

試験研究成果普及情報

部門	その他	対象	研究
課題名：トマトの育種のためのCELヌクレアーゼを用いたDNA多型探索法			
<p>[要約] 一本鎖特異的DNA切断酵素CELヌクレアーゼと公開塩基配列情報を利用することで、トマト系統間で任意の遺伝子座におけるDNA多型の探索を効率的に行える。検出されたDNA多型を元に、品種改良や品種判別に使用可能なDNAマーカーの開発ができる。</p>			
フリーワード DNAマーカー、DNA多型、CELヌクレアーゼ、トマト			
実施機関名	主 査 農業総合研究センター生物工学部遺伝子工学研究室		
	協力機関 かずさDNA研究所植物ゲノム応用研究部植物ゲノムバイオテク研究室		
実施期間	2005年度～2006年度		

[目的及び背景]

塩基配列を調べることで、外観や肉眼では見分けられない遺伝的な違いの判別や微量なサンプルからの判別が可能となる。そのため、近年、品種や病害虫の判別および品種改良のための遺伝形質の判別に塩基配列の利用がすすめられているが、より利用を促進するためには、塩基配列の違い（DNA多型）を効率的に探索する方法が必要である。

DNA多型の探索には、これまでも様々な方法が開発されているが、一般に多くの労力を必要とする。そこで、一部の品種でDNA配列情報が公開されているトマトを材料に、一本鎖DNAを特異的に切断する酵素CELヌクレアーゼと既知のDNA配列情報を利用した効率的なDNA多型探索法を開発した。

[成果内容]

- 1 トマトでは、ゲノム上の特定のDNA配列を増幅できるPCRプライマーセットが公開されており（Solanum Genomics Network; <http://www.sgn.cornell.edu/index.pl>）、これを用いて対象とする系統の染色体上の任意の位置からDNA断片を得ることができる。得られたDNA断片を混合し、変性後再結合したものをCELヌクレアーゼで処理すると、両断片間にDNA多型が存在した場合、配列の違った部位でDNAの切断が生じる（図1）。
- 2 CELヌクレアーゼを用いて、1塩基または2塩基の置換と1塩基から6塩基の挿入・欠失のDNA多型が検出できる。
- 3 上記の方法で得られたトマト系統「Micro-Tom」と「LA1996」の間のDNA多型を元にしてDNAマーカーを作製し、両系統間のF₂集団について連鎖解析を行った。同一の染色体上に座上すると予想されたDNAマーカーが連鎖し、その順序もトマトの連鎖地図と合致した（図2）。このことから、本法により系統間で任意の遺伝子座にDNAマーカーを作製できることが確認できた。
- 4 本法は、DNA配列情報が多く公開されている他の植物種や微生物にも応用可能であると考えられる。

[留意事項]

標的とするDNA配列中に長い繰り返し配列があった場合、PCR産物中に繰り返し配列の長さが異なる断片が合成され、結果としてCELヌクレアーゼ処理によってDNAの切断を生じることがある。

[普及対象地域]

[行政上の措置]

[普及状況]

[成果の概要]

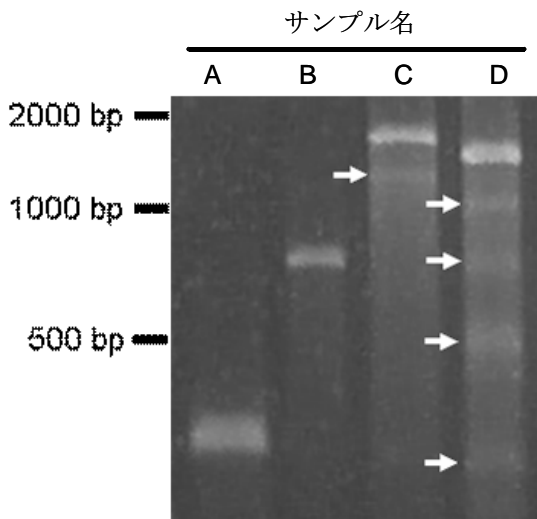


図1 CELヌクレアーゼ処理によるDNA多型の検出

矢印が処理により切断されたDNAを示す

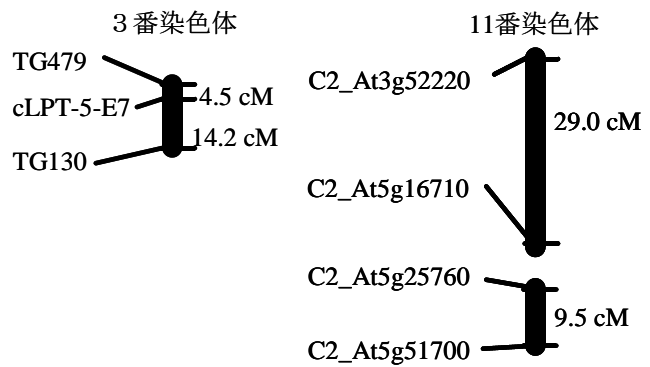


図2 開発したDNAマーカーを用いた連鎖地図
太線が染色体を表す。太線の左側にプライマーセット名を、右側に地図距離を示す。

[発表及び関連文献]

園芸学雑誌第75巻別冊2（2006）p. 200

[その他]

生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業「課題名：トマト機能性成分を活用した花粉症・生活習慣病対策食品の開発」