

CAPS マーカーによるカンキツ 12 品種の果実の
DNA 品種識別技術

国立研究開発法人

農業・食品産業技術総合研究機構

2020 年 3 月 27 日 初版

CAPS マーカーによるカンキツ 12 品種の果実の DNA 品種識別技術

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
果樹茶業研究部門

1. はじめに

カンキツは、ミカン科ミカン亜科のミカン属(*Citrus*)、キンカン属(*Fortunella*)およびカラタチ属 (*Poncirus*) 等に属する植物の総称である。このうち、常緑果樹として食用に用いられるのはミカン属とキンカン属の一部とされている。日本では、生食、ジュース用として「ウンシュウミカン」(*Citrus unshiu*)や「オレンジ」(*Citrus sinensis*)、香酸カンキツとして、香味や食酢用として「レモン」(*Citrus limon*)や「ユズ」(*Citrus junos*)などが利用されている。

日本でのカンキツの栽培は、総栽培面積 66,348.5 ha である (図 1、大臣官房統計部生産流通消費統計課「平成 27 年耕地及び作付面積統計」(2016 年 2 月 26 日公開) および農林水産省生産局園芸作物課「平成 27 年産 特産果樹生産動態等調査」(2018 年 2 月 20 日公開) から作成)。平成 27 年産の品種およびグループ別栽培面積では、「ウンシュウミカン」が 67.2%、「不知火」が 4.4%、「イヨ」が 3.7%、「ユズ」が 3.3%、「ポンカン」が 2.7%と続いている。特に、「ウンシュウミカン」はその他のカンキツ類より品種数が非常に多く、枝変わり等により幅広い収穫時期や優良な着色系が確立された品種によって構成されている。一方、「ウンシュウミカン」以外のカンキツはそれぞれの種内では品種数は多くないものの、上記農林水産省でデータ収集されている種は在来種や種間交雑等により 87 種類に及んでいる。

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹茶業研究部門 (以下、果樹茶部門) が育成した「不知火」は、育成品種としては 40 年ほど前に開発されたものの、平成 27 年度の栽培面積が 2,916.3ha と現在においても多くの生産地で広いシェアを誇る。近年では「みはや」、「あすみ」などの糖度が高く、「ウンシュウミカン」と同等の β -クリプトキサンチン含有量を特性とする品種が育成され、平成 26 年 9 月 30 日に品種登録されるとともに、農林水産省の補助事業を利用して海外出願もされている。これらの優良な登録品種の国内外での種苗の管理、侵害物品への権利行使のためには、侵害か否かを迅速に判定する技術が必要である。DNA 品種識別は、簡易で迅速に品種識別が可能であり、侵害対策の有用な技術である。また、この技術は、登録品種の偽装表示、税関による侵害物品の水際取締りなどの利用も考えられ、消費者に対する食の安全・安心の確保や国内のカンキツ生産を侵害物品から守るためにも有用であると考えられる。

これまでに、果樹茶部門は、制限酵素処理により配列差を検出する Cleaved

Amplified Polymorphic Sequence (CAPS)マーカーを9種類用いて、主要なカンキツ品種を含む33品種・系統の識別する技術について報告している(二宮ら、2015)¹。また、19種類のCAPSマーカーを用いて、果樹茶部門で育成された交雑品種を中心に59品種を識別する技術を報告している(Nonaka et al., 2017)²。CAPSマーカーの利点としては、安定な結果が得られやすく、実験担当者やサンプルの状態、DNA抽出方法などによって結果が左右されにくいことや、手法も比較的シンプルで、DNAシーケンサなど高価な解析装置や高度な技術が必要ないことから、様々な検査機関で容易に取り組めることが挙げられる(イチゴ品種識別マニュアル、2007)³。上記報告およびShimadaら(2014)⁴が開発した708個のCAPSマーカーと、その研究過程で開発した未公表となっているCAPSマーカーの中から正確な遺伝子型の判定が可能等の条件でマーカーを絞り込み、12種類のCAPSマーカーによるカンキツ22品種のDNA品種識別技術を開発し、「CAPSマーカーによるカンキツ22品種のDNA品種識別技術マニュアル」⁵として公開している。

近年、「みはや」など優良品種の穂木が海外へ不当に流出し、海外で無断栽培された果実が日本へ逆輸入される懸念が生じている。開発した優良品種の育成者権の権利侵害を未然に防ぐために、海外で無断栽培された優良品種の果実が国内へ逆輸入されることのないよう輸入果実の検査体制を強化する取り組みが必要である。そこで、「CAPSマーカーによるカンキツ22品種のDNA品種識別技術マニュアル」⁵の一部を改訂し、国内で流通するカンキツ12品種の果実から抽出したDNAを用いた品種識別技術を作成した。

¹ 二宮 泰造、島田 武彦、遠藤 朋子、野中 圭介、大村 三男、藤井 浩(2015) CAPSマーカーによるカンキツの品種識別法の開発と親子鑑定。園学研、14(2):127-133。

² Nonaka, K., H. Fujii, M. Kita, T. Shimada, T. Endo, T. Yoshioka and M. Omura (2017) Identification and parentage analysis of citrus cultivars developed in Japan by CAPS markers.

The Horticulture Journal 86 (2): 208-221. DOI <https://doi.org/10.2503/hortj.OKD-026>.

³ DNAマーカー(CAPS法)によるイチゴ品種識別マニュアル(2007)

⁴ Shimada, T., H. Fujii, T. Endo, T. Ueda, A. Sugiyama, M. Nakano, M. Kita, T. Yoshioka, T. Shimizu, H. Nesumi, Y. Ikoma, T. Moriguchi and M. Omura (2014) Construction of a citrus framework genetic map anchored by 708 gene-based markers.

Tree Genetics & Genomes. 10: 1001-1013. DOI 10.1007/s11295-014-0738-9.

⁵ 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構(2019) CAPSマーカーによるカンキツ22品種のDNA品種識別技術マニュアル。

https://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/publication/pamphlet/tech-pamph/130601.html

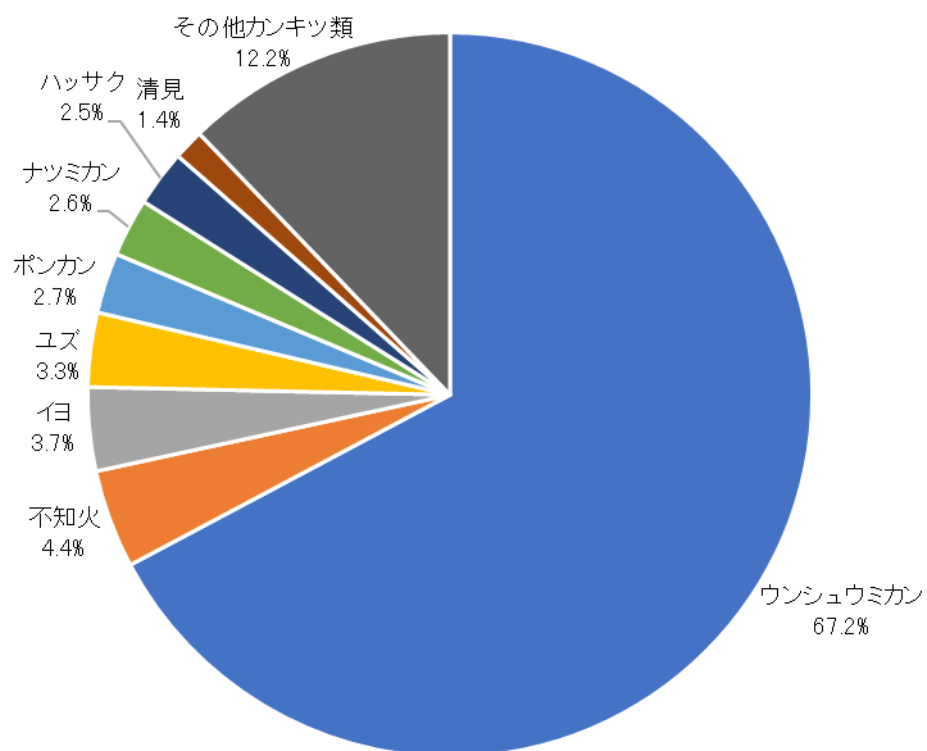


図1 カンキツの品種別栽培面積（平成27年産）
総栽培面積 66,348.5 ha

2. 一般的注意事項及びDNA抽出法について

DNA 品種識別分析における一般的注意事項及び実験、サンプルからの DNA 抽出方法については、＜植物のDNA品種識別についての基本的留意事項 — 技術開発と利用のガイドライン—(http://www.hinshu2.maff.go.jp/pvr/dna_manual/guideline.pdf)＞及び＜DNA品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン(http://www.hinshu2.maff.go.jp/pvr/dna_meeting/H20_2nd/guideline.pdf)＞を参照のこと。

カンキツの果肉や果皮には多糖類やポリフェノールが多く蓄積していることから、DNeasy Plant Pro kit (キアゲン社)を用いることで夾雑物の少ないDNAが抽出できる。夾雑物の混入により凍結中に抽出したDNAの劣化が生じるおそれがあることから、抽出後3カ月以上経ったDNAは分析に使用しないことが望ましい。

＜準備するもの＞

1.5ml 又は 2ml チューブ (滅菌済み)、乳鉢・乳棒 (滅菌済み、180°Cで2時間乾熱滅菌したもの)、薬さじ (滅菌済み、180°Cで2時間乾熱滅菌したもの)、液体窒素、2ml Tissue Disruption Tube (キアゲン社)、MB Spin Column (キアゲン社)、2 ml Collection Tube (キアゲン社)、1.5 ml Collection Tube (キアゲン社)、Solution CD1 (キアゲン社)、Solution PS (キアゲン社)、Solution CD2 (キアゲン社)、Buffer APP (キアゲン社)、Buffer AW1 (エタノール添加、キアゲン社)、Buffer AW2 (エタノール添加、キアゲン社)、Buffer EB (キアゲン社)、滅菌超純水、高速遠心機1台 (1.5~2ml チューブが利用可能なもの) など。Solution CD1、Buffer APP など溶液中に析出がみられた場合は使用前に60°Cで保温する。

＜実験操作＞

基本操作は、キアゲン社のプロトコールに従っているが、抽出したDNAの収量を上げるため、サンプル量など一部修正箇所あり。キアゲン社のプロトコール通りでも問題なくDNA抽出が可能である。

1. 新鮮な果実からさじょう (図2) を取り出し、約1gのさじょうを計量する。凍結した果実を用いる場合、計量中に解凍しないよう迅速に行う。
2. 液体窒素で乳鉢・乳棒などを利用して、サンプルを凍結状態で粉砕する。
3. 冷却した薬さじを用いて粉砕したサンプル約300mgグラム (薬さじの小さじ大盛り3杯程度) を2 ml Tissue Disruption Tubeに入れる。サンプルの挿入前に450 μ lのSolution CD1と75 μ lのSolution PSを2ml Tissue Disruption Tubeへ事前に加える。
4. ボルテックス、マイクロミキサー等の機器を利用して、室温または68°Cで

- 15 分間混合する。高速遠心機で $12,000\times g$ 、2 分間、室温で遠心する。
- 4 の遠心分離で得られた上清 $450\mu\text{l}$ を 2ml Collection Tube (1.5ml)に移し、 $250\mu\text{l}$ の Solution CD2 を加えてボルテックスで 5 秒間混合する。高速遠心機で $12,000\times g$ 、1 分間、室温で遠心する。
 - 5 の遠心分離で得られた上清 $500\mu\text{l}$ を 2ml Collection Tube (1.5ml)に移し、 $500\mu\text{l}$ の Buffer APP を加えてボルテックスで 5 秒間混合する。
 - 6 の混合液 $600\mu\text{l}$ を MB Spin Column に移し、高速遠心機で $12,000\times g$ 、1 分間、室温で遠心した後、溶出液を捨てる。
 - 6 の残液を MB Spin Column に移し、高速遠心機で $12,000\times g$ 、1 分間、室温で遠心した後、溶出液を捨てる。
 - MB Spin Column を 2ml Collection Tube に装着し、 $650\mu\text{l}$ の Buffer AW1 を MB Spin Column に加え、高速遠心機で $12,000\times g$ 、1 分間、室温で遠心した後、溶出液を捨てる。
 - $650\mu\text{l}$ の Buffer AW2 を MB Spin Column に加え、高速遠心機で $12,000\times g$ 、1 分間、室温で遠心した後、溶出液を捨てる。
 - 高速遠心分離機で $12,000\times g$ 、2 分間、室温で遠心した後、MB Spin Column を 1.5ml Collection Tube に移し、 $50\mu\text{l}$ の Buffer EB を加えて 5 分間室温で放置する。
 - 高速遠心機で $12,000\times g$ 、1 分間、室温で遠心した後、MB Spin Column を捨て、溶出液を回収する。

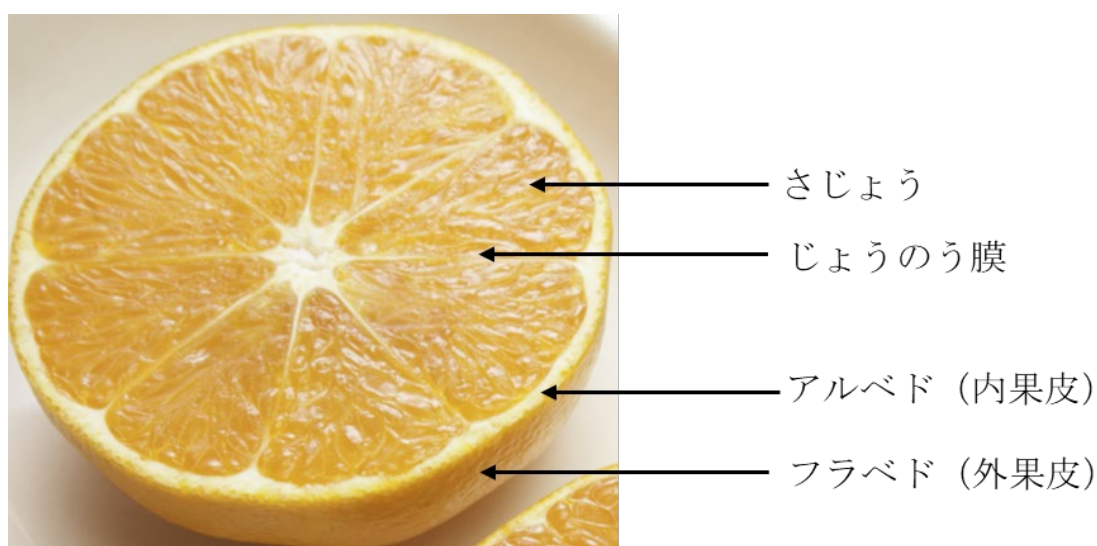


図 2. カンキツの果実組織の名称

カンキツ果実は、フラベド、アルベド、じょうのう膜（さじょうを包む膜）、さじょうなどで構成されている。

3. CAPS マーカーを用いた PCR 反応

果実サンプルでバンドの検出や遺伝子型の判定が容易なことを条件として絞り込んだ、5 種類の CAPS マーカーを用い 12 品種について PCR 反応を行う。PCR 反応条件は、遺伝子型の誤判定を避けるため、非特異的なバンドの出現を抑制する温度調整を施したプロトコールである。

<準備するもの>

1.5ml 又は 2ml チューブ (滅菌済み)、96 穴 PCR プレート又は 8 連チューブ (Thermo Fisher Scientific/ Applied Biosystems 社、以下 ABI 社と記載)、キャップまたはフルプレートカバー (ABI 社)、サンプル DNA 溶液 (10ng/μl に調製したもの)^{注)}、AmpliTaq Gold (ABI 社)、10×PCR buffer (II) (AmpliTaq Gold 付属)、2mM dNTPs mix (AmpliTaq Gold 付属)、MgCl₂ 溶液 (AmpliTaq Gold 付属)、1/10TE バッファー、滅菌超純水、CAPS プライマー溶液 (フォワードプライマーとリバースプライマーを各 10pmol/μl 含む溶液、1/10TE バッファーで希釈)、PCR システム GeneAmp PCR System 9700 (ABI 社) など。

^{注)} 濃度が 10ng/μl 以下のサンプルは原液を使用する。

<用いた CAPS マーカー>

それぞれの CAPS マーカーについて、マーカー名、フォワードプライマーとリバースプライマーの塩基配列、ターゲットサイズ、座乗染色体番号を、表 1 に掲載した。

<本マニュアルで識別可能なカンキツ 12 品種>

「ウンシュウミカン (宮川早生 (みやがわわせ))」、「グレープフルーツ (ダンカン)」、「不知火 (しらぬひ)」、「イヨ (宮内伊予柑 (みやうちいよかん))」、「ポンカン (太田ポンカン (おおたぼんかん))」、「みはや」、「あすき」、「津之輝 (つのががやき)」、「西南のひかり (せいなんのひかり)」、「はれひめ」、「甘平 (かんぺい)」、「愛媛果試第 28 号 (えひめかしだい 28 号) (紅まどんな (べにまどんな))」。

表1 CAPSマーカー

マーカー名	フォワードプライマー(5'-3') リバースプライマー(5'-3')	染色体	増幅サイズ(bp)	制限酵素	buffer	反応温度
Bf0158-3	AAAAGCATTACAGAGGAGTTCGAC GGAAATTCATTAACCGTATCCGCA	3	352	<i>Pvu</i> II	M	37°C
Tf0271	AGTTATCCAACGGAATCT CATGGCAATACTTTGTAGTTC	6	720	<i>Rsa</i> I	M	37°C
Tf0419	GGTGATGAGAAGCCAACTTAT ATCTTGATCATGGCGAAAT	3	644	<i>Pvu</i> II	M	37°C
Tf0420	TGGAGGCCATTTCTTATTAGA CTCTGACCACGGGATCA	3	444	<i>Hae</i> III	M	37°C
IF0208	AATATTTCTGCGAATCACTGA GCAAACCAACCAAGGA	5	545	<i>Hin</i> fI	H	37°C

<基本操作>

(1) 以下のように PCR 反応液を調製する。

試薬名	分量
10×buffer (II)	1.0 μl
MgCl ₂	1.0 μl
dNTPs	0.8 μl
CAPS プライマー溶液	0.5 μl
AmpliTaq Gold	0.1 μl
滅菌超純水	5.6 μl
サンプル DNA 溶液	1.0 μl
計	10.0 μl

(2) PCR システム GeneAmp PCR System 9700 などを用いて、以下のプログラムで、PCR 反応を行う。

94°C 5分

94°C 30秒	}	各1サイクル
62, 60°C 30秒		
72°C 1分		

94°C 30秒	}	2サイクル
58°C 30秒		
72°C 1分		

94°C 30秒	}	34サイクル
56°C 30秒		
72°C 2分		

72°C 7分

4°C ∞

4. アガロースゲル電気泳動による増幅断片の確認

上記3項で得た反応溶液を2%アガロースゲルにアプライし、電気泳動により以下の方法でPCR増幅産物に異常がないか確認する。

<準備するもの>

96穴PCRプレート(ABI社)又は滅菌済みテストプレート、8連キャップ(ABI社)又はプレートシール、アガロース(ニッポンジーン社)、50×TAE(ニッポンジーン社)、Loading Dye(×6又は×10)、100bp DNAラダーマーカー(バイオメディカルサイエンス社)、エチジウムブロマイド(EtBr)溶液(10 mg/ml)、ゲルメーカー(Mupid社)、サブマリン型電気泳動装置(Mupid社)、ゲル撮影システム(アトー社)など。

<基本操作>

- (1) アガロースゲル(2%)を作製する。2gのアガロースを計量し、300 ml 三角フラスコに入れる。スターラーバー及び1×TAE 100 mlを加えてよく混ぜる。電子レンジ内で温めてアガロースを溶解させる。この時、完全に溶解していることを確認する。コームを立てたゲル作製用ユニットの中に、泡立たないように流し込み、固まるまで(およそ1時間)放置する。
- (2) 1.0 µlのLoading Dye(×6)を滅菌済みテストプレートへ分注し4 µlのPCR反応液を添加する。全量を泳動槽にセットした2%アガロースゲルにアプライし、1×TAE中で、Loading Dye(×6)のBromophenol Blueの色素がゲルの2/3程度に来るまで電気泳動を行う(約40分間)。
- (3) 電気泳動終了後、ゲルを約0.5 µg/mlのEtBr溶液中で30分間程度染色し、紫外線照射下で、PCR増幅産物に異常がないか確認・撮影する。

※EtBrは変異源であるので取り扱いには注意すること。

5. 制限酵素処理によるPCR増幅産物の消化

上記3項で得たPCR増幅産物を、それぞれのマーカーに対応した制限酵素で処理し、後述の6項で遺伝子型を判定するための準備を行う。マーカーに対応した制限酵素は表1のプライマー情報を参照する。

<準備するもの>

1.5ml又は2mlチューブ(滅菌済み)、96穴PCRプレート又は8連チューブ(ABI社)、キャップまたはフルプレートカバー(ABI社)、PCR反応液、各種制限酵素(ニッポンジーン社)、各種制限酵素付属の10×buffer、滅菌超純水、PCRシステムGeneAmp PCR System 9700(ABI社)など。

<基本操作>

(1) 以下のように制限酵素反応液を調製する。

試薬名	分量
PCR 反応液	4.0 μ l
10×buffer	1.5 μ l
滅菌超純水	9.3 μ l
制限酵素	0.2 μ l
計	15.0 μ l

(2) PCR システム GeneAmp PCR System 9700 などを用いて、37°C 3 時間でインキュベーションを行う。

6. アガロースゲル電気泳動による多型の検出

上記 5 項で得た反応溶液を 2%アガロースゲルにアプライし、電気泳動により以下の方法で多型を確認する。

<準備するもの>

4. と同様。

<基本操作>

(1) アガロースゲル(2%)を作製する。2g のアガロースを計量し、300 ml 三角フラスコに入れる。スターラーバー及び 1×TAE 100 ml を加えてよく混ぜる。電子レンジ内で温めてアガロースを溶解させる。この時、完全に溶解していることを確認する。コームを立てたゲル作製用ユニットの中に、泡立たないように流し込み、固まるまで（およそ 1 時間）放置する。

(2) 2 μ l の Loading Dye (×6) を滅菌済みテストプレートへ分注し 10 μ l の制限酵素反応液を添加する。全量を泳動槽にセットした 2%アガロースゲルにアプライし、1×TAE 中で、Loading Dye (×6) の Bromophenol Blue の色素がゲルの 2/3 程度に来るまで電気泳動を行う（約 40 分間）。

(3) 電気泳動終了後、ゲルを約 0.5 μ g/ml の EtBr 溶液中で 30 分間程度染色し、紫外線照射下で、多型を確認・撮影する。

※EtBr は変異源であるので取り扱いには注意すること。

7. 遺伝子型判定とトラブルシューティング

(1)判定

各マーカーを用いた遺伝子型は、表 2 のとおりである。また、それぞれのマー

カーにおける電気泳動像については、参考資料を参照のこと。

(2)トラブルシューティング

①PCR 反応を行っても、目的のバンドが見られない。下の方にぼやけた像（プライマーダイマー）が出る。

ア PCR 増幅が失敗している可能性があるため、氷上操作を確実に行う。プライマーを含む溶液を 4°C 以上にしない。

イ プライマーの劣化の可能性があることから、凍融解を繰り返したプライマーは破棄し、新たに調製し直すこと。

ウ 上記ア、イの対策を実施しても、目的のバンドが見られない場合は、試薬を取り替える。

②PCR 反応でバンドは見られるが、制限酵素処理後に明確な品種間多型が出ない。

ア AmpliTaq Gold 以外の Taq Polymerase を使用すると、正しい多型が出ない恐れがある。

③制限酵素処理後、はっきりした品種間多型は見られるが、酵素切断の切れ残りによるバンドが現れるため、正しい多型の判断が難しい。

ア サーマルサイクラーの機種によって温度が微妙に異なる可能性があるため、適切なアニーリング温度でない場合がある。予備試験でアニーリング温度を調整し、使用する機器の最適条件を設定すること。

イ 制限酵素処理にエアーインキュベーターを用いている場合、酵素処理が不十分な可能性があるため、ウォーターバスまたはサーマルサイクラーを用いてインキュベートを行う。

④制限酵素処理後、低分子（200bp 以下）のバンドが見られない。

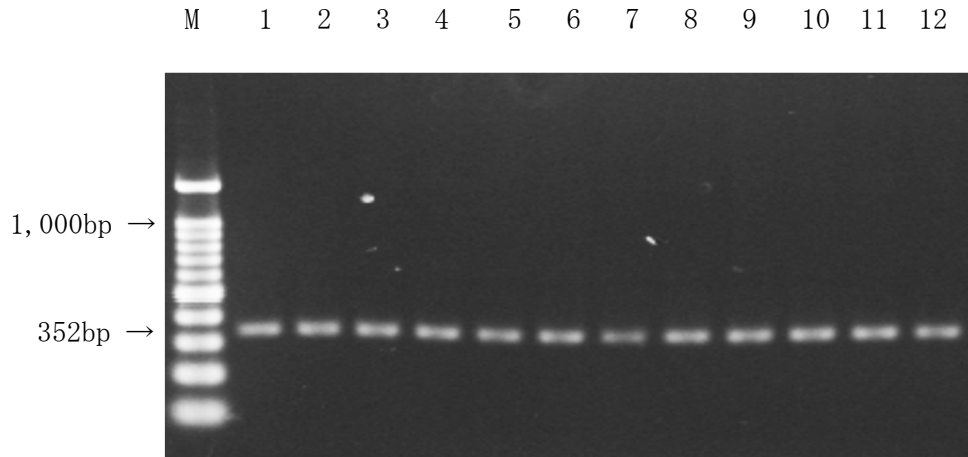
ア 泳動時間が長すぎる場合、200bp 以下のバンドが像として認識できなくなる（ぼやけるまたは消失する）場合がある。サブマリン型電気泳動装置（Mupid 社）使用の場合は約 40 分間を泳動時間の目安とする。

イ アガロースゲルの濃度が 2% より低い場合、200bp 以下のバンドが像として認識できなくなる（ぼやけるまたは消失する）場合がある。2% 以上の濃度で泳動することが望ましい。

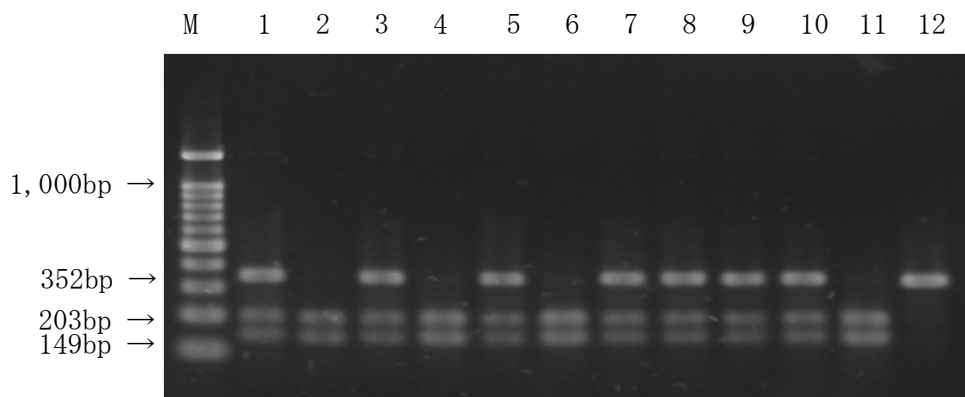
表2 各マーカーの遺伝子型

品種名	マーカー名	Bf0158-3	Tf0271	Tf0419	Tf0420	If0208
		<i>Pvu</i> II	<i>Rsa</i> I	<i>Pvu</i> II	<i>Hae</i> III	<i>Hin</i> f I
1 ウンシュウミカン(宮川早生)		AB	AB	BB	AB	AB
2 グレープフルーツ(ダンカン)		BB	AA	AB	AA	AA
3 不知火		AB	AA	AB	AA	BB
4 イヨ(宮内伊予柑)		BB	AA	AB	BB	AB
5 ポンカン(太田)		AB	AA	AB	AB	BB
6 みはや		BB	AA	AB	AA	BB
7 あすき		AB	AB	BB	AA	BB
8 津之輝		AB	AA	BB	AB	BB
9 西南のひかり		AB	AB	BB	AB	BB
10 はれひめ		AB	AB	BB	AA	AB
11 甘平		BB	AA	BB	AB	BB
12 愛媛果試第28号(紅まどんな)		AA	AB	AB	AA	AB

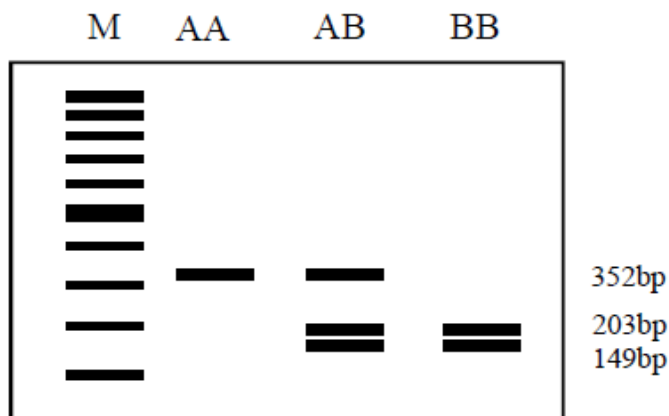
a) PCR 増幅



b) 制限酵素処理後



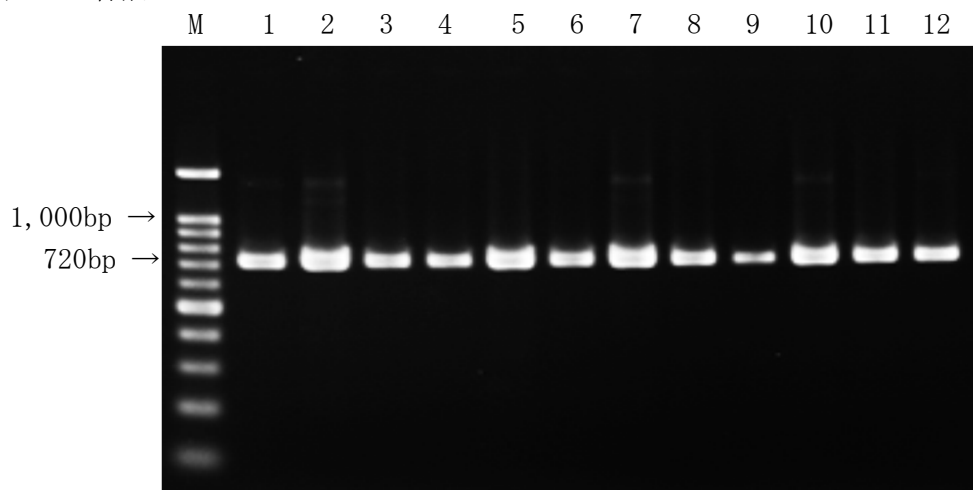
c) 制限酵素処理後にみられる遺伝子型とバンドパターン模式図



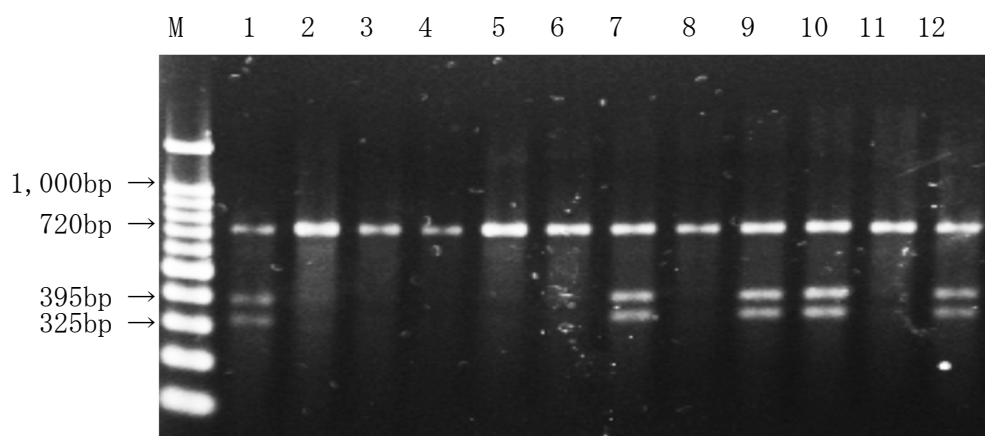
Bf0158-3/*Pvu* II のPCR産物の電気泳動図(a)、制限酵素処理後の電気泳動図(b)、および制限酵素処理後にみられる遺伝子型とバンドパターン模式図(c)

M: 100bpラダー、1: 「ウンシュウミカン (宮川早生)」、2: 「グレープフルーツ (ダンカン)」、3: 「不知火」、4: 「イヨ (宮内伊予柑)」、5: 「ポンカン (太田)」、6: 「みはや」、7: 「あすき」、8: 「津之輝」、9: 「西南のひかり」、10: 「はれひめ」、11: 「甘平」、12: 「愛媛果試第28号 (紅まどんな)」

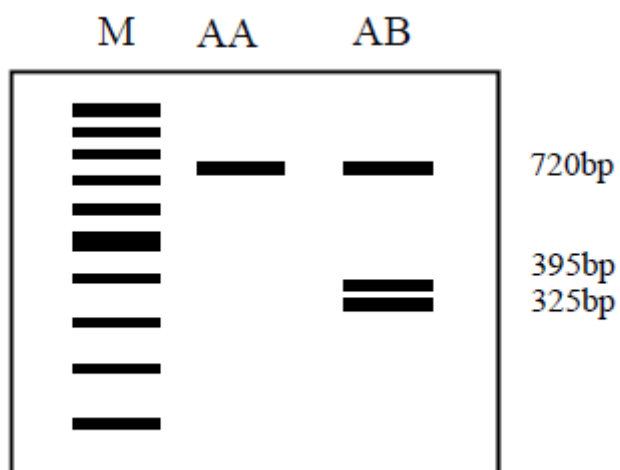
a) PCR 増幅



b) 制限酵素処理後



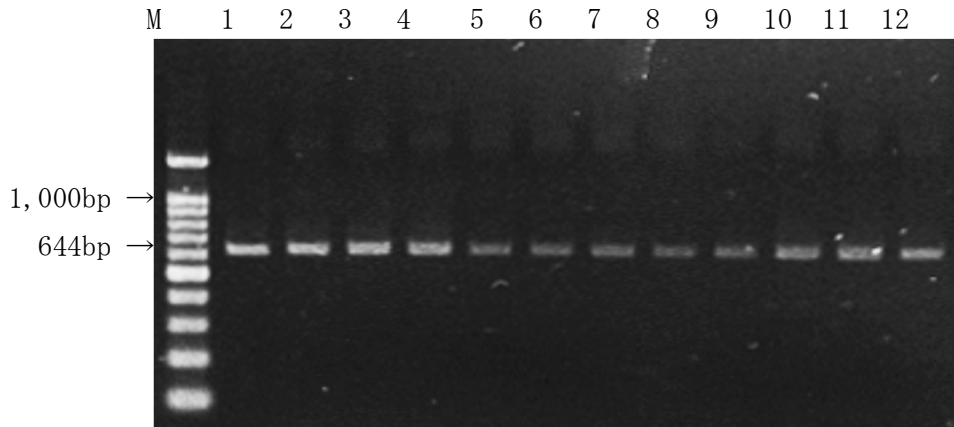
c) 制限酵素処理後にみられる遺伝子型とバンドパターン模式図



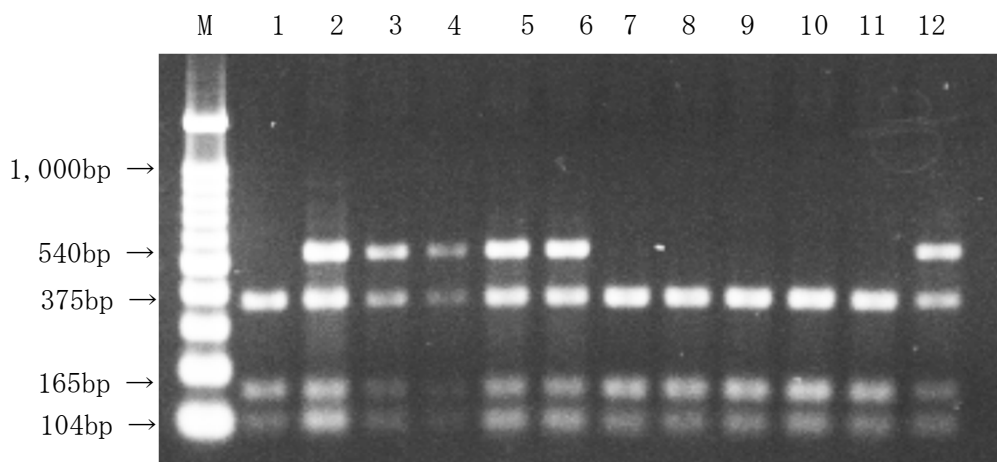
Tf0271/*Rsa* IのPCR産物の電気泳動図(a)、制限酵素処理後の電気泳動図(b)、および制限酵素処理後にみられる遺伝子型とバンドパターン模式図(c)

M: 100bpラダー、1:「ウンシュウミカン (宮川早生)」、2:「グレープフルーツ (ダンカン)」、3:「不知火」、4:「イヨ (宮内伊予柑)」、5:「ポンカン (太田)」、6:「みはや」、7:「あすき」、8:「津之輝」、9:「西南のひかり」、10:「はれひめ」、11:「甘平」、12:「愛媛果試第28号 (紅まどんな)」

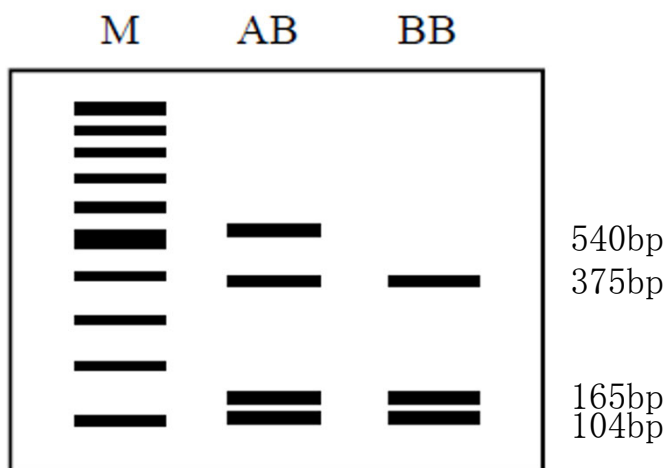
a) PCR 増幅



b) 制限酵素処理後



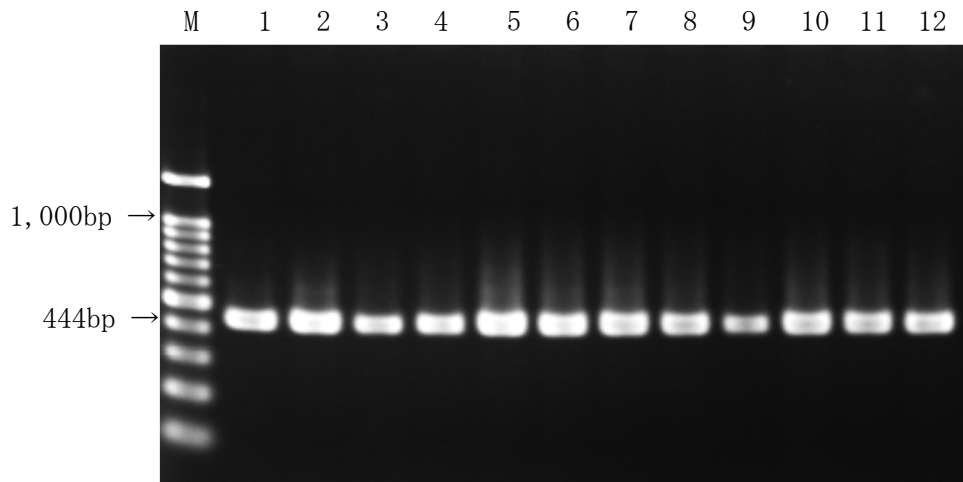
c) 制限酵素処理後にみられる遺伝子型とバンドパターン模式図



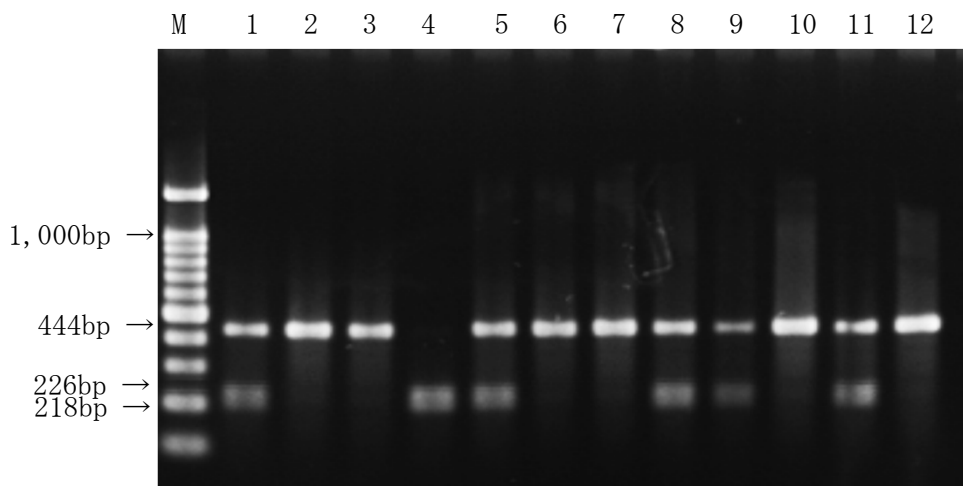
Tf0419/*Pvu*II のPCR産物の電気泳動図(a)、制限酵素処理後の電気泳動図(b)、および制限酵素処理後にみられる遺伝子型とバンドパターン模式図(c)

M: 100bpラダー、1:「ウンシュウミカン (宮川早生)」、2:「グレープフルーツ (ダンカン)」、3:「不知火」、4:「イヨ (宮内伊予柑)」、5:「ポンカン (太田)」、6:「みはや」、7:「あすき」、8:「津之輝」、9:「西南のひかり」、10:「はれひめ」、11:「甘平」、12:「愛媛果試第28号 (紅まどんな)」

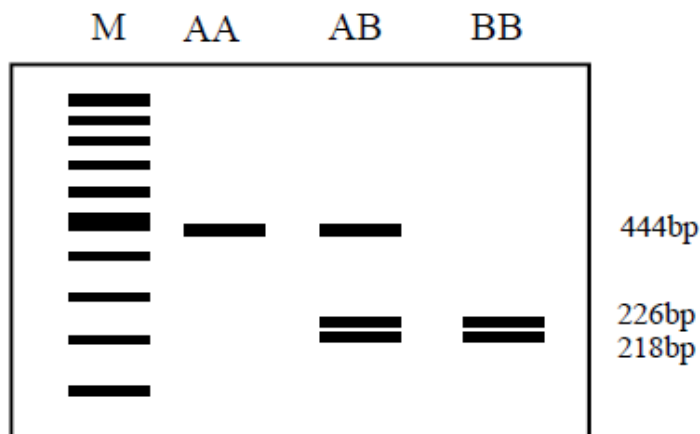
a) PCR 増幅



b) 制限酵素処理後



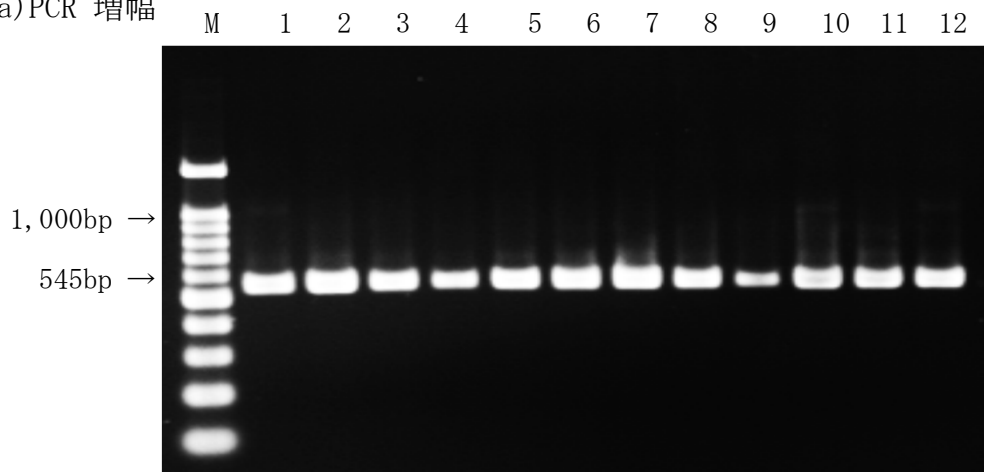
c) 制限酵素処理後にみられる遺伝子型とバンドパターン模式図



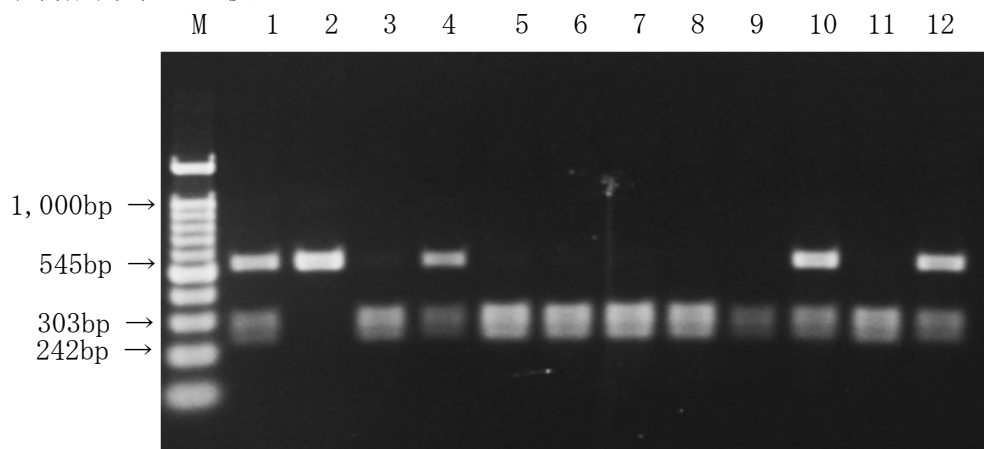
Tf0420/*Hae*IIIのPCR産物の電気泳動図(a)、制限酵素処理後の電気泳動図(b)、および制限酵素処理後にみられる遺伝子型とバンドパターン模式図(c)

M: 100bpラダー、1:「ウンシュウミカン (宮川早生)」、2:「グレープフルーツ (ダンカン)」、3:「不知火」、4:「イヨ (宮内伊予柑)」、5:「ポンカン (太田)」、6:「みはや」、7:「あすき」、8:「津之輝」、9:「西南のひかり」、10:「はれひめ」、11:「甘平」、12:「愛媛果試第28号 (紅まどんな)」

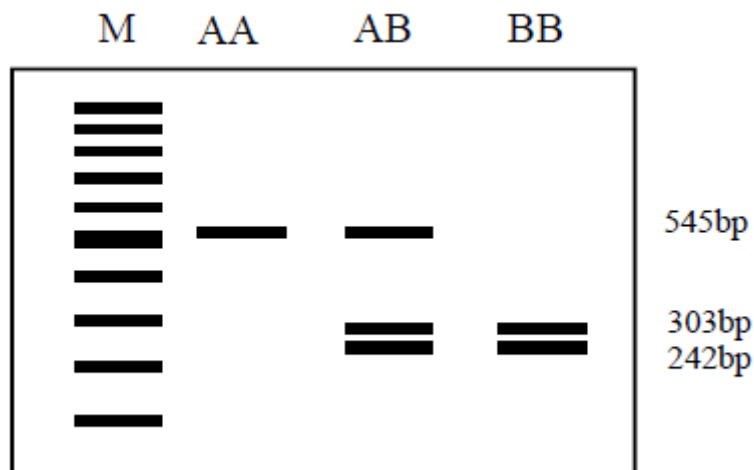
a) PCR 増幅



b) 制限酵素処理後



c) 制限酵素処理後にみられる遺伝子型とバンドパターン模式図



If0208/*Hinf* IのPCR産物の電気泳動図(a)、制限酵素処理後の電気泳動図(b)、および制限酵素処理後にみられる遺伝子型とバンドパターン模式図(c)

M: 100bpラダー、1:「ウンシュウミカン (宮川早生)」、2:「グレープフルーツ (ダンカン)」、3:「不知火」、4:「イヨ (宮内伊予柑)」、5:「ポンカン (太田)」、6:「みはや」、7:「あすき」、8:「津之輝」、9:「西南のひかり」、10:「はれひめ」、11:「甘平」、12:「愛媛果試第28号 (紅まどんな)」

著作権に関する事項：

本技術に掲載された内容は、「私的使用」または「引用」など著作権法上認められた場合を除き、無断で転載、複製、販売などの利用はできません。

免責事項：

利用者が記載された技術を利用したこと、あるいは技術を利用できないことによる結果について、一切責任を負いません。

2020年3月27日 初版