

# 農産物共通の分析用DNA抽出法の開発

バイオサイエンス科 バイオ研究部 3年 梶師一留薫

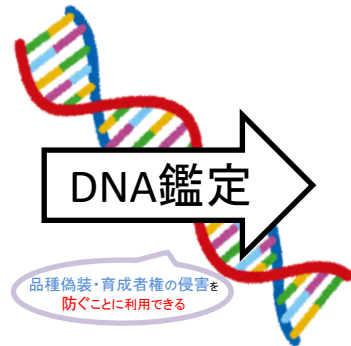
- 目的**
- ① 多様な材料(農業生産物)に適用できる安価なDNA共通抽出法を考案する。
  - ② その方法でDNAを抽出したものを分析用として使用できるのかを検証する。



従来は、材料によって抽出方法が異なる



分析用DNA



今回、開発したのは...

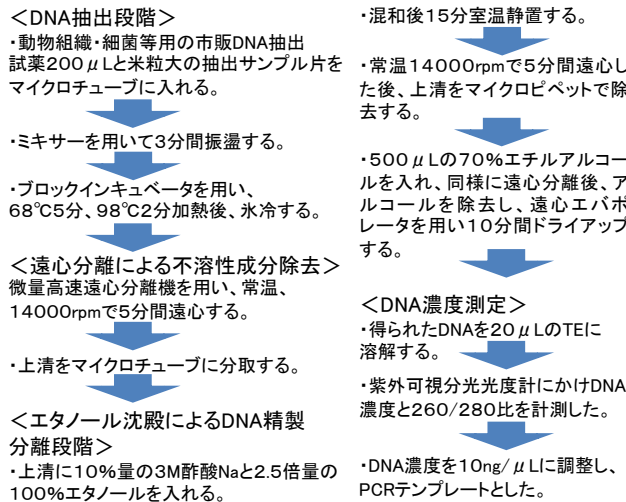
多様な材料に適用できる抽出法

**DNA抽出法** 1回分の試薬の値段

- 通常 約1670円
- 市販品調整 約200円
- 自作調整 約50円

## 方法

### 考案したDNA抽出・調整手順の詳細



全体の流れは以下の通り...

#### DNA抽出と測定

- ① 材料を米粒大に切り出す
- ② DNAを抽出精製する
- ③ DNA濃度、純度(260/280比)計測

#### PCRテンプレートとしての有効性

- ① DNA濃度調整
- ② PCR反応液調整  
植物材料...rbcl, trnL-F プライマー  
動物材料...COI, bird プライマー
- ③ PCRの実施
- ④ アガロースゲル電気泳動による増幅の確認

全工程時間 約1時間

## 材料

### <穀物>

精白米(マツリハシ、ヒトメホシ、モチミノリ、コンヒカリ、アキタコメチ)・押し麦・トウモロコシ粒・もち黒米・大麦

### <豆類・堅果>

落花生・黒豆・マカダミアナッツ・カシューナッツ・クルミ

### <野菜>

ニンジン・ジャガイモ・ブロッコリー・キャベツ・ダイコン・シタケ・タマネギ・ナス・トマト・青ネギ・ゴーヤ

### <肉類>

豚肉・ウインナー・鶏肉・鶏皮

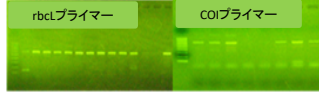
### <魚類>

鮭・小エビ(干しエビ)・中ムキエビ・タラ

・起点となる抽出試薬には、市販の動物・細菌用のBIOSERCHTE CHNOLOGIES社のQuickExtract™DNAExtraction Solutionを使用した。  
・市販の抽出試薬に代わり、自家調整した溶解バッファー(100mMTris-HCl(9.5), 1M KCl, 10mM EDTA)を用いていくつかの植物サンプルからDNA抽出とPCR分析を試みた。

## 結果 農産物共通の分析用DNA抽出法の開発に成功

ナスとトマトはrbclプライマー、鶏肉と鶏皮はCOIプライマーに反応しなかったが、ナスとトマトはtrnLプライマーに、鶏肉と鶏皮はBirdプライマーでDNA増幅があった(図1)。



(図1) 穀物6種類、豆類・堅果5種類、野菜11種類、肉4種類、魚4種類のPCR結果  
rbclプライマーを用いたものは、左から、ルーラー・大麦・落花生・黒豆・マカダミアナッツ・カシューナッツ・ニンジン・ジャガイモ・ブロッコリー・キャベツ・タマネギ・アオネギ・ナス・トマト・ゴーヤ。COIプライマーを用いたものは、左から、ルーラー・豚身・豚脂・ウインナー・鶏肉・鶏皮・鮭・ムキエビ・タラ。

(表1) 各種食物のシーケンス分析結果

サンプル名	seq	PCR条件	Primer	結果	備考
動物	豚身	20min	COI	+	
動物	豚脂	20min	COI	+	
動物	ウインナー	20min	COI	+	
動物	鶏肉	20min	COI	+	
動物	鶏皮	20min	COI	+	
動物	小エビ	20min	COI	+	
動物	ムキエビ	20min	COI	+	
植物	大麦	20min	rbcl	+	
植物	落花生	20min	rbcl	+	
植物	黒豆	20min	rbcl	+	
植物	マカダミアナッツ	20min	rbcl	+	
植物	カシューナッツ	20min	rbcl	+	
植物	クルミ	20min	rbcl	+	
植物	ニンジン	20min	rbcl	+	
植物	ジャガイモ	20min	rbcl	+	
植物	ブロッコリー	20min	rbcl	+	
植物	キャベツ	20min	rbcl	+	
植物	ダイコン	20min	rbcl	+	
植物	シタケ	20min	rbcl	+	
植物	タマネギ	20min	rbcl	+	
植物	ナス	20min	rbcl	+	
植物	トマト	20min	rbcl	+	
植物	ゴーヤ	20min	rbcl	+	
植物	ルーラー	20min	rbcl	+	
植物	ルーラー	20min	COI	+	
植物	ルーラー	20min	trnL	+	
植物	ルーラー	20min	bird	+	
植物	ルーラー	20min	rbcl	+	
植物	ルーラー	20min	COI	+	
植物	ルーラー	20min	trnL	+	
植物	ルーラー	20min	bird	+	
植物	ルーラー	20min	rbcl	+	
植物	ルーラー	20min	COI	+	
植物	ルーラー	20min	trnL	+	
植物	ルーラー	20min	bird	+	

※○...シグナルがはっきりと読み取れる  
△...シグナルが弱く読み取りにくい  
×...シグナルが読み取れない

自家調製の溶解バッファーを用いたDNAサンプルのPCR結果は、落花生と大麦以外PCRの増幅ができた(図2)。

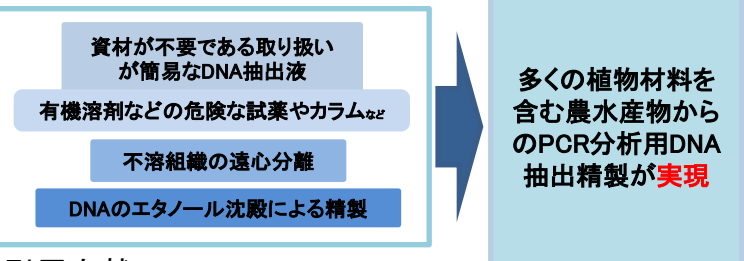
rbclプライマー

(図2) 自家調製の溶解バッファーを用いてコシヒカリ・ジャガイモ・落花生・大麦・キャベツから抽出したDNAを用いたPCRの結果  
rbclプライマーを用いたものは、左から、コシヒカリ・ジャガイモ・落花生・大麦・キャベツ。

## 考察

○シーケンス分析では、フォワード側とリバース側でシグナルの良否が異なっていたことから、シーケンス分析段階の手技の問題だと考えられる。  
○自家調製の溶解バッファーを用いたDNA抽出法で落花生と大麦のサンプルはPCRにかからなかったため、より安価な抽出液は、材料の適用範囲を広げるために、一層の工夫が必要であると考えられる。

## まとめ



## 引用文献

- 1) 荒木直幸ら、2005、様々な野菜可食部組織を用いたDNAフィンガープリント法の開発、園学研、4:131-134。
- 2) 板宮裕実ら、2016、植物の法科学的検査に適したPCRキットの比較、分析化学、65、pp.757-763。
- 3) 伊左治錦司・松本省吾、2005、高等学校におけるDNA簡易抽出実験に関する教材開発、岐阜大学教育学部研究報告 教育実践研究 第7巻、pp.69-71。