

研究班番号【112】

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ョ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500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番はキイロショウジョウバエの遺伝子を検出できた

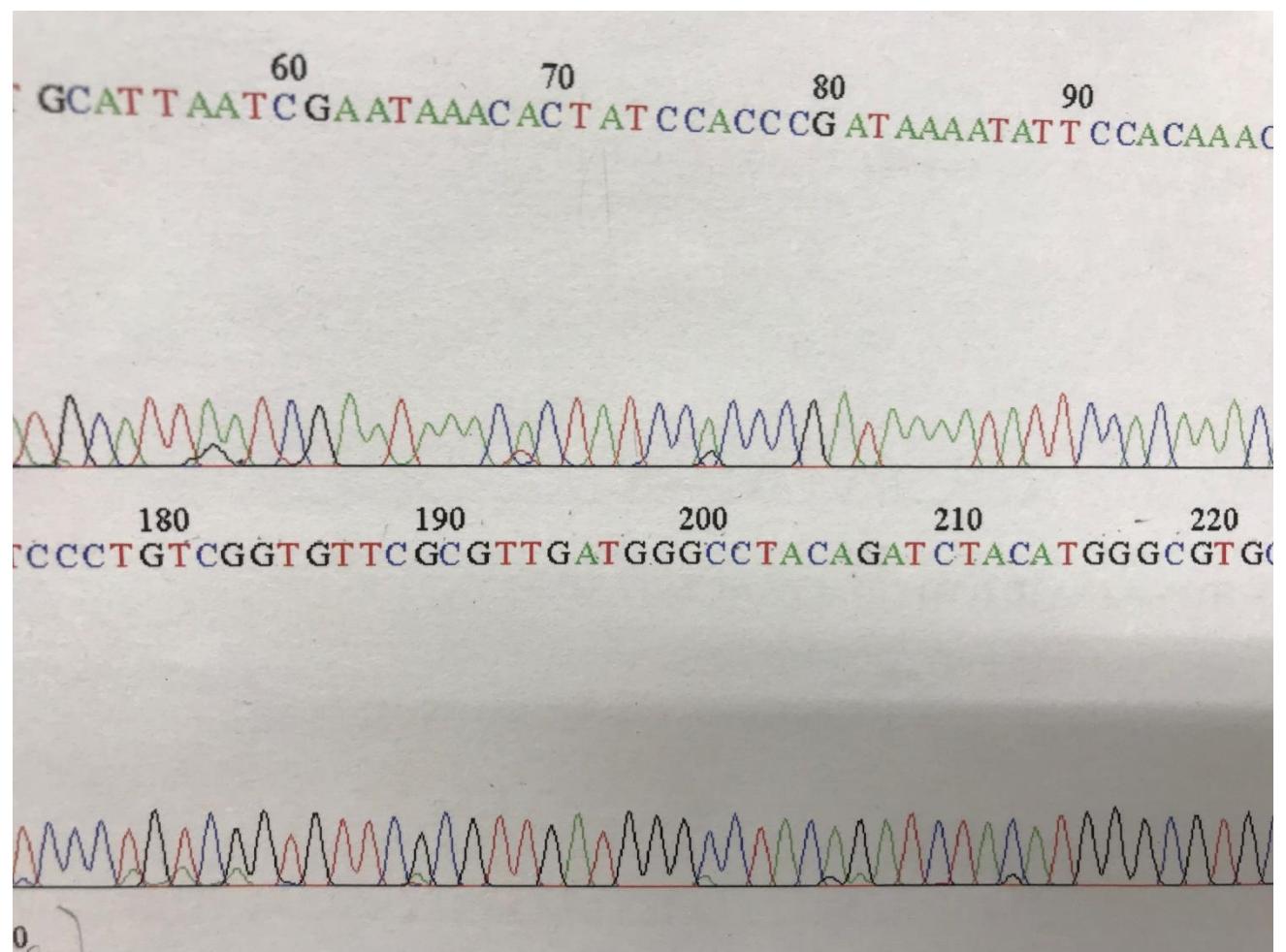
塩基配列の数が300程度で、塩基の種類が明確に示されていた。

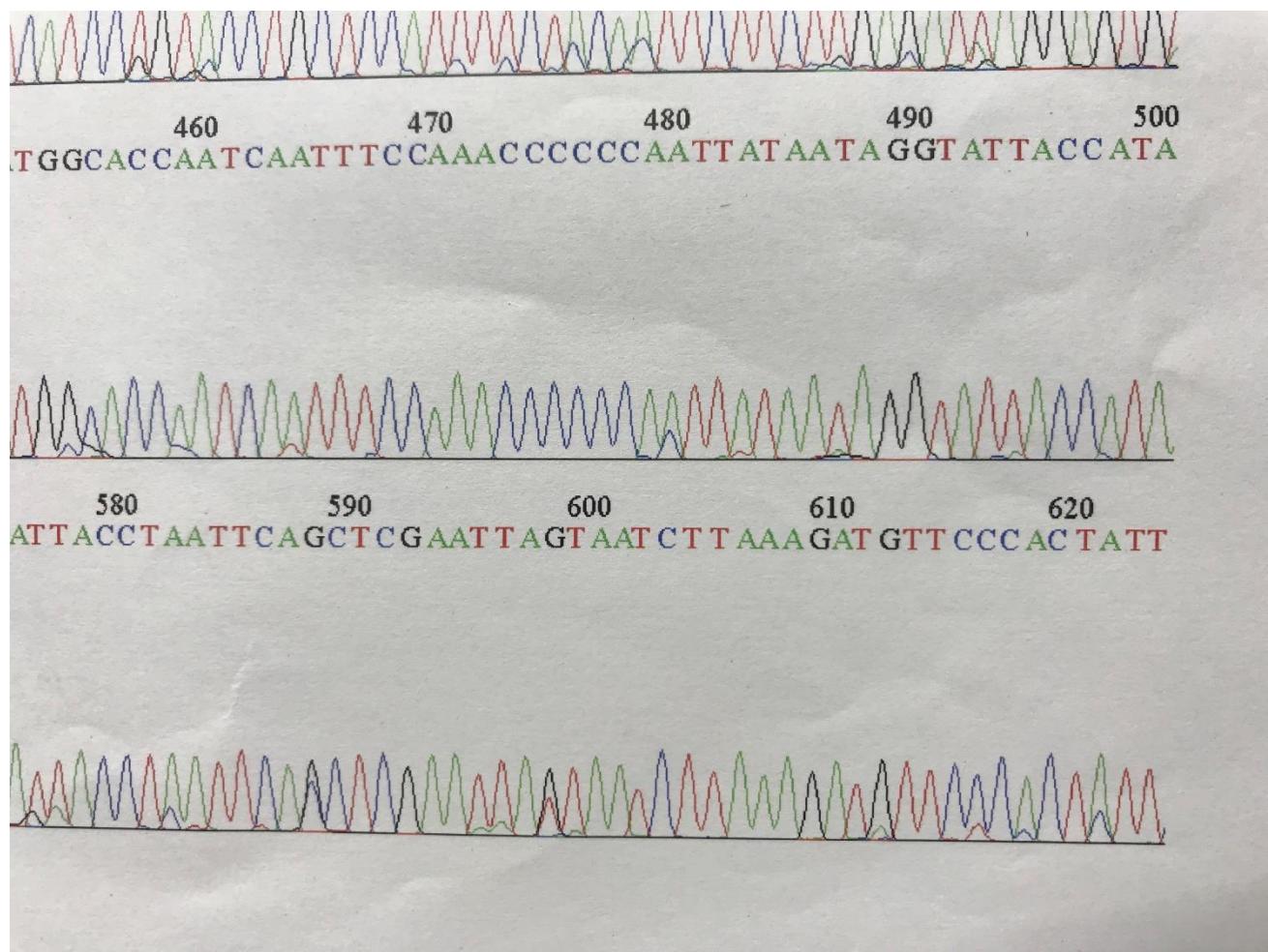
1,2,4番はキイロショウジョウバエの遺伝子を検出できた。

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、キイロショウジョウバエの遺伝子を検出できなかった。









Query= (254 letters)
 Database: hum; pri; rod; mam; vrt; inv; pln; bct; vrl; phg
 24,913,407 sequences; 544,275,929,732 total letters
 Searching.....done

	Score (bits)	E Value
Sequences producing significant alignments:		
<input type="checkbox"/> CP023335 CP023335.1 Drosophila melanogaster strain rover (forR) ...	422	e-114
<input type="checkbox"/> CP023329 CP023329.1 Drosophila melanogaster strain sitter (fors)...	422	e-114
<input type="checkbox"/> AE014288 AE014288.5 Drosophila melanogaster chromosome X.	422	e-114
<input type="checkbox"/> AC022351 AC022351.3 Drosophila melanogaster clone BACR29G15, com...	422	e-114
<input type="checkbox"/> AC010920 AC010920.11 Drosophila melanogaster, chromosome X, regi...	422	e-114
<input checked="" type="checkbox"/> U26714 U26714.1 Drosophila melanogaster sodium channel protein (...)	414	e-111
<input checked="" type="checkbox"/> U26714 U26714.1 Drosophila melanogaster sodium channel protein (...)	414	e-111
<input type="checkbox"/> BT099714 BT099714.1 Drosophila melanogaster IP03163 full insert ...	373	8e-99
<input type="checkbox"/> MK567668 MK567668.1 Drosophila suzukii voltage-gated sodium chan...	357	3e-94
<input type="checkbox"/> M32078 M32078.1 Drosophila melanogaster sodium channel alpha sub...	357	3e-94
<input type="checkbox"/> CP012528 CP012528.1 Drosophila busckii chromosome X sequence.	220	5e-53
<input type="checkbox"/> FP340431 FP340431.1 12E11_HaBAC_fin, Helicoverpa armigera BAC, p...	190	5e-44
<input type="checkbox"/> MG674159 MG674159.1 Helicoverpa armigera strain bA43 voltage-gat...	188	2e-43
<input type="checkbox"/> MG674159 MG674159.1 Helicoverpa armigera strain bA43 voltage-gat...	188	2e-43
<input type="checkbox"/> KY247121 KY247121.1 Helicoverpa armigera strain HARI voltage-gat...	188	2e-43
<input type="checkbox"/> KY247120 KY247120.1 Helicoverpa armigera strain HARI voltage-gat...	188	2e-43
<input type="checkbox"/> D0458470 D0458470.1 Helicoverpa armigera voltage-gated sodium ch...	182	1e-41
<input type="checkbox"/> CUE24220 CUE24220.1 Helicoverpa armigera voltage-gated sodium channel	180	4e-41

4. 考察

3, 5番はキイロショ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ョ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ョウジョウバエが生息していることが確認された。

1, 2, 4番はキイロショ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ョウジョウバエの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ョ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時から夕方の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、マクロジエンジャパンに送り、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つてもらい、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わりました。深く感謝し、お礼を申し上げます。