

[成果情報名]オウトウの品種識別マニュアル(改訂版)

[要約]オウトウで DNA による品種識別の際に基準品種となる「佐藤錦」と「紅秀峰」の 10 SSR マーカーの塩基配列を決定し、これに基づいて作成した遺伝子型データベースとオウトウ品種識別マニュアル改訂版により、約 80 品種のオウトウを正確に識別できる。

[キーワード]オウトウ、品種識別、SSR マーカー

[担当]山形県農総研セ・農生技試・バイオ育種科

[代表連絡先]電話 0237-84-4125

[区分]東北農業・果樹

[分類]研究・普及

-----  
[背景・ねらい]

山形県育成のオウトウ「紅秀峰」が平成 17 年に不法に海外へ持ち出された事件を受けて、これまでに DNA 分析による品種識別技術を開発してきた。しかし、解析ごとに検出する遺伝子型データに数 bp の差異が生じ、品種識別精度に影響することが指摘されている。

このため、「佐藤錦」と「紅秀峰」を基準品種として、使用する SSR(Simple Sequence Repeat) マーカーのアリルサイズを塩基配列解析によって決定し、これに基づく遺伝子型データベースを作成し、アリル間のサイズ差を基にしたより精度の高い技術を開発する。さらに、これらの結果をこれまでの品種識別マニュアルに付け加えたオウトウの品種識別マニュアルの改訂版を作成する。

[成果の内容・特徴]

1. 品種識別に用いる SSR マーカーは、平成 17 年度成果情報「DNA 分析によるオウトウの品種識別」で報告した 12 マーカーとは別に、それぞれが独立に遺伝し、欠失アリルを含まない 10 種類のマーカーを用いる(表 1)。この 10 マーカーについては、「DNA 品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン」((独)種苗管理センター)に基づいて妥当性が確認されている。
2. 10 種類の SSR マーカーの「佐藤錦」と「紅秀峰」における塩基配列を決定し、その結果明らかになったアリルサイズと反復モチーフの反復回数を表 1 に示す。アリル間のサイズの差は反復配列の反復回数の差と同じである。
3. 各マーカーにおいて、「佐藤錦」のより小さいアリルのサイズを基準 A とし、その他のアリルサイズを  $A \pm$  と表記を改めた、各品種の遺伝子型データベースを表 2 に示す。データベースの遺伝子型データをもとに、当該品種の正確な特定が可能である。
4. 各マーカーの塩基配列情報、波形データを加えた、オウトウ品種識別マニュアルの改訂版(図 1)を作成し、改訂したマニュアルと、前項 3 の遺伝子型データベースを用いることで、葉や 1 つの果実から枝変わり品種を除く約 80 品種の識別が可能である。

[成果の活用面・留意点]

1. 本マニュアルの方法は、「DNA 品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン」((独)種苗管理センター(平成 20 年 3 月))に基づいて妥当性が確認された手法である。
2. 本マニュアルは農林水産省の品種登録ホームページ(<http://www.hinsyu.maff.go.jp/>)で閲覧できる。

[具体的データ]

表1 「佐藤錦」および「紅秀峰」における品種識別に用いるSSRマーカーのアリルサイズ・反復配列

マーカー名	連鎖群	佐藤錦		紅秀峰	
		アリルサイズ <sup>a</sup>	反復配列	アリルサイズ	反復配列
pchcms4	G1	238 / 238 (242 / 242)	(CA) <sub>16</sub> / (CA) <sub>16</sub>	232 / 238 (236 / 242)	(CA) <sub>13</sub> / (CA) <sub>16</sub>
UDP98-022	G1	93 / 105 (91 / 103)	(GA) <sub>16</sub> / (GA) <sub>11</sub> GG(GA) <sub>10</sub>	93 / 105 (91 / 103)	(GA) <sub>16</sub> / (GA) <sub>11</sub> GG(GA) <sub>10</sub>
MA007a	G2	114 / 138 (115 / 139)	(TC) <sub>21</sub> / (TC) <sub>33</sub>	114 / 114 (115 / 115)	(TC) <sub>21</sub> / (TC) <sub>21</sub>
BPPCT039	G3	133 / 133 (134 / 134)	(GA) <sub>18</sub> / (GA) <sub>18</sub>	133 / 133 (134 / 134)	(GA) <sub>18</sub> / (GA) <sub>18</sub>
BPPCT005	G4	163 / 197 (164 / 198)	(AG) <sub>25</sub> / (AG) <sub>41</sub>	163 / 197 (164 / 198)	(AG) <sub>25</sub> / (AG) <sub>41</sub>
PS12A02	G4	160 / 160 (162 / 162)	(GA) <sub>21</sub> / (GA) <sub>21</sub>	160 / 160 (162 / 162)	(GA) <sub>21</sub> / (GA) <sub>21</sub>
BPPCT037	G5	143 / 147 (142 / 146)	(GA) <sub>16</sub> / (GA) <sub>18</sub>	143 / 143 (142 / 142)	(GA) <sub>16</sub> / (GA) <sub>16</sub>
MA027a	G6	117 / 117 (117 / 117)	(GA) <sub>14</sub> (TA) / (GA) <sub>8</sub> (TA) <sub>7</sub>	111 / 117 (111 / 117)	(GA) <sub>11</sub> (TA) / (GA) <sub>8</sub> (TA) <sub>7</sub>
MA020a	G7	156 / 160 (157 / 161)	(TA) <sub>9</sub> (GA) <sub>14</sub> / (TA) <sub>8</sub> (GA) <sub>17</sub>	156 / 160 (157 / 161)	(TA) <sub>9</sub> (GA) <sub>14</sub> / (TA) <sub>8</sub> (GA) <sub>17</sub>
BPPCT012	G8	152 / 154 (154 / 156)	(CT) <sub>18</sub> (CA) <sub>12</sub> / (CT) <sub>18</sub> (CA) <sub>13</sub>	152 / 154 (154 / 156)	(CT) <sub>18</sub> (CA) <sub>12</sub> / (CT) <sub>18</sub> (CA) <sub>13</sub>

<sup>a</sup> 括弧外の数値はシーケンス解析によって得られたアリルサイズ、括弧内の数値はGeneScanソフトウェアによる推定アリルサイズを示す。シーケンサーによるフラグメント解析を行うと、リバースプライマーのテイルド配列(gtgttctt)により、このアリルサイズより7 bp程度大きくピークが確認される。数値の単位はbp。

表2 主要アウトウ品種の遺伝子型

品種	マーカー名									
	pchcms4	UDP98-022	MA007a	BPPCT039	BPPCT005	PS12A02	BPPCT037	MA027a	MA020a	BPPCT012
佐藤錦	A/A	A/A+12	A/A+24	A/A	A/A+34	A/A	A/A+4	A/A	A/A+4	A/A+2
紅秀峰	A-6/A	A/A+12	A/A	A/A	A/A+34	A/A	A/A	A-6/A	A/A+4	A/A+2
ナポレオン	A-6/A	A/A+12	A/A+24	A/A+4	A/A+34	A/A+4	A-2/A+4	A-6/A	A/A+12	A/A+2
紅さやか	A/A+2	A/A+12	A-6/A	A/A	A/A	A/A	A/A+4	A/A+10	A+4/A+12	A/A
紅てまり	A-4/A	A-4/A	A-12/A+24	A/A	A+6/A+34	A/A+4	A-6/A	A-2/A	A/A+2	A/A+2
紅きりり	A-6/A	A-4/A	A+24/A+24	A+12/A+16	A+6/A+34	A+16/A+16	A-2/A-2	A/A	A+4/A+4	A/A
紅ゆたか	A/A	A/A	A-6/A+24	A+4/A+16	A+4/A+34	A/A+16	A-2/A	A/A	A+4/A+4	A/A
南陽	A/A	A-4/A	A-12/A	A/A+4	A/A	A+4/A+4	A/A+4	A/A+2	A+4/A+4	A/A
正光錦	A/A	A-4/A	A-6/A	A/A	A-4/A	A/A	A/A+4	A-6/A	A+8/A+12	A+2/A+2
高砂	A/A+2	A-4/A-4	A-12/A-6	A/A+16	A-4/A+34	A/A+4	A/A+4	A-2/A	A+8/A+12	A+2/A+2
A (bp)	238	93	114	133	163	160	143	117	156	152

SSR マーカー名 ( マーカー略称 ): BPPCT037 (5-1)  
DDBJ アクセション番号: AB476764  
至適アニリング温度: 55  
フォワードプライマー: CATGGAAGAGGATCAAGTGC  
リバースプライマー: gtgttcttCTTGAAGGTAGTGCCAAAGC  
プライマーの由来: Peach  
佐藤錦標準アリルサイズ (A): 143 + 7\* bp  
佐藤錦標準反復モチーフ: (GA)<sub>16</sub>  
参考文献: Dirlewanger *et al.* (2002) Development of microsatellite markers in peach  
[Prunus persica (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (Prunus avium L.). Theor. Appl. Genet. 105:127-138  
塩基配列\*\*:  
**CATGGAAGAGGATCAAGTGC**CCCTTTAAACGATTGATTTTAAAGGAATAATGCCCTTC  
ATCCAAAGGAT**GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG**GTGTGTGTATGT  
GTTTGCCTTT**GGCTTGGCACTACCTCAAG**  
佐藤錦と紅秀峰の波形図:  
  
\*gtgttctt は、波形を安定させるためのテイル配列  
\*\*赤文字は反復のモチーフ、太字下線はプライマーを示す。

図1. 品種識別に用いるSSRマーカーの詳細情報の例 (5-1, BPPCT037マーカー)

[その他]

研究課題名: オウトウの DNA 品種識別技術の開発と果実加工品の DNA 鑑定

予算区分: 受託プロ (食品・農産物の表示の信頼性確保と機能性解析のための基盤技術の開発)

研究期間: 2006 ~ 2008 年度

研究担当者: 高橋由信、高品善、小野寺玲子