

DNA マーカーを用いたサツマイモの品種識別技術 ～ 紫いもを中心として ～



農研機構 九州沖縄農業研究センター
畑作物生理・遺伝グループ グループ長

たなか まさる
田中 勝

1 はじめに

サツマイモは収穫物であるいも（塊根）や、いもから萌芽した茎の切片である苗を用いて容易に増殖が可能である。そのため、 F_1 品種を用いる野菜などに比べると種苗の流出が起こりやすく、種苗法に反する品種の増殖や流通、栽培が行われやすい。また、同一用途の品種は形態的に類似していることが多いため、葉やいもなど特定の組織の特徴だけでは品種の識別が困難な場合が多く、特に加工品として流通する場合には外見上の特徴から識別することはほぼ不可能である。このような状況から、サツマイモ品種の育成者権を保護するとともに国内のサツマイモ関連産業の優位性を確保していくために、遺伝情報を担うDNA配列の品種間での違いを利用して品種を簡便かつ確実に識別できる手法の開発が望まれている。DNA マーカーは、細胞中に含まれる全DNA配列の中から、品種や系統の間で異なる部分のみを検出可能な形にしたものであり、作物の生育ステージや栽培条件の影響を受けにくく、少量のサンプルからでも識別ができるなどの利点がある。本稿では、植物におけるDNAマーカーを利用した品種識別技術について概説した後、サツマイモにおける近年の技術開発の状況や

今後の課題について述べる。

2 DNA マーカーを用いた品種識別技術について

一般的にDNAマーカーを用いた品種識別では、まず識別の対象となる作物品種の試料からDNAを抽出した後、品種間で異なる部分をDNAマーカーで増幅して検出する（図1）。したがって、品種識別のためには試料からのDNA抽出技術の確立と、DNAマーカーの開発の両者が必要となる。

DNAの抽出の困難さは対象となる作物種や組織、試料の状態によって大きく異なるが、一般的に生の植物組織やその乾燥粉末など、DNA分子の損傷が少ないと考えられる試料が入手できる場合には比較的容易である。一方で加熱調理された加工食品や、特定の有用成分のみを抽出・濃縮した抽出物など、DNA分子の損傷が大きい試料や、DNA含量の少ない試料の場合には困難となる。

DNAマーカーの種類には、RFLP、RAPD、AFLP、CAPS、SSR、ISSR、SNPなど、様々な種類があり、それぞれ長所、短所がある。これらの手法の詳細については、農林水産省の品種登録ホームペー

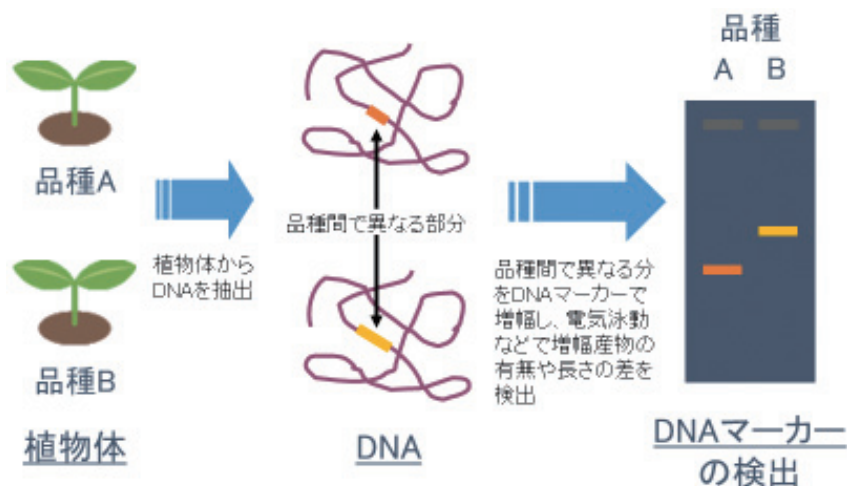


図1 DNAマーカーを利用した植物の品種識別の流れ

ジ（<http://www.hinshu2.maff.go.jp/index.html>）の「育成者権保護に関する情報」のコーナーに、いくつかの作物における品種識別のマニュアルとともに掲載されている。近年は検出結果の再現性やマーカー開発の容易さから、主にCAPS、SSR、SNPが品種識別に利用されている。これらのうち、CAPSはPCR法によって増幅されたDNA断片中に存在する制限酵素認識部位の違いを検出する方法であり、SSRはゲノム中に存在する2～6塩基の繰り返し配列を増幅して繰り返し回数の差を検出する方法、SNPは品種間におけるDNA配列中の

特定の塩基の置換を検出する方法である。

また近年、活動型レトロトランスポゾンの染色体挿入位置の品種間差異を利用したDNAマーカーが開発され、品種識別への有用性が示されている。活動型のレトロトランスポズンは動く遺伝子（トランスポゾン）の一種であり、自分自身の複製を作成して染色体DNAの他の位置に挿入する性質を持つ（図2）。新たに生じたレトロトランスポゾンの挿入位置は基本的に消失することがなく、挿入が生じた個体からその子孫に引き継がれる。この特徴を利用することで、他の手法では実現困難な特定の

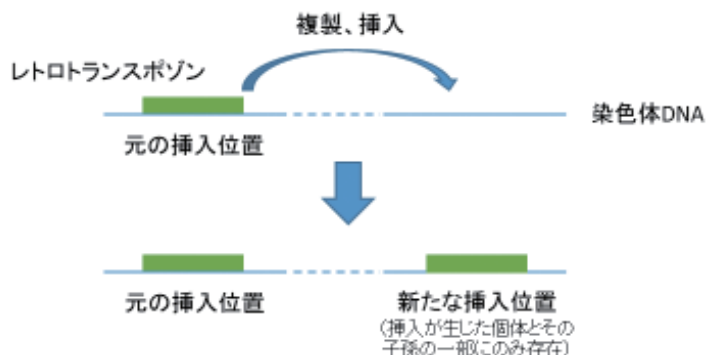


図2 レトロトランスポゾンの新規挿入位置の形成

品種に特異的なDNAマーカーの開発が期待できる。本手法では対象となる作物種で活動型のレトロトランスポゾンを発見し、大規模なDNA配列解析などにより品種ごとの挿入位置を調べる必要があり、マーカー開発に労力と時間を要する。しかし、品種特異的なDNAマーカーが得られれば、1つのマーカーのみで品種の識別が可能な上、数品種が混合された試料からでも特定の品種が検出できるため、有用な手法である。

3 サツマイモの品種識別技術

植物のDNA抽出には葉の組織が用いられることが多いが、サツマイモの場合は多糖類やポリフェノール類が成葉に多く含まれるため抽出が難しい。しかし、未展開の頂葉を用いると比較的にDNAを抽出することができる。抽出手法としては、CTAB法やスピンカラムを用いた市販のDNA抽出キットが利用できる。また、イオン交換樹脂カラムを用いることにより、塊根の組織からもDNA抽出が可能であることが報告されており、同様の手法で蒸切干(干しいも)からのDNA抽出も可能であることが報告されている(大江ら、2004)。

サツマイモは、染色体の基本セットを六組持つ六倍体であることに加え、自家受粉で種子の取れない自家不和合性や、特定の交配組合せで種子の取れない交配不和合性を持つために、遺伝学的な研究が難しい。そのため、品種識別の基盤となるDNAマーカーの開発は他の主要作物に比べて遅れていたが、近年少しずつ成果が得られてきている。Tanakaら(2010)はサツマイモで単離された遺伝子の配列情報をもとに

品種識別に利用可能な27個のCAPSマーカーを作成し、これらを組み合わせて用いることで国内の農林登録品種60品種の相互識別が可能であることを報告している。また、品種識別を対象としたものではないが、SSRマーカーの開発もいくつか報告されている。さらに、近年のゲノム解析技術の進展により、サツマイモでも大量のSNPマーカーを作出することが可能となっている(Shirasawaら、2017)。SNPはマーカー1個当たりの識別効率は低いものの、分析法によってはCAPSやSSRに比べて一度に多数のマーカーを利用することが可能であり、今後品種識別への応用が期待できる。サツマイモはその遺伝的特性から、PCRによるDNAマーカーの増幅の際に多様な配列が増幅されてくることが多い。そのため、CAPSやSSRなどの手法では電気泳動による検出パターンが複雑化して不明瞭になりやすく、品種識別に求められる明瞭なパターンを持つDNAマーカーを得にくい。一方、レトロトランスポゾンの挿入位置を利用したマーカーでは、DNAマーカーは6本の染色体中1本のみに存在することが多いため、電気泳動パターンは極めて明瞭である(図3)。大江ら(2004)はレトロトランスポゾン*Rtsp-1*の挿入位置の解析から作成したDNAマーカーを用いて蒸切干加工用の12品種が相互に識別できることを報告している。また、田中ら(2015)は、品種特異的なDNAマーカーを得やすいというレトロトランスポゾンマーカーの利点を利用して、国内の主要品種49品種中で、青果用品種「べにはるか」にのみ増幅されるDNAマーカーを報告している。レトロトランスポゾンの挿入部位を利用した

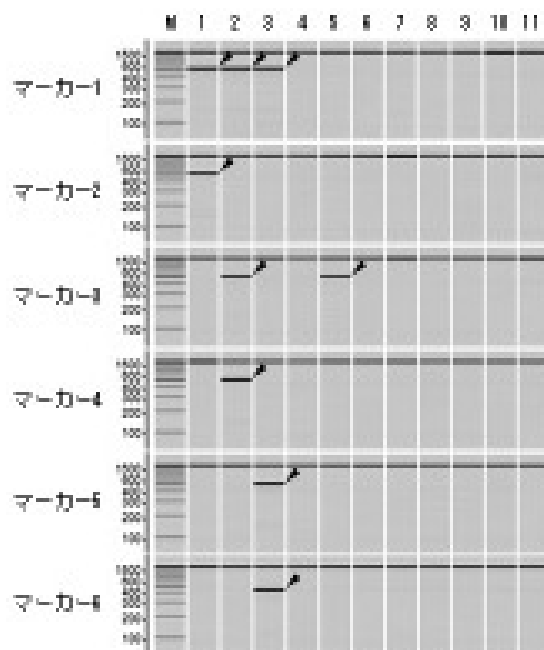


図3 紫いも品種におけるレトロトランスポゾン挿入位置由来のDNAマーカーの検出例

図中の黒矢印がDNAマーカーの検出を示す。1：アヤムラサキ、2：ムラサキマサリ、3：アケムラサキ、4：パープルスイートロード、5：ナカムラサキ、6：九州137号、7：宮農36号、8：種子島紫（赤皮）、9：種子島紫（白皮）、10：備瀬、11：知覧紫。図の詳細については田中ら（2016）を参照。

DNAマーカーは、後述のように紫いもの品種識別用DNAマーカーの開発にも活用されている。

4 紫いもの品種識別技術

塊根に紫色のアントシアニンを含むいわゆる「紫いも」については、農林水産省所管の国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構により、色素原料用品種として「アヤムラサキ」、「ムラサキマサリ」、「アケムラサキ」、「サエムラサキ」の4品種が、青果用および食品加工用の品種として「パープルスイートロード」、「九州137号」の2品種が育成されている。また、県で開発された品種として、沖縄県農業研究センターで育成された青果用・加工用の「沖夢

紫」および加工用の「ちゅら恋紅」のほか、鹿児島県農業開発総合センターで種子島在来の紫いもである「種子島紫」から優良系統を選抜した「種子島ロマン」および「種子島ゴールド」がある。さらに、品種登録はされていないものの、沖縄や南九州を中心に多数の在来品種や、これらを交配して得られたと思われる品種が見られる。これらの中には形態的に類似しているものも多く、また、色素やパウダー、ペーストなどの加工品として流通すること多いため、DNAマーカーによる品種識別への期待が大きい。

門田ら（2013）は「アヤムラサキ」、「ムラサキマサリ」、「アケムラサキ」、「パープルスイートロード」、「九州137号」の5品種における *Rtspl-1* の挿入位置を分析し、「パープルスイートロード」、「九州137号」の各品種にのみ増幅が認められるDNAマーカーを報告している。一方、田中ら（2016）は39品種における *Rtspl-1* 挿入位置の網羅的解析の結果をもとにして色素原料用品種「アヤムラサキ」、「ムラサキマサリ」、「アケムラサキ」の識別用DNAマーカーの開発を試みた。その結果、対象とする全57品種の中で「アヤムラサキ」のみに検出されるDNAマーカーが得られたほか、「ムラサキマサリ」、「アケムラサキ」についても、それぞれ2個のDNAマーカーを用いることで他の品種との識別が可能であった（結果の一部を図3に示す）。これらの色素原料用品種の識別用DNAマーカーについては、電気泳動法だけでなく、クロマトグラフィーの原理を利用した簡易検出法でも検出が可能であることが確認されている（高崎ら、2014）。従って、紫いもの育成品

種についても識別の基盤となるDNAマーカーは整備されつつある。

5 サツマイモ品種識別技術の課題と展望

ここまで述べてのように、サツマイモでも品種識別関連技術の開発が進んできているが、克服すべき課題も多い。まず、識別可能な品種を拡大していく必要がある。現時点で品種に特異的な、それに近い識別マーカーが得られている品種はごくわずかであり、それ以外の品種については、多数のマーカーを組み合わせて識別しなければいけないのが現状である。識別の信頼性の向上や識別に係る労力、コストを低下させていく観点からも、主要品種については品種に特異的なマーカーを整備していくことが望ましいと思われる。

また、ある品種の識別を行う際に、識別対象が国内の品種であれば比較試料の入手は比較的容易であるが、海外の品種との識別が必要である場合には試料の入手が困難である。したがって、国内の品種が海外で栽培され、生産物が違法に国内に持ち込まれていることが疑われるケースでも、海外の品種でないことを示すのは困難である。1990年代以降、遺伝資源としてのサツマイモ品種の海外からの導入はほとんど行われていない。今後品種識別という観点からも海外の主要品種の導入は重要と考えられる。様々な加工品からの識別技術の開発も課題である。特に、色素など原材料から抽出・精製された加工品では含まれるDNA量が極端に少ないと考えられる。このような加工品を対象とした識別技術の開発は大きな課題である。

また、農作物の品種は作物ごとの審査基

準によって定められた形態的な特徴によって規定されており、DNA配列の差異の程度とは必ずしも一致しないことにも留意が必要である。多数のDNAマーカーを用いることで同一品種内での微細な変異に由来するDNA配列の差が検出される可能性がある一方で、突然変異の選抜などで得られた品種では、原品種とのDNA配列の差が極めて小さく、差が検出できないことも考えられる。したがって、形態観察の困難な加工品の場合を除き、DNAマーカーによる品種識別は形態的な特徴による識別と組み合わせて用いることが望ましい。

本稿で取り上げたサツマイモの品種識別技術はいずれもまだ研究段階の成果であり、公的なガイドラインに基づいた妥当性の検証は行われていない。品種識別技術の妥当性確保のためのガイドラインとしては2008年に独立行政法人種苗管理センター（現農研機構）でまとめられたガイドラインなどがあり、これまでにいくつかの作物で品種識別技術の妥当性の検証が行われている。また、他の作物では民間の分析機関などで品種識別のサービスが提供されている場合もあるが、筆者の知る限り、現時点ではサツマイモの品種識別サービスを提供している公的機関や民間業者は存在しない。今後、技術開発面での課題に加えて技術の妥当性の検証や受け皿となる分析機関の確保も必要である。

参考文献

- 1) 大江ら (2004) レトロトランスポゾンを利用したサツマイモ加工品の原料品種判定. 育種学研究 6, 169-177.
- 2) Shirasawaら (2017) A high-density

- SNP genetic map consisting of a complete set of homologous group in autohexaploid sweetpotato (*Ipomoea batatas*). Sci. Rep. 4, 44207.
- 3) Tanaka ら (2010) Development of cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS)-based markers for identification of sweetpotato cultivars. Sci. Hortic. 123, 436-442.
- 4) 高崎ら (2014) STHクロマトPASを利用した色素生産用サツマイモ品種判別法の開発. 日本農芸化学会2014年度大会講演要旨集. p.1548.
- 5) 田中ら (2015) サツマイモ品種「べにはるか」の品種判別マーカー開発のためのレトロトランスポゾン *Rtsp-1* 挿入個所のスクリーニング. 日本作物学会九州支部会報 81, 43-45.
- 6) 門田ら (2013) 活性型レトロトランスポゾンを利用したアントシアニン含有紫サツマイモ品種識別用DNAマーカーの開発. DNA多型 21, 47-54.
- 7) 田中ら (2016) 色素原料用サツマイモ品種の識別に利用可能なレトロトランスポゾン *Rtsp-1* 挿入個所の選定. DNA多型 24, 115-118.
- 8) 独立行政法人種苗管理センター (2008) DNA品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン—SSRを中心として—.