

（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～令和元年度）

１．研究のねらい

農畜水産物の栽培、生産の場面では、付加価値向上や差別化のために、市場性や生産性の良い有用種を作出する取り組みが行われている。従来は、成長後の有用性質の有無を目視などで確認していたが、近年は、成長前に遺伝子レベルで有用性質を判定し、選抜育種する技術開発が進められている。道南域ではマコンブやマルメロなど地域の特色を持つ植物が栽培されているが、遺伝子選抜技術が導入されれば、産業的に有用な品種の開発が促進される。これまでの研究で、道南域のマコンブには、遺伝情報が異なる個体が複数存在することを確認している。これらの個体から、道南域に特異な遺伝情報を持つ個体を特定し、有用種を作出することにより、道南産であることを証明でき、さらに他地域への流出を監視できる地域特産物の生産が可能である。そこで本研究では、マコンブやマルメロについて、道南域に特異な遺伝情報を取得することを目的とした。また、従来の遺伝子解析では、特殊な装置を必要としたが、本研究では普及が進んできた核酸クロマトグラフ法（以下、核酸クロマト法）に着目し、種苗センターなどの現場においても迅速に選別ができる技術開発に取り組む。さらに、有用性質を持つ個体の探索や特徴的な遺伝情報の取得についても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）これまでの研究で、道南域のマコンブには、ミトコンドリア DNA の塩基配列が大きく異なる（標準型と変異型）個体が存在することを確認している。今年度は、各産地（道南、中国、韓国）のマコンブの各 10 個体について、ミトコンドリア DNA の塩基配列をもとに、標準型と変異型の地域特異性を解析した。さらに、標準型と変異型を識別できる核酸クロマト法を開発するため、核酸クロマト用プライマーの設計と DNA 増幅の条件検討を行った。核酸クロマト法には、C-PAS シリーズ（㈱TBA）の検出用ストリップと検査試薬を使用し、増幅反応液と検査試薬の混合液にストリップを挿入し、ストリップ上に出現するラインの有無から識別精度を確認した。

（２）マルメロでは、昨年度に行った RAPD 法により、道南産と長野県産で異なる塩基配列を示す DNA 断片を確認している。そこで、道南産と長野県産を識別できる核酸クロマト法を開発するため、PCR 法に使用するプライマー設計と DNA 増幅の条件検討を行った。プライマーは、RAPD 法で使用したプライマーの塩基配列から、核酸クロマト用プライマーを設計した。核酸クロマト法には、C-PAS シリーズ（㈱TBA）を使用した。

(3) 29 年度に、通常よりも成長が早いマコンブの個体がある事を確認している。そこで本年度は、昨年度に行ったマルメロでの RAPD 法と同じ RAPD 10mer kit A (ユーロフィングェノミクス㈱) の 20 種類 (A-01~A-20) を用い、本個体に特異な遺伝情報の取得を試みた。

3. 研究成果の概要

(1) 各産地のマコンブのミトコンドリア DNA を分析した結果、中国と韓国には、変異型が確認されなかったことから、この変異型は道南域に特異であると考えられ、産地証明が可能な有用種の作出が期待できた。また核酸クロマト用プライマーを用いた PCR 法の反応条件について検討した結果、PCR 法による増幅反応条件を、熱変性 (98℃、10 秒)、アニーリング (59℃、30 秒)、伸長反応 (68℃、30 秒)、35 サイクルに設定することで、標準型と変異型のマコンブを正確に識別できる条件を構築できることが分かった。

(2) マルメロについて、核酸クロマト用プライマーを用いた PCR 法の反応条件について検討した結果、PCR 法の条件を、熱変性 (98℃、10 秒)、アニーリング (52℃、30 秒)、伸長反応 (68℃、60 秒)、45 サイクルに設定することで、道南産と長野県産のマルメロを正確に識別できる条件を構築できることが分かった。

(3) 通常よりも成長が早いマコンブの個体について RAPD 法を検討した結果、20 種類のプライマーの全てにおいて DNA を増幅することが困難であることが分かり、プライマーの塩基配列が適していないと考えられた。

以上の結果、マコンブでは、有用種の作出が期待できる個体に特徴的な塩基配列を取得するには至らなかったが、既知の遺伝情報であるミトコンドリア DNA の変異型を示す塩基配列については、道南域に特異な塩基配列であると考えられる知見を得た。またマルメロでは、RAPD 法により道南産と長野県産で異なる DNA 断片を確認している。これらの遺伝情報を持つ個体から有用種を作出することにより、道南産であることを証明でき、さらに他地域への流出を監視できる地域特産物の生産が期待できる。さらに、これらの遺伝情報を識別できる核酸クロマト法を構築し、核酸クロマト法を利用するためのプライマー設計と DNA 増幅条件に関する知見を得ることができたことから、今後、地域の研究機関や生産団体などに技術知見の提供を行い、マコンブとマルメロから有用種の作出への利用を図る。

担当者 清水健志、青木央、木下康宣