

5 米粒からの簡易 DNA 抽出法と RAPD 法による酒米品種判別

ねらいと成果

近年の水稲品種の多様化に伴い、栽培および流通段階における的確な品種判別が求められている。特に、兵庫県産の酒米品種「山田錦」は高い評価を得ており、その地位を維持するためにも、米粒における品種判別は極めて重要である。そこで、玄米等の米粒における DNA での水稲品種の判別技術を確立した。

内容

今回、PCR（遺伝子増幅法）の応用技術である RAPD（ランダム増幅多型 DNA）法による品種判別を行うに当たって、兵庫県水稲奨励品種の生葉から抽出した比較的純粋な DNA を用いて、各品種間での DNA バンドのパターンの違い（多型）を特定した。RAPD 用のプライマーは、オペロン社製の 10塩基プライマーから選定した。

各品種間での多型を観察した結果、9種類のプライマーを用いて、16種類の多型を示すバンドが認められた。これらのバンドにより各品種の DNA による判別が可能であったが、現状では、「キヌヒカリ」と「どんとこい」および「中生新千本」と「金南風」との判別は、困難であった。

米粒からの DNA 抽出法は、吸水処理およびホモジナイズの段階が非常に困難であったが、厚手のアルミホイルに挟み込んだ米粒をペンチで砕き、直接抽出液を加えることにより簡便に処理することができた（図）。

DNA の抽出は、室温でも可能であったが、60℃で保温することで、より短時間で効率的な抽出が行えた。また抽出液のフェノール/クロロフォルム処理は、抽出 DNA 量に影響がなかった。

各抽出条件から得た DNA 溶液を用いた PCR 産物を比較した結果、フェノール/クロロフォルム処理を行わない場合、比較的長い DNA の増幅率が低下する傾向を示し、判別精度が低下した。

精米歩合の異なる米からの DNA を用いた PCR 産物を比較した結果、精米歩合の高い米から抽出した DNA を用いた方がより明瞭な泳動像が得られた。

「山田錦」を含む酒米 5 品種の米粒からの簡易抽出 DNA による RAPD では、生葉から抽出した高純度 DNA において検出された多型バンドと同一のバンドが検出され、品種の判別が可能であった。

今後の方針

よりの確な品種判別を行うために、今回用いた市販プライマーの配列を基に、より再現性の高い多型バンドを増幅できるプライマーの再設計を行う。

吉田 晋弥（中央農技・生物工学研究所）

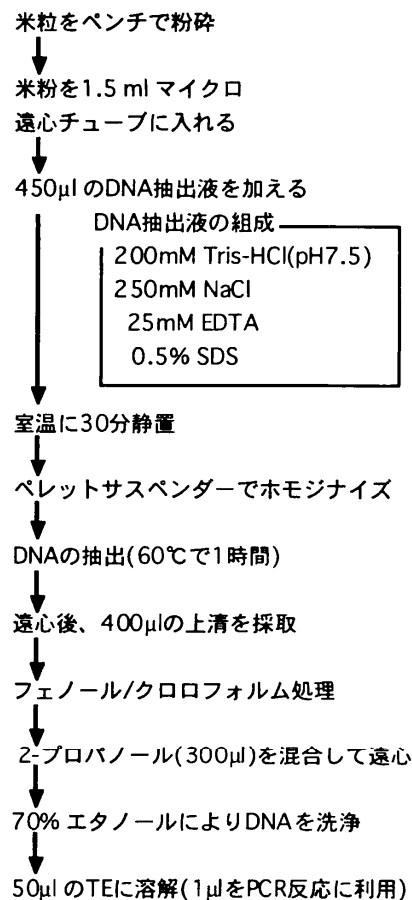


図 米粒からの DNA 抽出手順