

SSR マーカーを用いたにらの遺伝的類縁関係の解明

1. 成果の要約

SSR（単純反復配列：品種によって反復回数が異なることを利用して DNA マーカーとする）プライマー 9 種類を供試し、にら遺伝資源 94 品種・系統の PCR を行った結果、69 個の SSR マーカーが得られた。これらのマーカーにより、新品種‘ゆめみどり’を含む 54 品種・系統が識別できた。また、得られたマーカーのタイピング結果をクラスター分析し、全供試品種・系統の遺伝的類縁関係を明らかにした。

2. キーワード

DNA マーカー、遺伝資源、クラスター分析、RNA-seq、SSR 濃縮ライブラリー

3. 試験のねらい

にらは単為生殖性を有するため、交雑育種が難しい作物であるが、当场では両性生殖性系統と単為発生性連鎖マーカーを組み合わせた画期的なにら育種システムを構築し、交雑育種が可能となった。そこで様々な優良形質を導入し、遺伝的多様性に富んだ品種の開発を進めるため、にらの保存品種・系統の遺伝的類縁関係を明らかにし、交配組合せを決定するための基礎データとする。

4. 試験方法

当场で保有するにら遺伝資源 94 品種・系統について、CTAB 法または DNA 抽出キットを用いて抽出した DNA を供試した。SSR プライマーは、にら EST 配列から設計した 5 種類 (nira2024, nira2784, nira3910, nira4213, nira5090)、RNA-seq の結果から設計した 1 種類 (nr0008) および SSR 濃縮ライブラリーから得られた配列で設計した 3 種類 (nr5027, nr5028, nr5141) を用いた。これら 9 種類のプライマーを用い、全供試品種・系統を PCR 増幅した。得られた PCR 産物は DNA シーケンサーで検出し、マーカーの有無を確認した。

また、にら 94 品種・系統について、得られた SSR マーカーの多型データを用いて、群平均法によりクラスター分析を行った。

5. 試験結果および考察

- (1) EST 配列から設計した 5 種類の SSR プライマーを供試して 94 品種・系統を PCR 増幅した結果、それぞれのプライマーで多型を示す DNA 断片が計 24 個得られたため、それらを類縁関係解析に供試するマーカーとした。
- (2) RNA-seq および SSR 濃縮ライブラリーから得られた配列で設計したプライマーから選抜した 4 種類の SSR プライマーを供試して、94 品種・系統を PCR 増幅した結果、多型を示す DNA 断片が計 45 個得られたため、それらを類縁関係解析に供試するマーカーとした。
- (3) 合計 9 種類の SSR プライマーによって検出された 69 個のマーカーを用いると、にら 94 品種・系統のうち、新品種‘ゆめみどり’を含む 54 品種・系統が識別できた。
- (4) これらの結果から、群平均法を用いてクラスター分析を行い、94 品種・系統の遺伝的類縁関係を明らかにした (図)。

(担当者 研究開発部 生物工学研究室 若樹睦子、田崎公久、生井潔)

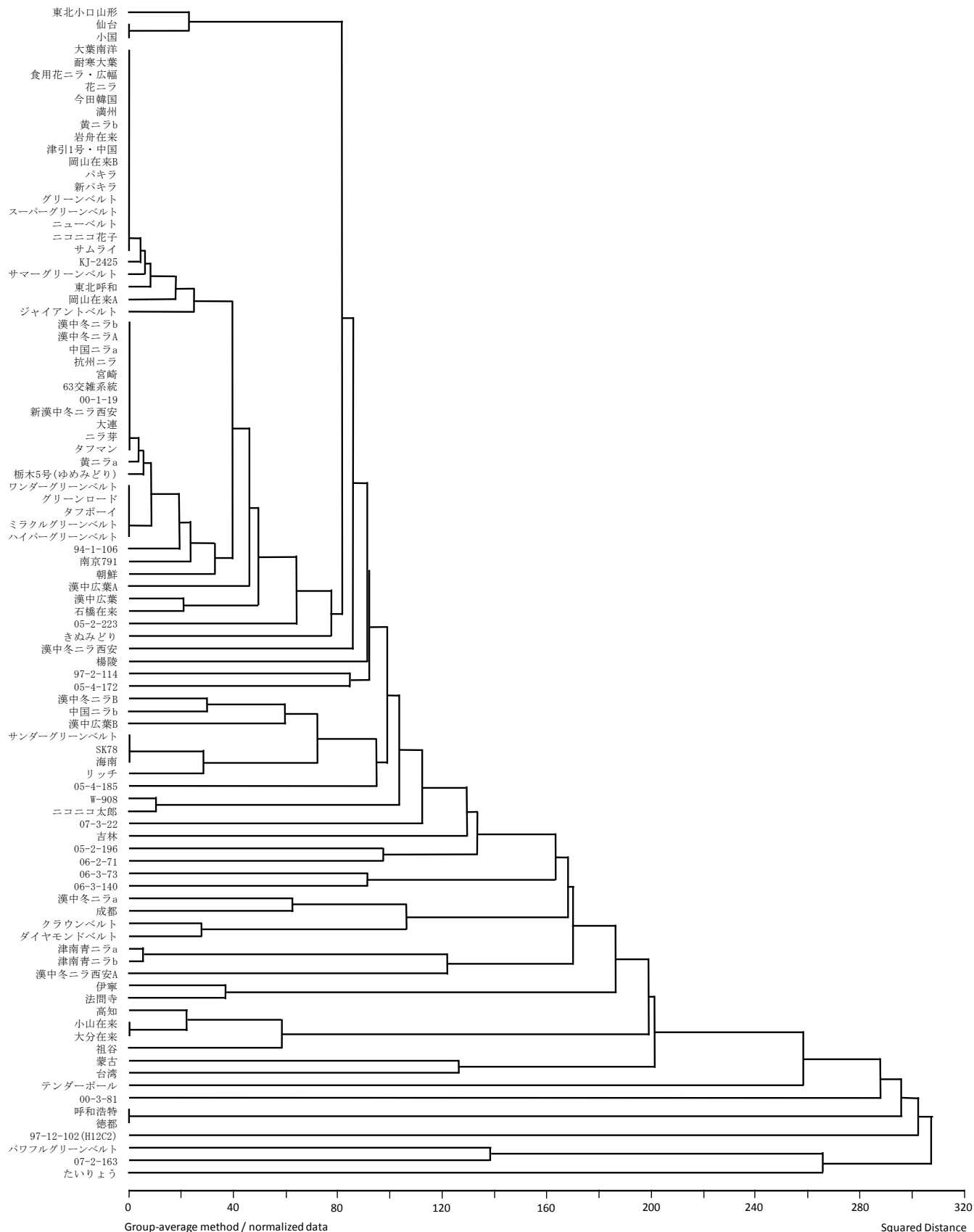


図 1 94 品種・系統の遺伝的類縁関係