

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		土壌からの RNA の直接抽出・精製方法の開発			
研究テーマ (欧文) AZ		The development of direct soil RNA extraction and purification method from soil.			
研究氏 代表名 者	カカナ CC	姓) ライ	名) ヒロキ	研究期間 B	2008 ~ 2010 年
	漢字 CB	頼	泰樹	報告年度 YR	2010 年
	ローマ字 CZ	RAI	HIROKI	研究機関名	秋田県立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		秋田県立大学 生物資源科学部 生物生産科学科 ・ 助教			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>土壌の微生物は実にその 90%以上が培養できないと言われており、生きた土壌微生物の生態や機能はいまだ明らかにされていない。またそのことは土壌にはいまだ未知の微生物資源が数多く眠っているということでもある。</p> <p>土壌微生物の生態の解明や新規遺伝子の獲得には培養に依らない、核酸の直接抽出が有効である。特に RNA を抽出することができれば、土壌に人為的に発現を誘導した遺伝子の獲得が可能となる。</p> <p>しかし、日本の土壌は火山灰が混入しているため、従来の報告されている方法では高収量で土壌 RNA を抽出できなかった。</p> <p>そこで本研究では火山灰土壌からの高収量、高純度な核酸、特に RNA の抽出できる手法の開発を目指し実験を行った。火山灰土壌から核酸が抽出できないのは火山灰土壌特有の非晶質鉱物アロフェンのアルミニウムが抽出時に DNA, RNA を吸着することが原因であった。</p> <p>また RNA は DNA よりもアロフェンに強く吸着されてしまうため、アロフェンをキレート、マスクングする EDTA およびリン酸緩衝液に対し、さらにアルミニウム化合物をより強力に破壊するケイフッ化合物を添加した。</p> <p>その結果、従来の方法では全く抽出できなかった火山灰土壌の RNA が抽出可能となった。</p> <p>しかし、火山灰土壌をこのようなアロフェンのキレート剤、破壊剤ともに処理した場合、アロフェンが吸着していた大量の腐植も同時に抽出されてしまう。そこで腐植を完全に除去できる精製法を開発し、抽出法と組み合わせることで土壌から高効率、高純度な核酸(DNA, RNA)の抽出法が完成できた。</p> <p>これらの抽出の実用化、製品化が現在進んでいる。</p>					
キーワード FA	土壌 RNA	直接抽出法	土壌微生物	遺伝子資源	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	A restriction factor of direct DNA extraction from volcanic ash soils							
	著者名 ^{GA}	Hiroki Rai et al.	雑誌名 ^{GC}	The proceeding of 19th World Congress of Soil Science					
	ページ ^{GF}	p1~p4	発行年 ^{GE}	2	0	1	0	巻号 ^{GD}	Proceedings
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

It is considered the 90 % or more of the soil microbes are unable to be cultivated at present. The community structure or activities of living soil microbes was not clear. If the soil nucleic acids can be extracted and analyzed directly, it will become possible to know what microbes are living in soil and to obtain the information on new genes of them whether the soil microbes are culturable or not. Especially, the extraction methods of soil RNA made dramatic improvements in analysis of soil microbial activities.

Andosol, the volcanic ash soils, are widely distributed in Japan. I had tried to extract DNA and RNA from these volcanic ash soils directly, but it was impossible to extract using earlier methods. Andosols have special characteristics such as high phosphorus adsorption and humic substances because the soils contain an amorphous aluminium in a silicate called allophane.

In my research, the amorphous Al adsorbed DNA and RNA contains phosphorus bases in nucleotides, and especially RNA was adsorbed more strongly. So we tried to eliminate the adsorption of RNA using a high concentration of EDTA as chelator and phosphoric acids as masking material and NaSiF₆.

By the removal of Al from soils in the extraction stage, the RNA could be extracted. I also improved the purification methods. The developed method can extract soil RNA in high yields and purity.