

# 「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 22 日	
所属部局・職	京都大学野生動物研究センター 共同利用研究員
氏名	揚妻-柳原芳美

<b>1. 派遣国・場所</b> (〇〇国、〇〇地域)
京都大学 理学研究科
<b>2. 研究課題名</b> (〇〇の調査、および〇〇での実験)
ゲノム実習
<b>3. 派遣期間</b> (本邦出発から帰国まで)
平成 26 年 5 月 29 日～平成 26 年 6 月 6 日 (9 日間)
<b>4. 主な受入機関及び受入研究者</b> (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)
阿形清和氏(京都大学 理学研究科 生物物理学教室)、岸田拓士氏(京都大学野生動物研究センター)
<b>5. 所期の目的の遂行状況及び成果</b> (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。
<b>1. 参加動機</b>
昨今の技術進歩により、新鮮な糞便からの野生動物の DNA 採取や、そこから核ゲノム情報といった膨大なデータを得ることが比較的容易にできるようになった。これらの技術の習得や理解は、これからの野生動物研究の分野では不可欠であると考え、私は本ゲノム実習を受講した。
<b>2. 実習内容</b>
本実習では、事前に屋久島で採集し処理されたヤクシマザル 13 頭と、幸島に生息するニホンザル 4 頭の、計 17 頭分の糞便サンプルを用いた。これらの糞便から各個体の DNA を抽出し、苦味受容体遺伝子 (TAS2R) の地域間・集団間・個体間の変異を調べた。具体的な作業は以下の通りである。
1) 各糞便サンプルからそれぞれ DNA を抽出した。
2) Qubit による抽出 DNA 中の総 DNA 量の計測と qPCR による宿主 (サル) ゲノムの定量により、不良なサンプルを除去した (今回は 10 サンプルを選抜した)。
3) 超音波により DNA を約 500bp に断片化してから、ハイブリダイゼーションのためのアダプターインデックスをサンプルごとに付加した。
4) サンプル DNA を LM-PCR で増幅後、Qubit で各サンプルの DNA 量を計測してから全サンプルを混合した。
5) ハイブリダイゼーション (約 72 時間) 後に再び LM-PCR で増幅し、テープステーションで DNA 量を計測した。
6) 次世代シーケンサー MiSeq を用いて各サンプルの塩基配列を決定した (約 60 時間)。⇒本実習期間内では結果が出ないため、これ以降のデータ解析は昨年度のデータを用いた。なお、本実験の解析結果は、後日、京大のサーバ上にアップされた。
7) 昨年度のデータ (1 頭分) について、クオリティーチェック、トリミング、マッピング、アライメント等の加工処理を行った。大容量データの操作は京都大学のサーバに各人が自身の PC で直接アクセスして行った。
8) TAS2R 遺伝子について、アカゲザルとヤクシマザル間での一塩基置換や挿入欠失等の変異、ヤクシマザル内におけるハプロタイプの有無について分析した。
9) 分析結果をポスターにまとめ、6/6 の国際セミナーにて発表した。

## 「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)

### 3. 感想

先端機器を使った遺伝解析の現場に直に触れることができ、非常に刺激的な実習であった。また、いろいろな場面で講師やチューター・班員の方に助けられた。後半のデータ解析作業では、班員各自が得意分野の作業を分担することで、内容に幅のあるポスターが作成できたと思う。しかしながら、初めて触れる機器類の扱いや、大容量データの解析のために使用する特殊なソフト類およびコマンド等の説明を英語で受けるため、理解度が浅くなってしまったことが悔やまれる（自身の英語ヒヤリング力の無さが招いた悲劇であるのだが）。

分からなかった点や疑問点については、実習終了後もメール等で丁寧に指導していただき、アフターフォローが充実していると実感した。指導してくださった講師・チューター、助けてくれた班員の方々に深く感謝している。

### 4. 要望

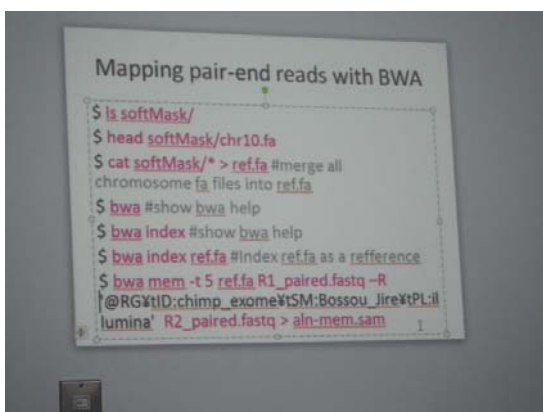
作業が深夜まで及ぶこともあり、全体の実習スケジュールが見えない中で、モチベーションを維持することが難しく感じられる場面もあった。加えて、必要な備品類が十分でなかったり、機器類とチューブサイズとの不適合といったアクシデントもみられた。初日の段階で全体を通した詳細な作業フロー等の説明時間を設けるとか、事前の備品チェックを徹底していただくなどの改善が望まれる。



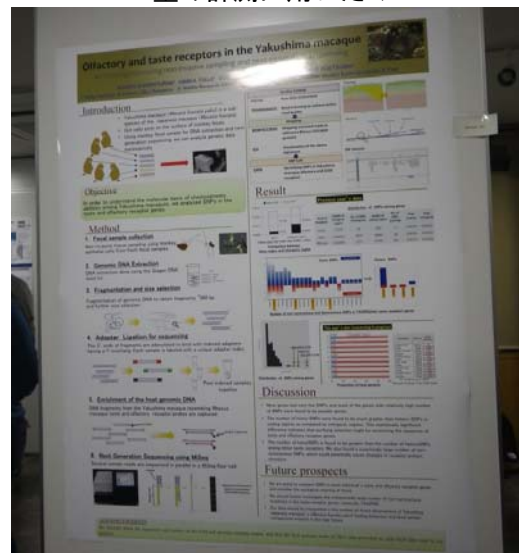
ビーズを用いた低分子断片除去の様子



DNA 量の計測に用いた Qubit



BWA ソフトを使ったデータのマッピング  
(コマンドの説明)



作成したポスター（発表時の様子）

### 6. その他（特記事項など）