

第16回 ちゅうでん教育振興助成（平成28年度）

報告書資料 一般 - 05

学校名・団体名	宮城県古川黎明中学校
HPアドレス	http://www.freimei-j.myswan.ne.jp/index.html
コース	学校支援
活動・研究 テーマ	宮城県大崎産メダカの分子遺伝学的解析と その教材化
<p>〈活動・研究の意義、目的〉</p> <ul style="list-style-type: none">(1) 大崎市内で採捕されるメダカの遺伝子型から、大崎市在来か他の地域からの混入なのか調べる。(2) DNA抽出，解析を通じた環境学習プログラムの作成(3) 調査結果を文化祭や科学イベント等で公開することで，地域住民の環境保全への意識を高める。	

1 メダカの遺伝子型解析

1-1 調査地点, 調査対象について

宮城県大崎市古川小野にある化女沼付近の水路と田尻川を調査地点とし、メダカをサンプリングした。ヒメダカとクロメダカはカインズホームより購入した。



図1 調査地点地図(宮城県大崎市古川小野)

1-2 調査方法

PCR-RFLP 法による *cyt b* の多型の解析を行う。PCR 法により増幅された *cyt b* を含む DNA 断片を 4 種類の制限酵素 (*Hae III*, *Mbo I*, *MspI*, *RsaI*) を用いて切断し、電気泳動により、各制限酵素によって切断された DNA 断片の分離を行なう。プライマーは *Cytb Fa* (5' - AGG ACCTGT GGC TTG AAA AAC CAC -3') と *Cytb Rva* (5' - TYC GAC YYCCGR WTT ACA AGA CCG -3') を用いた (Takehara et al., 2003)。

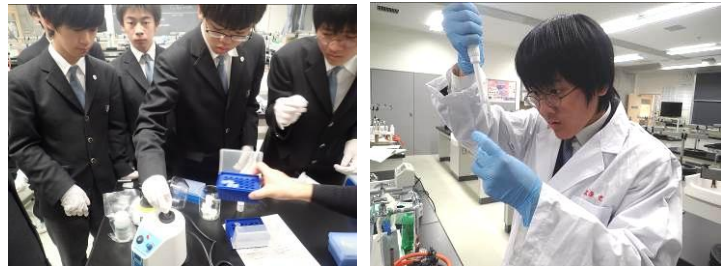


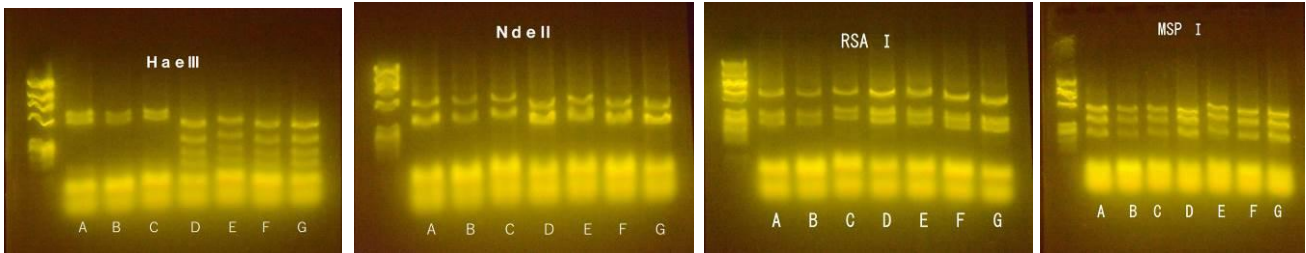
図2 本校自然科学部生徒による実験の様子

断片化パターンは UltraPower セーフダイによる染色の後、LED 光のもとで観察、確認する。断片化パターンの比較により、各地点のメダカが同一種であるか調べる。

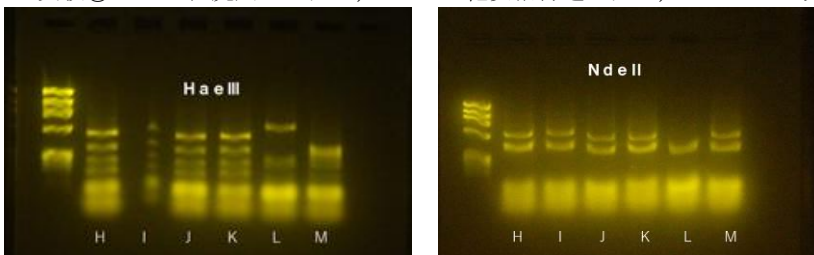
1-3 結果

各制限酵素で切断したメダカの DNA 断片化パターン

実験①A, B, C はヒメダカ, D, E は田尻川のメダカ, F, G は化女沼付近のメダカ



実験②H・I は田尻川のメダカ, J・K は化女沼付近メダカ, L・M はペットショップのクロメダカ



(実験①で *RSA I*, *MSP I* の断片化パターンに差が見られなかったため、実験②では *Hae III*, *Nde III* のみ行った。I は実験操作を誤ったため、うまく電気泳動ができなかった。)

1-4 考察

実験①*Hae III* と *Nde II* で切断した DNA では、ABC のヒメダカと DE の田尻川のメダカにおいて異なる断片化パターンが見られた。実験②では HJK の大崎市内のメダカとペットショップのクロメダカにおいて異なる断片化パターンが見られた。このことから田尻川、化女沼付近で採取されたメダカはヒメダカやペットショップのクロメダカとは異なる種であることが分かった。田尻川や化女沼付近のメダカは市販のメダカが放流されたのではなく、野生のメダカであることが考えられる。また、化女沼付近のメダカと田尻川のメダカでは同じような断片パターンであったので、この二種は同じ種類であると考えられる。ミナミメダカの見目の特徴の違いと今回の実験の結果を照合すると、田尻川、化女沼付近で採取したメダカは野生種のミナミメダカであると考えられる。ペットショップにクロメダカの産地を問い合わせたところ、上越地方で養殖された魚であることが分かった。上越地方は地域的にはキタノメダカの生息地域であるため、ミナミメダカと異なる断片化パターンが現れたと考えられる。しかし、同じクロメダカである L と M でも異なる断片化パターンが見られた。これは LM の間で実験操作を誤ったため異なる結果が得られた可能性とペットショップのクロメダカには異なる種のメダカが混在している可能性も示している。今後も継続的に実験を行うことが必要だと考えられる。

また、他の制限酵素では、明確な断片パターンの違いが見られなかったり、マーカーがきれいに現われなかったりしたため、断片のサイズを正確に知ることができなかった。そのため、ほかの論文と比較してミナミメダカのさらに細かな分類をすることができなかった。

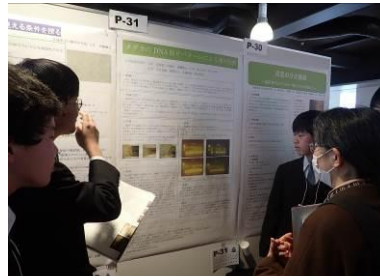
電気泳動の時間を変えてみるなど、さらに回数を重ねてより正確なデータを得られるようにしたい。

2 調査結果の公開

調査結果は①みやぎサイエンスフェスタ、②サイエンスキャッスル 2016 東北大会、③SSH 課題研究発表会においてポスター発表した。大学教授や大学院生からの質問や指導を受けることで、研究をさらに深めることができた。



図3 ポスター発表の様子
(みやぎサイエンスフェスタ)



(サイエンスキャッスル 2016 東北大会)

3 授業実践

本校3年生の「生命の連続性」、「自然と人間」の単元のまとめとして授業実践を行った。「種の絶滅」というテーマで授業を行った。実際のメダカを小型水槽で展示し、見た目ではほとんど違いが分からないことを確認したのちに DNA 断片化パターンを提示し、遺伝子を比べることで区別することができることを話した。生徒の多くは、野生のメダカが北日本集団、南日本集団に分かれることを知らず、遺伝子がく乱についても十分に理解していなかった。生徒のアンケートより、DNA を調べることで、種の絶滅について理解できるようになったと考えられる。

(生徒の感想)

- ・見た目の違いではわからなくても、DNA では明らかに種類が違うことがわかりました。
- ・貴重な絶滅危惧種が生息している川なので生き物が生きていける環境を維持していきたいと思いました。
- ・DNA 断片化パターンによる種の比較は見た目での比較よりも正確で明解だと思った。

4 成果と課題

本研究を通じて大崎市古川の2地点で採捕されたメダカはどちらもヒメメダカやペットショップのクロメダカではないことが分かった。見た目だけでは曖昧だったものが、DNA 断片化パターンを見て区別すると、はっきりと違いが出るので区別することができた。授業実践では、生徒にとってメダカが北日本集団と南日本集団があることが驚きであり、さらに DNA を調べることでより正確な分類ができると知り、新たな知識を得ることができたと考えられる。今回の実験では電気泳動の際にマーカーがうまく出なかったために断片のサイズを測定することができなかった。電気泳動の時間を変えたり、アガロースゲルの濃度を工夫したりとさらに確実な実験ができるよう今後も継続的に取り組んでいきたい。

5 参考文献

- Yusuke Takehana(2003)「Geographic Variation and Diversity of the Cytochrome b Gene in Japanese Wild Populations of Medaka, *Oryzias latipes*」
遠藤拓海(2014)「淡水魚の分布調査と環境保全に関わる地域教材の開発」

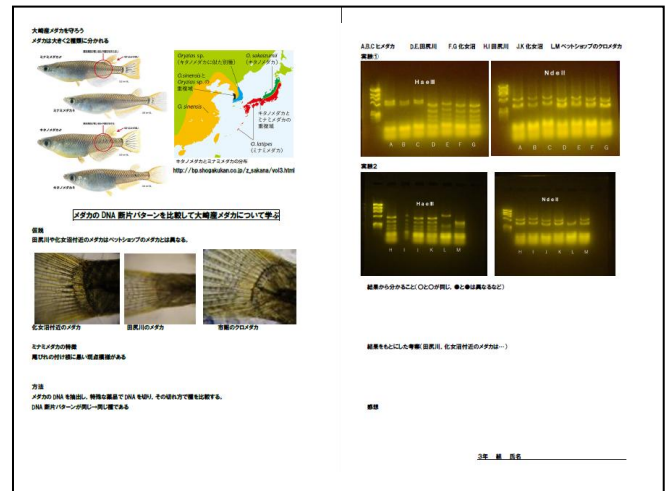


図4 授業実践のワークシート