

「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)

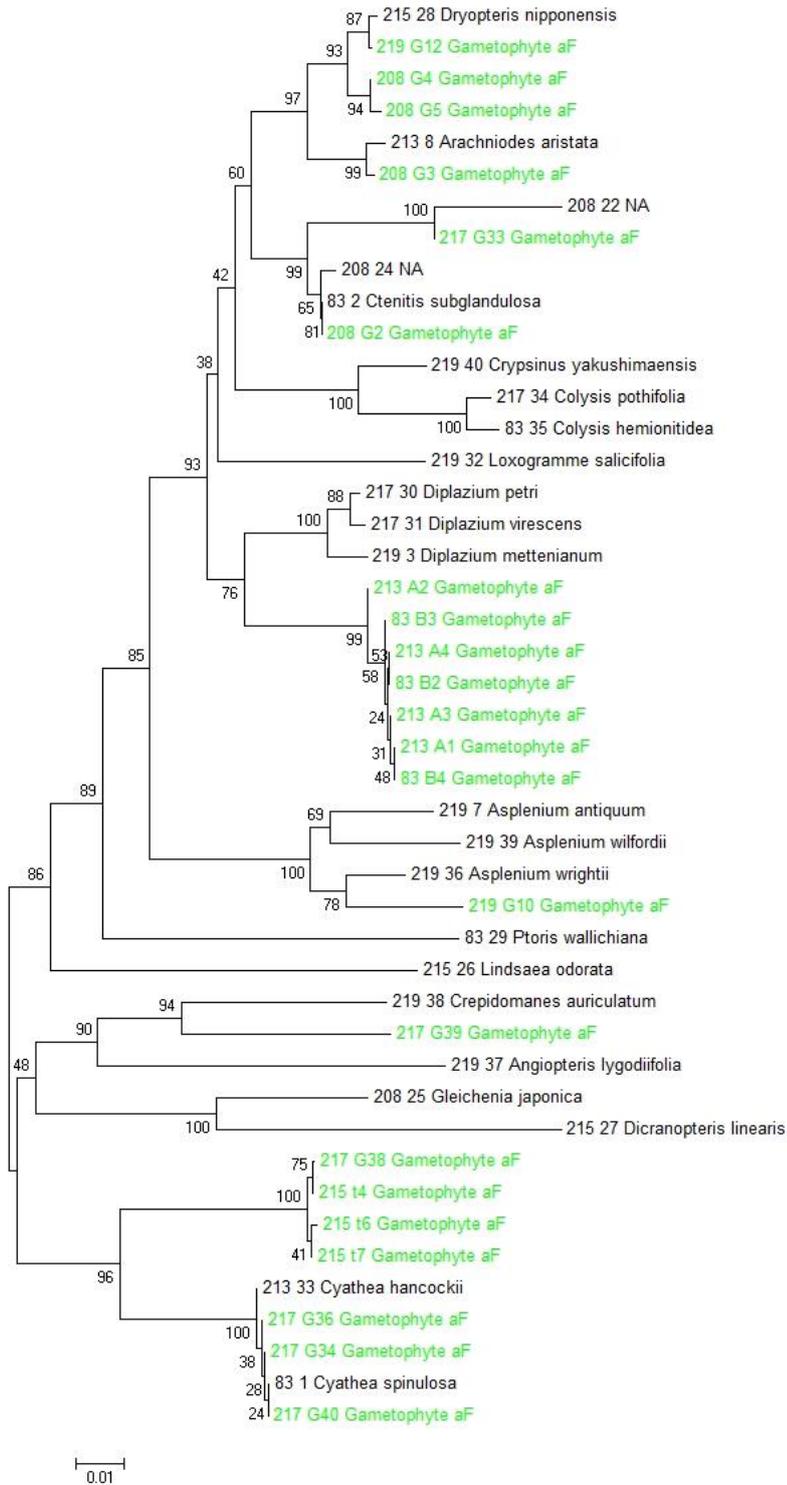
平成 27 年 11 月 1 日	
所属部局・職	再生医科学研究所・修士課程学生
氏名	田中雄大

1. 派遣国・場所 (〇〇国、〇〇地域)	
京都府京都市左京区	
2. 研究課題名 (〇〇の調査、および〇〇での実験)	
屋久島実習 2015 年秋 ゲノム科学実習 (植物班)	
3. 派遣期間 (本邦出発から帰国まで)	
平成 27 年 10 月 26 日 ~ 平成 27 年 10 月 30 日 (5 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 理学研究科植物学教室 布施静香博士、生態学研究センター 佐藤博俊博士	
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。	
<p>本実習の目的は、先に行われたフィールド科学実習にて採集したサンプルを、分子生物学的手法を用いて解析することであった。私はフィールド科学実習に引き続いて植物班に所属し、屋久島におけるシダ植物前葉体の種ごとの分布を調べるために、フィールド科学実習で採集したシダ植物の DNA を解析して種の同定を行った。屋久島でのフィールド科学実習にて、採集したシダ植物のうち胞子体は図鑑から形態的特徴を元に種を同定することができた。しかし、前葉体は大きさが 10 mm ほどと小さく、形態から種を同定することが難しい。そこで、前葉体の種を塩基配列から同定することを試みた。</p> <p>方法は以下の通りである。</p> <p>1 日目: フィールド実習で採集した胞子体と前葉体をそれぞれ一人 8 サンプルずつ選び、胞子体 40 サンプルと前葉体 40 サンプルの計 80 サンプルを解析に用いた。サンプルは、胞子体については破碎してから DNA を抽出した。その後、胞子体と前葉体の DNA を鋳型として、PCR 法で rbcL (ribulose- biphosphohate carboxylase/oxygenase large subunit) 遺伝子を増幅した。rbcL 遺伝子は種の同定に一般的に使われる遺伝子である。このとき、前葉体については破碎と DNA 抽出を行わず、切片を丸ごと PCR 反応液に入れて PCR を行った。</p> <p>2 日目: rbcL 遺伝子の増幅を電気泳動で確認してから、DNA を cycle sequence (dideoxy 法で反応) し、ABI3130 シーケンサーで配列を解析した。</p> <p>3 日目: 2 日目の PCR にて前葉体の DNA が十分量まで増えなかったため、さらに増幅するために前葉体のサンプルを再度 PCR 処理した。</p> <p>4 日目: 解析した配列をもとに、サンプルの種を BLAST 検索 (インターネット上のデータベースと照合) して同定した。</p> <p>5 日目: 解析結果をもとに、実験に用いたサンプルの系統樹を描き、発表の準備を行った。</p> <p>結果としては、前葉体の解析がうまくいかなかった。配列を解析できたサンプルが少なく、それゆえ地点や季節ごとの比較をするための十分なデータが集まらなかった。また、配列を解析できたものも配列の領域が短く、それゆえ BLAST 検索で一種に同定することができなかった。</p> <p>しかしながら、配列をもとに系統樹を描くことで前葉体の属名を同定し (種小名までは同定できなかった)、今回採集した胞子体との比較を行ったところ、ある地点で胞子体には見られないが前葉体でのみ見られる 3 種を発見した。また、2014 年春に解析された前葉体との比較を行ったところ、季節によって採集された種とそうでない種があった。</p> <p>今回の実習の反省点として、前葉体の解析がうまくいかず、解析できたサンプルが少なかったことが結果の考察を難しくした。地点ごとの比較や、2014 年春に行われた調査をもとにした季節ごとの比較を行おうと考えていたが、比較できるサンプル量が少なすぎて詳細な考察が行えなかった。そこで、次回に向けて、2 つの改善点を提案したい。一つは、前葉体も胞子体と同じく破碎して DNA 抽出を行うことで解析の成功率を上げること。もう一つは、解析するサンプルの条件を絞ることである。今回は全 6 地点から 8 サンプルずつ使用し、1 地点あたり 3 サンプルほどしか配列を解析できず、それゆえ他との比較が難しかった。そこで、より少ない地点から多くのサンプルを解析することで地点ごとの比較をしやすいと考えられる。</p>	

「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)

この実習の結果は、11月5日にフィールド科学実習の結果と併せて報告する予定である。



採集したサンプルから描かれた系統樹

6. その他 (特記事項など)

本実習にてご指導をいただいた布施先生、佐藤先生、篠原先生、そして共に実験を行った植物班の皆様に深く感謝いたします。