

サツマイモ品種「べにはるか」の品種判別マーカー開発のための
レトロトランスポゾン *Rtsp-1* 挿入箇所のスクリーニング

○田中 勝・門田有希¹⁾・田原 誠¹⁾・甲斐由美・岡田吉弘・高畑康浩
(九州沖縄農研都城・¹⁾岡山大院環境生命科学)

【目的】

食用のサツマイモの品種「べにはるか」は近年急速に普及が進んでいる。食用の品種は塊根の外観のみでは品種の判別が困難な場合があり、育成者権保護のためには、品種を的確に判別できる DNA マーカー技術の開発が必要である。また、食用品種は菓子等の原料として他の品種と混合して利用される可能性もあり、対象品種に特異性の高い DNA マーカーの開発が望まれる。

近年、他の作物においてレトロトランスポゾンの挿入多型を利用して特定の品種に特異性の高い DNA マーカーが開発されている。ここでは、次世代シーケンサーによって解析されたサツマイモのレトロトランスポゾン *Rtsp-1* の挿入箇所の配列情報をもとに、「べにはるか」に特異性の高い DNA マーカーの開発を試みた。

【材料および方法】

サツマイモ品種・系統の DNA は、九州沖縄農業研究センターの苗床から採取した未展開葉 30-50 mg から QIAGEN 社の DNeasy Plant Mini Kit を用いて抽出した。*Rtsp-1* 挿入箇所の PCR 増幅は、1×GoTaq Colorless Master Mix (Promega 社), 4 pmol 各プライマー, 20 ng DNA を含む 10 μL の反応液で行い、温度条件は 94°C2 分間→(94°C30 秒間, 58°C30 秒間, 72°C1 分間)×30 回→72°C5 分間とした。PCR 産物の電気泳動にはマイクロチップ電気泳動装置 MultiNA (島津製作所) を使用した。

【結果および考察】

次世代シーケンサーを用いて解析された品種別の *Rtsp-1* の挿入箇所のゲノム配列データ(門田ら, 育種学会第 124 回講演会)を検索したところ、主要品種の中で「べにはるか」に特異性が高いと推測される挿入箇所が 4 か所見出された(以下①~④)。これらの挿入箇所について、*Rtsp-1* 内部の PPT (poly-purine tract) 配列との間で約 550bp の増幅産物が生じるようにプライマーを設計し(図 1), 「べにはるか」を含む主要な食用品種 10 品種で PCR 増幅を行った。その結果、④については「べにはるか」以外に「あいこまち」にも増幅が認められたが、①~③については「べにはるか」での

み増幅が認められた(図 2)。

そこで、①~③についてさらに、でん粉原料用品種、焼酎原料用品種、蒸切干用品種、紫サツマイモ品種等の主要な流通品種を含む 39 品種について増幅を行ったところ、②, ③は増幅の見られる品種が存在したが、①はいずれの品種にも増幅が認められなかった(データ略)。

以上の結果から、挿入箇所①はサツマイモの主要品種の中でも「べにはるか」に特異性が高く、「べにはるか」の品種判別用 DNA マーカーの開発のために有用であると考えられた。

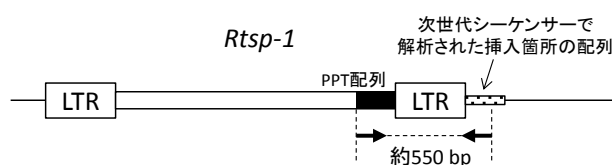


図 1 *Rtsp-1* 挿入箇所の増幅

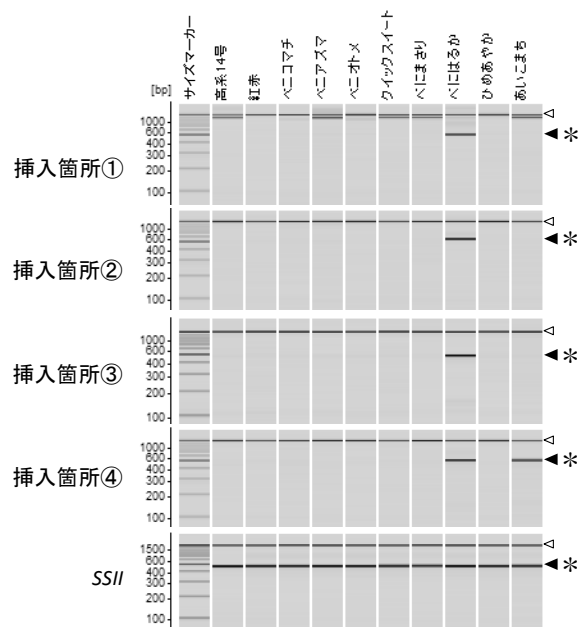


図 2 「べにはるか」判別用に選定した *Rtsp-1* 挿入箇所の主要な食用サツマイモ品種における増幅パターン

*印で示したものが予想される増幅産物。白矢印はサイズ補正用の内部標準。増幅のコントロールとして II 型デンブ合成酵素 (SSII) 遺伝子のプライマーを用いた増幅を行った(最下段)。