

平成 21 年度シーズ発掘試験（発掘型）研究報告書

報告日：平成 22 年 4 月 27 日

技術分野	0101
------	------

課題名：突発的辛味発現のない野菜用トウガラシ品種育成に向けた DNA マーカー開発

研究期間：平成 21 年 7 月 16 日～平成 22 年 3 月 31 日

1. 担当コーディネータ

氏名（役職）	福沢 稔（科学技術コーディネータ）		印
所属機関名	信州大学農学部		
連絡先	所在地	〒399-4598 長野県上伊那郡南箕輪 8304	
	TEL/FAX	0265-77-1647	
	E-mail	fminoru@shinshu-u.ac.jp	

2. 代表研究者（代表研究者のみ記入してください。）

氏名（役職）	松島憲一（准教授）		印
所属機関名	信州大学大学院農学研究科機能性食料開発学専攻		
連絡先	所在地	〒399-4598 長野県上伊那郡南箕輪 8304	
	TEL/FAX	0265-77-1639 / 1700	
	E-mail	matuken@shinshu-u.ac.jp	

3. 共同研究者（JST と委託研究契約を締結した共同研究機関の場合のみ記入してください。）

氏名（役職）			
所属機関名			
連絡先	所在地		
	TEL/FAX		
	E-mail		

4. 試験研究の結果報告

(1) 試験内容

試験項目: DNA マーカー開発としては、連鎖 RAPD マーカーの探索と得られたマーカーの CAPS 化を行った。また、品種開発に向けて、交配後代 (F_2) の栽培と辛味による評価・選抜を平行して行う予定であったが、 F_1 世代の自殖により得られた F_2 世代の種子の数が少なく、有効な選抜には至らなかった。

試験内容: これまでに極低辛味系統 S3212 を用いて得られた交配後代 F_2 の分離集団の冷凍保存若葉から DNA を抽出し、バルク法により *cf* 遺伝子座に連鎖した RAPD マーカーの探索を行った。得られたマーカーにより *cf* 遺伝子座周辺の連鎖地図を作成し、その中で最も近接しているマーカー (OPF14) を、クローニングして配列をシーケンスし、共優性マーカーである CAPS マーカー (CAPScfF1R2 (仮称)) に変換した。また、ししとうと S3212 との交配後代 (F_2) の展開と選抜については、 F_1 世代を自殖して F_2 を得るために秋冬期のガラス室内での栽培により栽培を試みた。なお、目的とした CAPS マーカーの開発が発表申込期日に間に合わなかったため秋・春季の園芸学会での発表には至らなかった。

(2) 得られた成果

① バルク法による極低辛味遺伝子近接 RAPD マーカーの探索

これまで極低辛味遺伝子 (*cf*gene) に連鎖した RAPD マーカーは OPQ09-1100、OPD03-350、OPD11-400 の 3 マーカーだけであったが (Saritnum *et. al.* 2008)、本研究により、OPB01、OPAD05、OPAI03、OPAN17、OPF14、OPF15 の 6 マーカーを得ることができ (右図●印のマーカーのうち CAPScfF1R2 を除いたもの)、その中でも OPF14 については極低辛味遺伝子から 1.0cM と非常に近い距離であった。

② CAPS マーカーの開発

前述①により、極低辛味最も近傍に位置した RAPD マーカー OPF14 をクローニングおよび配列のシーケンスを行い、その結果に基づきマーカー選抜に用いやすい共優性マーカーである CAPS マーカーを開発したところ、極低辛味遺伝子から 1.3cM の距離にある CAPScfF1R2 を得ることができた。これは目標としていた 3cM よりも近い距離で極低辛味遺伝子に連鎖するマーカーであり、この後、極定辛味形質を導入するためのマーカー選抜に用いるに十分な DNA マーカーであると考えられた。

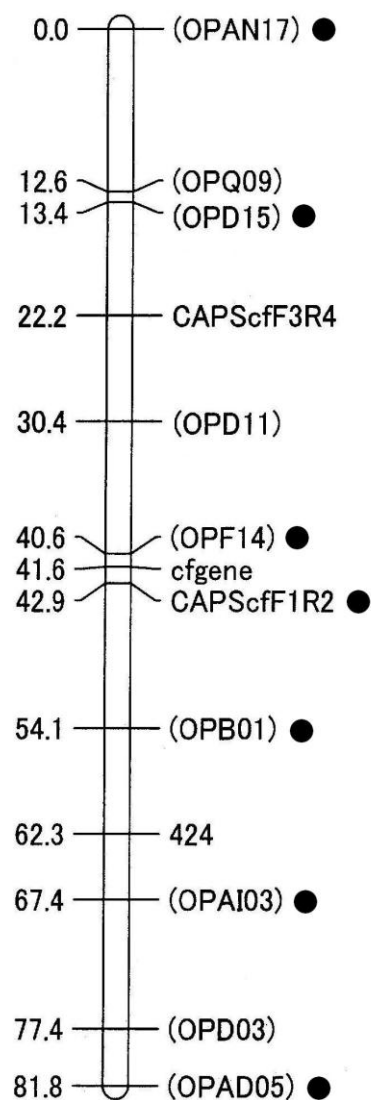


図. 極低辛味遺伝子近傍の連鎖地図
●を付したマーカーが本研究で獲得できたマーカーである。

③ F₂世代の選抜

試験に用いる予定であったししとうと S3212 の交配後代 F₂ については種子数も少なく、さらに発芽させることが出来なかった。このため、再度、親世代を交配し F₁ 世代を獲得した。この結果、ししとうと S3212 の交配後代の F₁ 世代の種子についてはししとうを母本にした場合は約 200 粒獲得できたが、S3212 を母本にした場合は種子が獲得できなかった。獲得できた種子のうち約 20 粒をインキュベーターに播種し秋・冬期にガラス室内で栽培したが、温度管理された室内であるにもかかわらず日照量不足のためと思われる生育不良に見舞われ、F₂ 世代の獲得には至らなかった。今後、春夏栽培により、確実な F₂ 世代の獲得を試みることにする。

外部発表・特許出願等

* 今回の研究課題成果についてののみ、平成 21 年度中に掲載・発表・出願等したものをカウントしています。

項	目	数
① 発表論文	国内論文数	0
	海外論文数	0
② 口頭発表	国内発表数	0
	海外発表数	0
③ マッチングイベントへの参加（発表）	参加（発表）数	0
④ 展示会出展	出展数	0
⑤ 特許出願	国内出願数	0
	外国出願数	0
⑥ 掲載/放映 (採択記事は除く)	雑誌掲載数	0
	新聞掲載数	0
	テレビ放映数	0
⑦ 他事業への展開	採択数	0

① 発表論文

なし

② 口頭発表（代表研究者以外の方が発表した場合のみ、発表者氏名と所属を記載しています。）

なし

③ マッチングイベントへの参加（発表）

（代表研究者以外の方が発表（説明）した場合のみ、発表（説明）者氏名と所属を記載しています。）

なし

④ 展示会出展（③ マッチングイベントを除く）

（代表研究者以外の方が説明した場合のみ、説明者氏名と所属を記載しています。）

なし

⑤ 特許出願：(4) に記載。

⑥ 掲載・放映

なし

⑧ 他事業への展開

なし

(3) 今後の展開

本課題修了1年以内には、本研究期間中に獲得できなかったししとうとS3212間のF2世代の獲得を目指してF1世代の自殖をおこなうこととしており、既にF1世代の播種を終えたところである。得られたF2世代では本研究期間中に開発した極低辛味遺伝子連鎖のマーカースを使ってその有用性を確認し、実際の選抜を行うものとする。

また、極低辛味遺伝子に連鎖したマーカーク群の探索と開発について園芸学会終期大会で発表するとともに、同学会の英文誌に投稿する予定で準備中である。

さらに、極低辛味遺伝子の発現機構解明とその実用化のための研究をスタートさせるために他事業への応募も検討する。

また、本年度以降も、引きつづき、ししとうに極低辛味形質を導入するために戻し交配と開発したDNAマーカーによるマーカー選抜を繰り返し、突発的辛味発現のない安定極低辛味ししとうの開発をすすめることとする。また、ししとうの研究では実績のある高知県の農業技術センター、万願寺トウガラシなどの甘味トウガラシの研究で実績のある京都府農林水産技術センター生物資源研究センターとも共同でより実用的な品種の開発を行うこととしておいる。

さらに、この品種開発と同時進行で、この極低辛味遺伝子の発現機構解明および実際にどのような環境に影響されないかどうかの確認のための研究を実施することとしている。

(4) 知的財産権について

なし

(5) 今後のフォローアップ等について（コーディネータ記載）

① 本試験終了後1年後までに行う活動（アクション）について

本研究の研究対象となっている極低辛味遺伝子については、辛味制御遺伝子としては、これまでにみられない作用をもたらすものであり、今後の商品化（品種化）については期待するところが多い。本試験終了後1年後までにはさらに品種力の推進やその発現機構解明のために、他事業に応募することを検討し、獲得に当たっては他府県研究機関や種苗会社との共同研究も視野に入れることとしている。

③ 試験終了後3年後までに行う活動（アクション）について

④ 試験終了後3年後以降（長期的）に行う活動（アクション）について

品種開発には、効率よいマーカー選抜を用いたとしても5年以上の育種期間がひつようとなるため、試験終了後3年後以降は長期的に品種の開発を見守ることとし、同時並行で行う発現機構の解明などの結果をみつつ、特許等の知的財産の取得が可能か検討することとする。