

「霊長類学・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、必ずご提出ください)

平成 26 年 6 月 14 日

所属部局・職	霊長類研究所・修士課程学生
氏名	浅見真生

1. 派遣国・場所 (〇〇国、〇〇地域)
京都、日本
2. 研究課題名 (〇〇の調査、および〇〇での実験)
ゲノム実習・The 5 th International Seminar on Biodiversity and Evolution
3. 派遣期間 (本邦出発から帰国まで)
平成 26 年 5 月 30 日 ~ 平成 26 年 6 月 7 日 (9 日間)
4. 主な受入機関及び受入研究者 (〇〇大学〇〇研究所、〇〇博士/〇〇動物園、キュレーター、〇〇氏)
京都大学野生動物研究センター、村山美穂 教授
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。

本実習では、屋久島実習においてヤクシカ (*Cervus Nippon yakushimae*) の糞から採取した DNA サンプルを用いて、雌雄判別及びミトコンドリア DNA 多型の判定を行った。また、その結果を個体間の社会行動と比較、検討し The 5th International Seminar on Biodiversity and Evolution においてポスター発表を行った。なお、ゲノム実習は屋久島実習のシカ班、イチジク班それぞれに対応した 2 班及び、全ゲノム班の 3 班に別れて行われ、私はシカ班に所属し実習を受講した。

<実習日程>

- 5 月 30 日 京都へ移動、DNA 抽出、PCR 増幅
- 5 月 31 日-6 月 3 日 電気泳動での性判定、シークエンサーでの mtDNA 塩基配列多型の解析
- 6 月 6 日 発表準備
- 6 月 7 日 ポスター発表、京都を離れる

1) 性判定

以下の 3 種のサンプルについて性判定を行った。

- a) 排泄直後に回収した 47 サンプル
- b) 1-8 間野外に放置した 20 サンプル
- c) 昨年採取され冷凍保存されていた 5 サンプル

X・Y 染色体上に共に存在するアメロゲニン遺伝子領域を PCR 増幅し、電気泳動を 2 回行った結果、初回はバンドが表れず失敗し、2 回目は全てのサンプルにおいて性判定は成功した。よって、観察個体の性別が確定され、日光や風に晒され、雨に晒された糞でも 8 日目までは性判定が可能であることがわかった。失敗は複数の学生が交代して実験を行ったことで実験手順一つ一つ時間がかかった為と考えられたが、検証する時間は残念ながらなかった為定かではない



写真 1 PCR の手技を学ぶ

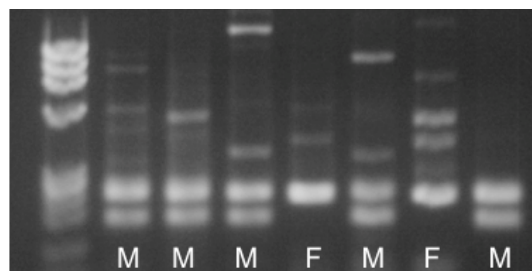


写真 2 電気泳動の結果
左：マーカー M:Male F:female

「霊長類学・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、必ずご提出ください)

2) mtDNA 多型の判定

サンプル a)b)の D ループ領域を増幅、シーケンサーで塩基配列を読み取り、そのうちの約 740bp を多型判定に用いた。読み取ることの出来た 38 サンプルから 7type の多型が得られ、そのうち type1 が 29 個体で最多であった。これを個体間の親和的社会行動と比較した結果、以下のことがわかった。

- ・ ほとんど全ての親和的交渉は同じ type 間で生じていた
- ・ 異なる type 間での親和的交渉は 4 例あり、全てオス-メス間の交渉であった
- ・ 野外に放置した糞 b) には性判定は出来ても塩基配列が読み取れないものがあり、森より露天に放置した方の劣化が早かった

比較出来た塩基数は少なく、1 回のシーケンスでは綺麗に読み取れないサンプルも多く多型判定には苦戦したが、シーケンサーや MEGA7 の基本的な使用方法を学び、一連の流れを経験することができたことで学ぶことは多かった。性判定同様に初回のシーケンスでは失敗してしまい、2 回行ったのであるが、手技に時間がかかる作業は TA の方々のお手を借りることも多く、次回は自分の力で進めてみたいと感じた。

解析の段階に至って、今回の実験の原理や意味について考えさせられることが多く、実習生間ディスカッションの中で知識や考え方の幅を増やすことができたと感じている。これまで wet の実験経験がほとんどなかった自分にとって、本ゲノム実習は実り多いものとなった。動物の進化を骨の形態や化石から明らかにしたいと考えているが、古い骨や化石から遺伝情報を得られる技術も開発されている今、この実習での基礎的な経験が役立つこととなるだろう。



写真 3 シカ班のメンバー

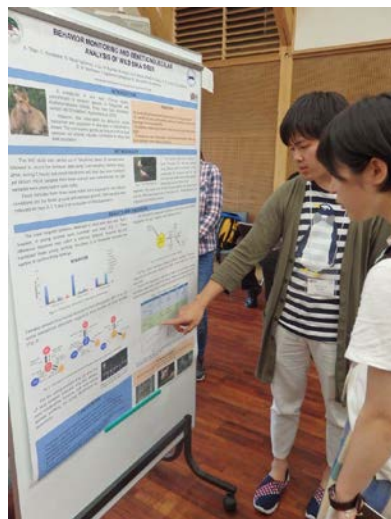


写真 4 ポスター発表の様子

6. その他 (特記事項など)

本実習をご支援くださった PWS リーディング大学院プログラム、実験室をお貸し頂いた野生動物研究センターに厚く御礼申し上げます。またご指導いただいた村山教授、揚妻さん、TA の方々、シカ班のメンバーによってこの実りある実習を行うことができたことに感謝申し上げます。