

DNA 検査法を用いたカンキツの品種識別

1. はじめに

愛媛県は、多種多様なカンキツ品種を育成する取り組みを進めている。近年、育成された優良品種が海外へ不適切に流出し、無断栽培されるという事態が発生しており、社会的問題となっている。さらに、それらの優良品種が流出国で産地化され、流出国から日本へ逆輸入される等も懸念される。このような事態を防ぐため、県では、農林水産省の農林水産研究推進事業委託プロジェクト研究の共同研究を実施し、簡便かつ迅速に識別可能な技術開発に取り組んだ。

2. 試験方法

供試した品種は、本県で育成したカンキツ 4 品種[「愛媛果試第 28 号」(紅まどんな)「甘平」「媛小春」「愛媛果試第 48 号」(紅プリンセス)]を含む国内で流通する 26 品種を用いた。

品種識別に用いる DNA の目印 (マーカー) 候補は、先行研究 (Fang et al. 2018, Kawahara et al. 2020) で公表された InDel と、高速シーケンサーによるカンキツ品種のゲノム解析から得たレトロトランスポゾンとした。これらのマーカーでスクリーニングを行い、育成した 4 品種それぞれにおいて他の品種と区別できる特異的な DNA 多型を持つマーカーを選定した。複数のマーカーを一度の PCR で増幅 (マルチプレックス化) できるように選定したマーカーの反応条件等を検討し、C-PAS 法で検出するための配列を付加した。C-PAS 法とは特殊加工したメンブレンスティックを PCR 反応後の DNA 溶液に浸すだけで、陽性が陰性かを判定する簡易検出法である。今回は、目的品種の特異的バンドのすべてが陽性になるように調整した。

3. 結果

スクリーニングの結果、「愛媛果試第 28 号」「媛小春」は単一、「愛媛果試第 48 号」は 2 つ、「甘平」は 3 つの DNA マーカーの組み合わせにより 26 品種から特異的に識別できる事が判明した。マーカーのマルチプレックス化とバンド検出に C-PAS 法を適用する事により、従来の技術と比較して検出時間は約 1/8 に短縮し、解析費用は約 1/3 に低減できた。

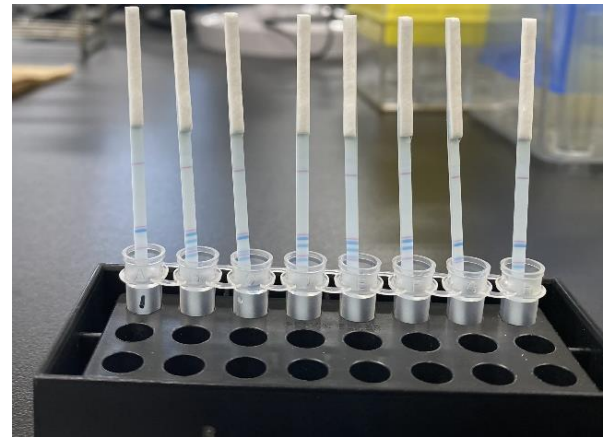


写真1 メンブレンスティックによる検出



写真2 「愛媛果試第 28 号」(紅まどんな)[左]のメンブレンスティックにより検出されたバンドの陽性例と陰性例[右]

- ▶ は PCR が成功したことを示すバンド
- ▶ は品種特異的バンド

4. まとめ

現在、農林水産物・食品の輸出拡大に向けた取り組みが強化されている。本研究で確立した技術は、高額な DNA 検出機器も不要で、簡便かつ迅速に DNA の品種識別検査を可能とすることから、国産ブランド品種の保護や競争力強化、偽装表示や侵害物品の取り締まり等に向けた有効な DNA 検査法となることが期待される。

(みかん研究所 研究員 木下 佳)