

## (9) 地域特産物からの有用種の作出に関する研究開発

(平成29年度～平成31年度)

### 1. 研究のねらい

農畜水産物では、市場性や生産性の向上に繋がる有用な性質を持つ個体を選抜することで、様々な有用種が作出されている。従来は、個体の選抜に有用性質の有無だけを指標としてきたが、近年では、有用個体の遺伝子を受け継いでいるかを確認できる遺伝子情報が指標として使われ始めている。また最近では、新たな遺伝子分析技術として、専用の分析装置を必要としない核酸クロマトグラフ法等が開発されており、現場で使いやすい技術として注目されている。函館地域において特産物から有用種の作出に役立つ選抜技術に関する知見を蓄積することは、今後、特産物の持続的な生産に繋がると考える。これまでの研究では、遺伝子の系統が異なるマコンブの存在を把握しているが、表現型(形状・成長速度)との関係についての知見の蓄積が必要である。マルメロ(果樹)のクローン栽培に関する技術開発も行っているが、表現型の違いに関する情報が少ないことが課題である。また、遺伝子検査技術を種苗生産現場等へ導入するには、簡易な方法が必要であるが、核酸クロマトグラフ法の利用に関する知見は無い。

そこで本研究では、有用種の作出に関連した技術知見を得ているマコンブやマルメロを試料として用い、表現型の違いから有用種の可能性がある個体の探索、個体の識別や核酸クロマトグラフ法に利用できる遺伝子情報の取得、遺伝情報と有用種についての相関性について検討することとした。本研究は、多くの地元企業が利用している道南地域の特産物を対象としている。また研究を進めるにあたり十分な協議ができる体制として、生産者団体、公設試、学術機関、行政機関等とのネットワークが構築されているため、得られた成果を速やかに移転することが可能である。

### 2. 研究の方法

(1) マコンブでは、個体ごとの生育環境に差がなく、かつ成長の様子が確認できる場所として函館市にあるコンブ種苗センターを選択し、表現型の異なる個体の有無を調査した。

(2) 当センターでは、これまでにマルメロのDNA分析の実績がないことから、今年度は分析に必要な前処理であるDNAの抽出条件について検討を行った。試料には、マルメロ及びコントロールとして購入したナシを用い、まず果皮からのDNA抽出を行うために、DNA増幅を阻害する褐変物質の生成を抑えた破碎試料の調製法について検討した。さらに破碎試料からDNA簡易抽出キット(DNeasy Plant mini Kit : QIAGEN社)を用いて調製したDNAについて、UV法、通常のアガロース電気泳動法の他に、葉緑体ゲノムに含まれる酵素遺伝子(matK)の一部(約900塩基)をPCR法で増幅し、DNA分析に使用可能な純度であるかを評価した。

(3) 品種等を識別するDNAマーカーとして良く利用される一塩基多型について、核酸ク

ロマトグラフ法で検出するための検討を行った。マコンブで確認している一塩基多型情報を参考に、伸長方向の末端が多型塩基となるようにプライマーを設計し、多型を持つ個体及び持たない個体から調製した DNA を用いて PCR 法による増幅性を調べた。

### 3. 研究成果の概要

(1) コンブ種苗センターにて、表現型の異なるマコンブ個体の有無を調査した結果、個体数は僅かではあるが、成長が早いと思われる個体を確認できた。確認した個体がマコンブであるかが不明なため、今後、DNA 分析による海藻種の同定を行う予定である。

(2) 褐変物質の少ないマルメロ果皮破砕物の調製を検討した結果、無機塩類を使用した凍結粉砕法が有効であることが分かった。また、この破砕物から抽出した DNA は、PCR 法で **matK** の増幅が確認できたことから、抽出後に精製する必要が無い純度であることが分かった。これらの結果から、マルメロ果皮から純度の高い DNA を抽出する条件を構築できたと考える。

(3) 核酸クロマトグラフ法で塩基配列の違いを検出するには、DNA 増幅の有無で識別できることが基本条件となるが、今回設計したプライマーでは、一塩基多型を持つ個体の DNA だけを特異的に増幅することが出来なかった。PCR 法では、プライマーと鋳型 DNA で塩基配列が異なると増幅は抑制されるが、その違いが一塩基しかない場合では、増幅を抑制できない事例も報告されている。今後、核酸クロマトグラフ法により一塩基多型を検出するには、プライマーの設計と PCR 法の条件をさらに検討し、増幅に対する特異性を向上させる必要があると考えている。

担当者 清水健志、青木央、木下康宣