

DNA による大分県主要水稻の品種判別法の確立

○豊田朋美・山崎修一¹⁾・衛本圭史
(大分農林水産研水田・¹⁾大分農林水産研安全)

【目的】

近年、米の流通、販売において、異品種混入や偽装表示が問題となっており、DNA による品種判別が行われている。このような技術は、全国で作付けの多い品種を中心に開発されているが、県オリジナル品種等、全国ではまだマイナーな品種では、開発の対象外となっているものも多い。また、今後育成した品種を品種登録するにあたっては、権利侵害対策のため、DNA による品種判別が望まれている。

よって、大分県育成品種と、県内で栽培されている主要水稻品種について、DNA による品種判別法について検討を行った。

【材料および方法】

大分県育成品種「おおいた 11」をはじめ、県内で主に栽培されている粳米 6 品種、糯米 3 品種及び県育成系統「大分 12 号」の、合計 11 品種を供試し、DNA は、葉身 0.1g から、抽出キット ISOPLANT II (NIPPON GENE) を用いて抽出した。また、玄米 1 粒からは、酵素法 (旧 (独) 食品総合研究所開発) を改良した方法を用いて DNA を抽出した。

判別には、STS 化対合プライマー (旧 (独) 食品総合研究所開発) 7 種類を用い、そのうちの 5 種類によるマルチプレックス PCR を行った。

得られた PCR 増幅産物は、2%アガロースゲルで 100V, 35 分間電気泳動を行い、エチジウムブロマイドで染色後、多型の確認を行った。

【結果および考察】

単独プライマー 7 種類の増幅産物による 11 品種のバンドパターンを表 1 に示した。これにより、「WKA9, H49, M2CG, B1, G28」もしくは、「WKA9, H49, M2CG, M11, G28」のいずれかの組み合わせにより、供試した 11 品種を判別できることが確認された (表 1)。

そこで、1 回の PCR で判別を可能にするため、上記に示した 2 組み合わせの判別プライマー (各 5 種類) について、それぞれマルチプレックス PCR を行った。得られた増幅産物について多型を確認したところ、前者の組み合わせで表 1 に示したと

おりの多型が得られたが、後者の組み合わせでは「M11」の増幅産物が安定して得られない傾向がみられた (図 1)。また、玄米 1 粒から抽出した DNA を用いても、同様の結果であった。

以上の結果から、「WKA9, H49, M2CG, B1, G28」の 5 種の判別プライマーを用いてマルチプレックス PCR を行うことにより、1 回の PCR で供試した水稻 11 品種の判別が可能であり、かつ、玄米 1 粒から抽出した DNA を用いても、同様の結果が得られることが明らかとなった。

表 1 STS 化プライマーによる大分県主要品種のバンドパターン

品種	プライマー						
	WKA9 (bp 1600)	H49 (bp 1500)	M2CG (bp 1240)	F6 (bp 1180)	M11 (bp 723)	B1 (bp 550)	G28 (bp 460)
ヒノヒカリ	+	+	+	-	+	+	-
はえぬき	+	+	+	-	+	-	+
大分12号	+	+	-	-	-	+	-
若水	+	-	+	+	-	+	-
ひとめぼれ	+	-	+	-	+	-	+
おおいた11	+	-	-	+	+	+	-
ハクモモチ	+	-	-	-	+	+	+
ヒヨクモチ	-	+	+	+	-	+	+
山田錦	-	-	+	+	-	+	+
ひみこもち	-	-	-	+	-	+	+
コシヒカリ	-	-	-	-	+	-	+

注) +: 増幅あり, -: 増幅なし

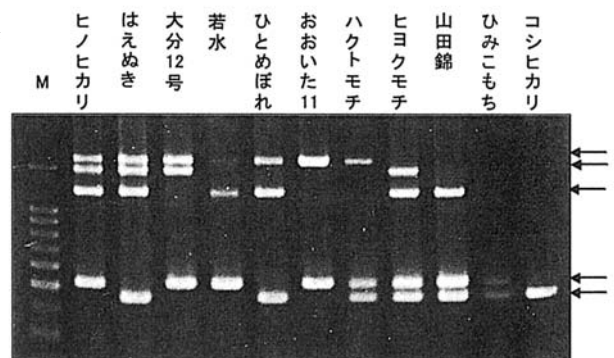


図 1 マルチプレックス PCR 法による多型

矢印: 上から WKA9, H49, M2CG, B1, G28 (各プライマーの増幅産物を示す)