2025年度 生物先端科学コース 学生実験

担当：栽培植物起原学分野

種内・種間の系統関係を学ぶ

目的

遺伝子や遺伝子間の塩基配列の取得と解析を通して、種内・種間の系統関係を学ぶ

日程

4月17日（木）　実験実習（PCR産物の確認、精製）（図1）

　　18日（金）~ 21日（月）　シーケンシング

　　22日（火）　解析実習（分子系統解析; 図1）、発表準備

　　23日（水）　解析結果の発表

　　24日（木）　博物館見学



図1 実習の流れ

テキスト

実験実習: pp. 3-4

解析実習: https://github.com/CropEvol/lecture

解析実習でパソコンを使用します。各自ラップトップパソコンを持参してください。

また、データの共有のためにGoogleアカウントが必要です。持っていない方はアカウントを作成してください。

**4月17日（木） 実験実習（PCR産物の確認、精製）のタイムスケジュール**

13:00-13:45 全体説明、シーケンシング法や系統解析について

13:45-14:15 実験サンプルの説明、サンプル担当班の決定

14:15-15:00 電気泳動

休憩

15:00-15:15 電気泳動結果の確認

15:15-15:45 PCR産物の精製

15:45-16:30 シーケンシングサンプルの調整

16:30-17:00 研究発表について

**4月22日（火） 解析実習（分子系統解析）のタイムスケジュール**

13:00-13:15 全体説明

13:15-13:45 シーケンスの確認とトリミング

13:45-14:00 アセンブル

14:00-14:15 マルチFASTAファイルの準備

14:15-14:30 遺伝子系統樹の作成

14:30-14:40 休憩

14:40-15:30 データベースについて、系統樹の見方について

15:30-17:00 残りのサンプルの解析と発表準備

**4月23日（水） 発表準備、発表のタイムスケジュール**

13:00-15:00 発表準備

15:00-15:45 発表（２班）

15:45-16:00 休憩

16:00-16:45 発表（２班）

16:45-17:00 総合討論

使用するサンプルと解析する遺伝領域について

使用サンプル1: イネ *Oryza sativa*

表1 イネ7系統の情報

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **サンプル名** | **種** | **品種等** | **実験** | **解析** |
| Os1 | Oryza sativa | ひとめぼれ | ✔️ | ✔️ |
| Os2 | O. sativa | Kasalath [インド] | ✔️ | ✔️ |
| Os3 | O. sativa | Tupa 729 [バングラデシュ] | ✔️ | ✔️ |
| Os4 | O. sativa | 七面鳥糯 | ✔️ | ✔️ |
| Os6 | O. sativa | 森田早生/森多早生 | ✔️ | ✔️ |
| Os7 | O. sativa | かばしこ | ✔️ | ✔️ |
| Os8 | O. sativa | 新山田穂2号 | ✔️ | ✔️ |
| Os9 | O. sativa | ムツニシキ | - | ✔️ |
| Os10 | O. sativa | 愛知旭 | - | ✔️ |
| Os11 | O. sativa | 104 (Peh-kuh-tsao-tu) [台湾] | - | ✔️ |
| Os12 | O. sativa | ふ系86 | - | ✔️ |
| Os13 | O. sativa | 関東51 | - | ✔️ |
| Os14 | O. barthii（野生種） | W0720 | - | ✔️ |

表2 シーケンス解析をおこなう遺伝領域の情報

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **遺伝領域名** | **遺伝子コードするタンパク質** | **PCR増幅長** | **A班** | **B班** |
| *PiaN* 1F-1R | NBS-LRR protein | 509 bp | ✔️ |  |
| *PiaN* 2F-2R | NBS-LRR protein | 563 bp |  | ✔️ |



図2 実習で解析する遺伝領域

おもに調べること

・種内の系統関係をみる

・イネ属*Oryza*種間との系統関係をみる

使用サンプル2: コムギ近縁野生種 *Aegilops tauschii*

表3 タルホコムギ *Aegilops tauschii* 18系統の情報

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **サンプル名** | **国** | **緯度** | **経度** | **系統群** | **出穂日数** | **芽生色** | **実験** | **解析** |
| At01 | Dagestan | 42.06 | 48.33 | TauL2 | 148 | Red | - | ✔️ |
| At02 | Pakistan | 30.15 | 66.90 | TauL1 | 156 | Red | - | ✔️ |
| At03 | Pakistan | 30.69 | 66.67 | TauL1 | 170 | Red | - | ✔️ |
| At04 | Afghanistan | 31.83 | 66.21 | TauL1 | 162 | Red | - | ✔️ |
| At05 | Afghanistan | 33.80 | 68.41 | TauL1 | 162 | Red | - | ✔️ |
| At06 | Iran | 36.76 | 45.94 | TauL1 | 148 | Green | - | ✔️ |
| At07 | Iran | 35.85 | 51.04 | TauL2 | 165 | Red | - | ✔️ |
| At08 | Iran | 36.88 | 53.47 | TauL2 | 148 | Red | - | ✔️ |
| At09 | Pakistan | 30.15 | 66.90 | TauL1 | 153 | Red | - | ✔️ |
| At10 | Iran | 37.10 | 55.30 | TauL2 | 165 | Red | - | ✔️ |
| At11 | Iran | 37.67 | 49.40 | TauL2 | 166 | Red | - | ✔️ |
| At12 | Iran | 36.76 | 45.94 | 不明 | - | Green | - | ✔️ |
| At13 | Afghanistan | 35.91 | 68.92 | TauL1 | 162 | Red | ✔️ | ✔️ |
| At14 | Afghanistan | 32.81 | 67.75 | TauL1 | 175 | Red | ✔️ | ✔️ |
| At15 | Turkey | 38.29 | 43.15 | TauL1 | 168 | Red | ✔️ | ✔️ |
| At16 | Turkey | 38.29 | 43.15 | TauL1 | 169 | Red | ✔️ | ✔️ |
| At17 | Armenia | 40.25 | 44.62 | TauL1 | 157 | - | ✔️ | ✔️ |
| At18 | Georgia | 41.82 | 44.82 | TauL3 | 167 | Red | ✔️ | ✔️ |

表4 シーケンス解析をおこなう遺伝領域の情報

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **遺伝領域名** | **遺伝子コードするタンパク質** | **PCR増幅長** | **C班** | **D班** |
| *MYC1* 1F-1R | transcription factor EAT1-like | 923 bp | ✔️ |  |
| *Vrn1* 1F-1R | MADS-box transcription factor 14 | 1225 bp |  | ✔️ |
| *Vrn1* 3F-3R | MADS-box transcription factor 14 | 980 bp | ✔️ |  |
| *Vrn3* 1F-1R | protein HEADING DATE 3A | 660 bp |  | ✔️ |



おもに調べること

・種内の系統関係をみる

・形質との関連をみる

・パンコムギに近い系統を調べる

図3 実習で解析する遺伝領域