

試験研究成果普及情報

部門	その他	対象	研究
課題名：育種選抜で使用する簡易的な DNA 抽出法の改良			
〔要約〕簡易的な DNA 抽出法であるガラスろ紙挿入チップ法について、ピペット作業を減らした、より簡易的かつ短時間で DNA を抽出する方法に改良した。これにより、品種改良を目的とした DNA マーカー技術による選抜を、より効率的に行うことができる。			
フリーワード DNA 抽出、マーカー選抜、品種改良			
実施機関名	主 査 農林総合研究センター 生物工学研究室 協力機関 農林総合研究センター 水稻・畑地園芸研究所 水田利用研究室、暖地園芸研究所 野菜・花き研究室、 (公財) かずさ DNA 研究所		
実施期間	2022 年度		

〔目的及び背景〕

新品種育成において有用な形質を効率的に選抜することができる DNA マーカー技術は、現在、多くの作物において利用が進んでいる。本県においても、水稻や食用ナバナ等において DNA マーカー技術を用いた育種選抜が行われている。しかし、検定を行うには高度な技術の習得が必要であることに加え、年々検定数が増加する傾向にあり、大量の検定サンプルを効率的に処理する必要がある。そこで、現在の簡易的な DNA 抽出法（2010 年、ガラスろ紙挿入チップ法：以下、チップ法）をさらに改良し、より簡易的に DNA を抽出する方法（以下、簡易法）を改良する。

〔成果内容〕

- 1 チップ法を改良し、より簡易的・効率的に DNA を抽出できる簡易法（図 1、写真 1～4）を開発した。簡易法では、チップ法で使用していたマイクロピペットチップに代えて、1 列毎に切り分けた 96 穴マイクロプレートを使用する。抽出操作に使用するプレートは、先端を切って底に穴をあけ、亜硫酸ナトリウム液を吸着させたガラス繊維ろ紙を先端から少しはみ出すように挿入しておく。DNA の抽出操作は、プレート先端からはみ出したろ紙にサンプルの磨砕液をさらに吸着させた後、プレートを手で持ち、プレートの先端を別プレートの固定液や洗浄液に出し入れして抽出を行う。
- 2 本法では、固定・洗浄の際に手で直接プレートを持って作業できるため、マルチチャンネルピペットなどの取り扱いの難しい実験器具を使用せずに、初心者でも容易に DNA 抽出を行うことができる。
- 3 本法では、水稻及び食用ナバナの DNA 抽出において、チップ法と比較して、DNA マーカー判別の成功率を低下させることなく、DNA 抽出の所要時間を約 10% 程度短縮することができる（表 1）。

[留意事項]

[普及対象地域]

水稲及び食用ナバナ等の遺伝子診断機関

[行政上の措置]

[普及状況]

[成果の概要]

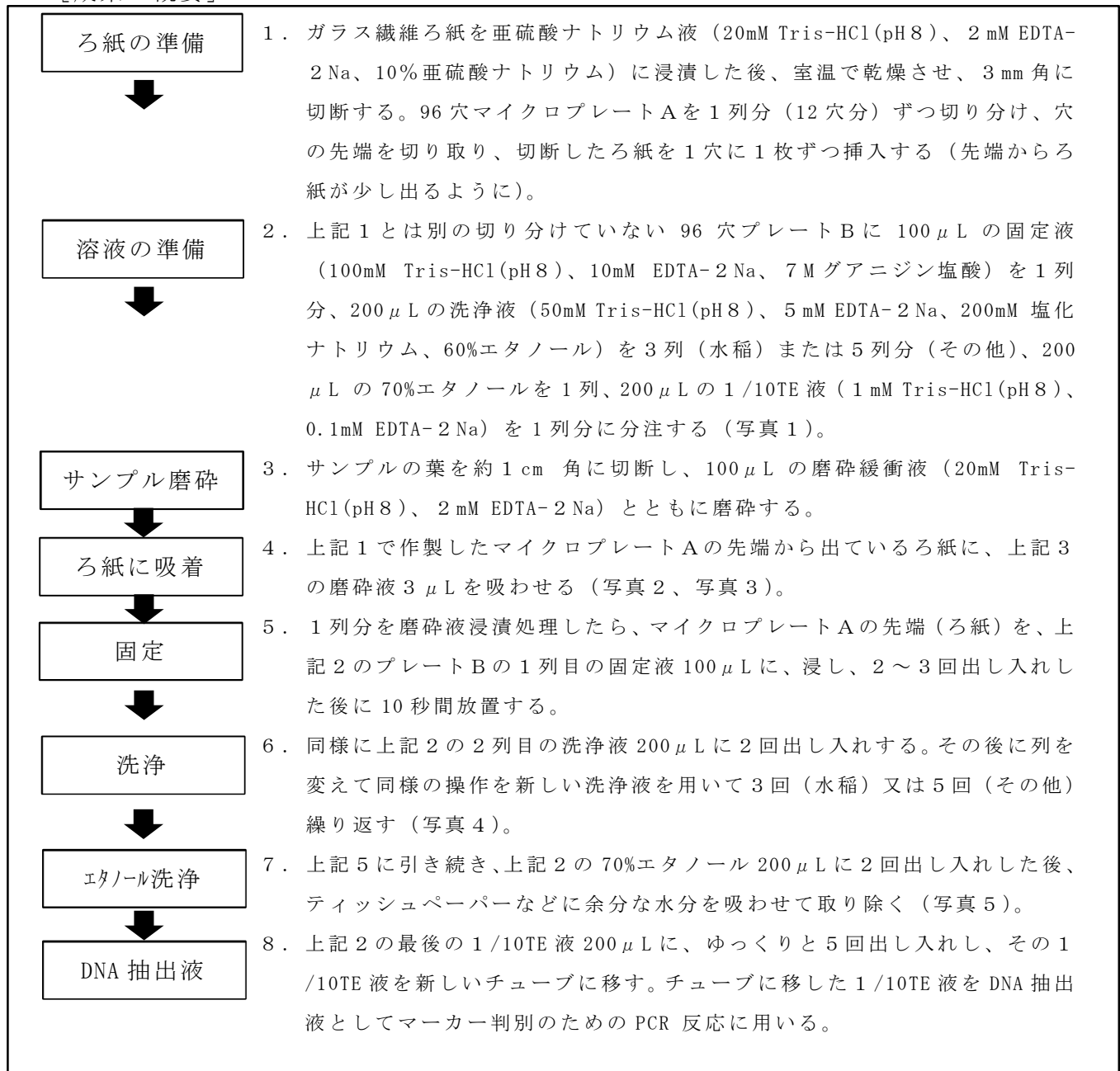


図 1 新たな DNA 抽出法 (簡易法) の手順

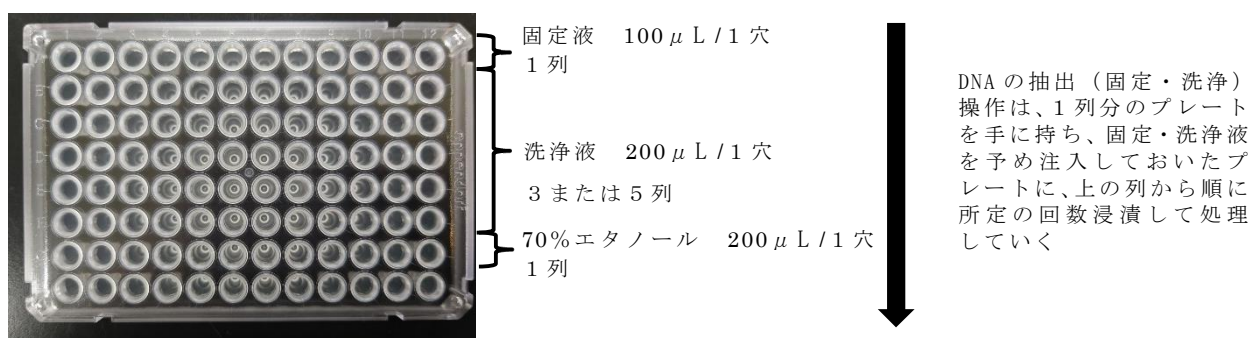


写真 1 固定・洗浄操作を行う 96 穴プレート B

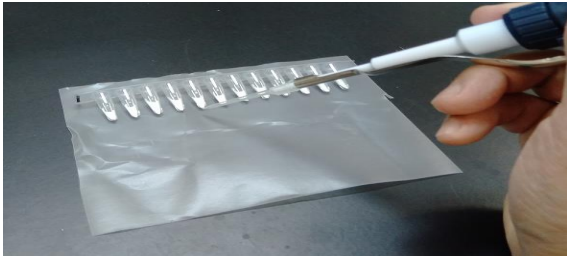


写真 2 サンプルの磨砕液をろ紙に吸着させる様子

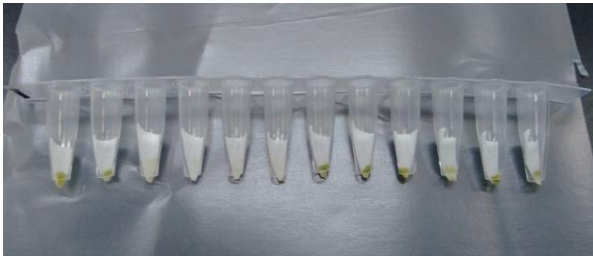


写真 3 サンプルの磨砕液を吸着させた 1 列分のプレート A



写真 4 固定・洗浄の様子

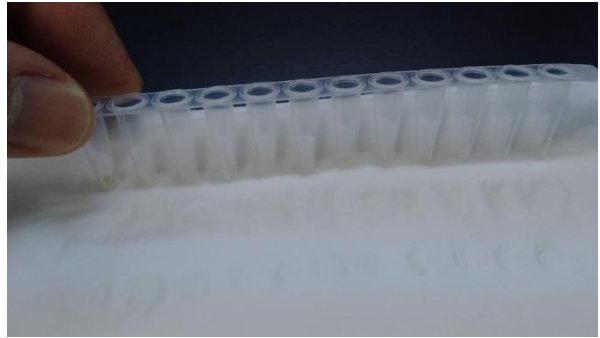


写真 5 水分を除去している様子

表 1 チップ法および簡易法の DNA マーカー判別制移行率及び所要時間

供試植物	マーカー名	抽出法	作業者	サンプル数	PCR反応結果				成功率 (%)	所要時間 (分)
					成功	失敗		計		
						不明瞭	増幅なし			
水稻	カドミウム 低吸収性 マーカー	簡易法	A	24	24	0	0	0	100.0	11
		(改良法)	B	24	24	0	0	0	100.0	17
		簡易法平均							100.0	14.0
		チップ法	A	24	24	0	0	0	100.0	15
		(従来法)	B	24	24	0	0	0	100.0	20
		チップ法平均							100.0	17.5
ナバナ	根こぶ病 抵抗性 マーカー	簡易法	A	48	45	1	2	3	93.8	20
		(改良法)	A	48	47	0	1	1	97.9	20
			B	48	43	4	1	5	89.6	51
			B	48	41	6	1	7	85.4	41
		簡易法平均							91.7	33.0
		チップ法	A	48	42	4	2	6	87.5	34
		(従来法)	A	48	46	0	2	2	95.8	33
			B	48	45	3	0	3	93.8	59
			B	48	41	6	1	7	85.4	52
		チップ法平均							90.6	44.5

注 1) PCR 反応結果については、目的とする増幅産物のバンドが明瞭に認められた場合を成功とし、バンドが不明瞭な場合やバンドが認められない場合(増幅なし)を失敗としてカウントした

2) 所要時間は、DNA 抽出作業のうち、磨砕液をガラスろ紙に吸着させる作業から、TE バッファーに溶解する作業までの時間を計測した

3) 所要時間の集計に当たっては、30 秒未満を切り捨て、30 秒以上を切り上げて計算した

[発表及び関連文献]

平成 22 年度試験研究成果普及情報「ガラス繊維濾紙挿入チップを用いた落花生からの簡易迅速 DNA 抽出法」

[その他]