

研究班番号【1 1 2】

PCR による遺伝子鑑定

生物班：大山 綾香 田中 麻里

要約

本研究の目的は、高津高校で採集したキイロショウジョウバエを遺伝子レベルで鑑定することである。実験によって、高津高校には野生のキイロショウジョウバエが生息するということがわかった。従って本研究では、PCR を用いて正確に遺伝子鑑定ができるということが結論付けられた。

Abstract

The purpose of this study is to analyze the yellow fruit flies collected at Kozu High School at the genetic level. The experiment shows that wild yellow fruit flies exist in Kozu High School. Therefore, this study concludes that accurate genetic testing is possible .

1. 序論

私たちがこの研究を行った理由は、現在世界中で大流行している新型コロナウイルスの検査方法として大活躍している PCR 検査に興味を持ったからだ。そして、高校生である私たちも高津高校で PCR を行うことが出来ると知り、身近にいるキイロショウジョウバエの DNA 鑑定を PCR を用いて実験を行った。



2. 研究手法

大阪府立大学から頂いたキイロショウジョウバエのサンプルと、高津高校の裏庭の木にトラップを仕掛けて捕獲した野生のショウジョウバエを、それぞれの個体がキイロショウジョウバエかどうかPCR法で同定した。1番から6番のサンプルを用意し、1番は府立大学から頂いた実験用に確立された株であるキイロショウジョウバエの個体を、2番は高津で飼っている個体をサンプルとした。3,4番は高津高校で捕獲した成虫、5番は高津高校で捕獲したさなぎを用い、双眼実体顕微鏡で形態上、キイロショウジョウバエと同様の体長、体色、眼色を持つものを選んだ。6番は対照実験を行うために水を入れた。

＜PCRの方法＞

① DNAの抽出

チューブに入ったシヨウジョウバエを爪楊枝で原形がみえなくなるまで潰す。

次に、98℃のお湯に8分間浸し、遠心分離機に5000回転/分を5分4℃でかける。

② PCR

抽出したDNAが入ったチューブをPCRマシンに入れる。

「95℃ 3分」を1サイクル、「95℃ 15秒、63℃ 30秒、72℃ 10秒」を35サイクル

「72℃ 5分」を1サイクル

このようなサイクルを行ってDNAを増幅する。

③ 精製

PCRにかけた溶液をカラムにいれ、DNAを吸着させる。

その後、遠心分離機にかけ、より純度の高いDNAを取り出す。

④ 電気泳動

精製した液体を電気泳動にかけて、目的の塩基配列かどうかを確認する。

電気泳動にかけていないDNA抽出液を、マクロジェンジャパンに送り詳しい塩基配列を解析してもらう。

3. 結果

3,5番はキイロシヨウジョウバエの遺伝子を検出できた

塩基配列の数が300程度で、塩基の種類が明確に示されていた。

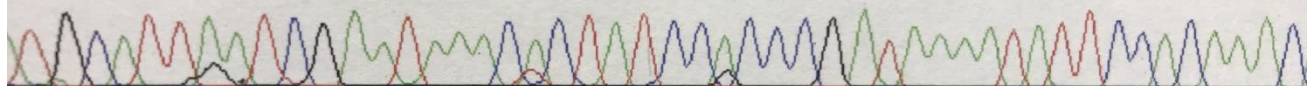
1,2,4番はキイロシヨウジョウバエの遺伝子を検出できた。

1,2番は塩基配列の波がはっきりとせず、等間隔の山ができていない。

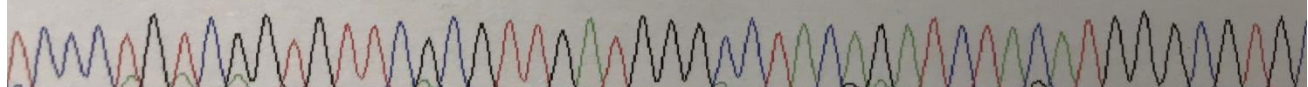
また、4番は塩基配列の数が600程度まで続いていた。

6番は対照実験を行うための水を入れたものであったため、キイロシヨウジョウバエの遺伝子を検出できなかった。

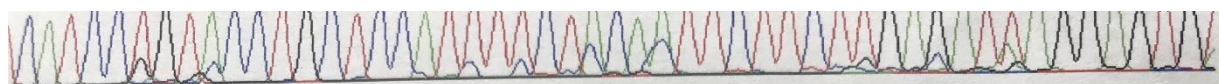
60 70 80 90
GCATTAATCGAATAAACACTATCCACCCTGATAAAATATTCCACAAAC



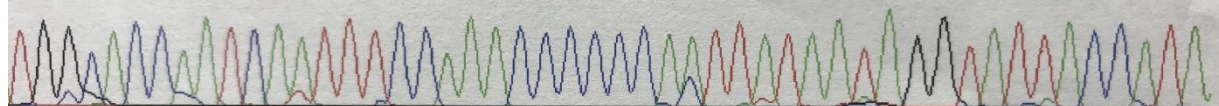
180 190 200 210 220
CCCTGTCGGTGTTCGCGTTGATGGGCCTACAGATCTACATGGGCGTGC



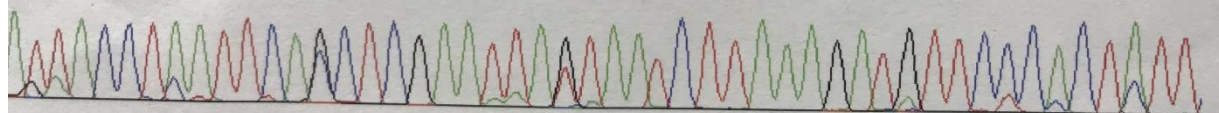
0



460 470 480 490 500
TGGCACCAATCAATTTCCAAACCCCCCAATTATAATAAGGTATTACCATA

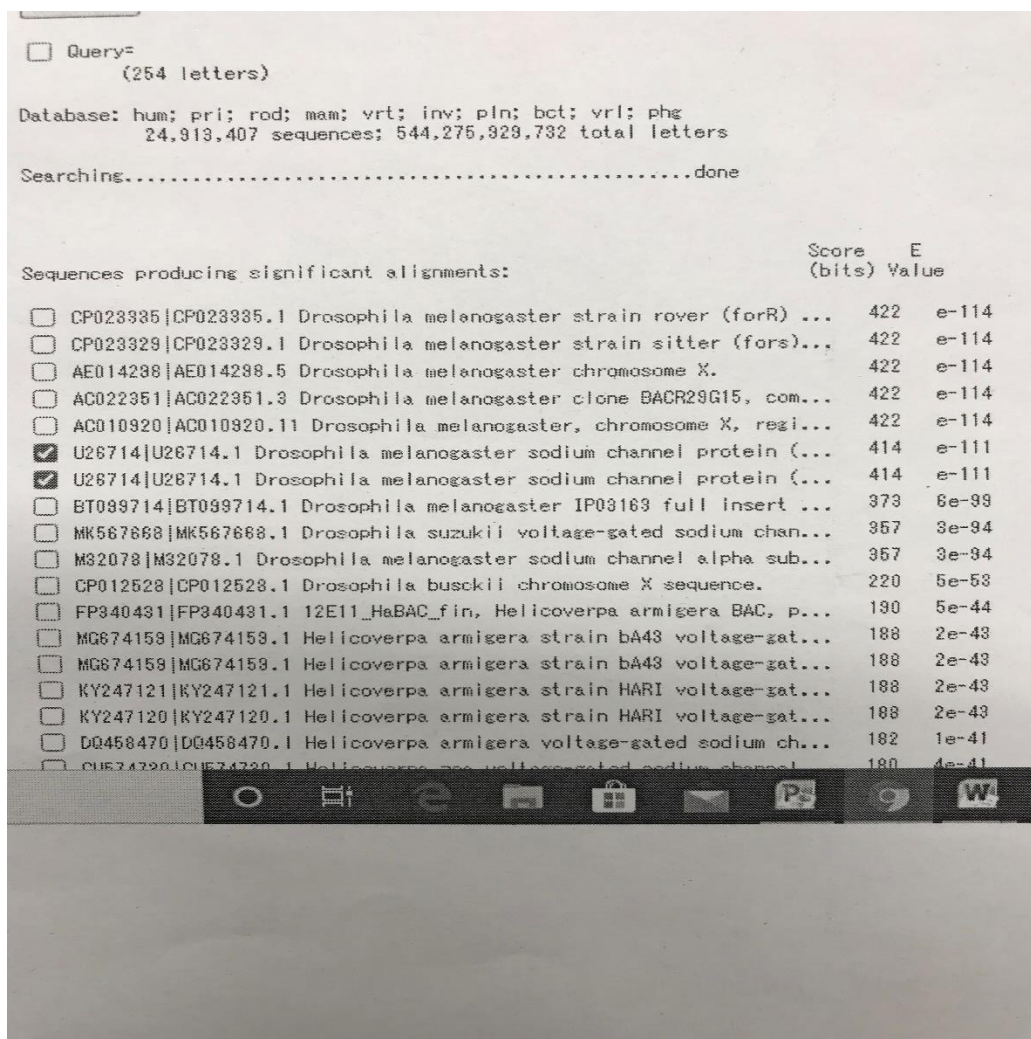


580 590 600 610 620
ATTACCTAATTCAGCTCGAATTAGTAATCTTAAAGATGTTCCCACATT









4. 考察

3, 5 番はキイロシヨウジョウバエの遺伝子を検出できたことから、遺伝子レベルでキイロシヨウジョウバエの同定ができた。このことより、高津高校の校内にキイロシヨウジョウバエが生息していることが確認された。

1, 2, 4 番はキイロシヨウジョウバエの遺伝子を検出できなかった理由として、実験操作中のミス、もしくは用いた実験体が別の種であったということが考えられる。

5. 結論

PCR を用いて、高津高校に生息するキイロシヨウジョウバエの DNA 鑑定を行うことができた。サンプルを選定する際、形態上の特徴からキイロシヨウジョウバエであることを想定したが、それが遺伝子レベルで確認できたことになる。双眼実体顕微鏡での観察は数分でできるが、PCR 法は朝 9 時から夕方 6 時までかかってやっと抽出ができる。更に正確な塩基配列を解析するのは、高津高校の設備ではできず、マクロジェンジャパンに送り、約一週間かかる。種の同定を行うときこの労力と時間がかかる方法と不確かだが素早くできる方法を用いるそれぞれの場面をよく考えることが大切だと思った。

今後の展望として、高津高校で PCR 法を用いて遺伝子レベルの同定が行いやすくなり、様々な研究に用いられることが望まれる。

また、課題として細かな作業が多いため、ミスせず早く行えるよう、技術面の熟練も重要であると考えた。

そして現在、PCR 法は新型コロナウイルスによって需要が高まっている。高校でも実験が可能であることを知ってもらい、高校生の世代でも PCR に対する科学的な知識が広がることが社会問題解決の助けになるのではないかと感じた。

6. 謝辞

本研究で進めるにあたり、大阪府立大学の田中良晴准教授からは、技術面を含め多大なご指導を賜りました。深く感謝し、お礼を申し上げます。