

RAPD-PCR を利用したワサビクローン間の識別

杉山万里・春木和久・山田員人

摘要

RAPD-PCR を利用したワサビクローン間の識別における組織培養増殖苗の変異性の検討を行った。

PCR の反応液組成は、10×PCR バッファー5 μ L、25mMMgCl₂ 5 μ L 各 25mMdNTPs0.25 μ L、Taq ポリメラーゼ (TOYOBO) 0.25 μ L、100 μ M プライマー1 μ L、テンプレート DNA (改変簡便法による抽出) 1 μ L、最終容量 50 μ L とするのが適切であった。また、温度条件は熱変性 94 度 C 45 秒、アニーリング 40 度 C 1 分、伸長反応 72 度 C 1 分でサイクル数 50 回とするのが適切であった。

植物体からのテンプレート DNA の抽出法として、改変簡便法が利用可能で、この方法を用いることにより、抽出に要する時間を削減できる。テンプレート DNA 抽出に用いる植物体の試料採取部位は、展開直後の葉片が適切であった。

ワサビクローン間の識別には、検討した 18 種類のうち 8 種類のプライマーが利用できた。

実生繁殖品種においては、個体間で増幅された DNA のバンドパターンの明らかな違いが認められたが、茎頂培養増殖帯では、同一品種、系統内でバンドパターンの違いは確認できず、RAPD-PCR はクローンの識別に有効な手段となり得ることが明らかとなった。