

## 試験研究成果普及情報

部門	野菜	対象	研究
課題名：「ちばさんさん」を含むオレンジ系中玉トマトの SSR マーカーによる品種識別法			
〔要約〕 選定した 12 種類のプライマーセットを用いて PCR を行うことで、DNA 断片長の違いから「ちばさんさん」と外観が類似した、果色がオレンジでミニ～中玉サイズの 11 の品種及び系統を識別できる。			
キーワード <sup>1)</sup> ちばさんさん、中玉トマト、PCR、品種識別、権利保護			
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	農林総合研究センター・育種研究所・野菜緑化育種研究室 (財) かずさ DNA 研究所	
実施期間	2010 年度		

## 〔目的及び背景〕

千葉県が育成した「ちばさんさん」は、βカロテンやビタミンCを多く含み、食味、色、形に特徴のあるトマトである。現在、種子生産を外部組織に許諾していることもあり、品種の管理や育成者権の保護等に利用可能な品種識別技術の開発が求められている。また、近年、食品や品種の偽装事件が発生したことから、食の安心に対する消費者ニーズも高まっている。そこで、「ちばさんさん」と、これに類似したトマト品種の識別技術を開発する。

## 〔成果内容〕

- 1 選定した SSR マーカーを用いることで、「ちばさんさん」と外観が類似した、果色がオレンジでミニ～中玉サイズの市販品種及び系統、合計 11 品種・系統（表 1）を識別できる。
- 2 オレンジ系の中玉～ミニトマトから DNA を抽出し、識別用プライマーセット（表 2）を用いて PCR を行い、8%ポリアクリルアミドゲルで分離して DNA 断片長を測定することにより、当該品種の DNA 多型を確認できる（表 3）。
- 3 得られた DNA 多型を各品種・系統の DNA 多型パターン（表 3、図 1）と比較することにより、品種の識別ができる。

## 〔留意事項〕

今回対象とした品種・系統以外に果色がオレンジの品種が育成された場合、本技術の適用については見直しが必要である。

## 〔普及対象地域〕

## 〔行政上の措置〕

## 〔普及状況〕

[成果の概要]

表 1 DNA 品種識別技術により「ちばさんさん」と識別できる品種・系統

品種名	サイズ	育成者
ワンダーオレンジ	中玉	丸種
フルーツ ゴールド ギャバリッチ	中玉	日本デルモンテ
ビタミンエース	中玉	日本デルモンテ
カロちゃん	ミニ	トキタ種苗
シンディーオレンジ	中玉	サカタのタネ
オレンジキャロル	ミニ	サカタのタネ
オレンジパルチェ	ミニ	カネコ種苗
オレンジオーレ	中玉	カネコ種苗
Ni2101-08	中玉	千葉県
育プロ2号	中玉	千葉県
ちばさんさん	中玉	千葉県

注) 「Ni2101-08」及び「育プロ2号」は「ちばさんさん」の親系統である。

表 2 「ちばさんさん」識別用プライマーセットの配列

プライマーセット名	プライマー配列
SSR 020	GAGGACGACAACAACAACGA GACATGCCACTTAGATCCACAA
SSR 022	GATCGGCAGTAGGTGCTCTC CAAGAAAACACCCATATCCGC
SSR 032	TGGAAAGAAGCAGTAGCATTG CAACGAACATCCTCCGTTCT
SSR 040	TGCAGGTATGTCTCACACCA TTGCAAGAACACCTCCCTTT
SSR 043	CTCCAAATGGGCAATAACA TTAGGAAGTTGCATTAGGCCA
SSR 069	TTGGCTGGATTATTCCTGTTG GCATTTGATAGAAGGCCAGC
SSR 073	TGGGAAGATCCTGATGATGG TTCCCTTTCCTCTGGACTCA
SSR 115	CACCCTTATTAGATTCCTCT ATTGAGGGTATGCAACAGCC
SSR 128	GGTCCAGTTCAATCAACCGA TGAAGTCGTCTCATGGTTCG
SSR 306	ACATGAGCCCAATGAACCTC AACCATTCCGCACGTACATA
SSR 323	CAGCCCAAATAACACGTCTCT GGCAACGAACTGTCAACAA
SSR 350	GGAATAACCTCTAACTGCGGG CGATGCCTTCATTTGGACTT

表 3 「ちばさんさん」識別用プライマーで検出される各品種の DNA 多型

品種名	SSR020	SSR022	SSR032	SSR040	SSR043	SSR069	SSR073	SSR115	SSR128	SSR306	SSR323	SSR350
ワンダーオレンジ	B	B	B	A	B	B	B	AB	B	A	B	A
フルーツ ゴールド ギャバリッチ	AB	B	B	A	B	B	B	AB	B	A	B	A
ビタミンエース	AB	AB	AB	A	AB	AB	B	AB	AB	A	AB	A
カロちゃん	B	AB	AC	AB	BC	AB	AB	AB	B	AB	B	B
シンディーオレンジ	B	AB	AB	A	AB	AB	B	BD	B	A	B	A
オレンジキャロル	B	B	A	A	AB	AB	B	BD	B	A	AB	B
オレンジパルチェ	B	AB	AC	AB	BC	AB	AB	AB	B	AB	AB	B
オレンジオーレ	AB	B	AB	A	AB	B	B	BC	B	A	AB	A
Ni2101-08	B	B	A	A	B	A	B	AB	B	A	B	A
育プロ2号	B	B	A	A	B	B	B	AB	A	A	B	A
ちばさんさん	B	B	A	A	B	AB	B	AB	AB	A	B	A

注 1) 異なるアルファベットは、遺伝子型が異なることをあらわす。

2) PCR の反応溶液は、鋳型 DNA 約 20 ng、200 μM プライマー 0.03 μL、反応酵素 0.5U、添付の 10×バッファー 2 μL、dNTP mixture (各 2.5mM) 2 μL、および滅菌水を用いて 20 μL となるように調製する。PCR の反応条件は、1 サイクルにつき変性を 95℃で 30 秒間、アニーリングを 44℃で 45 秒間、伸長を 72℃で 1 分間とし、35 サイクル行う。PCR 産物は 8% ポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動で分離し、エチジウムブロマイドで染色して DNA 断片長を調査する。本試験では、反応酵素として TaKaRa Taq Hot Start Version (タカラバイオ社) を使用した。

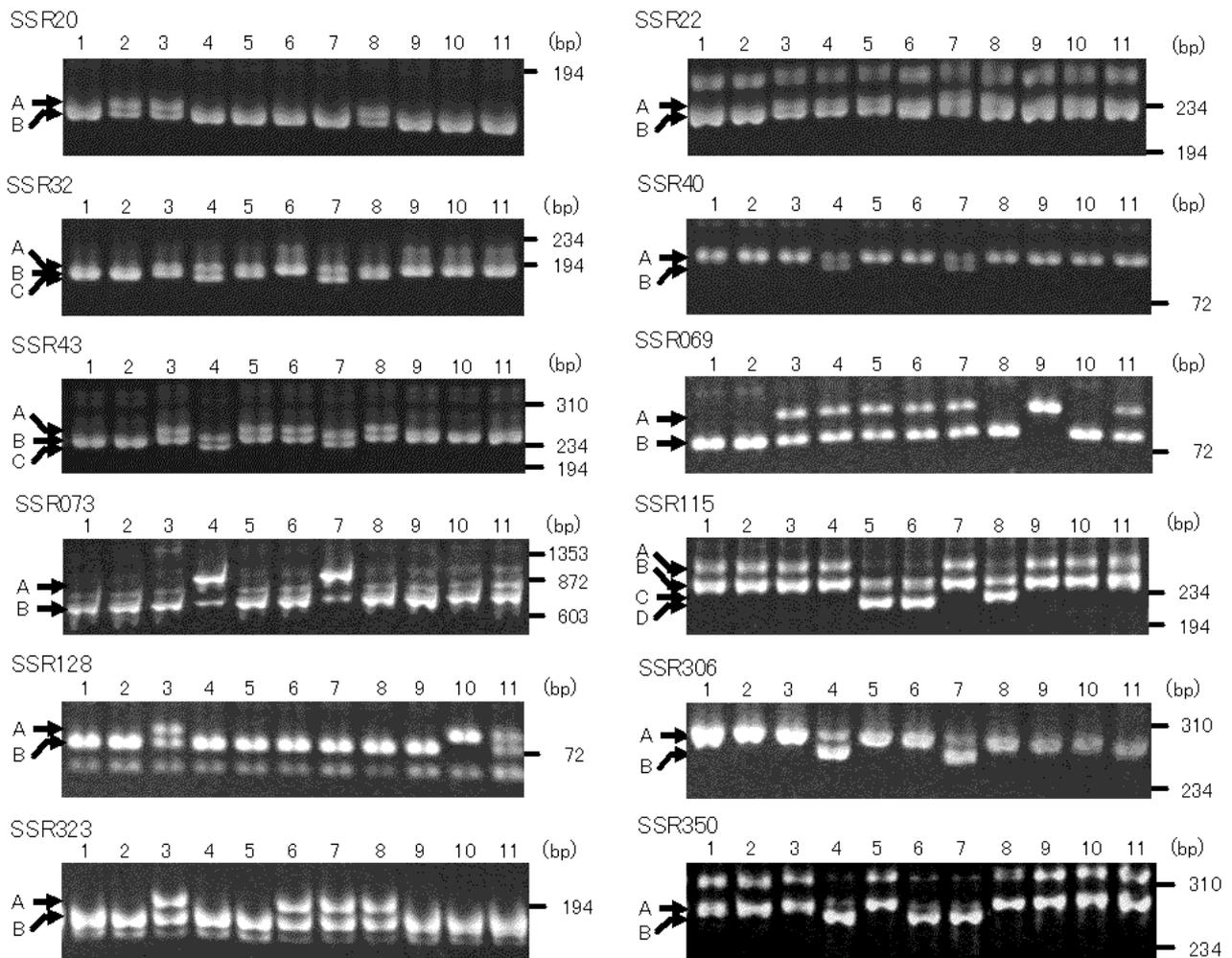


図1 SSR マーカーによって検出される各品種の DNA 多型

注) 図左側のアルファベット (A、B、C、D) は、それぞれ異なる DNA 多型を示す。図右側の数字は、DNA マーカーによって推定された DNA 断片長 (bp) を示す。図上部の数字は以下に示す品種を表す。

1: 「ワンダーオレンジ」、2: 「フルーツ ゴールド ギャバリッチ」、3: 「ビタミンエース」、  
 4: 「カロちゃん」、5: 「シンディーオレンジ」、6: 「オレンジキャロル」、7: 「オレンジパ  
 ルチェ」、8: 「オレンジオーレ」、9: 「Ni2101-08」、10: 「育プロ2号」、11: 「ちばさん  
 さん」

[発表及び関連文献]

[その他]