

## RAPD 法によるハトムギ遺伝資源の評価

森下敏和・永田俊文・森 昌樹・酒井真次 (九州農業試験場)

Toshikazu MORISHITA, Toshifumi NAGATA, Masaki MORI and Shinji SAKAI :  
RAPD analysis on Germplasm of Job's tears

暖地の気象条件に適応し良質・多収で機械化適応性の優れたハトムギ品種を早期に作出するためには、その素材となる遺伝資源の遺伝子型を解析して、目的と合致する素材を選出し、効率的に育種を行う必要がある。

最近、開発された RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 法<sup>2)</sup>は、従来の RFLP 法に比べて、操作が容易で、短時間に多くの試料を評価できる手法として注目される。本報では、ハトムギ遺伝資源の評価・分類に対する RAPD 法適用の可能性を検討した。

## 1. 材料及び方法

ハトムギは(1)秋田1号, (2)愛媛1号, (3)黒石在来, (4)マト・グロッツ, (5)宮城在来, (6)中里在来, (7)尾花沢, (8)岡山在来, (9)リオグランデ・デ・スル, (10)武生, (11)徳田在来, の計11品種を用いた。黒石在来は圃場で約3週間生育した苗の上位葉を、他の品種は無菌的に約10日間生育させたものを用いた。ハトムギのゲノム DNA の抽出は CTAB 法<sup>3)</sup>に従った。抽出した DNA は PCR 反応を阻害する物質を除去するため Low gelling temperature agarose (Sea Plaque) を用いて精製した。PCR 反応液はタカラの AmpliAq DNA polymerase キットの処方に従って 50 $\mu$  l 中に Taq ポリメラーゼ 0.25 $\mu$  l (1.25unit), dNTP MIX 200 $\mu$  M, プライマー 0.5 $\mu$  g, ゲノム DNA 約 0.2 $\mu$  g とした。用いたプライマーは YOSHIMURA et al<sup>3)</sup>を参照して 10塩基対の6種の RAPD プライマー (S-01; CTACTGCGCT, S-03; CAGAGGTCCC, S-04; CACCCCTTG, S-5; TTTGGGGCCT, S-07; TCCGATGCTG, Y-17; GACGTGGTGA) を DNA シンセサイザー (ABI 社) で合成した。PCR の条件は、熱変性 (93°C, 30秒), アニリング (36°C, 30秒), 伸長反応 (72°C, 2分) とし、

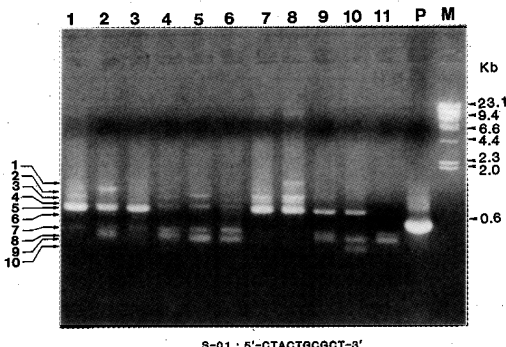
PERKIN ELMER CETUS GeneAmp PCR System 9600 を用い 45 サイクル 行った。反応終了後、DNA をエタノール沈澱で回収し、エチジウムプロマイドを含む 1% アガロースで電気泳動により解析した。

## 2. 結果及び考察

ハトムギ遺伝資源に RAPD 法を試みた結果、数種のプライマーについて品種に特有なバンドが得られた。それらのうち S-01 によって増幅、確認された総バンド数は 10 本であった。同様に S-03 は 8 本、S-07 は 5 本、Y-17 は 10 本が確認された。S-04, S-05 については明瞭なバンドが得られなかった。第 1 図と第 1 表にプライマー S-01 を用いた結果を示した。増幅されたバンドは約 0.5~2.0 kb の範囲であり、ハトムギ遺伝資源 11 品種について共通なバンド、特有なバンドが得られ、品種によりそれぞれ異なるパターンを示した。このことから、RAPD 法がハトムギの品種識別に適用できる可能性が示唆された。しかし、PCR 反応の再現性については未確認であるため、最適プライマーのスクリーニング及び DNA 抽出法については検討すべき課題が残された。さらに、ハトムギは他花受粉作物であり遺伝資源の純度について検討する必要がある。

## 引用文献

- 1) 渡辺格・杉浦昌弘：クローニングとシークエンス植物バイオテクノロジー実験マニュアル, p253. 農村文化社, 東京, 1989.
- 2) John G. K. Williams, Anne R. Kubelik, Kenneth J. Livak, J. Antoni Rafalski and Scott V. Tingey, *Nucleic Acid Research*. 18: 6531-6535, 1990.
- 3) Satomi YOSHIMURA, Atsushi YOSHIMURA and Nobuo IWATA, *Japan. J. Breed.* 42: 669-674, 1992.



S-01 : 5'-CTACTGCGCT-3'

第1図 S-01プライマーによるPCR産物の電気泳動パターン

第1表 S-01プライマーによって得られたバンドのパターン

バンドNo	品種	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1									○			
2		○	○									
3		○						○	○			
4				○				○	○			
5		○	○	○	○	○	○	○		○	○	
6		○	○	○			○					
7		○	○	○	○	○						○
8			○		○					○	○	○
9						○	○					
10					○						○	

注) ○印はバンドが検出されたことを示す