［様式６］

研究成果

テーマ２：優良大和生薬品種の鑑定技術及び増殖技術の開発
小テーマ２a： DNA鑑定技術を利用した優良品種の識別

サブテーマリーダー（所属、氏名、役職）：
奈良先端科学技術大学院大学　バイオサイエンス研究科　教授　橋本　隆
研究従事者（所属、氏名、役職）：
奈良先端科学技術大学院大学　バイオサイエンス研究科　教授　橋本　隆
奈良県農業総合センター　総括研究員　浅尾浩史
（財）奈良県中小企業支援センター　地域結集型共同研究コア研究室　室長　野本享資、
研究員　大木宏之（H18.4～H19.3・奈良先端大学派遣）、
研究員　村田　純（H19.4～H20.8・奈良先端大学派遣）

研究の概要、新規性及び目標

③　研究の概要

大和生薬の遺伝的多様性はDNAレベルでほとんど解析されていない。長年の実績により高品質として重宝されている大和トウキと大和シャクヤクのブランド力を強化し、中国産などの他の低品質生薬との差別化を明瞭にするために、大和生薬と他の生薬を識別できる分子マーカーを開発する。

②研究の独自性・新規性

生薬は純系が育種されている場合がほとんどなく、地域産系統間の遺伝的な違いがどの程度あるのか不明である。大和産生薬と他県産生薬のDNAレベルでの差異の調査は、これまでない。

③研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に）

［フェーズI］
・トウキとシャクヤクについて、大和生薬と他の生薬の遺伝的多様性を明らかにするために、部分的なゲノム配列の決定を行う。さらに、大和生薬と他の生薬を識別できる分子マーカーを複数開発する。

［フェーズⅡ］
・開発した分子マーカーを用いて市場に出回っている生薬から、優良大和品種を識別する。

［フェーズⅢ］
・DNAマーカー鑑定を用いて大和生薬優良品種の維持と育成を行う。

研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して）

まず、一般的な分子マーカー作製（RAPD法、特定遺伝子の多型解析、AFLP法）を用いて、大和生薬と他の生薬の間の遺伝的多型解析を行った。

その結果、大和トウキを特異的に認識する分子マーカー候補を複数見出した。これらの候補マーカーの汎用性をさらに追及し、分子マーカーが標的とするゲノム領域の塩基配列を明らかにすることにより、大和トウキと他のトウキと区別して特異的に識別する分子マーカーを複数開発することに成功した。一方、大和シャクヤクと洋シャクヤクは遺伝的に非常に似通っており、これまで試みた方法では遺伝的多型は見出せなかった。

そこで、大和シャクヤクと洋シャクヤクの相当するゲノム断片をランダムにシーケンスしたところ、５kb以上のゲノム領域に多型は存在せず、両品種は非常に近縁であることが確かめられた。

乾燥生薬サンプルをDNA鑑定に用いるには、そのようなサンプルから効率よくゲノムDNAを抽出・精製する方法を確立する必要がある。既存のDNA抽出方法を改良することにより、トウキとシャクヤクの乾燥根から効率的に高純度のゲノムDNAを精製することに成功した。

主な成果

具体的な成果内容：
・大和トウキを他のトウキと区別して特異的に認識する分子マーカーを複数開発し、それらの分子マーカーが標的とするトウキゲノム領域の塩基配列を特定した。
・乾燥生薬サンプルから効率的に高純度のゲノムDNA を精製する方法を確立した。

特許件数：２件　　論文数：５件　　口頭発表件数：６件

研究成果に関する評価

１　国内外における水準との対比

我々の分子生物学的技術水準は非常に高く、ゲノム間にわずかに多様性が見られる植物系統間を実験材料に用いた場合には、計画通り遺伝的多型を特異的に検出する分子マーカーを作出するのに成功した。シャクヤクにおいて分子マーカーの作出に成功しなかった原因は、シャクヤク系統間で遺伝的多型がほとんど存在しないためである。乾燥生薬サンプルからの効率的なゲノムDNAの抽出・精製方法を確立できたことは、我々の技術水準が高いことを示している。

２　実用化に向けた波及効果

乾燥生薬からのDNA抽出法と大和トウキを識別する分子マーカーを用いることにより、市場に出回っている乾燥生薬サンプル中に大和トウキDNAが含まれるかを簡便な遺伝的鑑定することができる。

残された課題と対応方針について

本研究により、乾燥生薬サンプル中に大和トウキが含まれるかどうかを鑑定することが可能になったが、現存のDNAマーカーのみでは、他県産トウキが含まれないということを証明できない。今後は、他県産トウキを特異的に認識する分子マーカーを開発することにより、複数のトウキ系統が混在するサンプルにも対応できる遺伝子鑑定システムを確立してゆく必要がある。

	ＪＳＴ負担分（千円）							地域負担分（千円）							合計
	17年度	18年度	19年度	20年度	21年度	22年度	小計	17年度	18年度	19年度	20年度	21年度	22年度	小計	
人件費	0	9,511	7,716	3,305	329	0	20,861	1,297	3,900	3,834	2,692	1,616	1,193	14,532	35,393
設備費	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,272	3,272	6,544	6,544
その他研究費＊	1.046	4,995	5,614	2,667	2,438	792	17,552	0	0	0	0	350	350	700	18,252
旅費	0	100	119	13	5	0	237	0	0	0	0	0	0	0	237
その他	0	128	6	242	308	88	772	0	0	0	0	0	0	0	772
小計	1,046	14,734	13,455	6,227	3,080	880	39,442	1,297	3,900	3,834	2,692	5,238	4,815	21,776	61,198

代表的な設備名と仕様［既存（事業開始前）の設備含む］

ＪＳＴ負担による設備：

地域負担による設備：