

シカの DNA と性格の関係

6年B組 浦 真里奈

6年B組 大石 彩貴

指導教員 櫻井 昭

1. 要約

遺伝子情報から動物個体の性格を判別するシステム確立を目指し、シカの行動観察・DNA採取・DNA解析を行った。行動観察の結果から奈良公園のシカには警戒心に関する性格があることが示された。またDNA解析から、ドーパミン受容体の発現量は、シカの警戒心に関する性格には関連性がない可能性が高い結果となった。

キーワード ニホンシカ, ドーパミン受容体, PCR, DRD4,

2. 背景と目的

近年、奈良公園のシカが観光客に危害を加えることが問題となっていることを知り、これは観光客がシカ個体の性格を考慮せずに近づいたり、餌をあげようとしたりするためではないかと予想した。そこで、動物個体の性格が遺伝子情報から判定できる方法を確立することでこのような問題を解決したいと考えた。本研究ではシカの行動観察から見られる性格の特徴とDNAの関連性を見つけ出すことでDNA情報から動物個体の性格を判別する指標を作ることを目指す。一般的に性格は、遺伝的要因と環境的要因により決定づけられるが、そのうちのひとつである遺伝的要因に注目した。

3. 研究内容

3.1 研究対象（観察場所）

奈良公園の浅茅原に生息しているニホンシカを対象とした。外的要因が少ない方が同じ条件での観察がしやすいため、人流や交通量、騒音が少ない場所を選ん

だ。ニホンシカは哺乳綱偶蹄目シカ科シカ属に属し、奈良に生息するものはホンシュウシカと呼ばれ天然記念物に指定されている(図1, 図2)。



図1 浅茅原に生息しているニホンシカ



図2 行動観察の様子

3.2 研究方法

DNAのある特定の塩基配列には個体によって反復回数が異なる、SNPが存在するなどの違いがあることが多い。この違いによって転写、翻訳されるタンパク質の量や種類が変わり、それに伴い神経伝達物質の分泌量に差ができ性格にも差異が生じる、という事例がイヌで報告されている。これをニホンシカでも確認するために行動観察とDNA解析を行うことにした。まず行動観察を行うことで、ニホンシカにそもそも性格が存在するのかを確認すした。今回は警戒心に焦点をあ

て、数値化を試みた。次に DNA 解析を行った。今回は特定の塩基配列の反復回数に注目し、電気泳動で DNA 断片の長さによつてどのような差異が生じるか確認した。最後に 2 種類の結果を照らし合わせ、DNA 断片の長さを調べると、警戒心の度合がわかる、という指標作成を目指した。

3.2.1 行動観察（動画撮影）

奈良公園の二ホンシカ（以降シカと表記）の行動を一週間に一度の頻度で 2021 年 6 月から 9 月にかけて正午から 14 時頃に観察した（累計 21 匹）。以下に示す二種類の観察を行い、その様子を動画で撮影し、その動画を後日分析する形で行った。

観察 1：人が周りにいないシカを対象とし、実験者 1 名がシカから見て右斜め前方向から近づいた際のシカの反応を観察した。この反応が一時的なものであるか、性格によるものかを判別するために、同じシカに対して時間を空けて 3 回ずつ同じ観察を行った。

観察 2：観察 1 で対象としたシカに、中型鏡を所持した実験者 1 人が近づき、シカの目の前に到着した瞬間にその鏡面がシカの目に入るように鏡を向け、シカの反応を観察した。この観察も同じ日に行った。

3.2.2 行動観察（動画解析）

行動観察の際に録画した動画を、シカの警戒行動の有無や程度に注目してデータ化した。動物は近づいてくるものに対して、鼻や耳などの感覚器を用いて情報を得ようとしたり、逃げる・遠ざかるといった距離をとる行動をしたり、びくつく、などの反応を見せたりするため、これら三点に注目した。

3.2.3 DNA 抽出

行動観察を行ったシカの DNA を唾液から prepGEM™ Saliva を用いて抽出した。本来なら血液から抽出した方が、DNA の量も多く研究しやすいのだが、シカでは血液を採取することが難しかったため、唾液を採取することにした。滅菌した綿棒を用いてシカの唾液を採取し、すぐに 500 μ L の超純水が入ったマイクロチューブの内壁にこすりつけて一時保存した。その後実験室にて抽出の作業を執り行った。まず唾液が含まれた超純水を 20 μ L 測り取り新たな PCR チューブに入れる。その後 10 \times BlueBuffer を 10 μ L、超純水を 69 μ L、prepGEM を 1 μ L 加えた。この PCR チューブをサーマルサイクラーに入れ 75 $^{\circ}$ C で 5 分、95 $^{\circ}$ C で 2 分、4 $^{\circ}$ C で保留状態という流れになるよう設定し熱処理をした。この処理の後 10 μ L の 10 \times TEBuffer を添加し -20 $^{\circ}$ C 以下で保存した。

3.2.4 DNA 量測定

分光器を用いて、抽出処理した溶液に含有する DNA 量と濃度を測定した。

3.2.5 プライマー作成

先行研究^{[1][2]}より、イヌの警戒心には、神経伝達物質のドーパミン受容体 DRD4 を関与することが明らかになっている。そこで、シカでこの DRD4 を調べることを考えたが、シカはあまり研究されておらず、DRD4 の塩基配列が解明されていない。そのため、Ensemble Genome Browser でシカに近縁で DRD4 の塩基配列(図 3)が解明されている動物の Siberian musk deer を探し出した。Siberian musk deer の DRD4 の塩基配列

個体の内、DNA 抽出を行った 10 個体のデータである。

性格を判断する基準として、大多数が共通して行う行動を割り出し、この行動に当てはまらない個体が性格的に特異である、とする方法を用いた。この視点から考えると、結果は次のようになる。

図 4: 見つめた長さが短く(10 秒以下), 立ち去ったシカが全試行の 64.7%であった。

図 5: びくついた個体の中で見つめる長さが短い(11 秒以下)シカは 93.4%であった。

図 6: 見つめた長さが短く(10 秒以下), 立ち去ったシカは全試行の 75.9%であった。

図 7: びくついた個体の中で見つめる長さが短い(11 秒以下)シカは 69.0%であった。

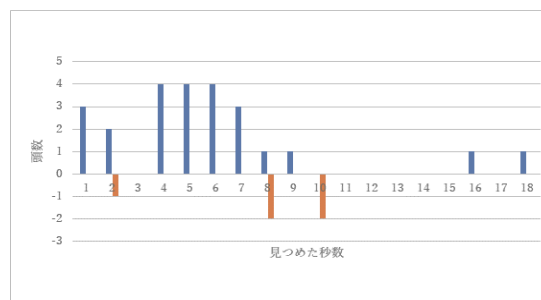


図 6 みつめた時間と立ち去りの関係(10 個体)

縦軸が頭数, 横軸が見つめた秒数を示す。正軸(青軸)が立ち去った頭数を, 負軸(橙軸)が立ち去らなかつた頭数を示している。

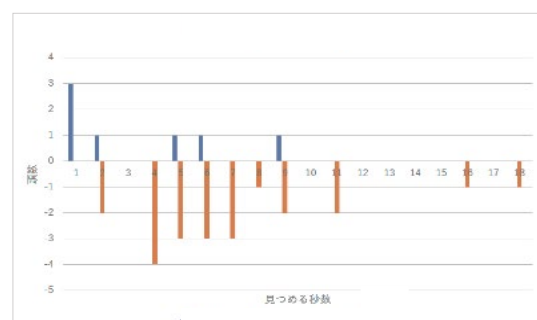


図 7 見つめる長さとびくつきの関係(10 個体)

縦軸が頭数, 横軸が見つめた秒数を示す。正軸(青軸)がびくついた頭数を, 負軸(橙軸)がびくつかなかつた頭数を示している。

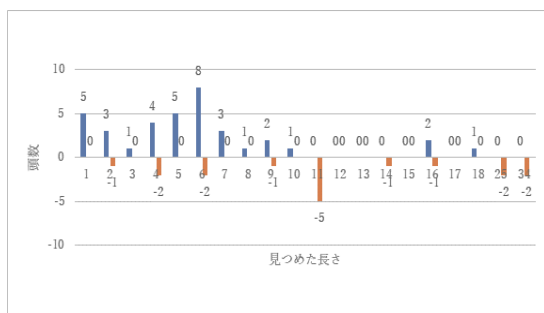


図 4 見つめた長さと立ち去りの関係(21 個体)

縦軸が頭数, 横軸が見つめた秒数を示す。正軸(青軸)が立ち去った頭数を, 負軸(橙軸)が立ち去らなかつた頭数を示している。

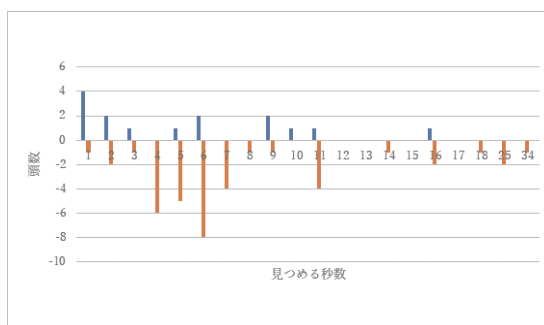


図 5 見つめる長さとびくつきの関係(21 個体)

縦軸が頭数, 横軸が見つめた秒数を示す。正軸(青軸)がびくついた頭数を, 負軸(橙軸)がびくつかなかつた頭数を示している。

4.2 DNA 解析の結果

C02 のプライマー: 予想通り全個体で同一位置にバンドが確認された。実験過程は正確だった。

DRD4 のプライマー: 電気泳動の結果

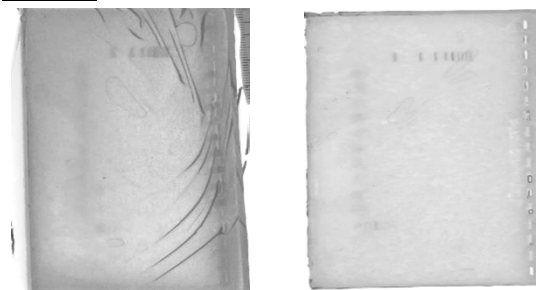


図 8 ゲル染色後のバンドの様子

右が DRD4, 左が C02 の電気泳動像である。どちらも右端にウェルがあり, 左へ向かって DNA 断片は泳動された。上にラダーは 1kb のマーカーである。PCR 反応により増幅された DNA 断片はどちらも, 100bp あたりに確認された。

100bp マーカー付近にバンドが確認できた。しかし予想に反し 10 個体間での差異を確認することはできず全てほぼ同じ位置にバンドがみられた。

5. 考察

図 4 と図 6 のグラフより、見つめる時間が短く、立ち去った個体が過半数であるため、見つめる時間が短い立ち去らなかつた個体や、長く見つめたうえで立ち去った個体は特異的であり、性格的特徴があると考えられる。

図 5 と図 7 のグラフより、びくついた個体のほとんどが見つめる時間が短いため、長く見つめたうえでびくついた個体は特異的であり、性格的特徴があると考えられる。

PCR 法による DNA 断片増幅では、C02 は予想通り同じ位置にバンドが全個体で確認されたため、DNA の抽出、PCR 及び電気泳動等の実験過程は正確に行われたといえる。DRD4 ではバンドは確認できたため、プライマーの設計は上手くいっており、DRD4 に関する遺伝子はシカにもあることを発見できた。しかし全てバンドの位置が同じであり、反復回数に個体間の違いがないと確認された。以上のことから、調査した 10 個体間には警戒心に差があることは確かめられた。

これらのことから、今回の行動観察で確認できた警戒心の違いには、DRD4 によるドーパミン受容体が関連している可能性は低いと判断した。しかしマーカーの 100bp と 200bp のバンドが非常に近いので、ゲルが固すぎて期待通りの値が出なかったのかもしれない。もう少し詳し

く違いがわかるマーカーやゲルを用いると、差異が確認できる可能性は否定できない。

6. 今後の課題・展望

先行研究をもとに自分達で作成したプライマーの DRD4 と思われる DNA 断片の結果から、シカにおいてドーパミン受容体は、今回確認された警戒心への影響は少ない可能性が高いと考えられる。しかし、遺伝子解析の手法は確立できたため、次は DRD4 とは異なる神経伝達物質に関連する遺伝子のプライマーを設計し、同様に実験を行うことでシカの性格に関連する遺伝子とその影響を確認したい。本研究で用いた実験方法は、動物の血液などは必要なく、動物にとってもストレスの少ないものである。遺伝子情報から動物個体の性格を知ることができる指標を確立させ、伴侶動物・産業動物・野生動物などに対して、飼育・調査の際に各個体に合った環境を作ることで、動物と人間のよりよい共生社会に貢献したい。

7. 謝辞

中村教授、甲斐さん、河合先生には温かいご指導を賜りました。この場をお借りして心より感謝申し上げます。

8. 参考文献

- [1] アジア原産犬種および在来犬の遺伝的多様性 越村章子 在来家畜研究会 2006
- [2] イヌの性格を遺伝子から探る 村山美穂 The Japanese Journal of Animal Psychology 2012