

「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 15 日	
所属部局・職	野生動物研究センター・修士課程学生
氏名	松島 慶

1. 派遣国・場所 (〇〇国、〇〇地域)
京都大学
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
3. 派遣期間 (本邦出発から帰国まで)
平成 26 年 5 月 29 日 ~ 平成 26 年 6 月 5 日 (8 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)
京都大学理学研究科
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。
[実習の概要] 屋久島実習で収集したサンプルを用いて次世代シーケンサーを用いた最新のゲノム技術を学ぶ。実習ではグループに分かれ、それぞれターゲットシーケンスによる宿主ゲノム解析、アンプリコンメタゲノム解析、サンガー法を用いたダイレクトシーケンスによるデータベース作成などの実習を行った。なお、解析したデータは整理を行い、実習最終日に行われる国際セミナーにおいてポスター発表を行った。
[実習の内容] 私は次世代シーケンサーを用いたアンプリコンメタゲノム解析による腸内細菌叢の解析を行うチームに所属し、実験・解析を行った。屋久島のサルの糞サンプルのうち、RNALater による保存を行ったサンプルに対し、DNA 抽出操作を行い、精製操作を行った。16S rRNA gene の V1-V2 配列及び V3-V4 配列の部分に対する PCR を行い、さらに抽出操作を行った。濃度測定後、適当に希釈を行い、バーコード配列を付加し、ライブラリを作成した。このライブラリを元に、他班のサンプルとともに Illumina Miseq によるシーケンスを行った。解析は Claident (アライメント及びタクソン決定) 及び R の vegan package を用いて行った。
[実習の結果] 2種類のプライマーセット (V1-V2 領域用、V3-V4 領域用) を用いて実験を行ったものの、解析時間が足りなかったため、V1-V2 領域のみの解析を行った。また、すべての有するサンプルに対して実験を行う時間がなかったため、幸島のサルのサンプルを含む 10 サンプルのみ解析を行った。 タクソン決定では約 75%の配列が門レベルでの決定に成功した。 α ダイバーシティを計測したところ、主要な目レベルでのタクソンはすべてのサンプルで一致したが、OTU 数には大きく差が生じた。これは PCR に寄る差なのかどうかはレアファクションカーブを作成することができなかったため不明であり、今後の課題となっている。PCA 解析では幸島のサルのサンプルが、OTU レベルにおいて屋久島のサルと異なる可能性が示唆された。
[反省と感想] とにかく実習の日程がカツカツであったため、理解を後回しにしたがりの作業になりがちであった。また、解析しなければならぬデータも多数あったにもかかわらず、多くをあきらめざるを得なかった。 今回の実習では講師陣に関して、実習の方向性に関する意見が異なることが多く、実習生は戸惑わずにはいられなかった。単純化するならば「これは実習なのでがんばらなくてもよい」という意見と、「ゲノム実験・解析はがんばらなければいけない(がんばればデータがでる)」という意見の2つがあったのだが、実習生の中で実験・解析の理解に大きく差がある中での実習であったので、理解度の高い実習生への負担ばかりが大きくなっていったようであった。講師陣にはデータに満足してばかりではなく、指導方面を中心に考えていただきたいと思う。 しかしながら、実際に次世代シーケンサーを利用できる経験ができたのは非常に有意義であった。今後、自身の研究にも利用できればと思う。

「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)



Illumina MiSeq

6. その他 (特記事項など)

今回の実習の成果は「The 3rd International Seminar on Biodiversity and Evolution」で発表されました。