



遺伝情報を長期保存できる昆虫標本の作製方法を新たに開発 — 「遺伝資源」としての昆虫標本を次世代に —

1. 発表者：

中濱 直之（兵庫県立大学自然・環境科学研究所講師）

井鷲 裕司（京都大学大学院農学研究科教授）

伊藤 元己（東京大学大学院総合文化研究科教授）

2. 発表のポイント：

- ◆ 遺伝情報の長期保存が難しかった昆虫標本について、遺伝情報を長期保管できる標本の作製方法を新たに開発した。
- ◆ これまでの遺伝解析用標本と比較して、作製や保管の際にかかる手間やコストが非常に少なく手軽に実施できる。
- ◆ 本手法をもとに作製された昆虫標本が博物館などに収蔵されることで、将来的に遺伝資源として役立つことが期待される。

3. 発表概要：

中濱直之 兵庫県立大学自然・環境科学研究所講師、井鷲裕司 京都大学大学院農学研究科教授、伊藤元己 東京大学大学院総合文化研究科教授らの研究グループは、遺伝情報の維持が難しかった昆虫の乾燥標本について、遺伝情報の劣化を防ぐ作製手法を新たに開発しました。昆虫の乾燥標本は、通常作製から数カ月ほどで DNA（注 1）が劣化することから、これまで DNA を用いた解析は非常に困難でした。

本研究では、昆虫の乾燥標本に 0.2ml チューブとプロピレングリコールを用いて長期間遺伝情報を保持できる手法を開発いたしました。本手法は、安価かつ入手の容易な材料で、簡単に作製できることから、今後本手法が愛好家の皆様や各博物館などで実施されることが期待されます。本手法により遺伝情報が保存された昆虫標本が多数作製されることで、将来的に昆虫標本に遺伝資源としての新たな価値を付与することができます。

本研究成果は 2019 年 12 月 23 日（イギリス標準時間）に、国際科学誌「European Journal of Entomology」の電子版に掲載されました。

4. 発表内容

(1) 背景：

自然史博物館などに収蔵されている昆虫標本は、その昆虫が生きていた当時のすがたや遺伝子の情報を含むことから、過去の情報を現在にのこす、いわば「タイムカプセル」とも言えます。これらの昆虫標本から遺伝解析をすることで、過去の昆虫が持っていた遺伝的多様性（注 2）や機能遺伝子（注 3）の変化などがわかるため、自然科学のさまざまな分野に応用できることが期待されています。しかし、昆虫標本は、これまで形態や採集情報が研究に主に利用されるものの、遺伝情報を用いた研究はあまり多くありませんでした。標本に含まれる DNA は新鮮なものと比べると激しく劣化しており、研究への利用が非常に難しいためです。

昆虫の遺伝解析用サンプルは主に冷凍やエタノール中での保存がなされてきました。しかし、乾燥標本と比べ保管にコストがかかることから、多くの自然史博物館では遺伝解析用サンプルの収蔵点数が少なく、ほとんどが乾燥標本として保存されているのが現状で

す。そのため、昆虫標本の遺伝情報を効果的に利用するには、保管コストの安い乾燥標本とともに遺伝情報を長期間維持する手法を開発する必要がありました。

(2) 結果

本研究では、昆虫の乾燥標本を用いる昆虫針を、筋肉組織（遺伝情報を含む）とプロピレングリコールを入れた 0.2ml チューブの蝶番部分に刺すことにより、乾燥標本と遺伝解析用サンプルを同時に保管できないかと考えました（図 1）。プロピレングリコールはエタノールと比較して蒸発速度がはるかに遅いため、長期保管を前提とした昆虫標本の保存液に適しているといえます。

筋肉組織（本研究では脚部）について、乾燥状態、エタノールで保存した状態、プロピレングリコールで保存した状態の標本作製し、標本作製直後、1 カ月後、6 カ月後、12 カ月後の DNA の残存程度を確認しました。その結果、乾燥した筋肉組織（通常と昆虫標本と同様）の場合、6 カ月ですべてのサンプルの DNA（本研究ではミトコンドリア配列 COI 領域を利用）は 1555bp（注 4）未満に断片化していました（図 2）。エタノール保存、プロピレングリコール保存をした筋肉組織は、すべてのサンプルで 1 年後も 1555bp の DNA が残存していました（図 2）。このことから、プロピレングリコールはエタノールと同様に保存液として適していることが分かります。また、本研究で提唱した標本作製手法による遺伝情報の長期保存についての有効性も示されました。これらの結果から、遺伝情報を長期保存できる昆虫標本の作製方法の提言をいたしました（図 1）

(3) 波及効果

本研究より、少なくとも 1555bp 以上の DNA を長期間保存できる標本作製手法（図 1）の有効性が示されました。一部を除いた多くの遺伝解析の場合、必要な DNA の長さは 1000bp 程度です。そのため、本手法により作製された昆虫標本は、遺伝解析用サンプルとして利用可能となります。

また本研究の特徴として、作製手法そのものが簡易であり、また必要な材料も安価で入手が容易であることです。主な材料である 0.2ml チューブとプロピレングリコールはいずれも通信販売で入手することができ、また 1 点の標本に対し 10 円程度のコストで作製できます。そのため、研究機関だけでなくアマチュアの昆虫愛好家にも導入しやすい方法といえます。今後、昆虫愛好家の皆様が本手法に基づいた昆虫標本作製していただき、またいずれ博物館に寄贈していただくことで、自然史博物館の昆虫標本に遺伝資源としての新たな価値が付与されることが強く期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌： *European Journal of Entomology*

題名： Methods for retaining well-preserved DNA with dried specimens of insects
(昆虫標本で DNA を長期保存できる方法の開発)

著者： Naoyuki Nakahama, Yuji Isagi, Motomi Ito (中濱 直之、井鷲 裕司、伊藤元己)

DOI 番号： 10.14411/eje.2019.050

アブストラクト URL：

https://www.eje.cz/artkey/eje-201901-0050_methods_for_retaining_well-preserved_dna_with_dried_specimens_of_insects.php

6. 問い合わせ先：

兵庫県立大学自然・環境科学研究所 講師
兵庫県立人と自然の博物館 研究員
中濱 直之（なかはま なおゆき）

7. 用語解説：

注1 DNA

デオキシリボ核酸の略。アデニン、グアニン、シトシン、チミンから構成されている。
RNA とともに遺伝情報を保持している物質で、細胞の核やミトコンドリア内に含まれている。

注2 遺伝的多様性

特定の生物種や集団に含まれる遺伝的な変異の大きさを指します。種や集団中でより多くの対立遺伝子が観察されるほど、遺伝的多様性は高いといえます。

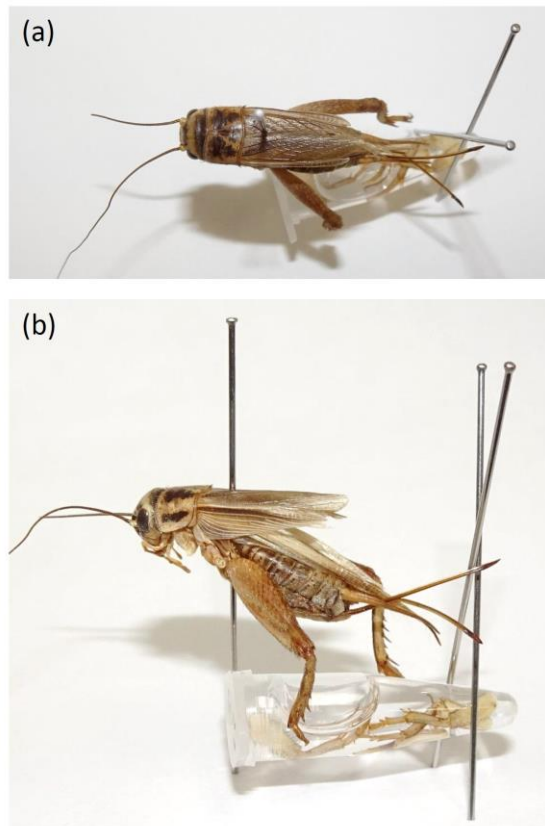
注3 機能遺伝子

タンパク質を合成するための設計図として機能している遺伝子。

注4 bp (ベースペア)

DNA を構成する塩基物質の長さの単位。

8. 添付資料：



殺虫方法

- 酢酸エチルの蒸気もしくは冷凍により殺虫

標本作製・保管方法

- 殺虫を確認後、できるだけ早く昆虫から脚(もしくは筋組織)を切り取る
- 切り取った組織を99%プロピレングリコールとともに0.2mlチューブに入れる(組織が大きい場合、一度プロピレングリコールを入れ替える)
- チューブの蝶番に昆虫針を刺し、昆虫の乾燥標本とともに保管
- チューブが回転しないように、昆虫針で適宜固定する
- 標本が紫外線にさらされる場合、チューブにアルミホイルを巻く

(a) 背面からの標本写真

(b) 側面からの標本写真

図1 本研究により確立された標本作製手法。

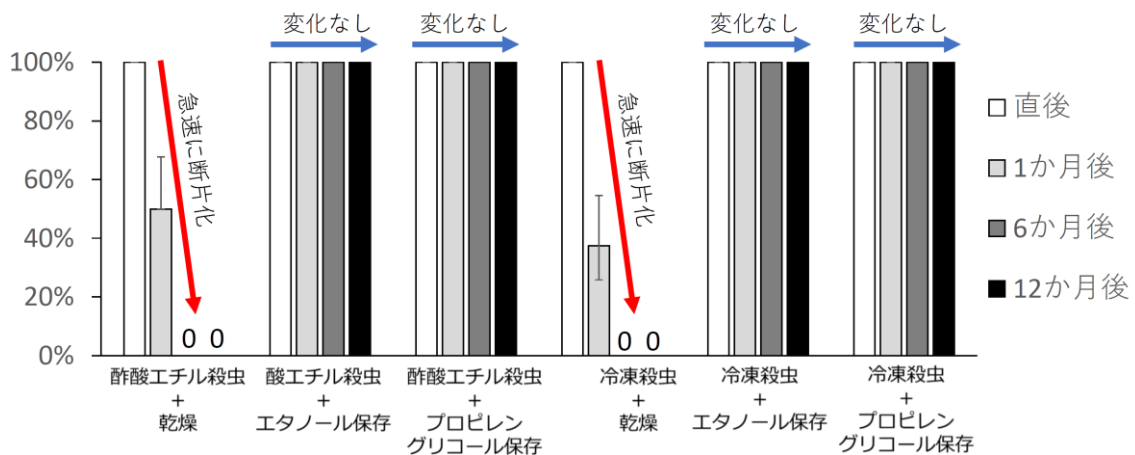


図2 各実験区において DNA 断片 (1555bp) が残存するサンプルの割合。乾燥状態のサンプルでは、6 カ月ですべてのサンプルが 1555bp 未満に断片化したが、エタノール保存やプロピレングリコール保存の場合は 12 カ月経過しても全てのサンプルで 1555bp 以上の DNA が残存していた。710bp も同様の傾向だった。