

いちご加工品における品種識別 DNA マーカーの開発

1. 成果の要約

加熱加工品にも適用できるいちごの品種識別 DNA マーカーを開発した。供試した全 75 品種中 4 品種 4 マーカー、国内流通 35 品種中 8 品種 9 マーカーの品種特異的マーカーを開発した。また、国内流通 35 品種を 10 マーカーの組合せによって識別可能な DNA マーカーセットを開発した。

2. キーワード

国内流通 35 品種、レトロトランスポゾン、加熱加工品、品種識別キット

3. 試験のねらい

いちごは品種名が明らかにされて流通する数少ない野菜であることから、品種盗用や不正表示による権利侵害が懸念されており、その対策として DNA マーカーを用いた様々な品種識別技術を開発してきた。しかしながら、DNA が細断されやすい加熱加工品では判別能力が低く、また複数品種が混合されている製品への対応も難しい。これらの問題を解決するため、品種特異的なレトロトランスポゾン (RT ; 動く遺伝子 : 自身のコピーを DNA 上の他の場所に挿入し、コピーが増えていく) 挿入部位を利用した識別法を開発する。

4. 試験方法

岡山大学が選抜した 6 種類の候補 RT について、表-1 の中から 24 品種を供試してトランスポゾンディスプレイ法によりフラグメントを検出し、検出フラグメント数や品種固有フラグメント数が多い RT を選定した。選定した RT について、福岡県と共同で表-1 の 75 品種・系統のシーケンスライブラリーを作製し、岡山大学で次世代シーケンサーにより RT 挿入配列部位近辺の塩基配列を解読した。その結果を基に、品種特異的か少数品種・系統に特異的と推定される挿入部位を選定し、品種識別用プライマーを設計した。設計したプライマーは、全供試品種・系統を PCR して増幅の有無を確認し、品種識別 DNA マーカーとしての有効性を検証した。

5. 試験結果および考察

- (1) 6 種類の候補 RT についてトランスポゾンディスプレイ法の解析結果から、CL3、FaRE1 ファミリーを選抜し、シーケンスライブラリーを作製した (図-1)。
- (2) 岡山大学がシーケンスライブラリーをシーケンス解析した結果から、品種特異的と予想される 140 か所 (CL3 : 64 か所、FaRE1 : 76 か所) の挿入部位を選定した。
- (3) (2) で選定した部位を増幅するプライマーを設計し、以下の品種特異的 DNA マーカーを作出した。
 - 1) 供試全 75 品種について、サマーティアラ (P418)、おとめ心 (P619)、デコルージュ (P495) 北の輝 (P994) の 4 品種で品種特異的マーカーが作出できた (表-2)。
 - 2) 国内流通 35 品種については、上記に加え、ペチカ (P420、P441)、なつおとめ (C341)、なつあかり (C330)、もういっこ (P971) の 4 品種で品種特異的マーカーが作出できた (表-2)。
- (4) 10 マーカー (+コントロール 1 マーカー) を組み合わせることによって、国内流通 35 品種が判別可能となった (表-3)。現在、品種識別キットの商品化が進められている。

※なお、本研究は岡山大学および福岡県農林業総合試験場等との共同で、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の支援を受けて行われた。

(担当者 研究開発部 生物工学研究室 和氣貴光*、中澤佳子**、岡田香織、生井潔)

* 現塩谷南那須農業振興事務所、** 現農業環境指導センター

表-1 供試品種・系統

国内流通 35品種	ペチカ、なつあかり、デコルージュ、サマーキャンディ、サマーティアラ、なつおとめ、とちひとみ、北の輝、もういっこ、おとめ心、越後姫、やよいひめ、女峰、とちおとめ、とちひめ、スカイベリー、紅ほっぺ、とよのか、ゆめのか、かおり野、古都華、まりひめ、あまおとめ、あまおう、めぐみ、さがほのか、ひのしずく、みやざきなつはるか、さつまおとめ、おおきみ、さちのか、章姫、アイベリー、レッドパール、ひみこ
その他 40品種・ 系統	麗紅、アスカウェイブ、セリーヌ、ダナー、サマーベリー、盛岡26号、ベルルージュ、とねほっぺ、栃の峰、新女峰、栃木20号、栃木24号、栃木26号、栃木29号、栃木31号、栃木33号、栃木34号、系210、Aptos、00-25-1、00-24-1、00-11-1、03-33-2、04-01-14、No.252、福羽、宝交早生、06A-184、08A-031、08A-043、はるのか、久留米49号、久留米53号、久留米55号、サンチーゴ、92-46、Chandler、America、エルサンタ、フロリダベル

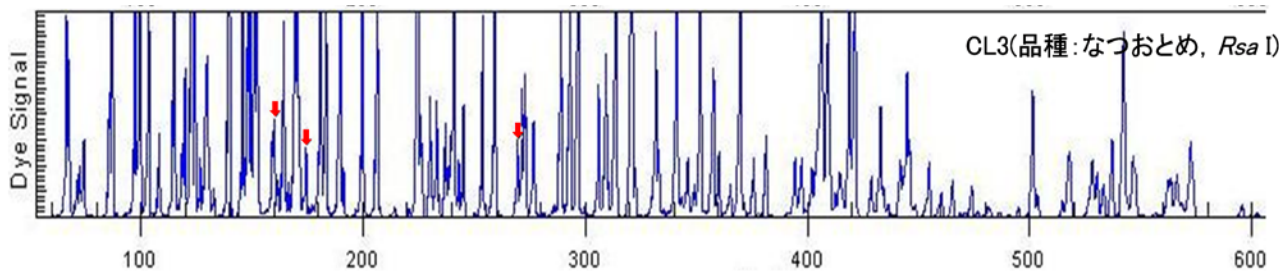


図-1 トランスポゾンディスプレイ法による品種固有フラグメントの検出
矢印は品種固有フラグメントを示す。

表-2 品種特異的マーカー一覧

マーカーの種類	品種	マーカー名
75品種固有マーカー	サマーティアラ	P418
	おとめ心	P619
	デコルージュ	P495
	北の輝	P994
国内流通35品種での 特異的マーカー	ペチカ	P420
	ペチカ	P441
	なつおとめ	C341
	なつあかり	C330
	もういっこ	P971

表-3 国内市場流通 35 品種における組合せ判別表

マーカー名	みやざきなつはるか	あまおとめ	北の輝	サマーティアラ	かおり野	とちおとめ	まりひめ	なつおとめ	サマーキャンディ	やよいひめ	さがほのか	ひみこ	おとめ心	女峰	とちひめ	ペチカ	章姫	もういっこ	デコルージュ	ゆめのか	ひのしずく	とちひとみ	レッドパール	古都華	めぐみ	紅ほっぺ	なつあかり	アイベリー	とよのか	スカイベリー	さちのか	さつまおとめ	越後姫	あまおう					
Cl125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
C119_5	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+			
P524_1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
Cl124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-		
Cl322	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
Cl261_1	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+		
P320	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Cl115	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
Cl242_2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Cl258_2	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Cl76_2	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	