٤

O

0

程度

行

ဖ

4

3 c m

○○○○ ナシのマイクロサテライトマーカー 2. ナシとリンゴの SSR の相同性

○ 園芸太郎 ¹・学会花子 ²*・ 園芸次郎 ²(¹○○園研, ²△△農総研, ^{*}○○大農学部)

OOOO Microsatellite marker of Pyrus spp. 2. Sequence similarity of SSRs between pear and apple

Engei, T., H. Gakkai and J.Engei

本文の句読点は「,」および「.」

右寄せ

右寄せ

全角46文字程度

[目的] ナシのマイクロサテライトマーカー (別名 SSR: Simple Sequence Repeat) に関する知見は限られている。そこで、我々は同じバラ科に属するリンゴの SSR マーカー (Guilford ら,1997, Gianfranceschi ら,1998)をナシに適用し・・・ <mark>表題および本文のフォントは明朝体 (和文)、9ポイント・・・</mark>ナシとリンゴにおいて、SSR プライマーで増幅した PCR 産物の塩基配列を決定し、両者の相同性を明らかにしたので報告する。

[材料および方法] 9 種類の SSR プライマーで増幅したナシ '幸水' と リンゴ 'ゴールデンデリシャス'の PCR 産物についてビオチンでラベルした (GA)15 オリゴヌクレオチドをプローブとしてサザン 分析を行い,反復配列の有無を確認した. 同様に, SSR プライマー CH01H01 で増幅したナシ 36 品種の PCR 産物についてサザン分析を行った. 次に, SSR 増幅産物の塩基配列を決定するため, ナシ 8 品種 ('豊水', '幸水', '長寿', '長十郎', '晩三吉', '紅梨', 'バートレット', 'イワテヤマナシ') とリンゴ 2 品種 ('コックスオレンジピッピン', 'ゴールデンデリシャス') のゲノム DNA について 9 種類の SSR プライマーを用いて PCR を行った. PCR 産物の塩基配列は, 産物を pCR2.1 ベクター (TA cloning kit Invitrogen) にクローニングし, Big Dye terminator cycle sequencing kit (ABI) を用いて決定した.

[結果および考察]これまでに、ナシにおいてもリンゴ SSR プライマーから明瞭な増幅断片が得られ、品種識別等に有効であることを明らかにしてきた.そこで、'幸水'と 'ゴールデンデリシャス'について 9 種類の SSR プライマーを用いた PCR 産物中における反復配列の存在を確認したところ、CH01B12 の '幸水'以外はすべてポジティブなシグナルを示した(Fig. 1). '幸水'の CH01B12 を用いた PCR 産物における塩基配列は A4(GA)3A3(GA)A2(GA)A12(GA)であり、不完全な SSR であった.また、ナシ 36 品種のサザン分析では、77bp の断片以外はすべてポジティブな結果を示した.77bp の断片における反復回数は (GA)4 と少なかった.次に、ナシとリンゴ由来の SSR 増幅産物の塩基配列を比較したところ、両者では反復配列の回数が異なり、反復配列の近傍における配列がかなり保存された SSR(28f4、CH01E12、CH02B12)および反復配列領域やその両側において欠失(叉は挿入)の認められた SSR(02b1、CH01H01)が存在した.以上のことから、今回検討したナシとリンゴの SSR 塩基配列は、概して相同性が高く、属を越えて保存されていることが明らかとなった.

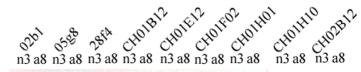


Fig. 1 Southern blots of SSR fragments amplified from Kousui (n3) and Golden Delicious (a8) probed with 5' -biotin- (AG)₁₅



3

3 c m