

平成25年度  
ひらめき☆ときめきサイエンス～ようこそ大学の研究室へ～KAKENHI  
(研究成果の社会還元・普及事業)

実施報告書

HT25207

DNA鑑定を体験し、実感する！～ニワトリ胚の性別を卵を割らずに決められるか～



SA(Student Assistant)学生による受講者への実験の説明 (8班編成のうちの1班)

開催日：平成25年10月20日(日)

実施機関：広島大学生物生産学部(C206  
(実施場所) 講義室、学生実験室)

実施代表者：西堀 正英  
(所属・職名) (大学院生物圏科学研究科・准教授)

受講生：高校生43名、中学生1名、引率者等6名

関連URL：<http://www.hiroshima-u.ac.jp/news/show/id/18525>

【実施内容】

別添別紙1に実施報告とともに記載しました。

【実施分担者】

【実施協力者】 13 名

【事務担当者】

石田 巧 学術・社会産学連携室 研究企画室・室員  
下野 真紀 生物圏科学研究科 運営支援グループ・研究推進・主査  
藤崎 達男 生物圏科学研究科 運営支援グループ・研究推進・契約一般職員

## ひらめき☆ときめきサイエンス報告書（別添1）

**DNA 鑑定を体験し、実感する！～ニワトリ胚の性別を卵を割らずに決められるか～**  
HT25207 担当：西堀正英（広島大学大学院生物圏科学研究科）

- ・本プログラムのねらい

本企画では、動物の多様性を遺伝子（DNA）の多型から検出することにより、それが機能等の変化に繋がっていることを実験を通して実感してもらうとともに、その実感を参加者全員でプレゼンテーション、議論を通じた全員参加型のプログラムとして実施する。一見糸くずのような化学物質であるDNAには豊富な情報が蓄積され、これが個体毎に違って、その情報をもとに生物がコントロールされている様子、その正確さ、情報量の多さについて、遺伝、遺伝子研究の魅力、おもしろさ、一方ではその不思議を受講生に伝えるとともに、サイエンスをするおもしろさを実感してもらいながら伝えていきたいと考えている。実験の前の講義では、普段何気なく見ているものでも気にしないと見過ごしていることが多いこと（ニワトリの絵を描いて、その形態を思い出してもらう。高校生の約5～20%が4本足のニワトリを書いてくれる）を認識することからサイエンスをするおもしろさを研究者が講義することで、受講者のモチベーションを向上させる。興味が向上したところで、本プログラムではニワトリ胚を解剖して生殖器を観察（表現型）し、その個体のDNAから雌雄判別（遺伝子型）を実験的に実感します。本プログラムで得られた結果を指導の大学生とともに考え、その成果をプレゼンテーションすることで、受講生自身ならびに参加者全員が鍛えられる。自分自身が解剖したニワトリのサンプルを扱うことでさらに知的好奇心が高まり、実感し、遺伝子（DNA）への関心および興味は強いものとなる。この課題についてSSHで取り組んでいる広島県立西条農業高等学校の生徒さんにも実施協力をしていただき、参加者全員で一日サイエンスとその話題でカフェをし、楽しさを共有します。

- ・プログラムのねらいを達成するために留意、工夫した点

本プログラムを実施するにあたり、高校生にサイエンスするおもしろさ、楽しさを科研費の成果を教授することのみならず、いかに参加高校生のみなさんがサイエンスする目を養う必要があるのかを参加生徒に実感させること、一人あるいは個人ではなくグループで実験をしその結果について考えを出し合い発表する、仲間とともにサイエンスを楽しむことを目的としました。

ひらめき☆ときめきサイエンスの中で実施責任者として、「ひらめき☆ときめきサイエンス・2013『DNA鑑定を体験し、実感する！～ニワトリ胚の性別を卵を割らずに決められ

るか〜』～大学で科学するために君たちは今、何をすべきなのか、何から学び始めるべきなのか、動物の突然変異から遺伝・遺伝子までを実感しながら科学する！！〜』と題して講演をしました。講演では、まずサイエンスを始めるためには、「科学する気持ち、姿勢およびその目（観察力）」が必要であることを説くとともに、参加者全員（総勢 50 名）に、ニワトリの絵を描いて、いかに普段生物をじっくりよく見ていないか実感してもらいました。ニワトリの絵を描いてもらうと、4 名が「4 本足のニワトリ」を書いてくれました（参加者の 7%）。4 本足のニワトリを描いた生徒さんには今日の失敗を一生の糧にしていってとエールをおくりました（今日のこと（恥ずかしさ）はたぶん一生忘れないと思います）。また、参加者のみなさんが描いてくれたニワトリが左向きに書かれている事実を述べて、その理由も説明し、ほぼ全員が納得してくれました。ひらめき☆ときめきサイエンスで書いてもらったニワトリの絵の特徴は、これまで西堀が収集してきたデータとほぼ一致するものでありました。

比較的親しみのあるニワトリの絵であっても約 10%の人が正確に書くことができない、つまり身の回り、たとえば自然に興味がない、関心のないことには気にしない、などの表れではないかと思うということを参加者皆んなで考えることができました。

本企画において、ひらめき☆ときめきサイエンスの実験については同じ高等学校の生徒を同じグループにならないように組んだグループで実施し、さらに各グループに 1 名の TA および SA (student assistant; 生物生産学部研究者養成特別コースの学生 2 年生) を配置し、グループで実施する力を養うとともに、実験の結果をグループで纏め、プレゼンテーションで発表する力も養いました。一方、指導する大学生 (SA) には高校生に対して指導する指導力ならびに自らが学習したサイエンスの内容を伝えるサイエンスコミュニケーターの一端も経験してもらいました。本企画は、参加高校生および指導大学生ともに効果的な取り組みになったと自負しております。

#### < 報 告 >

ひらめき☆ときめきサイエンス「DNA 鑑定を体験し、実感する！～ニワトリ胚の性別を卵を割らずに決められるか～HT25207)」を開催しました

-----

10 月 20 日 (日), 『平成 25 年度ひらめき☆ときめきサイエンス-ようこそ大学の研究室へ-KAKENHI』の「DNA 鑑定を体験し、実感する！～ニワトリ胚の性別を卵を割らずに決められるか～」(JSPS 日本学術振興会主催)を広島大学生物生産学部で開催いたしました。ひらめき☆ときめきサイエンスは本年で 6 年連続の実施になりました。本年の参加者は広島県、山口県から中学生 1 名、高校生 43 名に加えて、保護者、高等学校の先生方と総勢 50 名でした。

午前 9 時の受付開始前から学部 2 階のロビー (広島大学博物館サテライト館) には、元

気な参加者が集まってくれていました。

9時50分より、生物生産学部 C206 大講義室にて実岡寛文副学部長の挨拶、プログラムの説明、本日お世話になる4名のTA（生命科学の熟知した大学院修士1年2名、学部4年生1名、学部3年生1名）と9名のSA学生（SAは生物生産学部研究者養成特別コース2年生9名）の自己紹介で緊張していた場も和み、続いて、実施責任者の西堀から「科研費とは？」というお話から『ひらめき☆ときめきサイエンス』が始まりました。加えて、本年は本ひらめき☆ときめきサイエンスの課題についてSSH課題として取り組んでいる広島県立西条農業高等学校SSHを担っている3年生1名、2年生3名、1年生3名（計7名）もSAの学生に続いて、元気よく自己紹介をしてくれました。



(副学部長のあいさつ)



(受付)



(TA・SAのあいさつ)



まずは、本日のひらめき☆ときめきサイエンスの実習のガイダンスです。ここで実施代表者・西堀からTAの大学院生にバトンタッチをしました。TAの手際の良い説明に実習のイメージも万全のようでした。



(ひらめき☆ときめきサイエンス実験のはじまりです) (19 日胚の観察)



TA からの本日の実験についての説明のあとは、A210 および A312 学生実験室に移動し、ニワトリ 14 日あるいは 16 日胚の観察と PCR による DNA 性判別の開始です。

実験は同じ高等学校の生徒が同じ班にならないように 8 つのグループ (各班 5~6 名に SA1 名および 2 班で 1 名の TA を配置) にわけ、卵を割って 14 日あるいは 16 日目の胚を取り出します。思ってもみなかったものが卵の中から出てきてまずは驚き、卵殻膜をとりその内側に張り巡らされた血管、卵黄、尿嚢をとり、胚体を取り出して、はさみとピンセットで丁寧に解剖しました。まだ心臓が拍動していることに生命を感じながら TA・SA の指導の下で内臓を観察し、目的の生殖腺を見つけ、生殖腺の発生から性別を判別しました。あわせて、血液を 1.0 $\mu$ l ピペットで採取しました。ピペットの使い方も、これまで高等学校で経験のある人、初めての人、しかし TA・SA の指導ですぐにプロフェッショナルに。すでに準備しておいた PCR 溶液に採取した血液をそのまま加えて、PCR を開始しました。今回も血液から DNA を抽出することなく PCR 検出できるシステムを科研費他で開発し、ひらめき☆ときめきサイエンスでも DNA を抽出することなく PCR 反応を実施しました。PCR 増幅の待ち時間は、楽しみのお弁当タイムです。



生物生産学部とお弁当屋さん「みのり」とのコラボ弁当「ひらめき☆ときめきサイエンス高校生スペシャル」と銘打たれたお弁当を TA・SA のみなさん、参加者のみなさんとともに、本日の講座のこと、生物生産学部のこと、大学生活のことなどを話のネタに和気藹々の時間が過ぎていき、あっという間に、午後は西堀の講演の始まりです。

(お弁当タイム)

午後の最初のプログラムは、西堀が「サイエンスを始める前に、何をすべきなのか。豊かな発想から科学する目を養い、目指せサイエンティスト、プロフッショナル」と題してお話をしました。講演では、まずサイエンスをはじめるためには、「科学する気持ち、姿勢およびその目（観察力）」が必要であり、『好きこそものの上手なれ！』がサイエンティストの第一歩と熱弁で始まりました。参加者全員（もちろん会場の保護者、高等学校の先生方も）、ニワトリの絵を描いて、いかに普段生物をじっくりよく見ていないか実感し、ニワトリの絵を描くと約 5~20%の人が「4本足のニワトリ」を書くという実例を見ながら実感



できる講義でした（今回の参加者の中に「4本足のニワトリ」が4羽 [50人中4名・・・今回も4本足率8%でした]が見られました。今年もニワトリをテーマにすることを広報していたため参加者皆さんが勉強して来てくれたかなあ。それよりも午前中にニワトリ胚を解剖して目の当たりしているはずなのに）。

(西堀准教授の講演)

講義の後は、PCR 産物を電気泳動でタイピングです。ニワトリ胚がオスだと性染色体は ZZ ですので PCR 産物は 1 本、メスは ZW ですので 2 本のバンドが現れてきます。さあ、性染色体上の *CHD* 遺伝子をタイピングします。マイクロピペットもうまく扱えるようになり、ゲルへのローディングも手馴れ、20 分間の電気泳動。20 分後には電気泳動写真を撮って、SA の学生とニワトリ胚の解剖結果と電気泳動の結果との検討が始まりました。あれれ、バンドが一本もない！と驚愕の事実も。生殖腺観察からの表現型と PCR による遺伝子型の結果も一致し、感動の結果が得られました。



(電気泳動の実験)



(実験の様子：語る SA その 1)



(実験の様子：語る SA その 2)



(実験の様子：語る SA その 3)



(楽しみのクッキータイム：お菓子のパワーで話が弾みますよね)

(グループごとの結果発表プレゼン：どうどうと発表しました)



PCR 産物の電気泳動終了後、会場を第一会議室に移し、もうひとつの楽しみである「クッキータイム」です。

選りすぐりのお菓子で、さらに話に花が咲き、そのままグループ討論に突入。結果を Power

Point で見ながら，グループ毎に結果の解説，議論さらには実験の感想や来年への要望などの意見も飛び出しました。うまく結果がえられたグループ，きれいに判定できなかった人もありました。サイエンスには成功も失敗もあり，それについて如何に議論し，その次に繋げることを見出すことがサイエンスのおもしろさであることも実感できました。

一方，TA，とくに SA の学生は教えることの難しさ，教えることで自分たちが知らなかったことを改めて認識することができたとアンケートにも書いてくれていました。



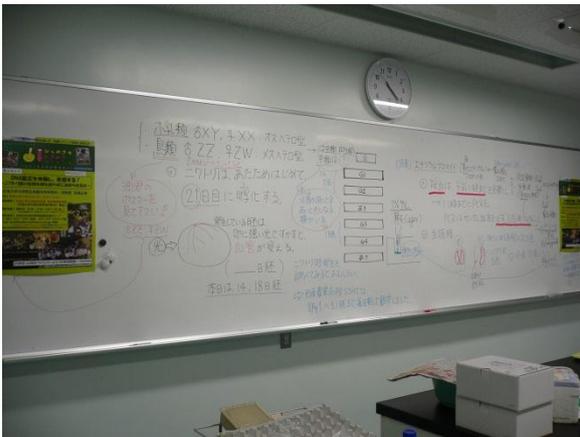
(修了証書・未来博士号を吉村副学部長から授与) (西堀准教授・ひらめき☆ときめきサイエンス推進賞の受賞報告)

時間もあっという間にすぎ，最後に，吉村副学部長から参加者全員に修了証書「未来博士号」が手渡され，全員で記念写真をとって，楽しく実感できた「ひらめき☆ときめきサイエンス」の1日が過ぎていきました。



(参加者全員で記念写真)

丁寧に親切に指導してくれた SA の先輩方と別れるのも寂しく、最後は記念写真大会に。



(ひらめき☆ときめきサイエンスの後で、ホワイトボードには TA や SA との議論や説明のあとが。)

ひらめき☆ときめきサイエンス終了時には日もとっぷり沈み (記念写真が真っ暗になってしまいました), 将来のサイエンティストを夢見て, みんな帰途に着きました。

主催者, 参加者のみなさん, 実岡先生, 吉村先生, SA および TA のみなさん, たいへんありがとうございました。

来年も楽しくサイエンスしましょう!! 来年もお楽しみに!!

(報告者) .

ひらめき☆ときめきサイエンス実施責任者.

(研究者養成特別コース担当)

生物生産学部准教授 西堀 正英.

nishibo@hiroshima-u.ac.jp

・生徒の自ら学ぶ意欲、興味をひくために留意、工夫した点

前述のように、とにかく自ら「手足を動かすこと」を実行してもらった。さらに各班毎に TA あるいは SA が統括することで、学生と生徒とのよい交流ができた。さらに本プログラムの最終段階として、本日の実験の結果をプレゼンテーションしてもらった。これも講師からは一切指導せず、TA/SA の学生が指導することでそれぞれのグループの連帯考えられ、また到達目標を設定することで参加者が今何をすべき何かが明確になり、そのためにプログラムの実施効率が著しく向上したものと思われた。また、同じ高等学校の生徒が同じ班にならないように、できるだけ初めての人同士でグループを作れるように配慮した。この点も、生徒の声から、違う学校の生徒と友達になれたなどと聞こえてきた。

・当日のスケジュール

10月20日(日)9時から以下のように実施した。

9:00~9:45	開場、受付(生物生産学部2階ロビーにて)開始。 開始時間まで広島大学博物館サテライト館の見学(自由参加)
9:45~9:55	挨拶(実岡副学部長):C206 講義室
9:55~10:10	オリエンテーション(科研費とは、プログラムの説明、スケジュール、研究者、TA、SA等の紹介)
10:10~10:30	本日の実習内容の説明(TAより)
10:30~10:40	休憩(雑談を交えた研究者との交流の時間)
10:40~12:05	実験実習1(各自ニワトリ卵から卵を割らずに採血し、ニワトリ性特異的遺伝子をPCRで増幅する):生物生産学部 A210, A312 実験室
12:05~13:00	昼食(研究者,TA/SA(大学院生・学生)および参加者とともにお弁当:第一会議室)
13:00~13:40	研究者による講義「動物の表現型、遺伝子型を学び、実感するために」(研究者:西堀正英):生物生産学部 C206 講義室
13:40~15:00	実験実習2(8班・班毎に遺伝子を検査(電気泳動)) 生物生産学部 A210, A312 実験室
15:00~15:30	休憩、クッキータイム、研究者・参加者のフリータイム
15:30~16:45	TA/SAと参加者班毎に実験結果とその考察をまとめ、プレゼンテーションの準備を整える
16:45~17:35	各班ごとのプレゼンテーション(報告会)、記念写真

17:35～18:00	アンケートの記入, 修了式, 「未来博士号」授与式(吉村副学部長):C206 講義室
18:00	解散

- ・実施の様子（図、写真等を用いてわかりやく記入すること）

広島大学生物生産学部ホームページおよび研究者養成特別コースホームページにて公開します。

- ・広報活動について

大学および学部のホームページに掲載していただきました。実施代表者（西堀）がポスターを作成し、学部から広島県内および近県の各高等学校長宛のダイレクトメールにて発送しました。特に、理数科クラスを持つ高等学校には直接出向いて連絡しました。一方、学部および研究科の教員が出張講義や出前授業に出向いた際には、かならず広報活動、宣伝をしてもらいました。またアカデミックイベントに掲載する情報誌、タウン誌、広報などに掲載をお願いし、広報活動をしました。実施代表者は広島県教育委員会、教育委員会理科部会や生物部会のメーリングリストなどを利用していただき、理科担当の教員への広報活動を効率的に実践できるようお願いに伺いました。実施代表者は約 30 校の高等学校で出張講義を行った際に、参加者への広報を行いました。

アンケート結果から、最も効果的な広報活動は、これまでひらめき☆ときめきサイエンスに参加してくれた生徒さんの学校の生物の先生に直接広報する、あるいは参加してくれた生徒さんをひらめき☆ときめきサイエンスに紹介してくれた先生に直接広報すること、これらがひらめき☆ときめきサイエンスに参加を促すもっとも効果的な広報であろうと思われまます。

- ・安全配慮について

実験には、安全のためにグローブの着用を遵守しました。参加者ならびに実施協力者（学部学生および大学院生）には保険に加入しました。

- ・今後の発展性、課題

本プログラムの目的である「動物の多様性を遺伝子（DNA）の多型から検出することにより、それが機能等の変異（今回は雌雄（性））に繋がっていることを実験を通して実感してもらうとともに、その実感を参加者全員でプレゼンテーション、議論を通した全員参加型」は十分な成果があったものと、参加者のアンケートからも理解できました。目的の達成としては高く評価できると考えました。この発展性として、さらに科学研究費補助金により我々講師の研究を深め、充実させ、その知見をこれから将来の科学研究を担う中・高校生に還元することにあると考えます。また、今回のような企画は毎年続けることが重要であ

り、採択されればもちろん来年度も取り組む予定です。

今回も開催の情報を流布は非常にスムーズにできたと思われます。教育委員会をはじめ、高等学校理科部会へのお願い、各高等学校への情報の配布など、また私がこれまで出張講座で伺った学校へは直接宣伝活動をしました。その経験から、各高校への情報の送付だけでは周知が十分でないために高校の先生方との連携をしたことが効を奏したものと思われます。今回のように一度参加いただいた方あるいは高等学校は今後のコミュニケーションは容易になり、このような面でも今後本プログラムを継続していくことは非常に効果が大きいものと考えます。

加えて、本年の取り組みでは、TA 4名および SA として研究者養成特別コースの学生 9名（学部 2 年生）で実施し、この 9 名は直接参加者 5 名～6 名に 1 名の割合で指導に当たってもらいました。さらにこの 9 名を指導する TA4 名を指導に当たらせ、これら 13 名を実施責任者が指導しました。とくに研究者養成特別コースの学生を SA として選んだことから彼らの指導ならびに参加高校生との交流、高校生を引っ張っていく能力は秀でているものと思われます。とくに本プログラム実施終了時に参加高校生から TA・SA の学生に対して熱心にお礼をのべていること、アンケートにも多くの記載があること、昨年同様に記念撮影大会が繰り広げられていました。本プログラムの第 2 の目的である、大学生と高校生との交流についても充分目的を達成できたものと思われます。このために TA は開始から準備と指導のリハーサルを繰り返し、SA には前日、朝から準備とリハーサルを実施した。

さらに TA および SA の学部生を指導した大学院生の指導も適切であり、大学生の学びともに想定以上の成果が得られたものと思われます。

(以下、本プログラムに使用しましたテキストを添付します)

# ひらめき☆ときめきサイエンス

## DNA 鑑定を体験し，実感する！

### ～ニワトリ胚の性別を卵を割らずに決められるか～

20131020

担当：広島大学生物生産学部：西堀正英（准教授）

大西諒貴・濱田秀一・浦 崇明・伊藤文香（TA）

竹内佳子・田中祐美・荒谷友美・中村美奈子・松尾樹・瀧山智・稲村尚美・重森稜太・傳田寛人（SA）

吉原香菜・播磨侑治・松浦美里・清水雅弘・池田冬乃・梶山瑞希・政岡真衣希（SSH）

### 実習の概要と目的

細胞は生命の基本単位で，生物体を作り上げている最小単位です．ヒトをはじめとするほとんどの動物は1個の受精卵から始まり，その細胞が増殖および分化をしながら器官を形成しています．例えば，ヒトの場合には280日あまりで赤ん坊になり，ニワトリの場合は僅か21日でヒヨコになり，ある程度完成された体が形成されます．本実験実習では，ニワトリ胚を材料に，鳥類の器官構成を理解し，1個の受精卵から色々な組織・器官が形成され，やがて体が完成されることを解剖学的に学びます．さらに，性分化について，Polymerase Chain Reaction（PCR）法を用いた性決定遺伝子の検出により理解します．

本ひらめき☆ときめきサイエンスでは，ニワトリ胚発生と分子性判別（動物の性決定と胚発生）および簡単なバイオテクノロジーの原理の理解をします．

### 実習内容

#### 1. 19日目胚の観察

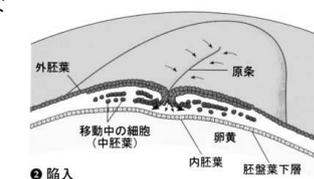
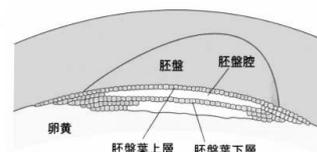
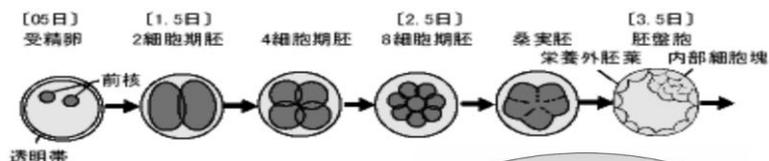
まず19日目の胚を観察し，ニワトリの生殖器を理解します．

#### 卵割について

受精卵（精子と卵子が融合した卵）の卵割には，多様な形式があります．

ヒトをはじめとする哺乳

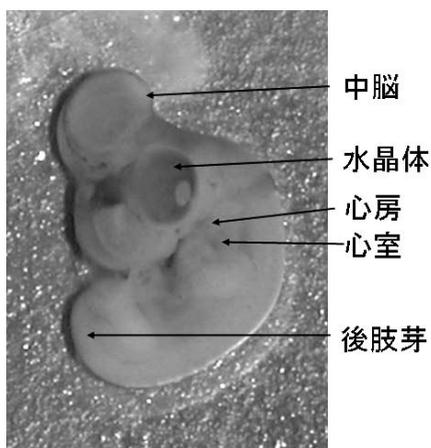
類（子宮で着床し発生するタイプ）では，卵黄を含まない卵であり，これらは等割します．等割は，卵が二等分，四等分，八等分に分裂後，さらに分裂を繰り返し，桑実胚，胚盤胞となり，体の基となる内部細胞塊が胚盤胞の内部に形成されます．



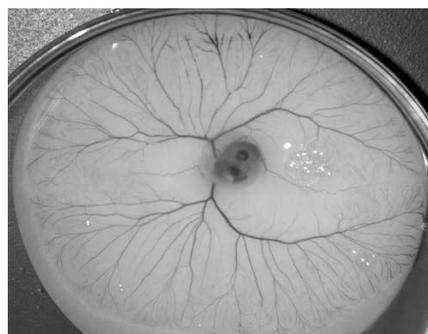
一方、鳥類では、盤割と呼ばれる卵割形式で、卵黄を多く含む卵でみられる様式です。受精卵は卵黄を含めて一つの細胞なのですが、その後の分裂では一つ一つの割球には卵黄は含まれず、独立して存在します。そのため、盤割における細胞分裂は卵黄の表面で起こります。

卵割が進むと割球の数が増え、胚盤を形成し、これが薄い二層になり、原条と言う切れ込みが前後にでき、ここから陥入が始まります。

その後、細胞の盛んな増殖により、隆起が生じ、特に頭部における神経板が発達し、眼胞と脳が形成されます。



**5日目胚** 胚の観察は、卵黄の表面に存在するので、卵を3分間ほど静置し、その後、殻を割ることで胚を上部に移動させて

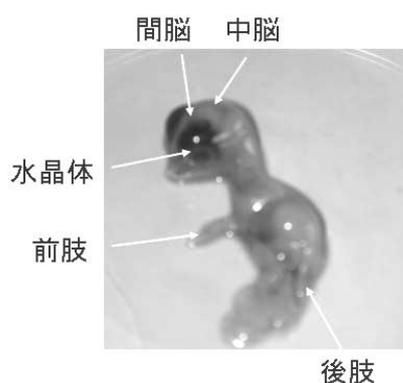


おきます。胚をはさみで切り取り、胚の内部がよく見えるように卵黄を洗います。実体顕微鏡で観察すると、胚の内部まで見ることができます。

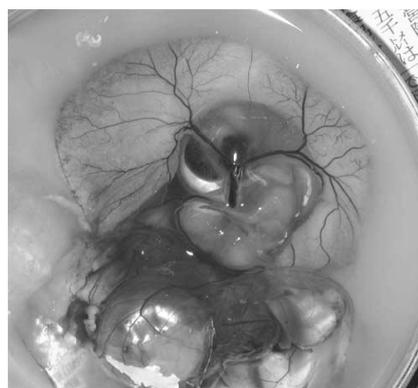
この時期の胚は、血管が卵黄表面に発達し、卵黄の栄養分が血流を介して、胚へと移行しています。そのため、心臓も既に発達し、拍動している様子が観察できます。しかし、消化器官の発達は未熟で、明瞭に観察することはできません。

最も発達しているのは頭部です。水晶体、中脳を明瞭に観察することができます。

## 2. 10日目胚

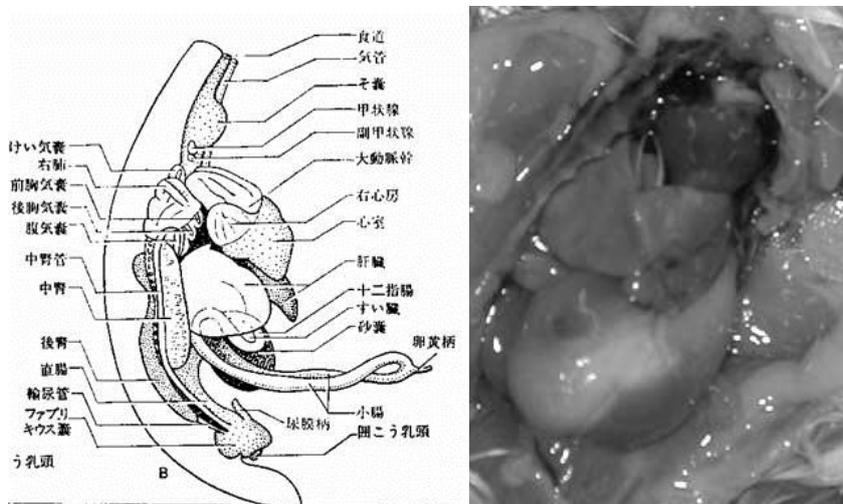


5日目胚と比較して、卵黄を覆う血管網がより発達し、卵黄成分が吸収された結果、卵黄が小さくなっています。また、尿しょう膜が発達し、胚による老廃物の排出も行われているのがわかります。



5日目胚と同様に、胚の部分を取り出して、観察をします。前肢、後肢が肉眼で区分できる、眼球が形成されているなど、体の形が形成されつつあります。

胚の形態を観察後、腹を開いて、各臓器を観察します。心臓や肺などの循環器系、胃、小腸、大腸、肝臓などの消化器系も発達しています。鳥類の消化器官の特徴として、胃が腺胃と筋胃の二種類存在します。食物は、腺胃で消化酵素により分解され、筋胃ですりつぶされます。よく鳥類は小石を口にしていますが、それは筋胃のなかで食物を石臼のようにすりつぶすためです。筋胃は、一般的にはスナズリと呼ばれています。筋胃ですりつぶされた食物は、十二指腸から直腸に送られ、栄養素や水分が吸収されます。ヒトでは盲腸は、重要な役割を

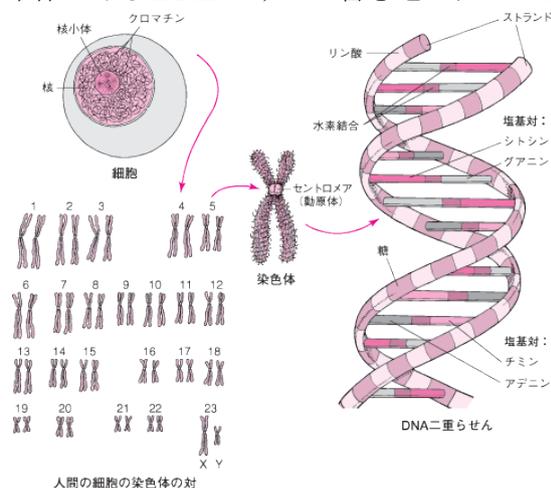


していませんが、鳥類では盲腸が発達し、消化吸収の機能を果たしています。黄色の大きな臓器は、肝臓です。

### 3. DNAの(簡易)抽出とPCR

胚発生の制御情報(遺伝情報)は、遺伝子の本体であるDNAにすべて書き込まれています。観察実験に用いた胚からDNAを抽出し、ニワトリDNAを抽出します。まず、DNAとは、どんな物質でどのような役割を担っているのか簡単に復習します。

DNAは、チミン(T)、アデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)の4つの塩基からなる二重らせん構造で、染色体を形成しています。染色体数は、動物によりほぼ決まっています。ヒトでは23対(46本)、ニワトリでは39対(78本)です。この遺伝情報は、転写によりmRNAが合成され、タンパク質へと翻訳されることにより形質として発現します。

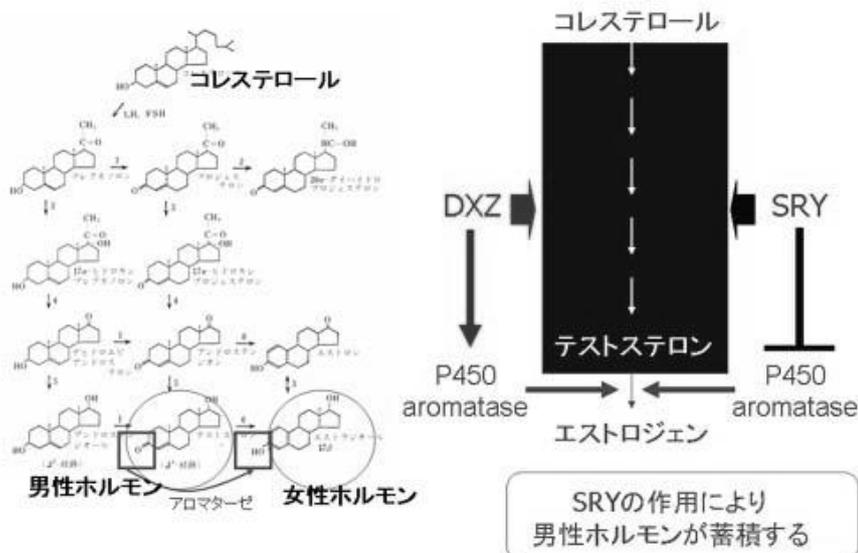


今回は、すでに遺伝情報として書き込まれている性の決定(♀になるか♂になるか)について、DNA配列の解析から明らかにします。

#### ニワトリの性の決定

哺乳類の性決定は、Y染色体に存在するSRYという遺伝子の有無により決定されます。SRYは、女性ホルモンの合成を抑制する作用を有しており、その結果、男性ホルモンの蓄

積が生じます。女性ホルモンと男性ホルモンの違いは、僅かに、水酸基の有無であり、アロマトラーゼという酵素一つにより男性ホルモンが女性ホルモンへと変換されることから、このアロマトラーゼの発現の有無により

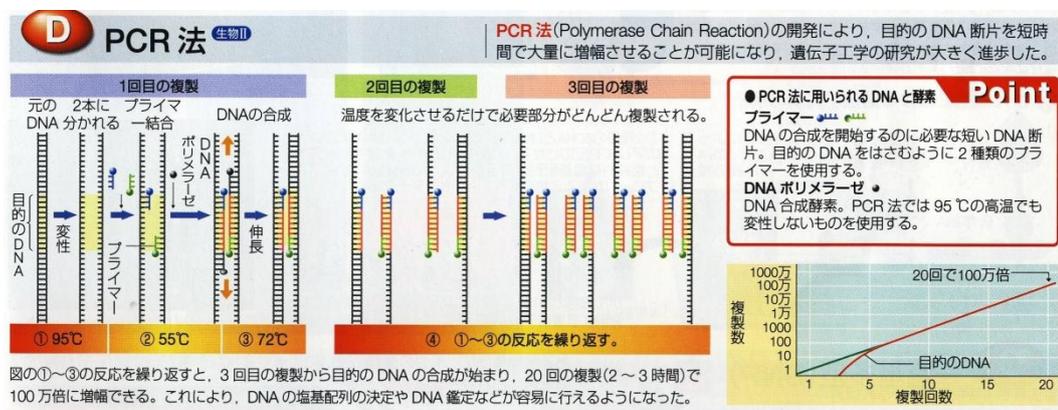


性が決定されます。従って、胎児期により女性ホルモンの作用を有する化学物質（環境ホルモン）に曝されると、簡単に遺伝的には雄であった胎児が雌化してしまうという可能性があります。

一方、鳥類の性決定機構に関して、雄特異的な染色体は存在せず、性染色体構造は雄でZZ（ホモ型）、雌でZW（ヘテロ型）となっています。したがって、鳥類の性決定機構には、W染色体に存在する遺伝子の働きが重要であると考えられています。

## PCR 反応

PCR は、特定の配列を特異的に増幅させる技術で、特定の配列を特異的に認識するプライマー（1対）と、遺伝子配列を増幅させる DNA 合成酵素（DNA polymerase）により行うものです。本実習では、ニワトリの Z 染色体および W 染色体上に共通に存在するが、その遺伝子の大きさが Z 染色体と W 染色体で異なる遺伝子（*CHDI* : Chromo-hericase-DNA binding 1 遺伝子）を特異的に増幅できるプライマーを用いて、増幅させ、検出します。PCR 法の原理および反応試薬、反応条件は以下のとおりです。



(サイエンスビュー・生物総合資料から引用)

PCR 反応試薬 (全量 15  $\mu$ l で反応) . . . TA,SA が調整します。 .

PCR reaction buffer (2 倍濃度)	7.5 $\mu$ l
Primer F: 5'-GTT ACT GAT TCG TCT ACG AGA -3' R: 5'-ATT GAA ATG ATC CAG TGC TTG-3'	0.2 $\mu$ l $\times$ 2
MightyAmp DNA polymerase	0.3 $\mu$ l
DNase Free H <sub>2</sub> O	5.8 $\mu$ l
本日は, <b>血液</b> (実際は, 抽出した DNA )	約 1.0 $\mu$ l

PCR の反応液を作製し, 以下の条件で増幅する.

98  $^{\circ}$ C 2 min (ただし, PCR 装置の温度が 98 $^{\circ}$ C になったらサンプルを載せること)

↓

98  $^{\circ}$ C 10 sec

50  $^{\circ}$ C 15 sec  $\times$  40 cycles

68  $^{\circ}$ C 15 sec

↓

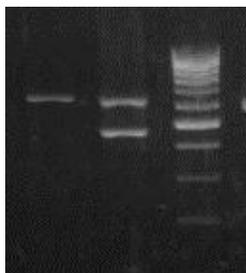
4 $^{\circ}$ C に 5 min 保ち, その後 20  $^{\circ}$ C で保存する.

### PCR 産物の電気泳動による検出

DNA は負に電化しているため, 電気泳動により陽極側へとその分子量に反比例して泳動されます. この特性を利用して, PCR 産物を 1% (w/v) アガロースゲルで電気泳動し, 分離後, エチジウムブロマイドで目的の DNA を染色します. その後, UV トランスイルミネーターで DNA を観察します. その具体的な方法は, (2) 遺伝子操作実験, 6. アガロースゲル電気泳動 (p21) を参照してください.

期待される *CHDI-Z* 遺伝子の増幅産物の大きさは 593 bp (base pair; 塩基対), *CHDI-W* 遺伝子の増幅産物の大きさは 447 bp です.

電気泳動結果の例



1 : ZZ 型, つまり♂

2 : ZW 型, つまり♀

3 : 分子量マーカー (100 bp ladder 分子量 marker

最も濃いバンドが

500bp で, 各バンドの間隔は 100 bp である)

気づいたこと，見つけたこと，感動したことを Memorize in Hiroshima Univ.