

## (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) マコンブ種苗系上で確認された大きさの異なる海藻種の同定

昨年度にコンブ種苗センターの種苗系から採取した通常のコンブ種苗よりも大きな海藻3個体について、海藻種を同定するため、葉緑体ゲノムに含まれる2つの酵素遺伝子(rbcLとrbcS)の一部を含む領域の塩基配列を分析し、公共DNAデータベースGenBankの登録配列との比較解析により海藻種の同定を行った。

#### (2) マルメロの個体識別に利用できる遺伝子情報の取得の検討

道南産と長野県産のマルメロを試料に、PCR法の一つであるRAPD法(Randomly Amplified Polymorphic DNA法)を用いた塩基配列の差違の検出を検討した。新たに入手した長野県産マルメロを試料に用い、昨年度に構築したマルメロ果皮からのDNA抽出条件によりDNAを調製した。次いで、PCR法により葉緑体ゲノム上の酵素遺伝子(matK)の一部(約900塩基)を増幅し、増幅の有無からDNA分析に使用可能な純度であるかを評価した。RAPD法には、長野産2個体の他、昨年度に調製した道南産3個体の抽出DNAを

用いた。プライマーは、RAPD 10mer kit (ユーロフィンジェノミクス株) の 20 種類 (A-01~A-20) を用い、DNA の増幅反応は、熱変性 (98°C、10 秒)、アニーリング (40°C or 50°C、30 秒)、伸長反応 (68°C、60 秒) を 1 サイクルとして 45 サイクルの条件で行った。

### 3. 研究成果の概要

#### (1) マコンブ種苗系上で確認された大きさの異なる海藻種の同定

種苗系から採取した海藻 3 個体の DNA を解析した結果、各個体の塩基配列に違いは見られなかったことから、3 個体は同一種であると考えられた。さらに、GenBank 内の DNA データベースと照合した結果、マコンブ及びマコンブ系コンブのオニココンブの塩基配列と高い相同性を示した。これらの結果から、種苗系上に見られた 3 個体の海藻は、通常よりも成長速度が早いマコンブであると考えられた。今後、成長速度が異なるマコンブ間について、塩基配列の差違を調べる予定である。

#### (2) マルメロの個体識別に利用できる遺伝子情報の取得の検討

長野県産マルメロから抽出した DNA は、PCR 法により、約 900 塩基の DNA 断片が増幅できたことから、昨年度に構築した DNA 抽出条件は、純度の高い DNA を調製できることが示された。また RAPD 法を検討した結果、使用した 20 種類のプライマーのうち A-15 とラベルされたプライマーで増幅される約 400 塩基の DNA 断片は、アニーリング (プライマーと鋳型 DNA の結合) 温度が 40°C の場合は、道南産と長野県産で確認されるが、50°C にすると道南産で増幅しなくなることを確認した。以上の結果から、道南産と長野県産のマルメロは、A-15 プライマーが結合する領域の塩基配列に差違が存在することが示唆された。今後、核酸クロマトグラム法への利用を検討するため、約 400 塩基の DNA 断片の塩基配列を分析する予定である。

担当者 清水健志、青木央、木下康宣