

モデル動物メダカの実験・観察Ⅱ

～生殖行動・発生・遺伝子分析～

整理番号 AG140264

愛知県立旭丘高等学校

実施担当者 愛知県立旭丘高等学校 西郷 孝 教諭
講師 自然科学研究機構 基礎生物学研究所バイオリソース研究室
成瀬 清 准教授、 竹花佑介 助教
実施日 平成 26 年 8 月 13 日～14 日
実施場所 自然科学研究機構 基礎生物学研究所（愛知県岡崎市）
参加生徒 15 名（1 年生 13 名，2 年生 2 名）

〔概要〕メダカは最も身近な魚類のひとつであるだけでなく、生物学の研究材料として非常に有用な生物である。ゲノム解析も 2007 年に完了し、生物学のモデル生物として重要な位置を占めている。

本企画では、配偶行動の観察、人工授精と発生の観察をし、さらに胚を用いて核とミトコンドリア双方の遺伝子を PCR により増幅し、制限酵素多型を用いて両者の遺伝様式の違いを調べた。一昨年(2012 年)にも、ほぼ同様の実験を行ったが、遺伝子解析では、一昨年とは交雑する雌雄を入れ替えて実施した。その結果、核遺伝子とミトコンドリア遺伝子の遺伝様式の違いを、さらに明確に示すことができた。

実習第 1 日(8 月 13 日)

〔講義と施設見学〕

バイオリソースとしてのメダカの重要性および実習全体の説明と施設見学バイオリソースとしてのメダカの重要性および実習内容についての講義を受け、実習の意義等について理解を深めた。

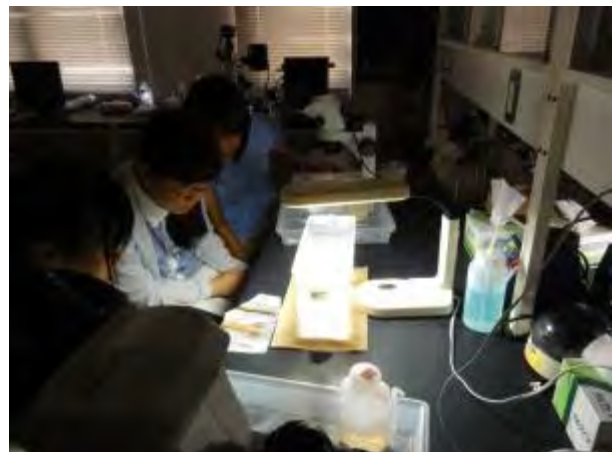
その後、メダカの飼育施設を見学し、飼育されている系統や遺伝子組み換えメダカなど(GFPによって蛍光を発するメダカなど)を実際に見て、バイオリソースとしてのメダカの重要性について理解を深めた。



〔実験・実習1〕 配偶行動の観察、卵と精子の採取と人工授精の観察

水槽内で雌雄を分けていた仕切りを取り、雄が雌に対して行う配偶行動を観察し、メダカの配偶行動に理解を深めた。雄が雌に集中できるように周囲を暗くして水槽内をライトで照らして行った。自然条件下での配偶行動は早朝行われるものなので、時間がかかった班もあったがうまく観察できた。

麻酔したメダカから卵と精子を採取して、未受精卵に精子を加えて人工授精させて受精に伴う変化やその後の発生を観察した。



実習第2日(8月14日)

【実験・実習2】 DNA の抽出と増幅・分断

メダカ胚からDNAを抽出し、PCR法によって核DNA遺伝子およびミトコンドリアDNAの遺伝子を増幅させ、増幅した遺伝子を制限酵素によって切断した。

DNAは親メダカの雌雄と子メダカから抽出し、サーマルサイクラーを用いて核ゲノム(チロシナーゼ)およびミトコンドリアDNA(シトクロムb)の一部を増殖させ、制限酵素処理した。

実習中に実験内容などについて講師および副講師を交えて適宜ディスカッションを行い、実験内容や操作方法の理解を深めた。



【実験・実習3】 DNA の電気泳動と結果の分析

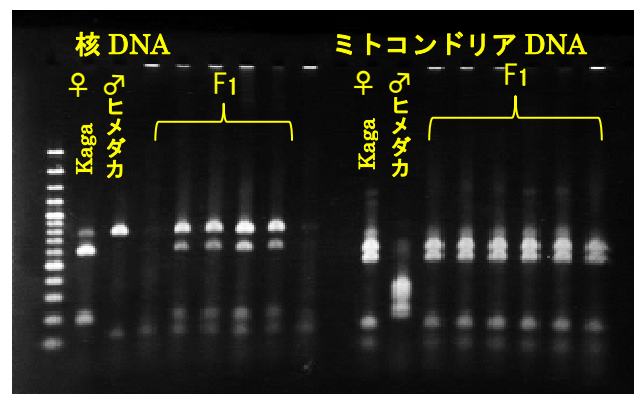
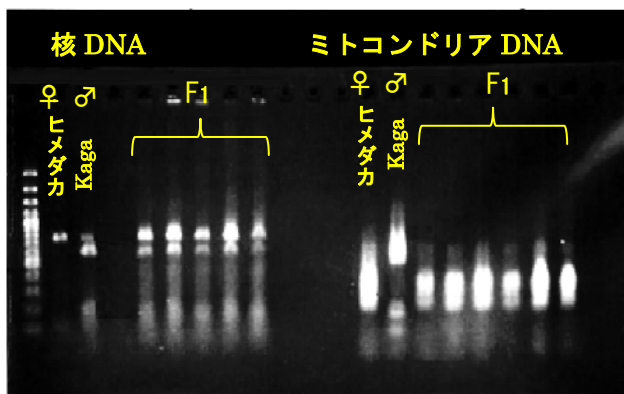
午前中に得たDNAサンプルをアガロースゲル電気泳動装置で分析し、バンドのパターンから考察を行った。実習中に実験内容などについて講師および副講師を交えて適宜ディスカッションを行った。

最後に、実習全体についての意見交換・ディスカッションを行い、実習内容に関する理解を深めた。

電気泳動の結果得られたバンドのパターンから、核遺伝子は父と母の両方とも子に受け継がれるが、ミトコンドリア遺伝子は母親のもののみが子に受け継がれることがわかる。



このことは、2012年に実施したSPPで親の雌雄を入れ替えて行った場合と同じ結論が得られたこととなり、核遺伝子と違ってミトコンドリア遺伝子が母性遺伝することが明確となった。



今回の電気泳動の結果(左)と、前回(2012)の結果(右)

実験には、ミナメダカ *Oryzias latipes* (ヒメダカ)とキタノメダカ *Oryzias sakaizumii* (Kaga)が親として用いられた。子のサンプルは6個体から採取され実験に用いられた。核遺伝子(チロシナーゼ)は両親のバンドを合わせたものが子に現れるが、ミトコンドリア遺伝子(シトクロムb)は父親のパターンは子に現れず、母親のものだけが受け継がれることがわかる。