

CAPS マーカーを用いたサツマイモ品種識別の試み

田中 勝・中山博貴・高畑康浩
(九州沖縄農業研究センター)

Masaru Tanaka, Hiroki Nakayama and Yasuhiro Takahata :
Development of Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) Markers
for Identification of Sweetpotato Cultivars

近年、サツマイモの国内登録品種を利用した加工品が違法に輸入されていることが疑われる例が見られる。また、国内で流通する品種の名称にも混乱が見られ、育成者権保護のために簡便かつ確実な品種識別法の早急な開発が望まれている。本研究では、サツマイモと同様に栄養繁殖性、高次倍数性の作物であるイチゴで実績があり¹⁾、簡便で信頼性の高いCAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) マーカーを用いた品種識別手法がサツマイモに適用可能であるか検討した。

1. 材料および方法

1) 第1表中に示す16点のサツマイモ品種の頂葉数枚を50℃で風乾し粉碎した。この乾燥粉末25mgより田中ら²⁾の方法を一部改変してDNAの抽出を行った。

2) 抽出したDNA 20ngを1×PCRバッファー, 0.2mM dNTP, 10pmol各プライマー, 0.1U Taq DNAポリメラーゼ (タカラ酒造) を含む20μLの反応液中で増幅した。温度条件は94℃3分間, 94℃15秒間-64℃30秒間-72℃30秒間×30回, 72℃5分間とした。

3) PCR産物2μLに1Uの制限酵素を含む反応液8μLを加え, 37℃で2~3時間インキュベートした。この反応液に2μLのローディングバッファー (40%スクロース, 0.25% BPB, 1mM EDTA) を加え, 臭化エチジウムを含む2.0%アガロースゲルを用いて0.5×TBEバッファー中で電気泳動した。

2. 結果および考察

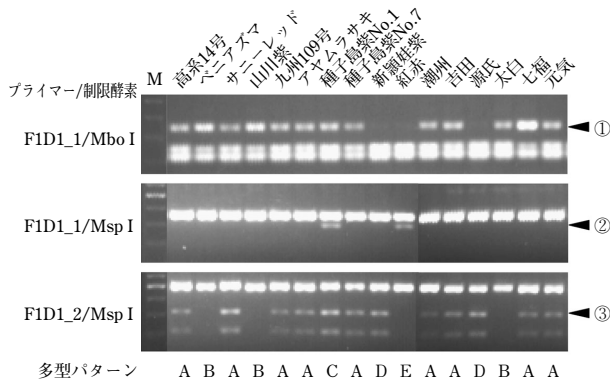
DDBJに登録されているイントロン配列を含むサツマイモ遺伝子11種の配列を利用し, 合計15組のプライマーを設計した。品種間での増幅の安定性を維持しつつ多型の検出感度を上げるため, エクソン上にプライマーを設計し, イントロンを含む断片を増幅した。各プライマーを用いて得られた増幅産物を, それぞれ異なる4塩基の認識配列を有する8種類の制限酵素で処理して電気泳動した結果, 合計で26本のマーカーとして利用可能な多型断片が得られた。得られた多型断片の例を第1図に示す。遺伝子ごとに, これら多型断片の有無を組み合わせると

品種の多型のパターン (以下, 多型パターン) を決定し, 第1表にまとめた。第1表に示すように, 解析した全ての遺伝子で2~12通りの多型パターンが得られ, これら多型パターンの組み合わせにより供試した16品種全てを識別することが可能であった。また, 多型パターンの再現性を調べる目的で, 別々に栽培した高系14号植物体3個体よりDNAを抽出して解析を行ったところ, 全ての遺伝子で同一の多型パターンが得られることが確認された (データ省略)。これらの結果より, CAPS マーカーを用いた品種識別手法がサツマイモに適用可能であると考えられた。

今後, 操作をさらに簡略化するとともに, 農林登録品種や育成系統の多型をデータベース化し, 品種識別技術の確立を行う予定である。また, 本手法による加工品原料品種の判別についても検討したいと考えている。

引用文献

- 1) KUNIHISA, M., FUKINO, N. and MATSUMOTO, S., *Euphytica*.134, 209-215, 2003.
- 2) TANAKA M., YOSHINAGA, M., NAKAZAWA, Y. and NAKATANI M., *Plant Biotechnology*. 18, 157-161, 2001.



第1図 多型断片の例 (F1D1 遺伝子)

第1表 供試品種の各遺伝子における多型パターン

品種名	多型パターン										
	BAMY	CBLCP	CZSOD	DFRB	F1D1	GBSSI	PCPI	SAMDC	SPG31	SPLTI	SPR
高系14号	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
ベニアズマ	B	B	B	B	B	A	A	B	A	A	B
サニーレッド	B	B	A	C	A	B	A	A	A	A	B
山川紫	A	B	A	D	B	C	A	C	B	A	A
九州109号	B	B	A	E	A	A	A	D	B	A	B
アヤムラサキ	B	B	A	F	A	D	A	A	A	A	C
種子島紫No.1	B	B	A	G	C	D	A	A	A	A	D
種子島紫No.7	B	A	A	G	A	E	A	B	A	A	E
新穎姓紫	B	B	C	H	D	B	A	A	A	A	A
紅赤	A	A	C	H	E	F	A	A	A	B	A
潮州	A	A	A	I	A	G	B	B	A	B	A
吉田	B	B	A	J	A	D	B	A	B	A	A
源氏	B	A	A	I	D	H	B	B	A	A	A
太白	B	A	B	K	B	C	A	A	A	A	A
七福	B	B	A	L	A	A	A	B	B	A	A
元氣	B	A	A	L	A	I	A	B	B	A	A
多型パターン数	2	2	3	12	5	9	2	4	2	2	5