



令和2年1月24日

独立行政法人 国立科学博物館

国立大学法人 福島大学

貴重な標本、傷をつけずに DNA 分析

～植物のおしば標本から非破壊的に DNA を抽出する新手法を開発～

国立科学博物館の杉田典正、海老原淳、神保宇嗣、中江雅典、細矢剛、遊川知久と福島大学の兼子伸吾、黒沢高秀の研究グループは、2020年1月24日発行の Journal of Plant Research 誌において、植物のおしば標本のもとの形を損なうことなく DNA を抽出する方法を発表しました。近年の DNA 解析技術の進歩により、標本に残存する DNA を使った研究が注目されています。しかし、DNA を抽出するためには標本の一部を破壊することが避けられませんでした。そこで研究グループは、プロテイナーゼ K などを含む緩衝溶液をおしば標本の表面に滴下・回収することで、標本の形態を変化させることなく DNA のみを抽出する手法を開発したものです。本手法は、標本の形を維持することが重要な貴重標本の DNA 分析を可能にするともに、短時間・低コストの DNA 抽出法としても活用が期待されます。

【研究の意義】

近年、生物標本に残存する DNA を利用した研究が急増しています。たとえば絶滅種の標本 DNA を使えば失われた生物のさまざまな特性を明らかにすることができますし、普通に見られる種でも古い標本 DNA を用いれば、過去と現在の遺伝的多様性の変化を検出することができます。このように標本 DNA を活用することにより、生物多様性、生態、環境などに関する貴重な情報を得ることができます。しかし、従来の植物の DNA 抽出法ではおしば標本の一部を粉碎せざるをえませんでした。したがって学名の証拠となる基準標本などの貴重な標本や小型植物の標本からは、DNA を使った研究を実施することが困難でした。今回開発した手法は、標本の原形を維持したまま DNA を抽出できるため、貴重な標本の情報を損なうことなく分子生物学研究への利用を可能とする画期的な技術開発と位置付けることができます。またこの手法は、通常の植物 DNA 抽出法よりはるかに短時間かつ低コストで実施できることも大きなメリットで、通常の植物 DNA 抽出法としても普及が期待されるものです。

【研究の内容】

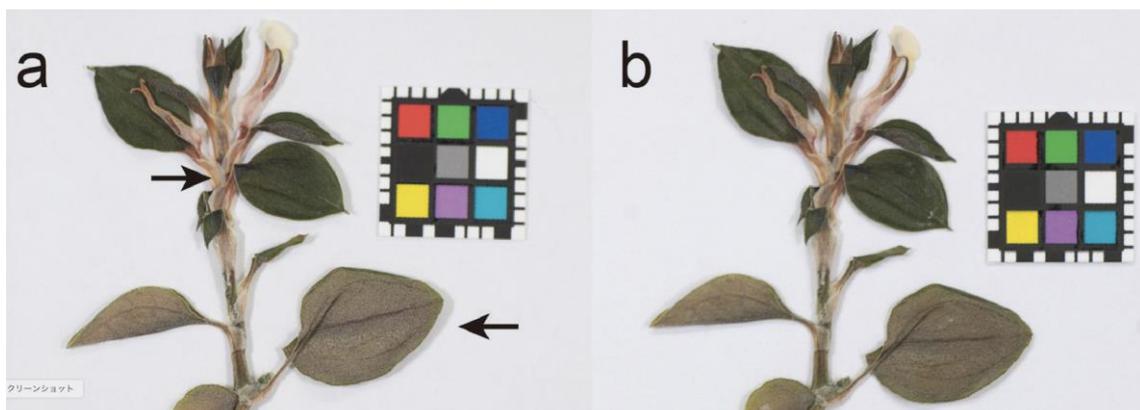
最適な DNA 抽出条件を予備実験で検討した後、14 種の植物のおしば標本の葉上に 10–20 μ l の緩衝溶液（トリス塩酸バッファー（0.01M）、エチレンジアミン四酢酸（0.01M）、ドデシル硫酸ナトリウム（0.01%）、プロテイナーゼ K（0.1 mg/ml））を滴下し、20°C で 30 分置きました（下図を参照）。溶液中に抽出された DNA の質を確認するため、2 つの遺伝子領域（*matK* および *rbcl*）の DNA 塩基配列を検出する実験を行なったところ、*matK* では 80%、*rbcl* では 46.2% の標本からターゲットの塩基配列を得ることができました。さらに DNA 抽出の効率を向上するため、標本の一部を切除し上述した溶液に 30 分浸し切除部を標本に戻す低侵襲法を試みたところ、*matK* では 80%、*rbcl* では 92.8% の標本からターゲットの塩基配列を得ることができました。2 つの方法を組み合わせれば、*matK* では 90%、*rbcl* では 92.8% の成功率となり、市販の DNA 抽出キットを使った結果と同じ数値となりました。また 1934 年に採集された標本に本手法を適用したところ DNA 塩基配列の検出に成功したことから、古い標本についても適用できることが示されました。

【参考】

手法の概要。標本の葉の表面の汚れをブローアーと TE バッファーで落としたあと、DNA 抽出用の緩衝溶液を 30 分置く。DNA 抽出された溶液を回収し、分子生物学の通常の方法で DNA 塩基配列を検出する。緩衝溶液を置いた葉は、吸湿紙で乾燥させる。



DNA 抽出前と後の状態。標本はヤクシマアリドオシラン。a は葉上に DNA 抽出用の緩衝溶液を置く前、b は緩衝溶液を回収した後。矢印の葉に緩衝溶液を置いたが、回収後の葉に変化は見られなかった。



【論文情報】

論文名 : Non-destructive DNA extraction from herbarium specimens: a method particularly suitable for plants with small and fragile leaves

著者 : Norimasa Sugita, Atsushi Ebihara, Tsuyoshi Hosoya, Utsugi Jinbo, Shingo Kaneko, Takahide Kurosawa, Masanori Nakae & Tomohisa Yukawa

ジャーナル名 : Journal of Plant Research

DOI:10.1007/s10265-019-01152-4

印刷版の出版 : 2020 年 1 月 24 日

本件についての問合せ

独立行政法人 国立科学博物館

研究活動広報担当 : 稲葉 祐一

E-mail: t-shuzai@kahaku.go.jp

グループ長 : 遊川 知久 (植物研究部多様性解析・保全グループ)

E-mail: yukawa@kahaku.go.jp

〒305-0005 茨城県つくば市天久保 4-1-1 TEL:029-853-8984 FAX:029-853-8998

国立科学博物館 筑波研究施設HP <http://www.kahaku.go.jp/institution/tsukuba/index.html>

福島大学

総務課広報係

E-mail: kouho@adb.fukushima-u.ac.jp

共生システム理工学類

准教授 : 兼子 伸吾

E-mail: skane@sss.fukushima-u.ac.jp

〒960-1296 福島県福島市金谷川 1