

## MCE-202 “MultiNA” を用いたRAPD-STIS法による 白いんげん豆（手亡豆）の品種判別

### Identification of Common Bean Cultivars by RAPD-STIS with MCE-202 "MultiNA"

国内では植物の新しい品種を創作，登録した育種者に対して育種法により育種者権が認められています。いんげん豆は世界中で栽培され，多くの品種が流通しています。なかでも白いんげん豆（手亡豆）の国内品種は，主に白餡（あん）の材料として用いられていますが，国内品種の海外における不許可栽培，逆輸入品の違法流通など育種者権侵害の問題が発生しています。

そこで白いんげん豆の品種を判別する方法として，子実の外観検査と共に定性PCRを用いた遺伝子検査が有効であり，RAPD-STIS(Random Amplified Polymorphic DNA-Sequence Tagged Sites)法が開発されています。今回，MultiNAを用いたRAPD-STIS法による白いんげん豆の品種判別についてご紹介します。

Y. Harada & Y. Sogabe

#### ■分析手順

##### Experimental Procedure

サンプルとして市販の白いんげん豆国内2品種（雪手亡，銀手亡）と海外2品種（ピービーン，グレートノーザン）を用いました。品種判別はRAPD-STIS法(特開2004-16008)に従いました。RAPD法ではランダムプライマーを用いますが，得られたPCR産物の配列情報をもとにプライマーの選別を行うのが，RAPD-STIS法の特長です。上記4種の白いんげん豆の各乾燥粒をハンマーにより粉碎し，DNeasy Plant Mini KitによりDNA抽出を行いました。ライフサイエンス紫外可視分光光度計(BioSpec-nano)で抽出液を測定し，DNA濃度を決定しました。白いんげん豆からの抽出DNA10ngを鋳型としてSP01，SP02，SP03の3種類のプライマーセットでそれぞれPCRを行いました。PCR産物の分析をMultiNAにより実施し，PCR産物の出現パターンを解析しました(Fig. 1)。

#### ■試薬 / キット

##### Reagents / Kits

- ・ DNeasy Plant Mini Kit(50)  
(キアゲン) 69104
- ・ DNA-1000 キット  
(島津製作所) P/N 292-27911-91
- ・ SYBR® Gold nucleic acid gel stain  
(インビトロジェン) S11494
- ・ 100 bp Ladder  
(タカラバイオ) 3407A

#### ■PCR産物分析条件

##### Analytical Condition of PCR Products

分析装置：MultiNA

分析モード：DNA-1000オンチップモード

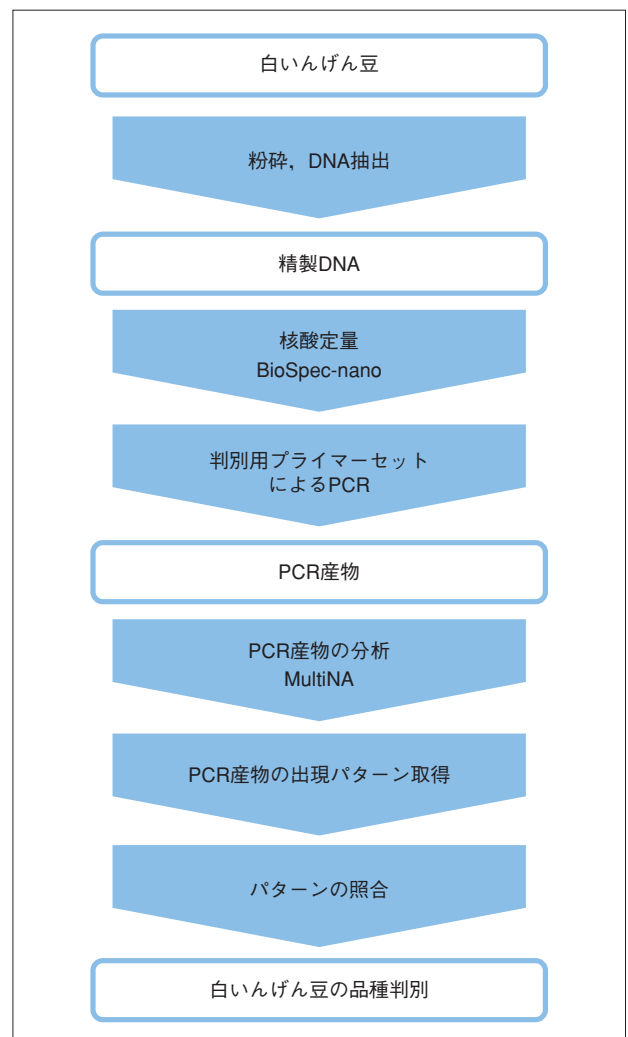


Fig.1 白いんげん豆の品種判別手順  
Identification Procedure of Common Bean Cultivars

## 結果

### Results

4種類（雪手亡、銀手亡、ピービーン、グレートノーザン）の白いんげん豆から抽出したDNAを鋳型としてPCRを実施し、得られたPCR産物のMultiNAによる分析結果をFig. 2に示します。RAPD-STIS法による各品種のPCR産物の判別用パターンはTable 1のようになります。今回の分析により得られた出現パターンは判別用パターンと一致しました。

アガロースゲル電気泳動分析ではバンドが不鮮明になったり、広がったり、泳動が鉛直方向にならないなどの原因によりPCR産物の出現パターン取得に支障をきたすケースが少なくありません。MultiNAはこれらの問題を解決し、PCR産物の出現パターンの取得をスムーズに進めることができます。

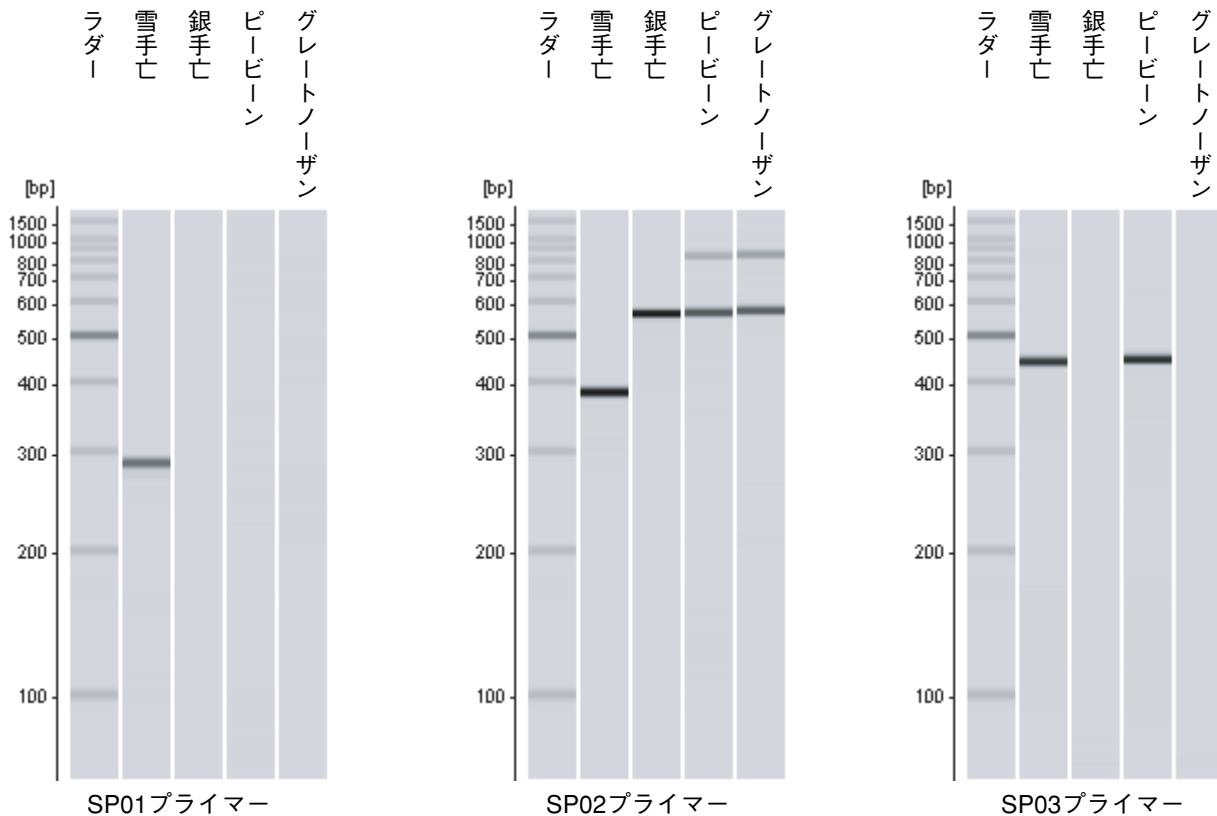


Fig.2 MultiNAによる白いんげん豆抽出DNAのPCR産物分析結果（ゲルイメージ）  
Analytical Results (Gel Images) of PCR Products of Extracted DNA from Common Bean with MultiNA

Table 1 白いんげん豆PCR産物の判別用パターン  
Identification Patterns of PCR Products from Common Bean

品種	SP01プライマー				品種	SP02プライマー				品種	SP03プライマー			
	雪手亡	銀手亡	ピービーン	グレートノーザン		雪手亡	銀手亡	ピービーン	グレートノーザン		雪手亡	銀手亡	ピービーン	グレートノーザン
290bp	+	-	-	-	800bp	-	-	+	+	450bp	+	-	+	-
					560bp	-	+	+	+					
					390bp	+	-	-	-					



初版発行：2010年7月

**島津製作所** 分析計測事業部  
応用技術部

島津分析コールセンター

● 0120-131691 (携帯電話不可)  
● 携帯電話専用番号 (075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>  
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。