

DNA分析による本県育成有色素米系統の判別法の確立

【要約】有色素米の白米または葉から DNA を抽出し、3種の STS 化プライマーと2種のランダムプライマーを組み合わせて分析することにより、本県育成有色素米5系統「大育紫糯 2218」、「滋賀紫糯 70号」、「滋賀紫 71号」、「大育紫 2509」、「大育紫 2510」と主要紫黒米2品種「朝紫」、「おくのむらさき」は判別できる。

農業技術振興センター・栽培研究部
水稲育種・生物工学担当

【実施期間】平成20年度～平成21年度

【部会】農産

【分野】革新的技術

【予算区分】県単

【成果分類】指導

【背景・ねらい】

農作物において異品種の混入や偽装の防止等、消費者の信頼確保のため、DNA分析による品種判別が行われている。当センターでは、H10～H21に粳米、酒米、大豆の県内主要栽培品種について品種判別技術を確立してきた。

今回は、昨年までに当センターで育成した有色素米5系統、「大育紫糯 2218」、「滋賀紫糯 70号」、「滋賀紫 71号」、「大育紫 2509」、「大育紫 2510」について主要な紫黒米品種である「朝紫」と「おくのむらさき」を対照に加えて、DNA分析による品種判別法を確立する。

【成果の内容・特徴】

本県育成有色素米5系統「大育紫糯 2218」、「滋賀紫糯 70号」、「滋賀紫 71号」、「大育紫 2509」、「大育紫 2510」と主要紫黒米1品種「おくのむらさき」は、3種(F6, B1, G28)の STS 化プライマーを用いると電気泳動パターンの違いにより判別できる。しかし、「滋賀紫 71号」および主要紫黒米品種「朝紫」は判別できない(図1、表1)。

系統「滋賀紫 71号」および品種「朝紫」は2種(OPJ 6, OPJ 18)のランダムプライマーを用いると電気泳動パターンの違いにより判別できる(図2)。

以上の結果から、本県育成有色素米5系統および主要紫黒米2品種は、3種の STS 化プライマーと2種のランダムプライマーを組み合わせて分析することにより、判別できる。

【成果の活用面・留意点】

DNA は、本葉からは DNeasy Plant Mini kit(QIAGEN 社)を用いて抽出する。また、米粒からは、色素部分を除くために約90%に精米し、コメ DNA 抽出キット(TaKaRa 社)を用いて抽出する。得られた DNA を PCR 法により増幅する。増幅酵素には Blend Taq (Toyobo)を用いる。反応条件は、94 で2分保持した後、94 30秒、60 30秒、72 90秒を35サイクル行う。得られた DNA 増幅産物を1.5%(w/v)アガロースゲルで電気泳動を行い、エチジウムブロマイドで染色後、紫外線照射下で観察する。プライマーは、STS化されたプライマー(品種特異的に増幅させるための短いDNA断片)である F6、B1、G28を用いる。

「朝紫」と「滋賀紫 71号」の DNA を PCR 法により増幅を行う。増幅酵素には Blend Taq あるいは EX Taq (Toyobo)を用いる。反応条件は、94 で4分保持した後、94 60秒、36 60秒、72 120秒を40サイクル行う。得られた DNA 増幅産物を1.5%(w/v)アガロースゲルで電気泳動を行い、エチジウムブロマイドで染色後、紫外線照射下で観察する。プライマーはランダムプライマー OPJ 6 と OPJ 18 (Operon 社)を用いる。品種判別までの一連の工程は約1日である。

実際の品種判別場面では、状況に応じて、各プライマーを組み合わせ用いる。また、品種が明らかな標準品を同時に分析する方が望ましい。

ランダムプライマーによる分析は、条件によって再現性が低い場合があり、2種類のプライマーで確認する方が望ましい。

品種判別に用いた STS 化プライマーは、日本食品工業学会誌 Vol.50, No.3 122～132.2003 (大坪氏ら)に掲載されている。

[具体的データ]

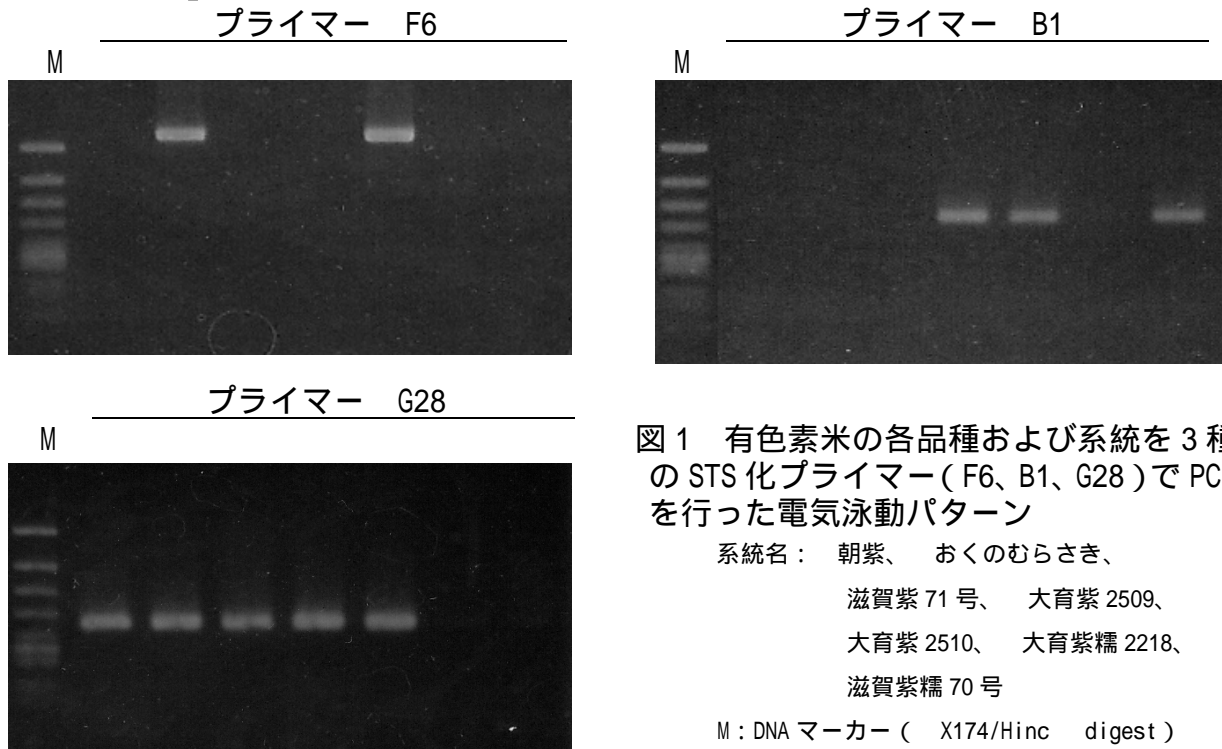


図1 有色素米の各品種および系統を3種のSTS化プライマー(F6、B1、G28)でPCRを行った電気泳動パターン

系統名： 朝紫、 おくのむらさき、
 滋賀紫 71 号、 大育紫 2509、
 大育紫 2510、 大育紫糯 2218、
 滋賀紫糯 70 号
 M : DNA マーカー (X174/Hinc digest)

表1 有色素米の各品種および系統の電気泳動パターン一覧 注) : 増幅あり、×:増幅なし

品種・系統	朝紫	おくのむらさき	滋賀紫71号	大育紫2509	大育紫2510	大育紫糯2218	滋賀紫糯70号
プライマー F6	×		×	×		×	×
プライマー B1	×	×	×			×	
プライマー G28						×	×

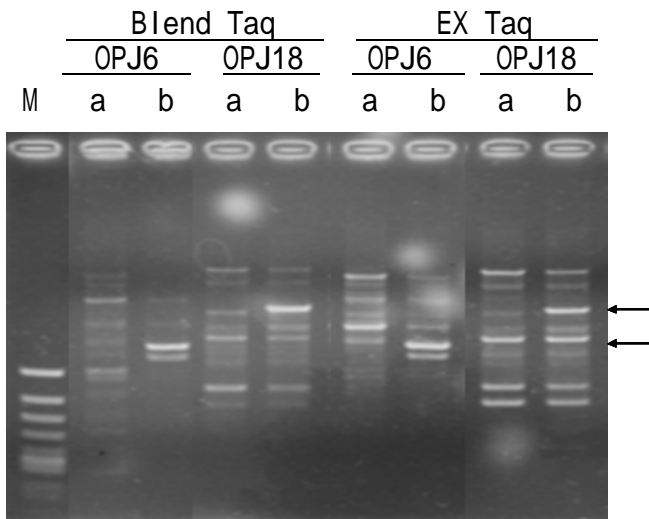


図2 「朝紫」と「滋賀紫 71 号」をランダムプライマー(OPJ6, OPJ18)でPCRを行った電気泳動パターン

a:朝紫、b:滋賀紫 71 号(葉から DNA 抽出)
 M : DNA マーカー (φ x 174 Hinc)
 : 泳動パターンの違い

[その他]

・研究課題名

大課題名：バイオテクノロジー、IT等を活用した革新的技術の開発

中課題名：バイオテクノロジーを利用した育種改良技術の開発

小課題名：バイオテクノロジーを活用した革新的技術の開発

・研究担当者名：北村治滋(H20～21)、日野耕作(H20～21)、片山寿人(H20)

・その他特記事項：なし