

試験研究成果普及情報

部門	野菜	対象	研究
課題名：トマトのリコペン含量を高める <i>ogc</i> 突然変異を判別する DNAマーカー			
[要約] トマトのリコペン含量を高める <i>ogc</i> 突然変異は、開発したプライマーセットを用いた PCRを行うことで、増幅される DNA断片長の違いから存在の有無を判別できる。これにより、リコペン含量の多いトマトを選抜することができる。			
キーワード トマト、リコペン、機能性成分、品種改良、DNAマーカー			
実施機関名	主 査 農林総合研究センター・生産環境部・植物工学研究室 協力機関 (財)かずさディー・エヌ・エー研究所		
実施期間	2005年度～2009年度		

[目的及び背景]

ogc 突然変異は、トマト果実中のリコペン含量を高める効果がある劣性の突然変異である。機能性成分含量の多いトマトの育成のために有用な変異であるが、変異体と正常型の塩基配列の違いが一塩基（アデニン）の繰り返し数に由来するため、DNAマーカーの開発は困難である。そこで、プライマー配列の設計を改善することにより、*ogc* 突然変異と正常型の塩基配列を判別する DNAマーカーを開発する。

[成果内容]

- 1 *ogc*突然変異と正常型を判別する PCRプライマーセットを開発した。
- 2 トマトから DNA を抽出し、開発したプライマーセットを用いて PCR を行うことにより、リコペン含量の多いトマトを選抜することができる。
- 3 トマトから一般的な手法によって DNA を抽出し、表 1 に記載したプライマーセットを用いて、表 2 の反応液組成で PCR を行う。PCR産物を、1.5%アガロースゲルを用いた電気泳動により分離し、DNA断片長を測定する（図 1）。DNA断片長から、*ogc*突然変異を判別する。

[留意事項]

- 1 実験が適切に実施されていることを確認するために、遺伝子型の明らかなサンプルをポジティブコントロールとして使用する。
- 2 プライマーの分解を防ぐため、DNA分解活性（*exonuclease*活性）を保有しない DNA合成酵素を使用する。

[普及対象地域]

[行政上の措置]

[普及状況]

[成果の概要]

表 1 *ogc*突然変異判別 PCRに用いたプライマー配列

プライマー	配列
Lb3F	GGAAGCTCTTCTCAAGCCTTT
Lb584R	TCATGTTCCACTTCCAAACC
Lb87F	CTAAGTCCCACCACCAAAAAAGAT
Lb87Fog	CTAAGTCCCACCACCAAAAAAGAT

表 2 反応液組成

成分	量 (μ L)
滅菌蒸留水	6.225
10x PCR buffer	1.5
2.5mM dNTPs	1.2
3 μ M Lb3F	1.5
3 μ M Lb584R	1.5
3 μ M Lb87F	
または Lb87Fog	1.5
鋳型 DNA	1.5
5U/ μ L DNA合成酵素	0.075
合計	15

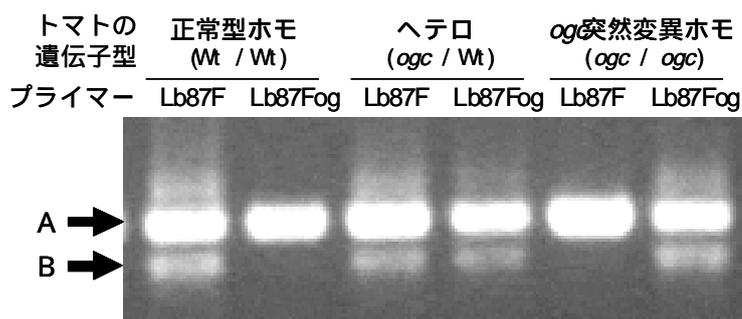


図 1 *ogc*突然変異または正常型の判別

- 注 1) *ogc*突然変異の検出には、Lb87Fogプライマーを用いる。正常型の検出には、Lb87Fプライマーを用いる
- 2) 反応温度条件は、95 2分間の熱変性後、95 30秒間・62 30秒間・72 45秒間を 35サイクル繰り返し、72 5分間の伸長反応を行う
- 3) DNA合成酵素として、TaKaRa Taq Hot Start Version(タカラバイオ社製)を使用する

- 注 1) Lb87Fogプライマーを用いた場合、*ogc*突然変異の配列が存在すれば、Bの位置(497bp)にバンドを検出できる。Lb87Fプライマーを用いた場合、正常型の配列が存在すれば、Bの位置(498bp)にバンドを検出できる。Aの位置(582bp)は、正常型と*ogc*突然変異に共通するバンド
- 2) 図中の Wt は Wild typeを、*ogc*は old gold crimsonを意味する

[発表及び関連文献]

[その他]

- 1 生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業「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」(平成 17~ 21年度)