

## 生物標本の遺伝情報を利用する

中濱直之（兵庫県立大学 自然・環境科学研究所 講師）

### はじめに

ひとはくをはじめとした国内外の博物館には多くの生物標本が収蔵され、数々の研究に活用されています。これらの標本は、これまで形態に基づく分類学的研究や、採集情報に基づく生物多様性情報学に利用されることが多かったのですが、近年は標本に含まれる遺伝情報も、海外を中心に注目されるようになって来ました。標本の遺伝情報を利用すると、どんなメリットがあるのでしょうか？ わかりやすく言うと、過去の情報を今によみがえらせる、いわば「タイムカプセル」の役割を果たします。本稿では、その具体例や、関連する話題をいくつか御紹介します。

### 絶滅種の標本を用いた研究

すでに絶滅してしまった種では、生きた個体の遺伝子を手に入れることは不可能です。しかし博物館には、絶滅してしまった種の標本も、たくさん収蔵されています。そうした標本の遺伝情報を利用することができれば、絶滅した生き物について様々なことが分かります。例えば Waku et al. (2016)は、すでに絶滅したニホンカワウソの遺伝情報を博物館標本から取得し、ユーラシアカワウソに最も近縁であることを明らかにしました (図1)。

### 博物館標本の遺伝情報を生物多様性保全に活用する

標本は、すでに絶滅した種の研究だけでなく、絶滅危惧種の保全にも役立ちます。筆者らは、種の保存法で国内希少野生動物種に指定され、絶滅の危機にあるチョウ類の一種ウスイロヒョウモンモドキについて研究を実施しました (図2； Nakahama and Isagi 2018)。ウスイロヒョウモンモドキが生息している地域とすでに絶滅した地域において、標本などを用いて 1990 年前後と 2010 年前後の遺伝的多様性を比較したところ、いずれの地域においても遺伝的多様性の大幅な減少が見られました。遺伝的多様性が減少すると、有害遺伝

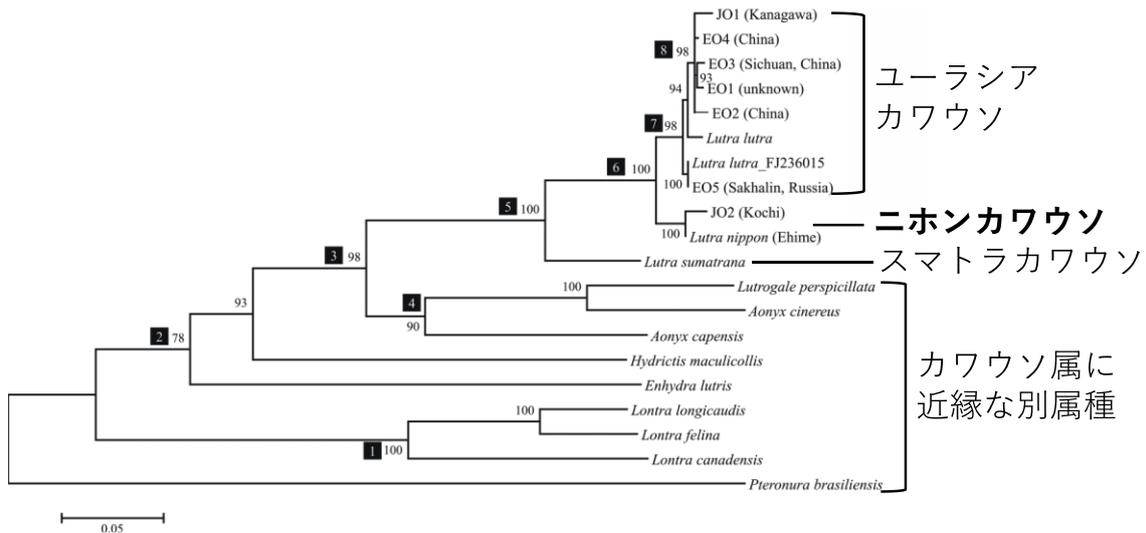


図1 ニホンカワウソとその近縁種の分子系統樹

ミトコンドリア DNA の ND5 配列と cytb 配列を使用。ユーラシアカワウソと最も近縁であることがわかる。Phylogenetic tree for Lutrinae based on the partial mtDNA together with the *L. nippon* (Ehime) © Waku et al. 2016 (Licensed under CC BY 4.0) から一部改変。

子の発現により成長や繁殖が失敗しやすくなる現象（近交弱勢）が起こるリスクが増大します。特に遺伝的多様性の低い地域では、近交弱勢を起こさないように適切な管理をする必要があります。どの地域を特に注意して守っていくべきか、今後の保全対策にとって非常に重要な知見が得られました。こうした保全への活用は Nakahama (2021) で詳しく解説していますので、ご興味のある方はそちらをご覧ください。



図2 ウスイロヒョウモンモドキ  
現在は兵庫県と中国地方のごく限られた地域のみ  
に生息する。絶滅の危険は非常に高いことから、  
種の保存法で国内希少野生動植物種に指定されて  
いる。

### 博物館標本の遺伝情報を用いたデータベースの整備

世界中に生息する生物について、特定の遺伝子領域の配列を決定し、種の識別に利用する

「DNA バーコーディング」を進める国際プロジェクトが 2008 年に設立され、配列情報の蓄積が世界中で進行しています。この DNA バーコーディングは、池や川の水に含まれる DNA 断片から生物相を明らかにする環境 DNA、また動物のフンから餌生物を推定する食性解析などに大きな力を発揮するため、今後も多くの分類群における配列情報の網羅的な蓄積が望まれます。しかし、種数が極めて多い昆虫類をはじめとする無脊椎動物については、配列情報がまだ十分に網羅されていないことが多く、今後効率的に配列の決定をしていく必要があります。

ここでも標本が大きく役立ちます。博物館の標本は、特定の分類群について網羅的に収蔵されていることが多いため、新たなサンプル収集をする手間を省くことができます。Hebert et al. (2013) では、オーストラリアの 12,699 種 41,650 個体ものチョウとガの標本を用いて、たった 14 週間でバーコード配列を決定しています。これだけの数を野外で一からサンプリング、標本作製をするとなると、非常に手間がかかることは容易に想像でき、博物館標本の威力を思い知らされます。

### 博物館標本の破壊を抑えた遺伝解析手法

これまで、標本から遺伝解析をする際にはどうしても標本の一部を切り取らざるを得ず、その破壊的な利用が問題となっていました。博物館標本は人類共有のかけがえのない財産であり、研究のためとはいえ、破壊的な利用はできる限り抑えられるべきです（志賀 2013）。

近年、博物館標本の外部形態を破壊せずに DNA を抽出する方法が、確立されるようになってきました。例えば昆虫では、タンパク質分解酵素を含んだ DNA 抽出液に身体を浸し、DNA が溶け出した後に再度乾燥させることで、外骨格を破壊せずに DNA を抽出することができます（Patzold et al. 2020）。また植物でも、DNA 抽出液を標本上に静置し、しばらくしてから回収することで、標本を破壊せずに DNA を抽出できることがわかってきました（Sugita et al. 2020）。まだすべての分類群でこうした方法が開発されている訳ではありませんが、いずれは博物館標本をほとんど破壊せずに遺伝情報を取り出せる時代が来るかもしれません。

### 博物館標本の遺伝情報の長期保存

博物館の標本は、長期間常温保存されることが多いため、新鮮なサンプルと比べて DNA がボロボロに劣化しています。また当然ながら、劣化は年を経るごとに進行するため、古ければ古いほど DNA の解析が難しくなります（図 3）。従来の遺伝解析方法では、このよ

うな劣化した DNA の配列決定が非常に難しく、次世代シーケンサーなど解析技術の発展に伴って、やっと利用され始めたところです。しかし、やはり DNA 情報を安価に安定して取得するには、博物館標本の DNA の品質をできるだけ維持しておく必要があります。

そこで、昆虫標本の遺伝情報を長期間保管する技術を開発しました。これまで昆虫をはじめとする動物の DNA サンプルは、無水エタノールで保存するか冷凍庫で保存するのが一般的でした。なんとか昆虫の乾燥標本中で保管できないか検討したところ、「PCR 用チューブにプロピレングリコールと昆虫の体の一部を入れて、チューブの蝶番に昆虫針を刺す (図 4)」ことで長期間保管できることがわかりました (Nakahama et al. 2019)。通常の方法では標本の作製後 1 年を経過すると、コオロギでは DNA バーコード領域の PCR (DNA を増幅する操作) ができないほど劣化していましたが、開発した手法では、DNA バーコード領域の 2 倍を超える長さの PCR も全く問題なく実施できました。プロピレングリコールを用いることで、エタノールのように短時間で蒸発する心配がなく、長期的に保管することが期待できます。また今後は、昆虫だけでなく植物など、他の分類群でも DNA の長期的な保管ができないか、研究を進めているところです。

### 今後に向けて

遺伝解析の技術は、指数関数的に発展し続けています。たった 20 年ほど前におよそ 100 億円もの費用がかかったヒトゲノムの決定は、今や 15 万円程度で決定することができます。野生生物においても、ゲノムレベル (数億～数百億塩基対) の遺伝解析を実施することが珍しくなくなってきました。しかし、どこまで解析技術が発展しても、過去の情報を知ることは簡単ではありません。標本の遺伝情報は、過去の情報を知ることで新しい知識を得る、いわば「温故知新」のための強力な材料となりえます。現在、海外を中心に標本のゲノムレベルでの解析を実施した研究が増えつつあります。日本でもこうした潮流に乗り遅れず、研究が進んでいくことが強く期待されます。

### 引用文献

- Hebert, P. D., DeWaard, J. R., Zakharov, E. V., Prosser, S. W., Sones, J. E., McKeown, J. T., ... & LaSalle, J. (2013). A DNA 'Barcode Blitz': Rapid digitization and sequencing of a natural history collection. *PLOS ONE*, 8, e68535.
- Nakahama, N. (2021). Museum specimens: An overlooked and valuable material for conservation

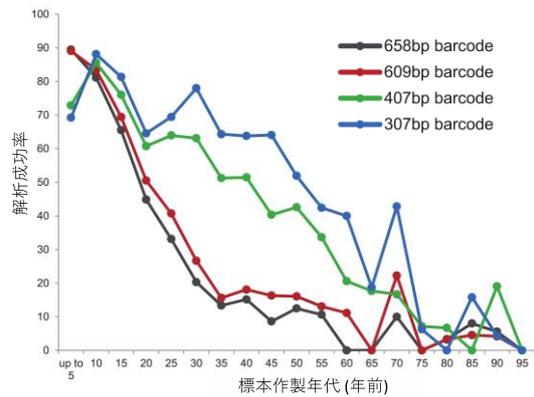


図 3 昆虫の乾燥標本の解析成功率と採集年代の関係

右上の bp は遺伝解析に必要な DNA の長さの単位で、この値が大きければより品質の高い DNA が必要となる。Variation in percentage success in recovery of four COI amplicons from 12,031 Lepidoptera specimens of varied age from ANIC © Herbert et al. 2013 (Licensed under CC BY 4.0) から一部改変。



図 4 DNA を長期保存できる昆虫標本  
昆虫の体の一部とプロピレングリコールを PCR チューブに入れ、チューブの蝶番に昆虫針を刺すことで、標本と DNA サンプルを一体的に保存できる。

- genetics. *Ecological Research*, 36, 13-23.
- Nakahama, N., & Isagi, Y. (2018). Recent transitions in genetic diversity and structure in the endangered semi-natural grassland butterfly, *Melitaea protomedia*, in Japan. *Insect Conservation and Diversity*, 11, 330-340.
- Nakahama, N., Isagi, Y., & Ito, M. (2019). Methods for retaining well-preserved DNA with dried specimens of insects. *European Journal of Entomology*, 116, 486-491.
- Patzold, F., Zilli, A., & Hundsdoerfer, A. K. (2020). Advantages of an easy-to-use DNA extraction method for minimal-destructive analysis of collection specimens. *PLOS ONE*, 15, e0235222.
- Sugita, N., Ebihara, A., Hosoya, T., Jinbo, U., Kaneko, S., Kurosawa, T., ... & Yukawa, T. (2020). Non-destructive DNA extraction from herbarium specimens: a method particularly suitable for plants with small and fragile leaves. *Journal of plant research*, 133, 133-141.
- Waku, D., Segawa, T., Yonezawa, T., Akiyoshi, A., Ishige, T., Ueda, M., ... & Sasaki, T. (2016). Evaluating the phylogenetic status of the extinct Japanese otter on the basis of mitochondrial genome analysis. *PLOS ONE*, 11, e0149341.