

なし新品種「おりひめ」の DNA 識別技術の開発

1. 試験のねらい

なし新品種おりひめは果実形質の優れた極早生の青なしであり、今後、栃木なしのブランド品種として有利な販売が期待できる。そこで、育成者権およびブランド保護のため、同時期に収穫される青なしとの DNA 識別技術を確立する。

2. 試験方法

(1) DNA 抽出方法

供試品種は、おりひめおよび同時期に収穫される青なし品種である八里、なつしずくとし、DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いて葉身から DNA を抽出した。なお、実際に識別を行う場合は果皮から DNA を抽出する。

(2) 供試 DNA マーカーおよびおりひめの識別方法

抽出した DNA を用い、(独)農研機構 果樹研究所が開発した 10 種類の DNA マーカー(表)について、蛍光標識プライマーを用いて PCR 増幅した。得られた PCR 産物は DNA シーケンサーで検出し、各供試品種の DNA マーカー増幅パターンを比較して、おりひめの識別が可能かどうか検討した。対照として豊水を供試した。

(3) 簡易識別法

(2)の結果から、おりひめの識別が可能であった DNA マーカーについて、通常(非蛍光標識)のプライマーで PCR 増幅し、アガロースゲル電気泳動により各供試品種の DNA マーカー増幅パターンを比較して、おりひめの識別が可能かどうか検討した。なお、対照として豊水、参考として幸水を供試した。

3. 試験結果および考察

(1) 供試した 10 種類の DNA マーカーは供試 4 品種全てで増幅が認められ、そのうち 6 種類のマーカー(BGT23b、NH004a、NH007b、NH009b、NH014a、NH025a)を用いると、おりひめと八里、なつしずくおよび豊水との識別が可能であった(表)。

(2) 識別に利用可能であった 6 種類の DNA マーカーを用い、アガロースゲル電気泳動による簡易識別を試みた結果、マーカーNH009b はおりひめの増幅パターンが他品種と明確に異なり、容易に識別が可能であった(図)。

(3) 以上の結果から、おりひめの DNA 識別には DNA マーカーNH009b を用い、簡易識別法を用いて判定できることが明らかとなった。

4. 成果の要約

なし新品種おりひめと同時期に収穫される青なし品種である八里およびなつしずくを識別するため、DNA マーカーを用いた品種識別技術について検討した結果、マーカーNH009b を用いることによりそれらの識別が可能であり、簡易 DNA 識別技術が確立できた。

(担当者 生物工学研究室 鈴木恵美子、生井潔)

表 DNA マーカーによるおりひめの品種識別結果

マーカー名	供試品種名								識別
	おりひめ		八里		なつしずく		豊水		
BGT23b	217	/ 229	229	/ 229	229	/ 229	199	/ 229	○
NH004a	82	/ 82	82	/ 117	82	/ 103	82	/ 117	○
NH005b	331	/ 347	331	/ 331	331	/ 347	347	/ 351	×
NH007b	143	/ 155	155	/ 155	155	/ 155	155	/ 155	○
NH009b	146	/ 164	164	/ 164	164	/ 164	164	/ 164	○
NH011b	186	/ 186	178	/ 188	186	/ 186	186	/ 186	×
NH014a	91	/ 101	76	/ 101	76	/ 91	76	/ 91	○
NH025a	75	/ 89	75	/ 101	75	/ 101	89	/ 105	○
NH204a	132	/ 141	130	/ 141	132	/ 141	132	/ 141	×
NB114a	129	/ 129	129	/ 133	129	/ 129	133	/ 135	×

- 注 1. DNA マーカーは（独）農研機構 果樹研究所が開発したものを用いた。
 2. 数字は DNA マーカーの大きさを示し、単位は nt（一本鎖 DNA の塩基数）。
 3. 網掛けはおりひめで増幅される DNA マーカーを示し、同一マーカーは同一色で示した。

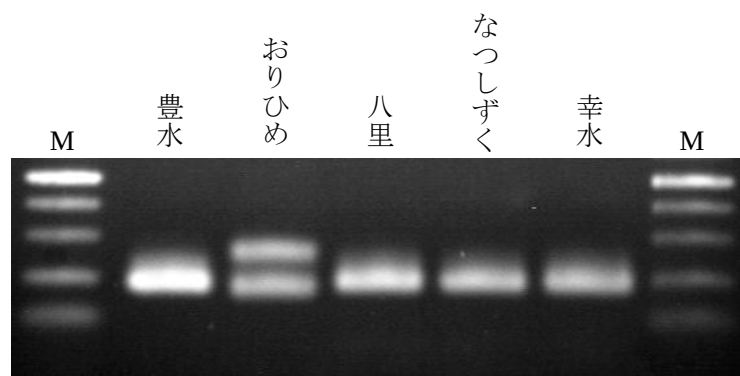


図 DNA マーカーNH009b を用いた簡易識別結果

M : 100 bp DNA ラダー