マウス糞便を用いた雌雄判別

6 年 D 組　辻井　響
指導教員　松原　俊二

１．背景・目的

DNA 型鑑定とは、DNA を検査することで個人を識別するために行う鑑定である。近年では、犯罪捜査や、親子鑑定などに利用されることが増加している。一般的には、だ液・血液などの体液や頭髪などの細胞を用いて鑑定が行われる。動物の糞便から DNA を抽出し、個体識別をする技術は確立されていないが、新たな生物調査方法やペットの糞の後始末をめぐるトラブル解消などへの利用が期待できる。本研究では、糞便からの個体識別を実現するための第一歩として、マウス糞便から DNA を抽出し、雌雄を判別する方法を検証した。

２．方法

まず、雌雄のマウスからそれぞれ糞便を回収した（写真 1）。次に、DNA 簡易抽出キット（KANEKA）を使い、マウス糞便から DNA 抽出を行った。抽出 DNA が入ったチューブにプライマーを添加し、ピペッティングをすることで混ぜ合わせた。各チューブをサーマルサイクラーにセットし、PCR 法で性判別に必要な DNA 領域のみを増幅させた。

PCR 後、チューブを冷やし、染色液を混ぜ合わせた。あらかじめ作成しておいたアガロースゲルのウェルにサンプルを 10μL ずつアプライし、30 分間泳動した。最後に、電気泳動させたゲルを FAST BLAST 染色液で 1 時間染色し、脱色した。

写真 1．マウスから糞便を取り出す様子

３．結果

各実験において、PCR 法で増幅した DNA を、アガロースゲル電気泳動により確認した結果は次のようになった（図 1、2）。

図 1．マウス尾を用いた雌雄判別結果

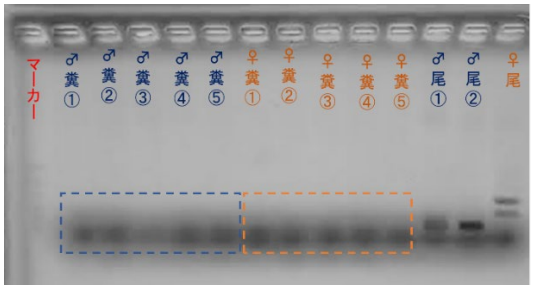

図 2．マウス糞便を用いた雌雄判別結果

図 1 より、雄雌で異なるバンドが検出されたことから、マウス尾組織から抽出した DNA を用いて、雌雄判別することは可能であることがわかった。一方、図 2 では、雌雄で異なるバンドが確認できなかったことから、今回の方法では、糞便から抽出した DNA による雌雄判別はできないことがわかった。

４．考察

糞便からの雌雄判別に失敗した理由として、(1)抽出の段階で糞便を懸濁する際に糞便全体を液体に混ぜ込んでしまったこと、(2)糞便を冷凍してから使用していたこと、(3)抽出時間や、PCR の回数が少なかったことなどが考えられた。

改善方法としては、糞便の表面のみを懸濁液に入れて DNA を抽出することや、糞を冷凍せずに新鮮な状態のまま実験に使用することなどが挙げられる。

５．参考文献

1）牛根奈々*・加藤卓也・羽山伸一，日本産鳥類の糞中 DNA を用いた性判別，2016，鳥類標識誌（Bull Jpn Bird Banding Assoc）28: 51-70

2）中山 広樹，バイオ実験イラストレイテッド「本当にふえる PCR 」，秀潤社

3）新 私たちの暮らしと医療機器 http://www.jfmda.gr.jp/devicekikaku/topix/09/page_02.html

4）KANEKA　DNA 抽出キット説明書

5）犯罪者捜査用 PCR ベーシックキット取り扱い説明書