

薬学実習 4 遺伝学教室

10191043 鈴木健一

実習 A 胚発生時における細胞死の観察

目的

抗活性化型 Dcp1 抗体を用いた免疫染色により、embryo の初期発生時における細胞死を検出し、細胞死実行に関わる遺伝子のショウジョウバエ変異体系統を同定する。

方法

実習書に基づいて TA スタッフの指示に従って実験を行った。

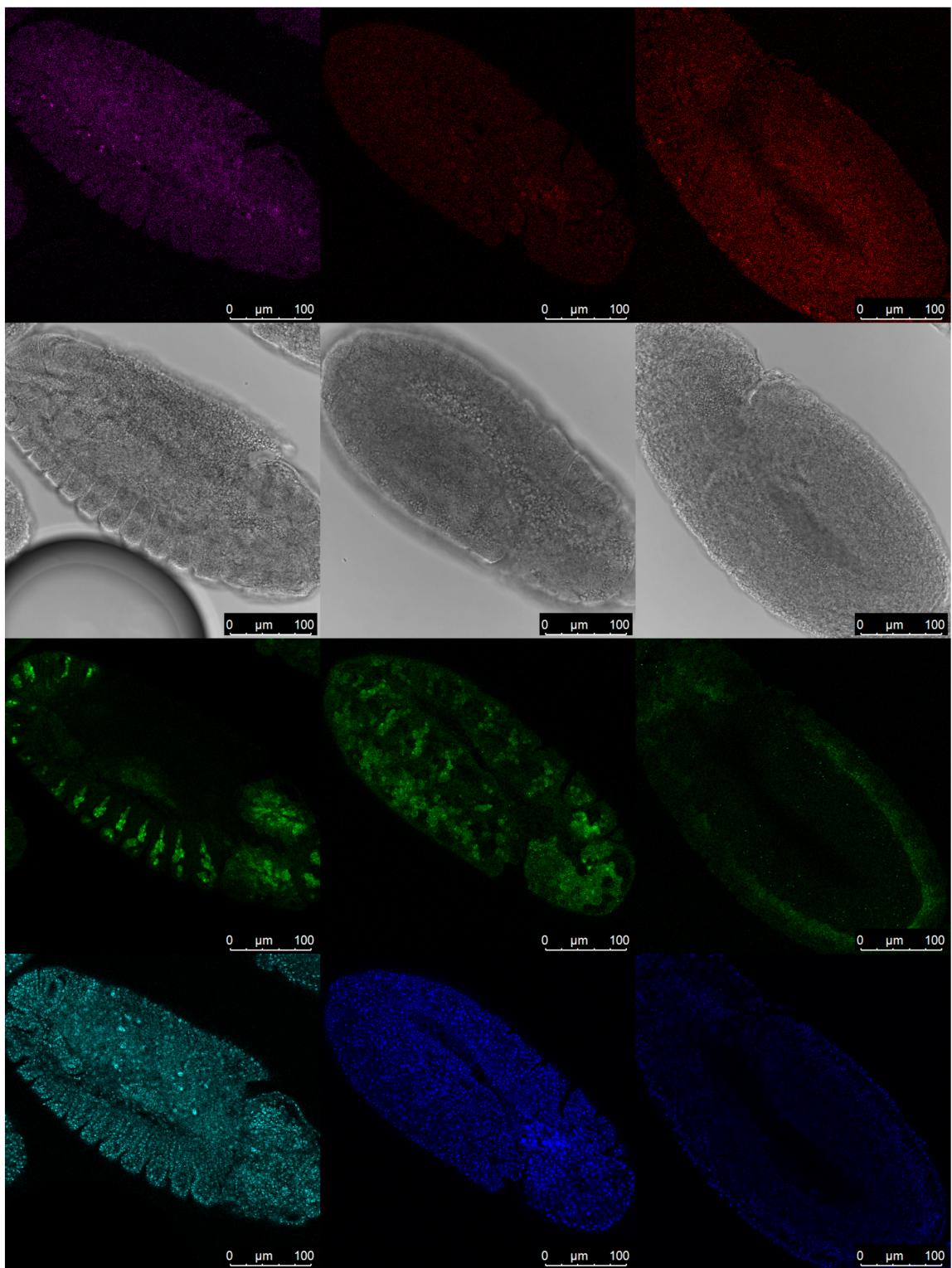
結果

免疫染色したショウジョウバエの embryo を 4 つのチャンネルで観察し、そのうちの特定のサンプルをもとに比較が容易となる図を作成した。まとめた図の横の列は左から順に野生型、変異型 A、変異型 B となっており、縦の列は上から順に Cy3 (cleaved-Dcp1)、明視野、Alexa488 (ELAV)、Hoechst 33342 (核) の画像となっている。

明視野や Alexa488 の画像からもわかるように野生型の embryo はかなり発生ステージが進んでおり、神経細胞の局在が目立っていることからステージ 13 程度であると考えられる。変異型 A は野生型ほど進んでないが、ステージ 11 程度まで進んでいると思われる。変異型 B は分化が進んでおらずステージ 9 程度であるとみられる。

考察

サンプル数が少なかったためにステージが同じ embryo 同士での比較は難しく、また系統ごとに異なる細胞死の度合いを明確に説明するのは困難であった。



実習 B 細菌感染に対する感受性の検討

目的

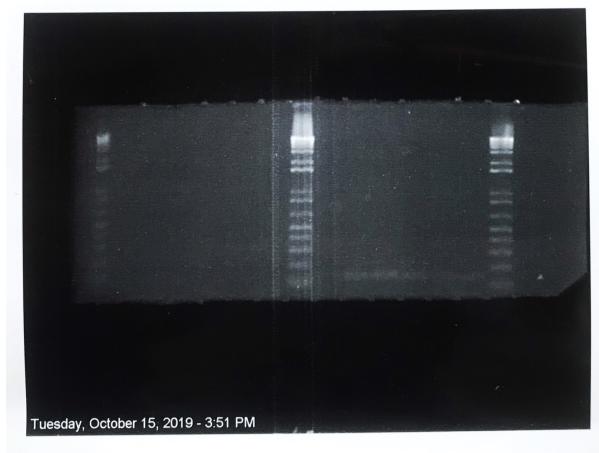
各ショウジョウバエ系統に大腸菌を感染させ、ジプテリシンの発現を RT-PCR 法によって検出することにより、自然免疫系に異常がある変異体を同定する。

方法

実習書に基づいて TA スタッフの指示に従って実験を行った。

結果

ショウジョウバエの total RNA から cDNA を合成し、ジプテリシン遺伝子と G3PDH 遺伝子を PCR 法により増幅した。その後電気泳動によりジプテリシンと G3PDH のバンドにより変異の観察を行った結果が以下の画像のようになった。



考察

電気泳動において野生型と変異型 C との両方のバンドがみられなかった。マーカーから泳動自体の結果は正しく反映されているので大腸菌の導入や PCR の段階で何らかの不手際があったと想定される。

実験を総合して変異体 A,B,C がそれぞれどの変異体なのかを判定することは不可能であった。そもそもの実験プロトコルに課題があると捉えて、より精度のある判定をなすことができる実験にすることが大事だと思われる。