

「靈長類学・ワイルドライフサイエンス・リーディング大学院」による派遣研究者報告書
(当経費の支援を受けての出張後、2週間以内に必ずご提出ください)

2025年 11月 20日	
所属部局・学年	野生動物研究センター
氏名	小笠瑛一朗

1. 派遣国・場所 (○○国、○○地域) 演習室, WRC
2. 研究課題名 (○○の調査、および○○での実験) 野生生物学分析実習
3. 派遣期間 (本邦出発から帰国まで) 2025年 11月 4日 ~ 2025年 11月 7日 (4日間)
4. 主な受入機関及び受入研究者 (○○大学○○研究所、○○博士／○○動物園、キュレーター、○○氏) 村山美穂先生、佐藤悠先生
5. 所期の目的の遂行状況及び成果 (研究内容、調査等実施の状況とその成果：長さ自由) 写真（必ず1枚以上挿入すること。広報資料のため公開可のもの）の説明は、個々の写真の直下に入れること。 別途、英語の報告書を作成すること。これは簡約版で短くてけっこうです。

一日目

一日目の午前中は、吉田南キャンパス内でサンプルとなる鳥の羽を収集した。私は、前日に京都御所内でカラスの羽とトビの羽を集めていたので、キャンパス内では、それらのサンプルに加え、もう一つ、サンプルを収集した。他の実習生は、カラスやハトと思われる羽を収集し、最終的に、演習室に保管されていた2サンプルを加えた、16サンプルを遺伝子解析に用いた。

午後からは、演習室に移動し、DNAの抽出を行った。まず、サンプルの羽軸をハサミで細かく粉碎し、ATLバッファーとプロテイナーゼを加え、56°Cで15分毎に攪拌しながら1時間以上インキュベートし、タンパク質を分解した。ALバッファーを加えて56°Cで10分間インキュベートした後、エタノールを加え、遠心分離を行った。さらに、AW1バッファーを加えて遠心分離、AW2バッファーを加えて遠心分離を行い、水を加えて56°Cで5分間インキュベートした後、最後に遠心分離を行い、抽出したDNAは4°Cで保存された。次に、DNA濃度を測定し、鳥用のプライマーを用いて、PCRによるmtDNA C01領域の増幅を行った。PCRは、95°Cで30秒、55°Cで30秒、74°Cで1分を1サイクルとして40サイクル後、74°Cで10分、10°Cでインキュベートする、という条件で行った。また、PCRの結果をゲル電気泳動で確認するためのゲルの作成も行った。アガロース粉末をTBEバッファーに溶かし、加熱した後、プレートに注ぎ入れ、翌日まで冷蔵庫に安置した。

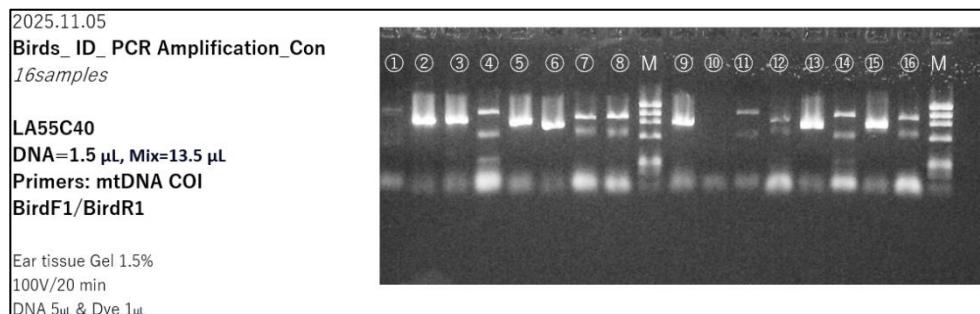
「笠長類学・ワイルドライフサイエンス・リーディング大学院」による派遣研究者報告書
 (当経費の支援を受けての出張後、2週間以内に必ずご提出ください)

	A	B	C	D	E
1	ID	Conc. ng/ μ l	Sex	Location	Estimated Species
2	1	3.1		Yoshida South	Dove
3	2	1.9		Yoshida South	Dove
4	3	5.8		Yoshida South	Dove
5	4	0.9		Yoshida South	Dove
6	5			Yoshida South	Dove
7	6			Yoshida South	Dove
8	7			Yoshida South	unclear_small
9	8			Yoshida South	Dove?_white
10	9			Yoshida South	Dove
11	10			Yoshida South	Crow
12	11			Yoshida South	Crow
13	12			Palace	Crow
14	13	4.1		Palace	Kite
15	14	0.3		Yoshida South	unclear_small
16	15_Con			Ishigaki	Crow
17	16_Con			Ishigaki	Dove

一部サンプルの DNA 濃度測定結果 (B 列)

二日目

二日目の午前中は、PCR の結果を確認するために、ゲル電気泳動を行った。着色した DNA サンプルとサイズマーカーをゲルの穴に入れ、電気泳動を 20 分間行った後に、紫外線を当てて結果を確認した。電気泳動の結果より、十分量の PCR 産物ができていたため、PCR 産物の精製（余分なプライマーの除去）を行った後、DNA シーケンスを実施した。シーケンス反応は、96°Cで 10 秒、50°Cで 5 秒、60°Cで 1 分を 1 サイクルとして 25 サイクル実施し、10°Cでインキュベートする、という条件で行った。



電気泳動の結果

「靈長類学・ワイルドライフサイエンス・リーディング大学院」による派遣研究者報告書
 (当経費の支援を受けての出張後、2週間以内に必ずご提出ください)

午後は、終了したシーケンス反応液にエタノールを加えて精製した後、シーケンサーで塩基配列を解読し、その結果をもとに種判別を行った。

A	B	C	D	E	F
ID	Conc. ng/μl	Sex	Location	Estimated Species	Confirmed Species
1	3.1		Yoshida South	Dove	Rock dove
2	1.9		Yoshida South	Dove	Oriental turtle dove
4	5.8		Yoshida South	Dove	
5	0.9		Yoshida South	Dove	Sooty tern
6	5		Yoshida South	Dove	Rock dove
7	6		Yoshida South	Dove	Rock dove
8	7		Yoshida South	unclear_small	Carriion crow
9	8		Yoshida South	Dove?_white	
10	9		Yoshida South	Dove	Rock dove
11	10		Yoshida South	Crow	
12	11		Yoshida South	Crow	Carriion crow
13	12		Palace	Crow	Rock dove
14	13	4.1	Palace	Kite	Rock dove
15	14	0.3	Yoshida South	unclear_small	Sooty tern
15_Con			Ishigaki	Crow	
16_Con			Ishigaki	Dove	Sooty tern

DNAに基づく種判別の結果 (F列)

感想

今回の実習は、ラボワーク中心となり、マイクロピッパー等、慣れない機器の扱いに苦労した。全ゲノム解析を実施する場合は、DNA量が多く得られる筋肉や血液などのサンプルを用いているが、今回、羽軸のサンプルからでもある程度結果を出すことができ、DNA解析の有用性を実感することができた。

※この実習報告書は提出前に担当教員（引率教員がいる実習は引率教員が、いない場合は指導教員）のチェックを受けてください。

「靈長類学・ワイルドライフサイエンス・リーディング大学院」による派遣研究者報告書

(当経費の支援を受けての出張後、2週間以内に必ずご提出ください)

6. その他 (特記事項など)

実習の実施にあたり、村山美穂先生、佐藤悠先生、鈴木様、TAの中村さん、Fadel さん、Xorlali さんにご指導いただきました。この場を借りて御礼申し上げます。