

IRAP 法によるシイタケ品種の簡易識別

○佐々木 史, 高橋 信, 藤田 寿, 山内隆弘, 鮎澤澄夫
(株式会社北研 食用菌類研究所)

Simple discrimination method for commercial strain of *Lentinula edodes* using IRAP primers

○Fumito SASAKI, Shin TAKAHASHI, Hisashi FUJITA, Takahiro YAMAUCHI and Sumio AYUSAWA
(Edible Mushrooms Institute, Hokken Co., Ltd.)

【目的】シイタケは日本で最もポピュラーな食用菌の1つであり、形態的および生理的に似通った多くの栽培品種が存在する。現在まで主に rDNA-IGS 領域配列における多型の検出(馬場崎, 2006)や RAPD 法(Zhang and Molina, 1995 など)がシイタケにおける簡便な品種識別法とされてきたが、これらの方法は比較的費用や時間を要する。安価かつ短時間で行える簡便な品種識別法として IRAP(Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism)法があり、園芸作物などでは利用されている(Kalendar et al, 1999 など)。本研究では、IRAP プライマーをシイタケ用に作製し、識別能の検証を行った。

【方法】供試菌にはシイタケ菌自社保有株 33 品種を使用した。DNA 抽出には PDA 平板培地での培養株または子実体組織を 4mm 角程度に切り出したものを供した。各サンプルからの total DNA の抽出は DNeasy PlantMini Kit(QIAGEN)を使用した。PCR は IRAP プライマーセットと Pfu-X ポリメラーゼ(greiner)を用いて行った。IRAP プライマーは、シイタケの Retrotransposon 間を増幅できるように、同領域の LTR(Long Terminal Repeat)配列を基に 23mer と 25mer の長さのものを一組設計した。PCR 産物は GelRed を添加した 1.7%アガロースゲルを使用し 100V で 50 分間電気泳動を行い、UV 照射によりバンドパターンを可視化した。

【結果および考察】供試した菌株において、本方法では両親株が共通する株以外は異なるバンドパターンが示され、識別を行うことが可能であった。両親株が共通する株は、一部の株で同一のパターンが示された。本方法の利点として、バンドパターンが 1kb 以下で明瞭に識別が可能であることから、一般的に利用される Mupid などのミニゲル電気泳動装置で十分対応させることができる。また、1 回の PCR と電気泳動で識別することが可能であるため、多検体の処理も安価かつ短時間で比較的容易に行うことが可能と考えられる。現在、更に供試菌株数を増やして検討を行っているところである。