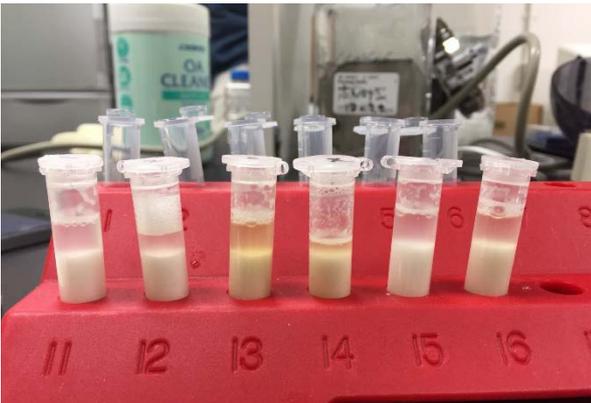
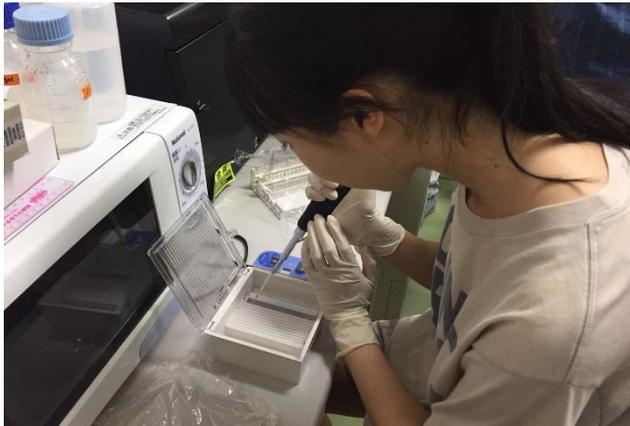


「霊長類学・ワイルドライフサイエンス・リーディング大学院」による派遣研究者報告書

(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 29 年 6 月 30 日

|        |                   |
|--------|-------------------|
| 所属部局・職 | 野生動物研究センター・修士課程学生 |
| 氏名     | 楊木 萌              |

|  |  |
|--|--|
| <b>1. 派遣国・場所</b> (〇〇国、〇〇地域)  |  |
| 京都大学理学研究科 1 号館   |  |
| <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 29 年 5 月 22 日 ~ 平成 29 年 5 月 26 日 (5 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)  |  |
| 京都大学野生動物研究センター 岸田拓士博士  |  |
| <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。<br>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。   |  |
| 本実習では、屋久島実習中に採取したヤクシマザル <i>Macaca fuscata yakui</i> の糞サンプルを用い DNA 解析を行った。ヤクザルのハプロタイプの分布の変化を調べるため、我々のグループは mtDNA の D-loop 領域の多型の分布を調べ、約 10 年前の研究結果と比較した。研究の成果を「The 6th International Seminar on Biodiversity and Evolution: Wildlife science by New Biologging studies」にてポスター発表という形で公表した。本実習から、DNA 解析のための基礎知識や実験手法を習得し、またグループでポスターを作成、国際シンポジウムでの研究成果発表という経験を得ることができた。   |  |
| 実習日程<br>5/22-25 DNA 抽出, PCR, 解析等<br>5/26 データ解析, ポスター作製<br>5/30 ポスター発表  |  |
| DNA 抽出には QIAGEN の QIAamp DNA Stool Mini Kit を使用し、屋久島でのフィールド調査中に道路や地面上で発見、採取した糞サンプルから DNA を抽出した。糞中に含まれる夾雑物及び阻害物質を取り除く作業が多かった(図 1)。その後、各サンプルを Nano Drop で定量し、DNA が採取できているか確認した。その後、DNA 含有率が低いいくつかのサンプルを排除し、残りのサンプルを用いて mtDNA の D-loop 領域を PCR で増幅した。PCR の結果は電気泳動で確認した(図 2)。その後プライマーと dNTPs の除去を行い、Big Dye terminator を用いてシーケンスした。シーケンスのデータ処理は MEGA7 を用い、波形を目視で確認し配列を決定した。波形がきれいでなく完全に読み取ることができない、複数の波形が重なっているといったところは棄却した。BLAST を用いてヤクシマザルの DNA であることを確認し、そうでないものはやはり棄却した。これらのデータと糞を採取した位置を記録した GPS 情報、そして過去の研究データ (Hayashi and Kawamoto, 2006) から、ハプロタイプの分布の比較を行った。また、配列決定の成功度が採取時の天候、糞の状態に関与するか調べるため、各条件で分析を行った。 |  |
|   |  |
| 図 1 DNA 抽出作業   | 図 2 電気泳動   |
| <平成 26 年 5 月 28 日制定版> 提出先: <a href="mailto:report@wildlife-science.org">report@wildlife-science.org</a>  |  |

## 「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)

結果として、本実習では先行研究で報告されていたハプロタイプのうち 3 つ (Y1, Y2/Y3, Y5) を確認した。各ハプロタイプの分布と標高の関係も考察したところ、ハプロタイプ Y2/Y3 は過去の報告より標高の高い地域 (1087m) で確認されたことが明らかになった。まだ採取数も少ないため、検証が必要だが、島内に広く分布しているハプロタイプ Y1 に続き、Y2/Y3 もより分布を拡大している可能性が示唆された。このことは島内のヤクシマザルの遺伝多様性を維持していくうえで重要な情報となると考えられる。また、DNA の配列決定の成功率は新しい糞から採取したサンプルで有意に高く、古い糞からのサンプルでは成功率は低かった。一方、雨天時に採取したサンプルと晴天時に採取したサンプルとでは、成功率に有意な差は見られなかった。

5 月 30 日に理学部セミナーハウスで行われた「The 6th International Seminar on Biodiversity and Evolution: Wildlife science by New Biologging studies」では、様々な研究者からの研究発表に混ざり我々も発表を行った (図 3)。複数人で一つのポスターを作り上げる上で困難もあったが、無事に発表を終えることができ、最後まで充実した実習となった。

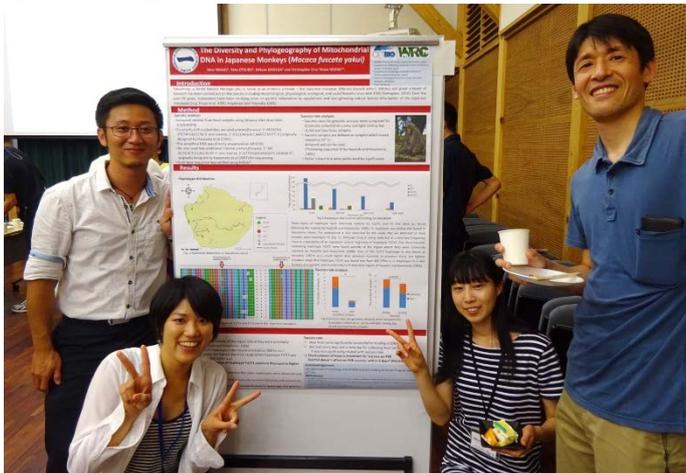


図 3 作成したポスター シンポジウムにて。

実際に野生動物の糞から採取したサンプルから DNA 解析を行うことができたのは、今後の研究においても非常に有意義な経験となった。機器の基本的な使い方や、解析に用いるソフトウェアやウェブサイト等、一から丁寧に教えていただき参考になった。動物種は異なるが今後も野生動物の糞から DNA 解析をしていくため、この実習の経験を忘れず研究に生かしていきたい。

### 6. その他 (特記事項など)

今回の実習を行うにあたり、大変丁寧にご指導を下さった岸田様、松島様に深く感謝致します。また、本実習をご支援くださった PWS リーディング大学院プログラムにも深く感謝致します。最後に、共に実習を行ったメンバーにも、この場を借りてお礼申し上げます。ありがとうございました。