカルな注意事項について述べる。なお、特に推奨する参考文献として、全体的に土居ほか（2016）、安定同位体分析の基礎についてはヘフス（2012）、テクニカルな注意事項については Reitsema（2015）を挙げておく。

1. 安定同位体分析の原理と使いどころ

1.1 同位体分析とは

安定同位体分析は、生物の食性や生息環境の推定に使われる手法である。同位体とは質量数の異なる元素のことであり、同位体比とは、簡単に述べると、それらの存在比率である。地球上に存在する炭素を例にとると、質量数 12 の ^{12}C が 98.9%、安定同位体である ^{13}C が 1.0%、放射性同位体である ^{14}C がごく微量を占める。年代測定などに使われる放射性同位体と異なり、安定同位体は非常に長い期間安定に存在する、同位体比（ δ 値）は、標準物質における安定同位体の存在比率（e.g., $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ ）に対する偏差で表され、単位は千分率（‰）である。含まれる安定同位体の割合が標準物質より小さい試料では、同位体比がマイナスとなる。

化学反応を経ることによって同位体の存在比率がシステムチックに変化し、この存在比率がトレーサーの役割を果たす。たとえば、炭素同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ 値）は生態系の一次生産者の光合成様式によって大きく変化し、窒素同位体比（ $\delta^{15}\text{N}$ 値）は生態系の栄養段階の上昇にともなって増加する（表 1）。こうした同位体比の違いを生み出すのは、化学反応における同位体の反応性の違いである。質量数の大きい

同位体を含む化合物は反応しづらいため、未反応の基質には重い同位体、反応済みの生成物には軽い同位体が比較的多く含まれることになる。

1.2 使いどころ

生物を構成する元素は、そのほとんどが餌資源に由来するため、同位体分析は、生物の餌資源の推定によく用いられる。本稿ではこれ以降、生態学での応用例も特に多い炭素・窒素の同位体分析による餌資源の推定を念頭に置いて、諸項目を説明する。

同位体分析による食性推定には、主に 3 つの使いどころがある。まずは、対象種の餌資源がまったく不明な場合である。同位体分析を適用することで、大まかな餌資源のカテゴリーとその摂取割合が推定できる。基本的には対象種の体組織を分析するだけである程度の見当がつけられるため、簡単かつ低コストである。考古試料や、観察データがあまり存在しない動物種の食性推定などがその対象となる。

次に、特定品目・カテゴリーの寄与を推定できる場合がある。餌資源のなかに、同位体比が大きく異なる品目や食物カテゴリーが入っていた場合、その寄与率を推定できる。対象種の体組織のほかに、その特定の品目・カテゴリーを含む主要な餌資源も分析できると望ましく、努力量によって議論の確実性が変化する。 C_4 植物や海産物の寄与の推定などがこの例である。

最後に、採食品目全体について、大まかな餌資源カテゴリーごとに、それぞれの寄与割合を推定することも可能である。ただし、対象種の体組織だけでなく、すべての主要な餌資源についても採取・分析をしなければならないため、往々にして大きな手間とコストを要する。利用する餌資源のレパートリーも把握しておく必要があり、行動観察などの事前データが必須である。また逆に、そうした行動観察デ

表 1. 安定同位体分析においてよく用いられる元素とその特徴

元素	推定する対象	原理
炭素	食性	一次生産者の光合成様式によって異なる
窒素	食性	栄養段階の上昇にともない増加
酸素	生息環境	気温や湿度を反映
硫黄	食性	海は均一で、淡水や陸はばらつく
ストロンチウム	移動	地質によって異なる

タなどがすでにあれば、わざわざ同位体分析によって寄与割合を再推定する必要も薄くなってしまふ。

総じて、同位体分析は、対象種の餌資源が不明であればあるほど威力を発揮する手法である。個別の品目というよりは大きなカテゴリーごとの数字ではあるものの、餌資源の寄与割合を比較的簡便かつ短期間のうちに推定できる。

2. 安定同位体分析の特徴

DNA やホルモンなどの分析と比較した際の、安定同位体分析の特徴について述べる。

2.1 環境や生理条件による変動

基本的に、生物の同位体比は、摂取した餌資源の同位体比を反映する。しかし、餌資源の同位体比は環境条件によって変化し、また生物のなかでも生理学的な要因によって同位体比が変化する。たとえば、植物の $\delta^{13}\text{C}$ は年間平均降水量と負の相関を示し (Kohn, 2010)、植物の $\delta^{15}\text{N}$ は年間平均降水量と負の相関／年間平均気温と正の相関 (Amundson et al., 2003; Craine et al., 2009)、人為的な農耕・牧畜活動による変化 (Szpak, 2014) を示す。病変によって $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ は変化し (Reitsema, 2013)、特に $\delta^{15}\text{N}$ は、栄養ストレス、成長、妊娠などによっても変化する (Fuller et al., 2004; Reitsema, 2013)。これらの変化は、生態系の異なる資源カテゴリー間の同位体比の差分よりは小さい場合が多い。しかし、環境や生理学的な背景をきちんと把握しておかないと、得られた同位体比について誤った解釈を導く

場合もある。

同位体比の変動から、環境の違いや生理学的な背景を逆に推定することも可能である。たとえば、複数の調査地から得られたチンパンジーの体毛 $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ を比較した研究では、毛 $\delta^{13}\text{C}$ と平均降水量に負の相関を見出し、この相関と外れる調査地においては、チンパンジーに特徴的な食性が見られる可能性を議論している (Loudon et al., in press; Schoeninger et al., in press)。また、異なる生息地のチンパンジーの毛同位体比と化石人類の値を比較し、*Ardipithecus* や *Australopithecus* の生息環境を推定する試みもなされている (Loudon et al., in press)。オランウータン野生個体の尿 $\delta^{15}\text{N}$ を長期間にわたって測定した研究では、果実欠乏期でもタンパク質ストレスはそれほど大きくないと議論がなされている (Vogel et al., 2012)。

2.2 組織による違い

ほとんどの場合、同位体比は、分析する組織によって値が異なる。これは、その組織が反映する期間、および含まれる成分組成の違いによる。たとえば、歯は幼少期の食性を記録したまま置換せず成体に残るが、成体の骨は最近十数年程度の食性を反映し、皮膚や毛はより最近の数ヶ月から数年程度の食性を反映する (e.g., Bahar et al., 2014)。また、代謝的に異なる由来をもつ成分では同位体比も異なる。由来の異なる複数の成分が混合している組織をバルクで測った場合には議論が複雑になるため、同位体分析には成分組成が均質な試料が好まれる。植物においても組織間に同位体比の違いが存在す

る (Cernusak et al., 2009)。

異なる組織や異なる成分を分析することで、それぞれ、時間軸や食物成分の解像度が向上することがある。考古科学においては、同一のヒト遺存体から得られた歯の分析によって幼少期の食性を、骨の分析によって死亡前 10 年間程度の平均的な食性を、毛髪の連続分析によって死亡前 1 年程度の食性の変化をあわせて復元するといった研究がいくつか行われている (e.g., Knudson et al., 2012; Lamb et al., 2014)。また、骨や歯のコラーゲンは食物のうち特にタンパク質の $\delta^{13}\text{C}$ を反映するが、骨や歯の無機質は脂質や炭水化物も含む全炭素源の $\delta^{13}\text{C}$ を反映し、それぞれ分析することで、タンパク質寄与の大きい食物とそうでない食物などを推定することも可能になる (Kellner & Schoeninger, 2007)。

2.3 測定結果から引き出せる情報が少ない

同位体分析において、さまざまな餌資源、環境要因、生理学的な変動、ランダム効果などは、同位体比という単一の値にまとめられてしまう (表 2)。多くの場合は餌資源による影響がもっとも大きいいため、食性を表すパラメータと考えても差し支えないが、細かい議論をする際には、同位体比の「リバー・エンジニアリング」的な解釈が必要となる。また、同位体比は、摂取された餌資源の絶対量ではなく相対割合を示す指標である。ある資源を「比較的」多く摂取しているということはわかっていても、栄養的にそれが十分かどうかはわからない。

その反面、同位体分析では測定結果が単一の値にまとまるため、定量的・客観的な比較が容易である。たとえば人類生態学の分野では、社会経済水準の低い／高いヒト集団の毛髪同位体比を比較したり (Bender et al., 2015)、開発状況の異なる地域・

時代から得られたヒト体組織の同位体比を比較したりすることで (Umezaki et al., 2016)、同じ社会や文化に属するヒトのあいだで、個人の属性による食性の違いが調べられている。摂取されている餌資源の大まかな傾向をつかむ際には、同位体分析は簡便で強力な手法となる。

2.4 元素という小さな単位を対象にする

同位体分析で対象にするのは元素という小さな単位であり、特定の (高) 分子を対象にする DNA やホルモンの分析と異なる。目的とする元素が試料から失われる／外部から混入することがなければ試料の同位体比は変化しないため、分解に対して比較的ロバストである。また、PCR のようにシグナルを増幅する過程もないため、コンタミネーションにも比較的強い。このため、同一の試料に複数の分析を実施する場合には、先に DNA やホルモンのためのサンプルを採取し、同位体分析用サンプルは後のほうで採取するのが効率的かもしれない。

しかし、元素という小さな単位を対象にするため、同位体分析においていざ分解やコンタミネーションがおこった場合には、その検出が難しい。DNA やホルモンの分析では、対象とする分子が分解されてしまっていた場合にはシグナルは検出されず、またコンタミネーションの元になるのは同じ種類の分子である。その一方で、同位体では、望まない反応で同位体比が変化していても、対象の元素が存在すれば同位体比は得られてしまい、またその元素が含まれるものは、特定の分子に限らず、すべてコンタミネーションの元となってしまう。同一サンプルから同位体比と一緒に測定できる元素濃度を目安に、測定したのが目的のものであるかを判断する指標なども存在する (コラーゲン: DeNiro, 1985, 糞:

表 2. 安定同位体分析と行動観察の比較

	解像度	尺度
同位体分析	大まかな食性カテゴリー	実際に消費された食物の相対割合
行動観察など	詳細な採食品目	採食された食物の量

Reitsema, 2012)。対象とする試料について、同位体比以外の指標も利用して、サンプルの integrity を評価する手法を確立できると良いであろう。

3. フィールドサイエンスでの応用

フィールドサイエンスにおいて同位体分析を実施しようとする際のテクニカルな注意事項を述べる。フィールドでのサンプル採取、保存と輸送、分析のための前処理、測定の実施について、順を追って概説する。

3.1 フィールドでの試料採取

どの生物からどの部位を採取するかという試料の選択が重要である。まず、試料が入手可能であることが第一条件となる。研究課題に照らして、得られると良い試料の候補を挙げてみる。どのような生物においても、毛や歯は使い勝手のよい良質の試料だが、糞や尿と比べると入手可能性に劣る場合が多い。試料が得られた際の周辺情報も重要であり、どの個体から、どのような環境条件の場所で、いつ、どのくらい純度の高い状態で得られたのか、などを記録できる試料であればなお良い。

次に、汚染や分解を受けていないか、受けているとしたらそうした影響を取り除けるかを考慮する必要がある。DNA 分析などと比べると、同位体分析は、試料の汚染や分解には比較的ロバストであるものの、実際に汚染・分解された際には、その事実の検出が困難である。すでに先行研究が積み重ねられ、試料の質の基準や、保存や洗浄のためのプロトコルが確立している試料（骨、毛、血液など）を用いると面倒が少ない。

最後に、その試料が反映している期間や、成分組成などが既知であるかも重要である。もし未知なら、実験的な基礎検討や文献の探索が必要になる。入手可能だが研究例の少ない試料でなんとかしようとする場合には、まずこうした基礎検討をすることとなる。

3.2 保存と輸送

フィールドで採取した試料は、調査期間中保存し

ておき、調査終了後実験室に輸送する。同位体比は化学反応によって変化するため、試料の化学反応を止めておく必要がある。具体的には、冷凍または乾燥しておけば基本的に問題ない。ただし、水分の多い試料の場合、乾燥されるまでに時間がかかったり、きちんと乾燥しきらなかつたりして、カビが発生したり腐敗したりすることがあるため気をつける。また、霜取り機能のついた家庭用冷凍庫の場合には、解凍と凍結を繰り返すあいだに液体成分が流れてしまい同位体比が変化するおそれもあるため、試料によっては注意が必要である (Barrow et al., 2008)。

有機溶媒やバッファーなどの保存液の使用に関しては注意が必要である。ホルマリンやエタノール漬けされた標本の分析に関する基礎検討は多く行なわれており、脂質の溶出や、ホルマリン分子と試料の化学反応などによって同位体比が変化し得る (e.g., Edwards et al., 2002; Sweeting et al., 2004)。DNA 分析用のバッファーに保存した場合や、そのほかの保存法に関しては、基礎検討例も応用例もほとんど存在しない。

3.3 分析のための前処理

実験室に持ち帰った試料は、同位体比の測定のために、前処理を施す必要がある。まず、試料によっては、洗浄や単離が必要になる。ノイズとなる外来物質が多く付着している場合には、物理的 (e.g., デンタルドリルによる除去)、化学的 (e.g., 土壌由来の酸をアルカリで分解) に洗浄する。特定の成分を単離して測定の対象を明確にする操作もしばしば行なわれる (e.g., 骨からコラーゲンを抽出: Longin, 1971)。毛や筋肉などタンパク質性の組織を測定対象とする場合、有機溶媒による脱脂もよく行なわれる。

固体試料を分析する場合には、測定の前に試料を乾燥させる。凍結乾燥機やオーブンが利用される。燃焼を防ぐため、オーブンは 60 °C 以下で用いられることが多い。液体を分析する場合には、保存の段階から、異なる操作が必要となる。

試料は錫や銀のカプセルに包んで、測定に供する。

試料の秤量のために、1 μg まで測れる微量天秤が必要である。外部由来の元素の混入を避けるため、洗浄や単離した後からは、試料は素手で触らず、操作時にはラテックスやニトリルの手袋を装着するようにする。ホコリなどもできるだけ除外する。細かい作業が苦手な人には、ひとときわ苦しい作業である。

3.4 測定の実施

多くの場合には、連続フロータイプの同位体比質量分析計を用いて、半自動的に多数の試料の同位体比を測定していく。燃烧型元素分析計、熱分解型元素分析計、ガスベンチなどでガス化した試料を質量分析計に導入させて、測定が行なわれる。

研究者自身が測定を実施する際にはある程度の経験や知識が必要になるが、受託分析を請け負う企業や研究機関も存在するため、そうした選択肢も考慮しておくが良い。

謝辞

シンポジウムの開催にあたり、中務真人さんと吉村彰子さんにお世話になりました。この場を借りてお礼申し上げます。

文献

ヘフス J (和田秀樹 訳). 2012. 同位体地球化学の基礎. 東京: 丸善出版.

土居秀幸, 兵藤不二夫, 石川尚人. 2016. 安定同位体を用いた餌資源・食物網調査法. 東京: 共立出版.

Amundson R, Austin AT, Schuur EAG, Yoo K, Matzek V, Kendall C, Uebersax A, Brenner D, Baisden WT. (2003) Global patterns of the isotopic composition of soil and plant nitrogen. *Global Biogeochem Cycles* 17:31.

Bahar B, Harrison SM, Moloney AP, Monahan FJ, Schmidt O. (2014) Isotopic turnover of carbon and nitrogen in bovine blood fractions and inner organs. *Rapid Commun Mass Spectrom* 28:1011-1018.

Barrow LM, Bjorndal K a, Reich KJ. (2008) Effects of preservation method on stable carbon and nitrogen isotope values. *Physiol Biochem Zool* 81:688-93.

Bender RL, Dufour DL, Valenzuela LO, Cerling TE, Sponheimer M, Reina JC, Ehleringer JR. (2014) Stable isotopes (carbon, nitrogen, sulfur), diet, and anthropometry in urban Colombian women: Investigating socioeconomic differences. *Am J Hum Biol* 00:n/a-n/a.

Cernusak L, Tcherkez G, Keitel C. (2009) Why are non-photosynthetic tissues generally ^{13}C enriched compared with leaves in C3 plants? Review and synthesis of current hypotheses. *Funct Plant Biol* 36:199-213.

Craine JM, Elmore AJ, Aida MPM, Bustamante M, Dawson TE, Hobbie EA, Kahmen A, Mack MC, McLaughlan KK, Michelsen A, Nardoto GB, Pardo LH, Peñuelas J, Reich PB, Schuur EAG, Stock WD, Templer PH, Virginia RA, Welker JM, Wright IJ. (2009) Global patterns of foliar nitrogen isotopes and their relationships with climate, mycorrhizal fungi, foliar nutrient concentrations, and nitrogen availability. *New Phytol* 183:980-992.

DeNiro MJ. (1985) Postmortem preservation and alteration of in vivo bone collagen isotope ratios in relation to palaeodietary reconstruction. *Nature* 317:806-809.

Edwards M, Turner T, Sharp Z, Montgomery W. (2002) Short-and long-term effects of fixation and preservation on stable isotope values ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{34}\text{S}$) of fluid-preserved museum specimens. *Copeia* 2002:1106-1112.

Fuller BT, Fuller JL, Sage NE, Harris DA, O'Connell TC, Hedges REM. (2004) Nitrogen balance and $\delta^{15}\text{N}$: why you're not what you eat during pregnancy. *Rapid Commun Mass Spectrom* 18:2889-2896.

- Kellner CM, Schoeninger MJ. (2007) A simple carbon isotope model for reconstructing prehistoric human diet. *Am J Phys Anthropol* 133:1112-1127.
- Kohn MJ. (2010) Carbon isotope compositions of terrestrial C3 plants as indicators of (paleo)ecology and (paleo)climate. *Proc Natl Acad Sci* 107:19691-19695.
- Longin R. (1971) New method of collagen extraction for radiocarbon dating. *Nature* 230:241-242.
- Loudon JE, Sandberg PA, Wrangham RW, Fahey B, Sponheimer M. (in press) The stable isotope ecology of *Pan* in Uganda and beyond. *Am J Primatol*. DOI: 10.1002/ajp.22552.
- Reitsema LJ. (2013) Beyond diet reconstruction: Stable isotope applications to human physiology, health, and nutrition. *Am J Hum Biol* 25:445-456.
- Reitsema LJ. (2012) Introducing fecal stable isotope analysis in primate weaning studies. *Am J Primatol* 74:926-939.
- Reitsema LJ. (2015) Laboratory and field methods for stable isotope analysis in human biology. *Am J Hum Biol* 27:593-604.
- Schoeninger MJ, Most CA, Moore JJ, Somerville AD. (in press) Environmental variables across *Pan troglodytes* study sites correspond with the carbon, but not the nitrogen, stable isotope ratios of chimpanzee hair. *Am J Primatol*. DOI: 10.1002/ajp.22496.
- Sweeting CJ, Polunin NVC, Jennings S. (2004) Tissue and fixative dependent shifts of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in preserved ecological material. *Rapid Commun Mass Spectrom* 18:2587-2592.
- Szpak P. (2014) Complexities of nitrogen isotope biogeochemistry in plant-soil systems: implications for the study of ancient agricultural and animal management practices. *Front Plant Sci* 5:288.
- Umezaki M, Naito YI, Tsutaya T, Baba J, Tadokoro K, Odani S, Morita A, Natsuhara K, Phuanukoonnon S, Vengiau G, Siba PM, Yoneda M. (2016) Association between sex inequality in animal protein intake and economic development in the Papua New Guinea highlands: the carbon and nitrogen isotopic composition of scalp hair and fingernail. *Am J Phys Anthropol* 159:164-173.
- Vogel ER, Crowley BE, Knott CD, Blakely MD, Larsen MD, Dominy NJ. (2012) A noninvasive method for estimating nitrogen balance in free-ranging primates. *Int J Primatol* 33:567-587.

主に海外のフィールドにおいてサンプルを採取し分析する際に、遵守・考慮しなければならない法規と倫理の基準をまとめました。ただし、こうした基準は常にアップデートされていきますし、一次情報も省庁や各国が提供しています。本稿はあくまで、全体俯瞰や初歩的な確認のためにご覧いただき、実際の手続きの際にはかならず一次情報を参考にしてください。

サンプルを採取する際に考慮しなければならない国際法規として、本稿ではワシントン条約（CITES）と名古屋議定書（ABS）を取り上げます。また、調査許可の申請と、倫理審査についても簡単に触れます。

ワシントン条約（CITES）

名称は「絶滅のおそれのある野生動植物の種の国

際取引に関する条約（CITES: Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora）」です。海外からの輸出入の手続きは、経済産業省が担当しています。また、CITESの附属書Ⅰ掲載種については、日本では国内移動も種の保存法（後述）で規制されており、動物園間の移動等の際の手続きは、環境省が担当しています。

野生動植物の特定の種の国際取引を規制するための条約です。絶滅のおそれがあるなどして保護が必要と考えられる種を3種類の「附属書」に分類し、それぞれについて異なる基準で取引を規制しています（表1）。生きている動植物だけでなく、剥製、パーツ、加工品も含まれます。また、平成21年1月15日より糞尿、同年10月15日より嘔吐物は適用対象外になりました¹。

	附属書Ⅰ	附属書Ⅱ	附属書Ⅲ
記載基準	絶滅のおそれのある種で取引による影響を受けている又は受けるおそれのあるもの	現在は必ずしも絶滅のおそれはないが、取引を規制しなければ絶滅のおそれのあるもの	締約国が自国内の保護のため、他の締約国・地域の協力を必要とするもの
規制内容	●学術研究を目的とした取引は可能 ●輸出国・輸入国双方の許可書が必要	●商業目的の取引は可能 ●輸出国政府の発行する輸出許可書等が必要	●商業目的の取引は可能 ●輸出国政府の発行する輸出許可書又は原産地証明書等が必要
対象種 (例)	オランウータン、スローリス、ゴリラ、アジアアロワナ、ジャイアントパンダ、木香、ガビアルモドキ、ウミガメ など	クマ、タカ、オウム、ライオン、ピラルク、サンゴ、サボテン、ラン、トウダイグサ など	セイウチ（カナダ）、ワニガメ（米国）、タイリクイタチ（インド）、サンゴ（中国） など

表1. CITES 附属書の概要（経済産業省 Web サイト¹より引用）

海外からこれらの対象を輸入する際の手続きは、以下のような流れで行ないます。

1. 経済産業省に輸入許可を申請する。Web サイトよりダウンロードした書類に必要事項を記入し、経済産業省に提出します²。大学であれば、総長/学長クラスの代表者の名前で書類を作成する必要があります。経済産業省の担当者の方に、事前にメールや電話で相談し、書類の確認などをしていただくと、二度手間なく手続きを進められます。

2. 調査国で輸出許可をもらう。「CITES 担当官」がおり、検索すると名前・住所・連絡先などの情報が得られます³。場合によっては、時間のかかる「面倒な」手続きが必要になるかもしれません。経済産業省から発行された輸入許可のコピーを提出し、日本国内ではすでに許可がおりていることを示します。

3. 輸入・輸出許可の双方がそろって、サンプルを輸送できるようになります。

国内でサンプルを移動させる際にも、法規の規制対象となる場合があります。この場合には、環境省の管理する通称「種の保存法」、正式名称「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律」がかかわってきます⁴。対象は CITES 附属書 I の掲載種のみです。対象種の個体全体、器官（個体の一部）、加工品（はく製等）が対象で、「器官」に関しては科ごとに対象となる部分が定められています（たとえば、オランウータンの剥製には手続き必要ですが、毛や歯だけなら必要ありません）。国や地方自治体などと、民間や私的利用で、手続きの厳しさが異なります。

名古屋議定書（ABS）

名称は「遺伝資源の取得の機会及びその利用から生ずる利益の公正かつ衡平な配分（ABS: Access and Benefit-Sharing）」です。日本はまだ締結していませんが、環境省が中心になって整備を進めています⁵。

遺伝資源を利用して生じた利益を、提供国と利用

国で公平に配分するための、「生物の多様性に関する条約（CBD: Convention on Biological Diversity）」の議定書です。遺伝情報や、製品開発につながる動植物や微生物を対象にしています。地域社会の伝統的な知識（例：この草は薬草になる）を利用するケースも、ABS の規制の対象となります。

手続きの流れの概略は以下の通りです。

1. 対象国と事前同意（PIC: Prior Informed Consent）を結ぶ。

2. つづけて、相互合意条件（MAT: Mutually Agreed Term）を設定する。

3. MAT にしたがって資源にアクセスする。

「学術対策チーム」が国立遺伝学研究所に設置されており、研究者に対してもさまざまなサポートを提供しています⁶。出前講座、シンポジウム、広報冊子の配布、メーリングリストの運営などを行なっています。

調査許可の申請

おそらくすべてのケースで、海外のフィールドで調査研究をする際には、その国や政府に対して、調査許可の申請をする必要があります。国や地域によって手間や手順はさまざまですので、すでに経験のある研究者に尋ねると一番良いかもしれません。

研究倫理審査

侵襲的な研究手法をとる場合には、調査の実施前に倫理審査を経る必要があります。器官や部局に審査の窓口がありますので、それぞれの所属機関で探してみてください。どこまでが倫理的に許されるのかについては、学会などがガイドラインを出していますので、参考になさってください⁷⁻⁹。

謝辞

シンポジウムでの発表および本稿を作成するにあたり、寺田佐恵子さんは多くの有益な情報を提供してくださいました。その情報がなければ、発表や

本稿は完成しませんでした。この場を借りて大きな感謝を申し上げます。

注

以下すべての Web ページについて、アクセス日は2016年8月9日です。

¹ ワシントン条約について（条約全文、付属書、締約国など） | 経済産業省

http://www.meti.go.jp/policy/external_economy/trade_control/02_exandim/06_washington/cites_about.html

² ワシントン条約規制対象貨物の輸入 | 経済産業省

http://www.meti.go.jp/policy/external_economy/trade_control/02_exandim/06_washington/cites_im.html

³ National contacts & information | CITES

<https://cites.org/eng/cms/index.php/component/cp/>

⁴ 種の保存法の概要 | 環境省

http://www.env.go.jp/nature/kisho/hozen/hozon_ho.html

⁵ 遺伝資源の取得の機会及びその利用から生ずる利益の公正かつ衡平な配分（ABS） | 環境省

<http://www.env.go.jp/nature/biodic/abs/index.html>

⁶ ABS 学術対策チーム

http://nig-chizai.sakura.ne.jp/abs_tft/

⁷ 飼育下にある霊長類の管理と実験使用に関する基本原則 | 日本霊長類学会

<http://primate-society.com/psj/psj3.pdf>

⁸ IPS Guidelines Japanese version | 国際霊長類学会

[http://www.internationalprimatologicalsociety.org/docs/IPS%20Guidelines%20Japanese%20version%20\(R%2020130416\).pdf](http://www.internationalprimatologicalsociety.org/docs/IPS%20Guidelines%20Japanese%20version%20(R%2020130416).pdf)

⁹ 動物実験の適正な実施に向けたガイドライン | 日本学会議

<http://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-20-k16-2.pdf>

分科会事務局

京都大学大学院理学研究科 自然人類学研究室内

〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

電話:075-753-4083 FAX :075-753-4083

e-mail:jim AT anthro.zool.kyoto-u.ac.jp

http://anthro.zool.kyoto-u.ac.jp/evo_anth/evo_anth.html