

付属文書 2.

レタス SSR マーカーの QIAxcel での検出例と判定方法

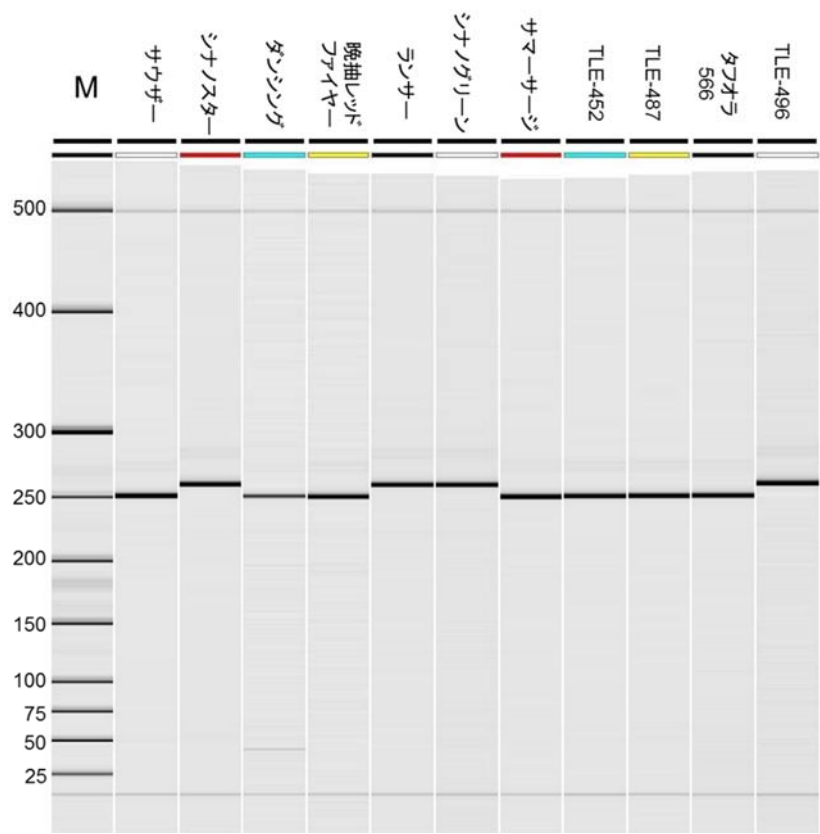
以下に、各マーカーの QIAxcel での検出例と判定方法を示す。

図中の各品種の DNA サンプルをマニュアルに従って PCR したのち、QIAxcel High Resolution Kit を使用し、メソッド 0M700 の電気泳動で検出した。

M は QX Size Marker 25-500bp を示す。横の数字は塩基数(bp)の計測値を示す。

判定方法は各マーカーにつき①～③までがある。いずれの方法で判定してもかまわない。

【SML15】

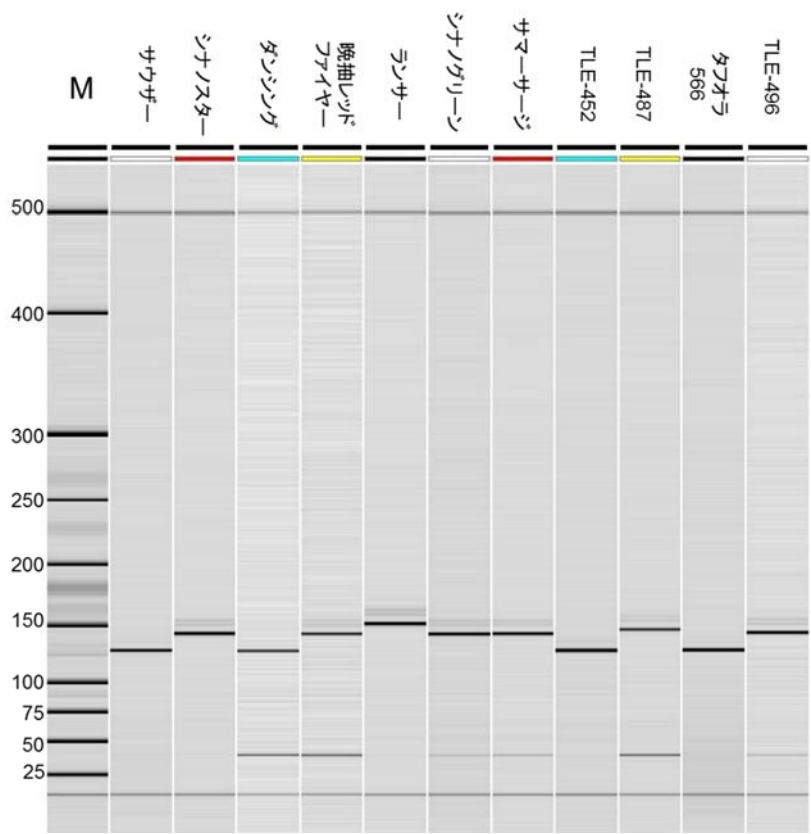


マーカーSML15 の遺伝子型の判定方法：2 アリ-ル

- ①基準品種と比較する場合
サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を **S** とする。
サウザーよりも高いバンドサイズが検出されれば遺伝子型を **S+10** とする
- ②サイズマーカーと比較する場合
本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する
- ③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S+10	シナノスター	ランサー	シナノグリーン	TLE-496	
S（基準品種）	サウザー（基準）	ダンシング	晩抽 R ファイヤー	タフオラ 567	サマーサージ
	TLE-452	TLE-487	タフオラ 566		

【SML22】



マーカーSML22 の遺伝子型の判定方法：4 アリ-ル

①基準品種と比較する場合

- サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を S とする。
- サウザーよりも高いバンドサイズ、補足基準品種 TLE-487(遺伝子型：S+18)と比較して
- 補足基準品種 TLE-487 より高いバンドサイズが検出されれば S+24 とする。
- 補足基準品種 TLE-487 より低いバンドサイズが検出されれば S+15 とする。

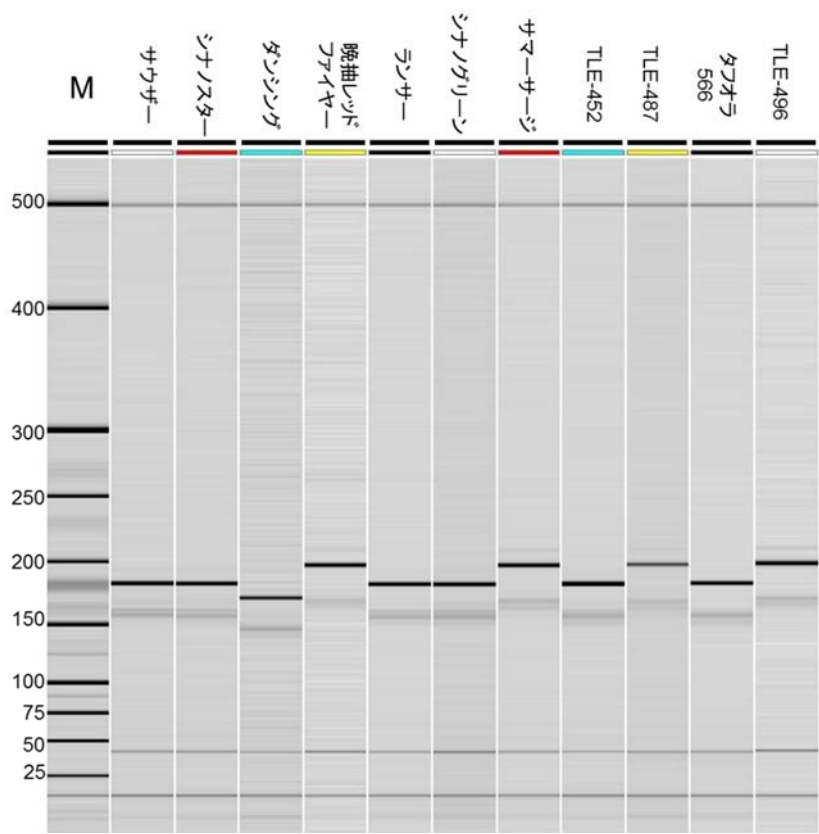
②サイズマーカーと比較する場合

本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する

- ③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
- 比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S+24	ランサー				
S+18	TLE-487				
S+15	シナノスター	晩抽 R ファイヤー	シナノグリーン	サマーサージ	TLE-496
S (基準品種)	サウザー (基準)	ダンシング	タフオラ 567	TLE-452	タフオラ 566

【SML26】



マーカースML26 の遺伝子型の判定方法：3 アリ-ル

①基準品種と比較する場合

- サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を **S** とする。
- サウザーよりも高いバンドサイズが検出されれば遺伝子型を **S+15** とする。
- サウザーよりも低いバンドサイズが検出されれば遺伝子型を **S-9** とする。

②サイズマーカと比較する場合

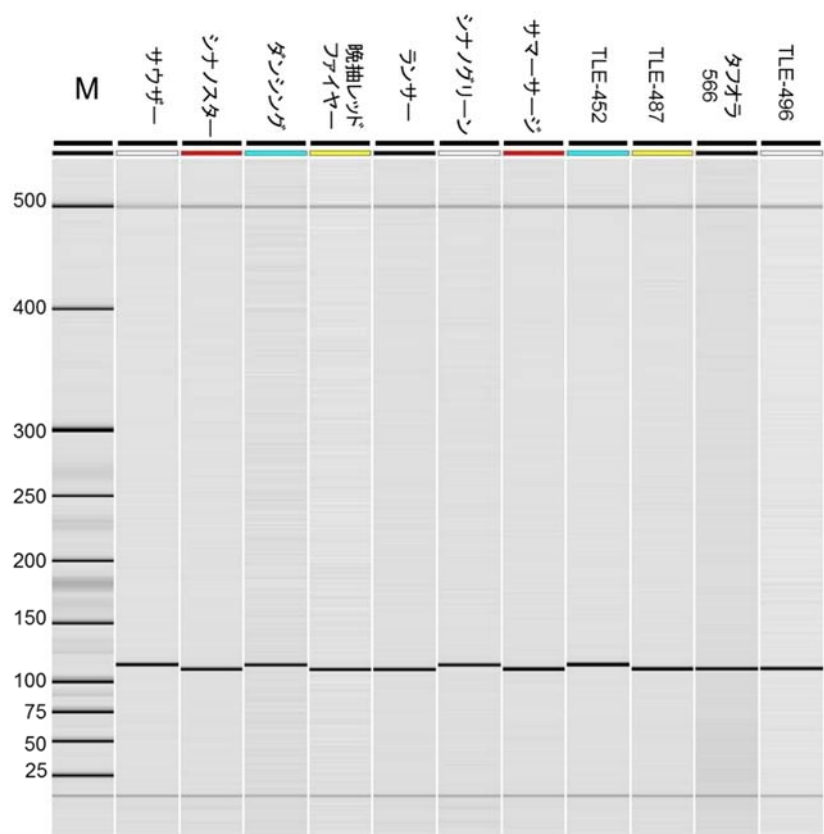
本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する

③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。

比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S+15	晩抽 R ファイヤー	タフオラ 567	TLE-452	TLE-496	
S（基準品種）	サウザー（基準）	シナノスター	ランサー	シナノグリーン	サマーサージ
	TLE-487	タフオラ 566			
S-9	ダンシング				

【SML42】



マーカーSML42 の遺伝子型の判定方法：2 アリ-ル

①基準品種と比較する場合

サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を S とする。
サウザーよりも低いバンドサイズが検出されれば遺伝子型を S-4 とする

②サイズマーカーと比較する場合

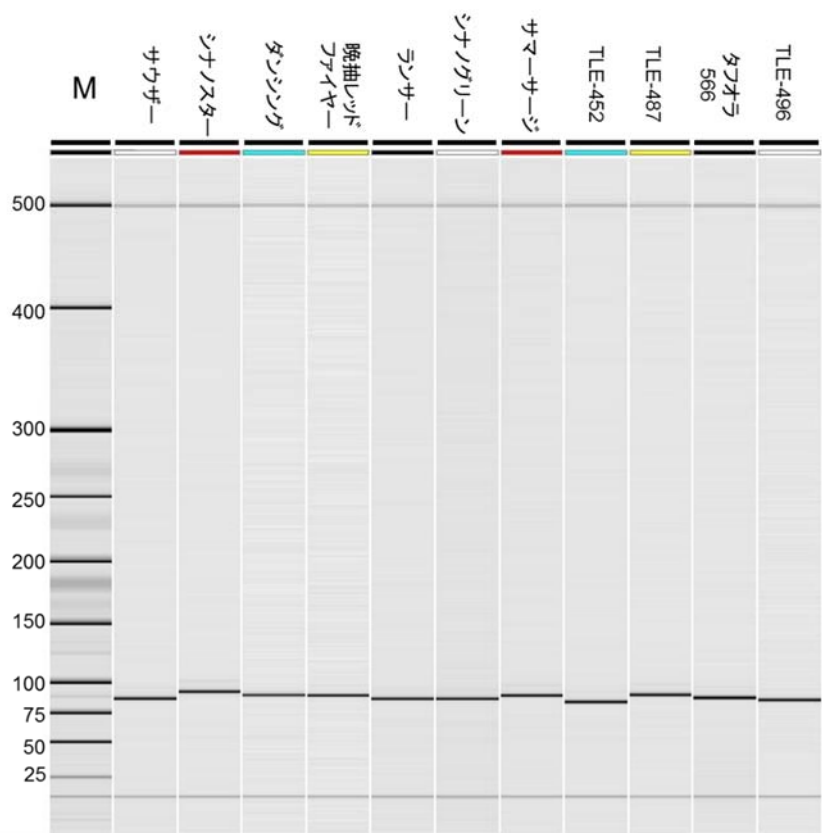
本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する

③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。

比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S（基準品種）	サウザー（基準）	ダンシング	シナノグリーン	TLE-452	
S-4	シナノスター	晩抽 R ファイヤー	ランサー	タフオラ 567	サマーサージ
	TLE-487	タフオラ 566	TLE-496		

【SML45】



マーカーSML45 の遺伝子型の判定方法：4 アリ-ル

①基準品種と比較する場合

- サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を S とする。
- サウザーよりも低いバンドサイズが検出されれば遺伝子型を S-3 とする
- サウザーより高いバンドサイズで補足基準品種タフオラ 567(遺伝子型 S+6)と比較して
- 補足基準品種タフオラ 567(遺伝子型 S+6)よりも低い場合 S+3 とする。
- 補足基準品種タフオラ 567(遺伝子型 S+6)と同じバンドサイズの場合 S+6 とする。

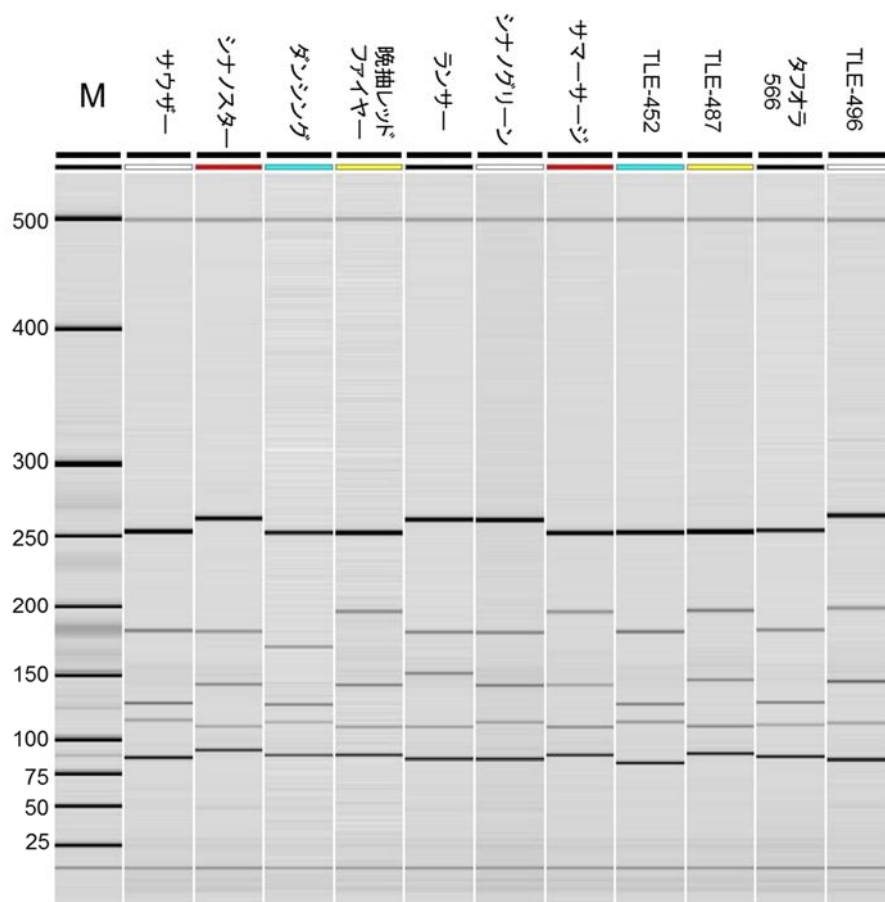
②サイズマーカーと比較する場合

本文 5. 7. 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する

- ③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S+6	シナノスター	タフオラ 567			
S+3	ダンシング	晩抽 R ファイヤー	サマーサージ	TLE-487	
S (基準品種)	サウザー (基準)	ランサー	シナノグリーン	タフオラ 566	
S-3	TLE-452	TLE-496			

【5Plex(SML15 , SML22 , SML26 , SML42 , SML45)】



5 プレックス(SML15 , SML22 , SML26 , SML42 , SML45)の判定方法

各マーカーの遺伝子型は以下の範囲にあるバンドで最も太いバンドに基づいて判定する。

240bp～260bp : SML15

170bp～200bp : SML22

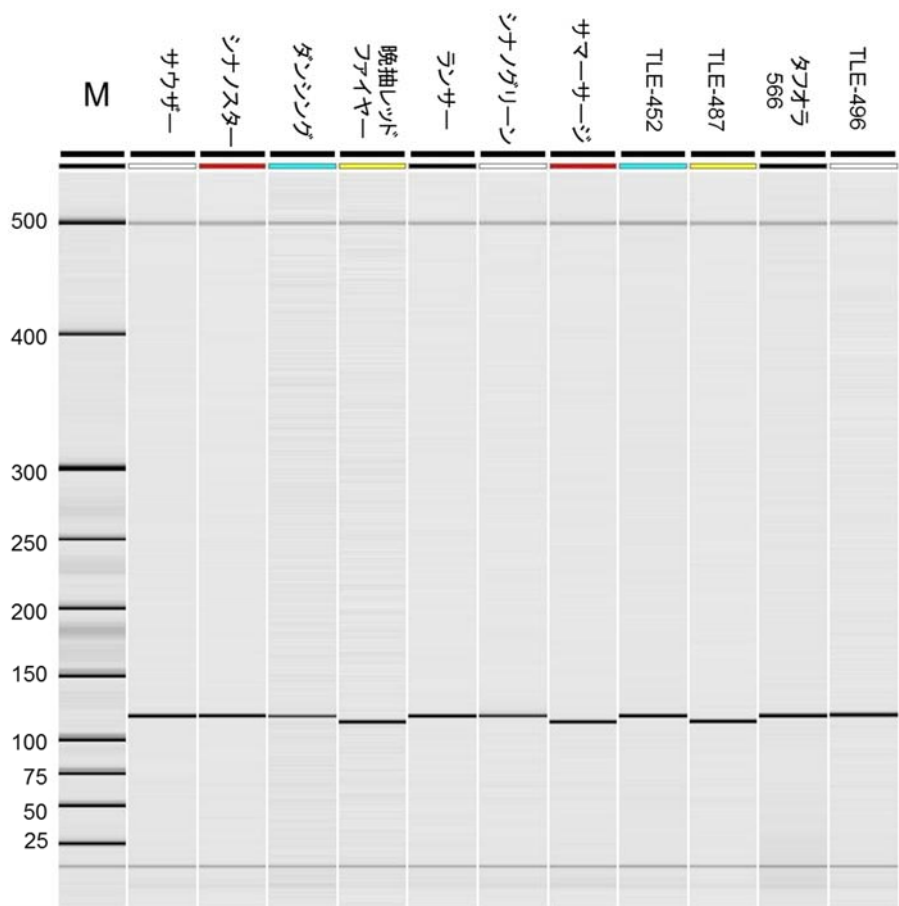
130bp～150bp : SML26

110bp～120bp : SML42

80bp～100bp ; SML45

各マーカーの遺伝型の詳細については、シングル検出の文を参考にする。

【SML3】

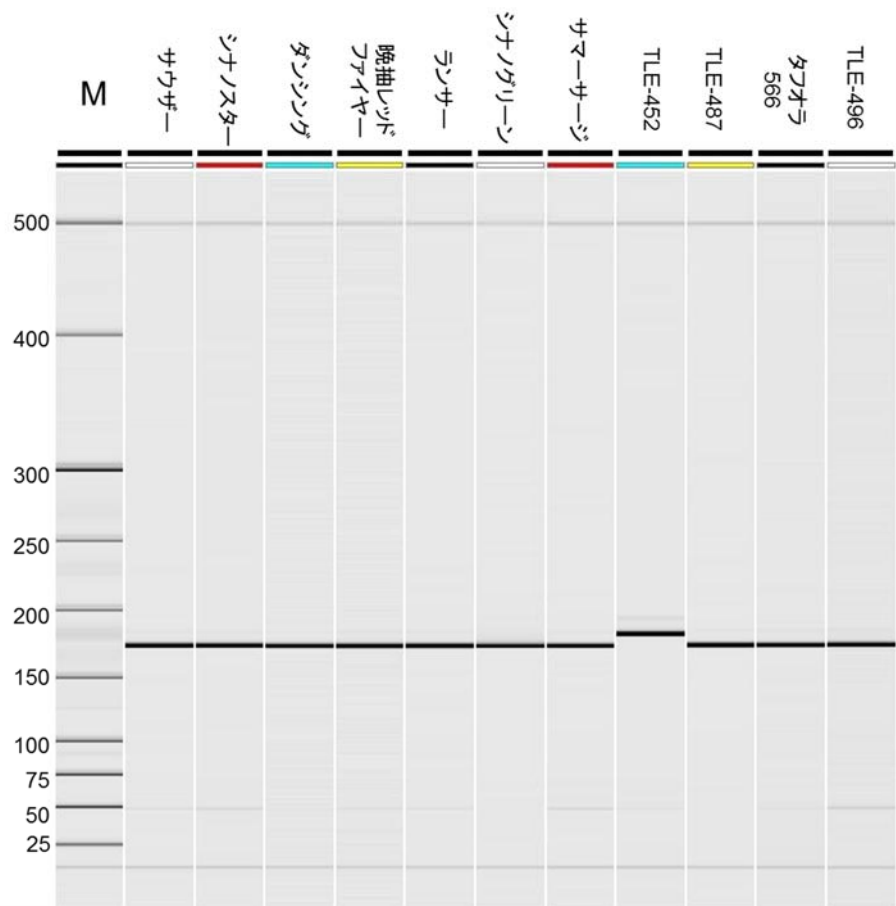


マーカーSML3 の遺伝子型の判定方法：2 アリール

- ①基準品種と比較する場合
サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を S とする。
サウザーよりも低いバンドサイズが検出されれば遺伝子型を S-4 とする
- ②サイズマーカーと比較する場合
本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する
- ③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S（基準品種）	サウザー(基準)	シナノスター	ダンシング	ランサー	シナノグリーン
	タフオラ 567	TLE-452	タフオラ 566	TLE-496	
S-4	晩抽 R ファイヤー	サマーサージ	TLE-487		

【SML60】

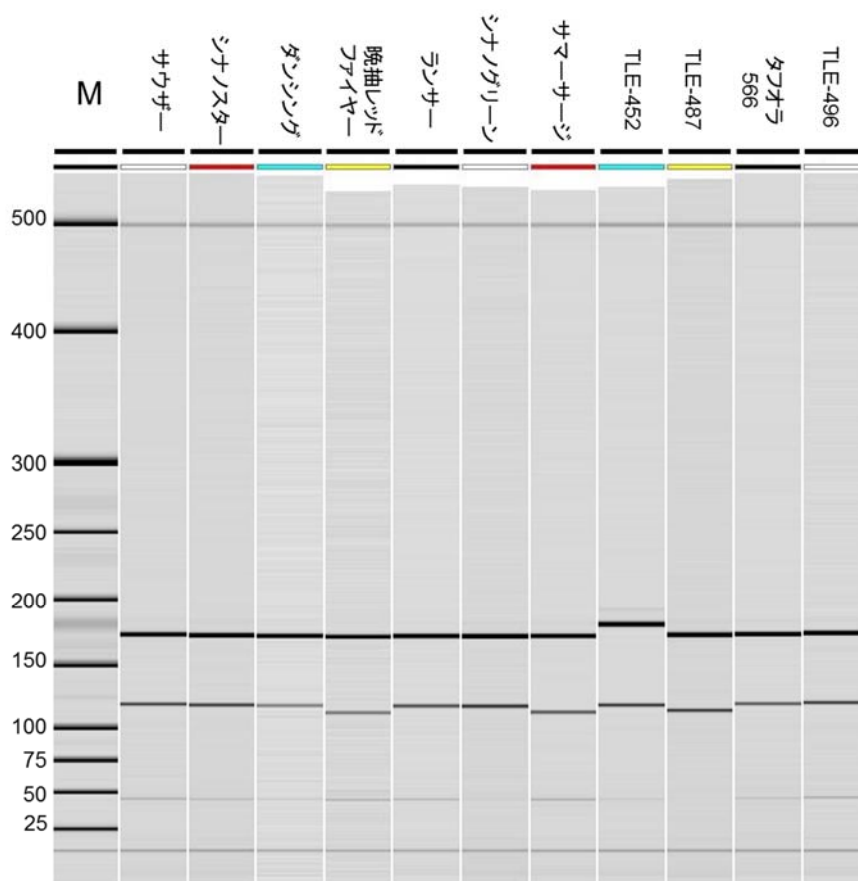


マーカーSML60 の遺伝子型の判定方法：2 アリ-ル

- ①基準品種と比較する場合
サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を **S** とする。
サウザーよりも高いバンドサイズが検出されれば遺伝子型を **S+8** とする
- ②サイズマーカーと比較する場合
本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する。
- ③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S+8	TLE-452				
S（基準品種）	サウザー(基準)	シナノスター	ダンシング	晩抽 R ファイヤー	ランサー
	シナノグリーン	タフオラ 567	サマーサージ	TLE-487	タフオラ 566
	TLE-496				

【2Plex(SML60 , SML3)】



2 プレックス(SML60, SML3)の判定方法

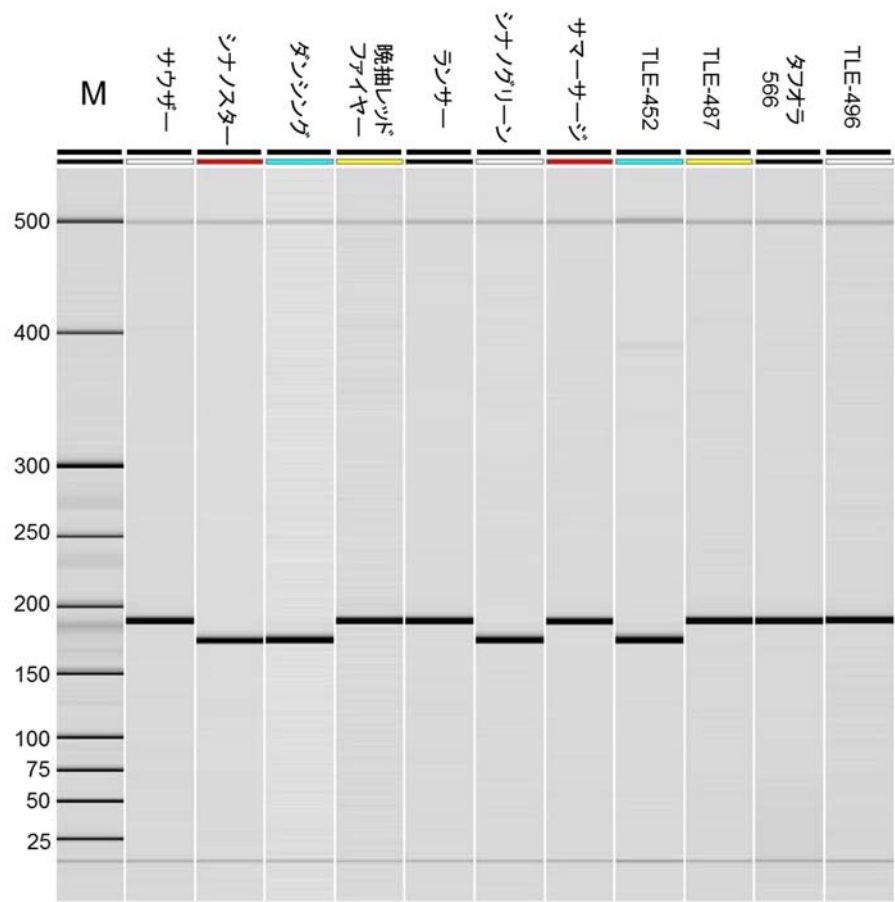
各マーカーの遺伝子型は以下の範囲にあるバンドで最も太いバンドに基づいて判定する。

170bp～180bp : SML60

110bp～120bp : SML3

各マーカーの遺伝型の詳細については、シングル検出の文を参考にすること。

【LS_WGS_10】

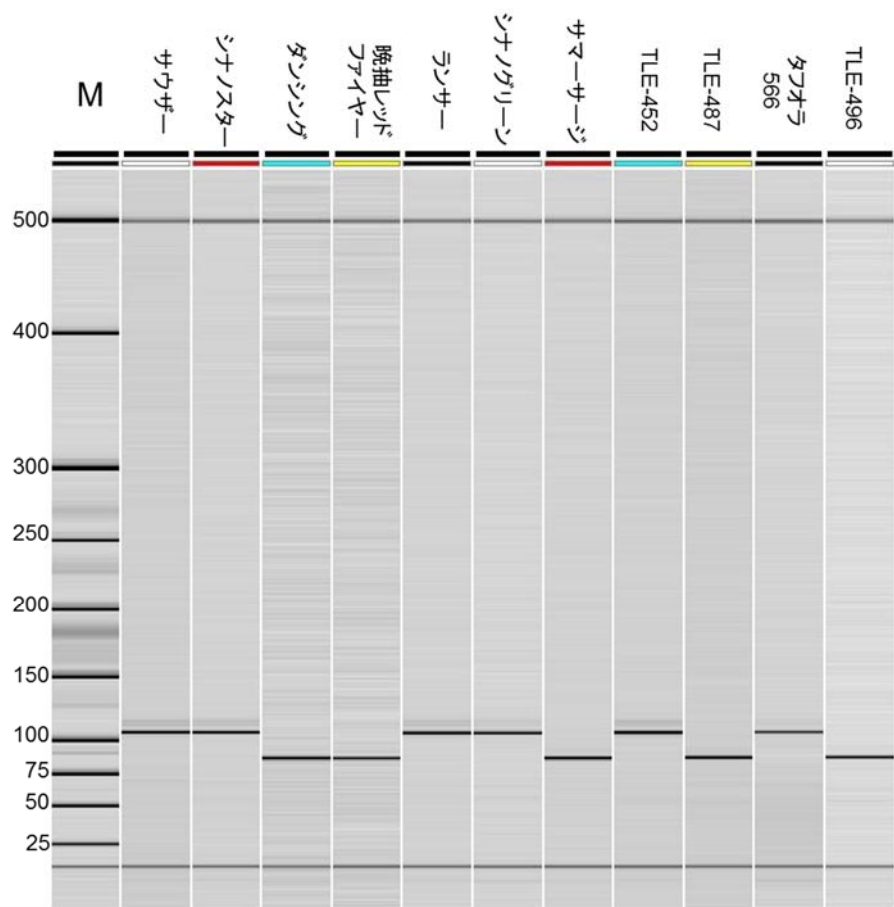


マーカーLS_WGS_10 の遺伝子型の判定方法：2 アリ-ル

- ①基準品種と比較する場合
サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を **S** とする。
サウザーより低いバンドサイズが検出されれば **S-15** とする。
- ②サイズマーカーと比較する場合
本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する。
- ③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S（基準品種）	サウザー（基準）	晩抽 R ファイヤー	ランサー	タフオラ 567	サマーサージ
	TLE-487	タフオラ 566	TLE-496		
S-15	ダンシング	シナノスター	シナノグリーン	TLE-452	

【LS_WGS_15】

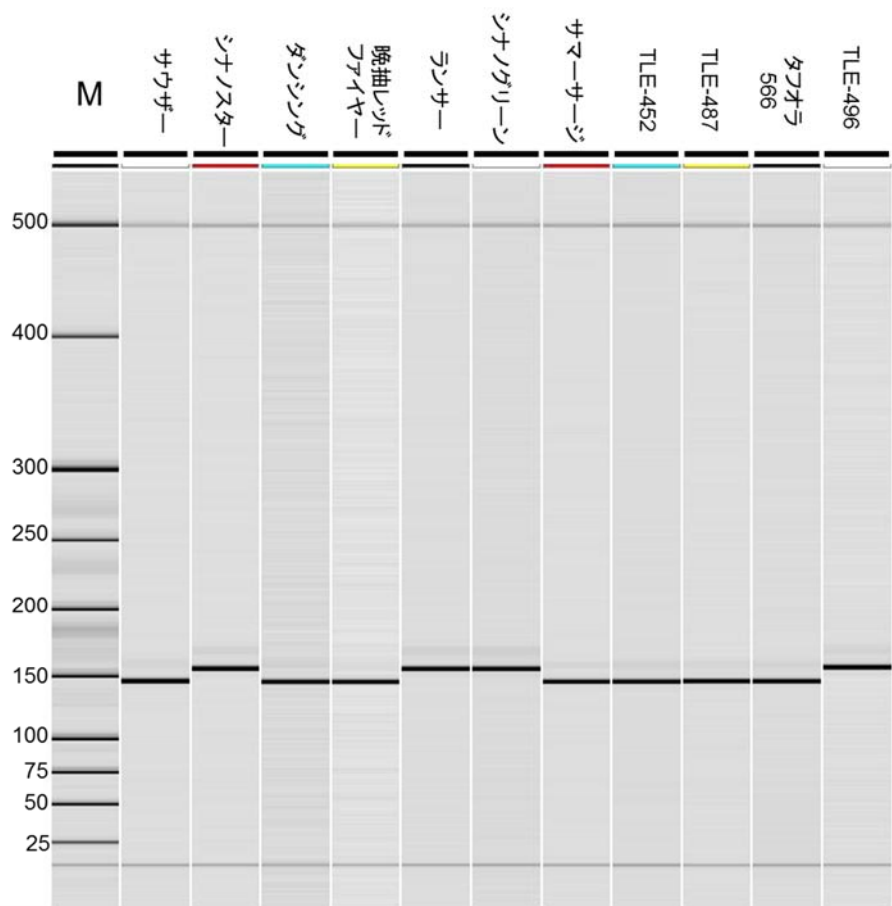


マーカーLS_WGS_15 の遺伝子型の判定方法：2 アリール

- ①基準品種と比較する場合
サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を S とする。
サウザーより低いバンドサイズが検出されれば S-20 とする。
- ②サイズマーカーと比較する場合
本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する。
- ③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S（基準品種）	サウザー(基準)	ダンシング	ランサー	シナノグリーン	サマーサージ
	TLE-487	タフオラ 566			
S-20	ダンシング	晩抽 R ファイヤー	タフオラ 567	TLE-452	TLE-496

【TK_39】

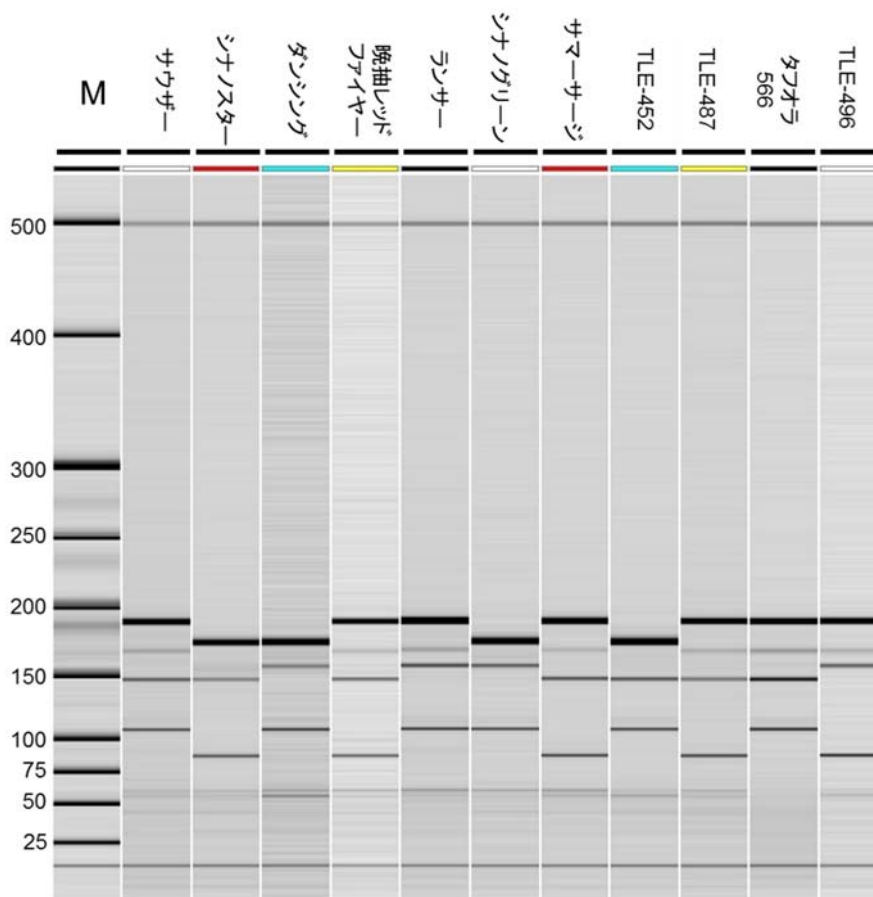


マーカーTK_39 の遺伝子型の判定方法：2 アリ-ル

- ①基準品種と比較する場合
サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を S とする。
サウザーより高いバンドサイズが検出されれば S+10 とする。
- ②サイズマーカーと比較する場合
本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する。
- ③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S+10	シナノスター	ランサー	シナノグリーン	TLE-496	
S（基準品種）	サウザー（基準）	ダンシング	晩抽 R ファイヤー	タフオラ 567	サマーサージ
	TLE-452	TLE-487	タフオラ 566		

【3Plex(LS_WGS_10 , TK_39 , LS_WGS_15)】



3 プレックス(LS_WGS_10 , TK_39 , LS_WGS_15)の判定方法

各マーカーの遺伝子型は以下の範囲にあるバンドで最も太いバンドに基づいて判定する。

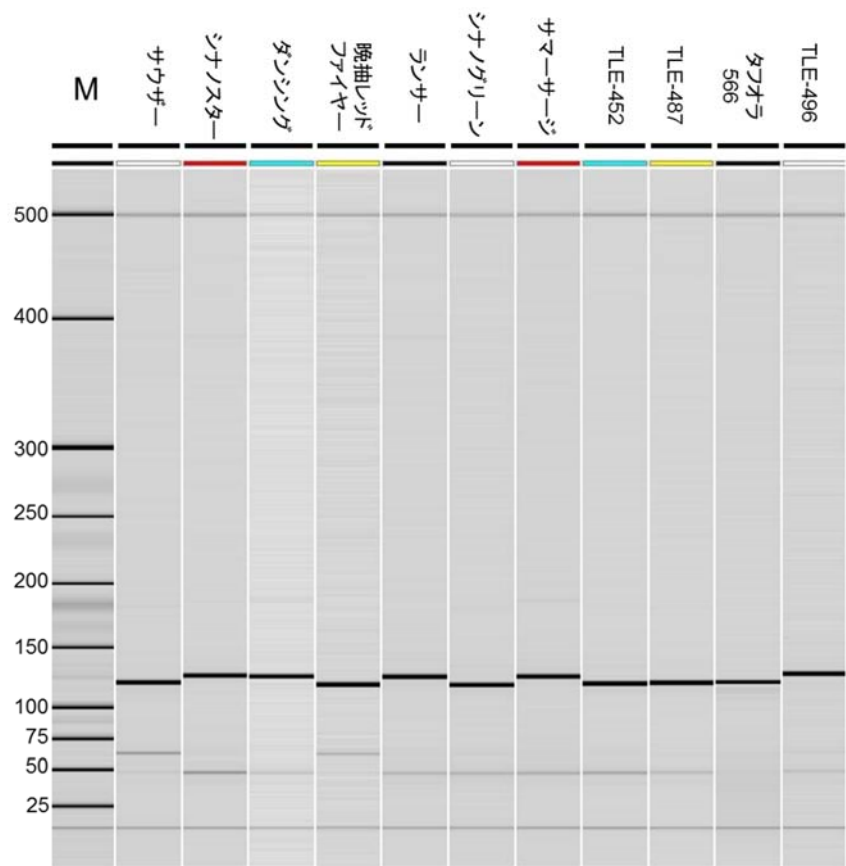
170bp～190bp : LS_WGS_10

140bp～160bp : TK_39

80bp～110bp : LS_WGS_15

各マーカーの遺伝型の詳細については、シングル検出の文を参考にすること。

【TK_11】

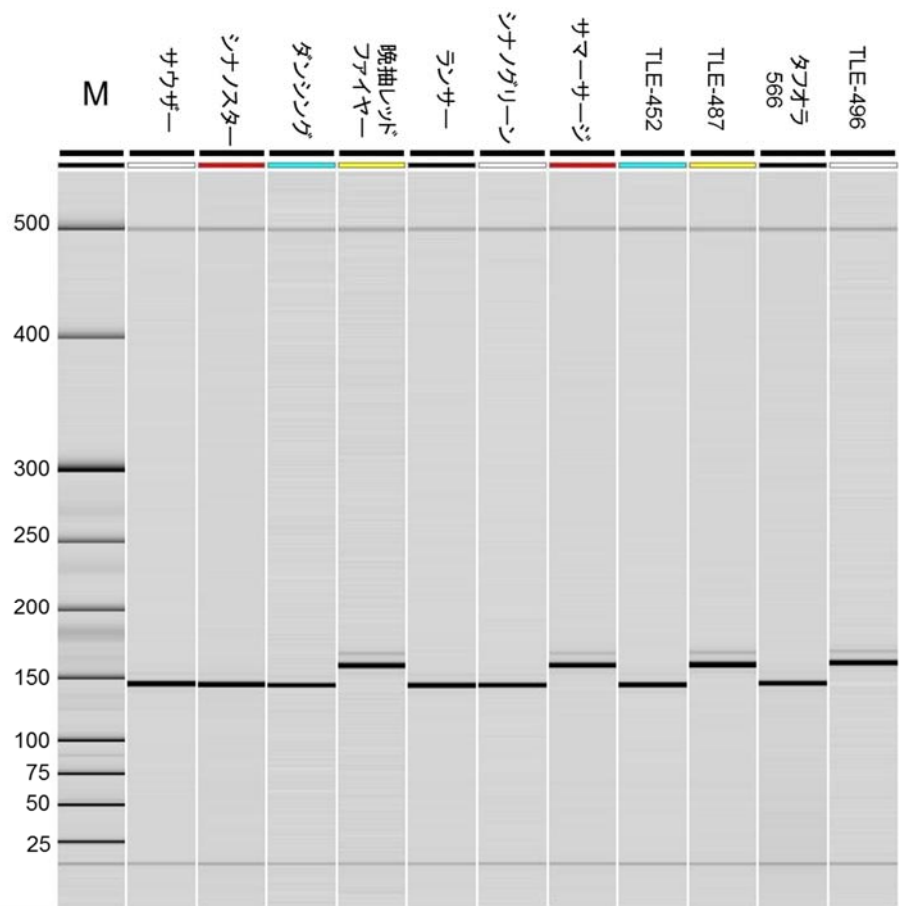


マーカーTK_11 の遺伝子型の判定方法：2 アリ-ル

- ①基準品種と比較する場合
サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を S とする。
サウザーより高いバンドサイズが検出されれば S+6 とする。
- ②サイズマーカーと比較する場合
本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する。
- ③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S+6	ダンシング	シナノスター	ランサー	サマーサージ	TLE-496
S（基準品種）	サウザー（基準）	晩抽 R ファイヤー	シナノグリーン	タフオラ 567	TLE-452
	TLE-487	タフオラ 566			

【TK_37】



マーカーTK_37 の遺伝子型の判定方法：2 アリ-ル

①基準品種と比較する場合

サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を S とする。
サウザーより高いバンドサイズが検出されれば S+15 とする。

②サイズマーカーと比較する場合

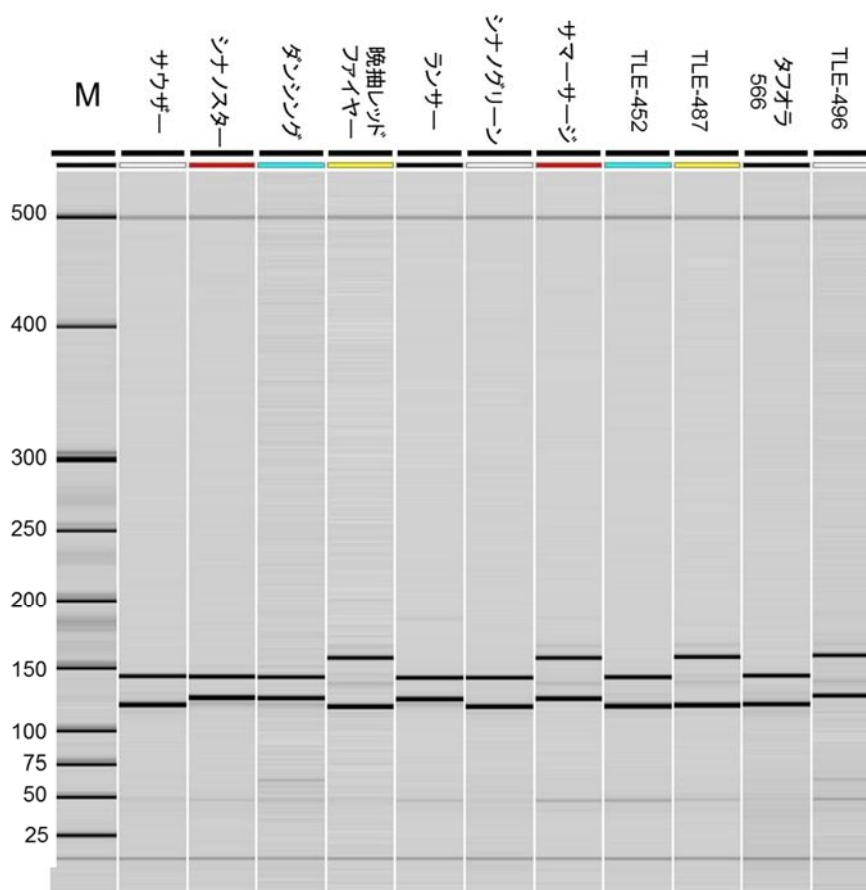
本文 5. 7. 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する。

③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。

比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S+15	晩抽 R ファイヤヤー	サマーサージ	TLE-487	TLE-496	
S（基準品種）	サウザー	シナノスター	ダンシング	ランサー	シナノグリーン
	タフオラ 567	TLE-456	タフオラ 566		

【2Plex(TK_11 , TK_37)】



2 プレックス(TK_11 , TK_37)の判定方法

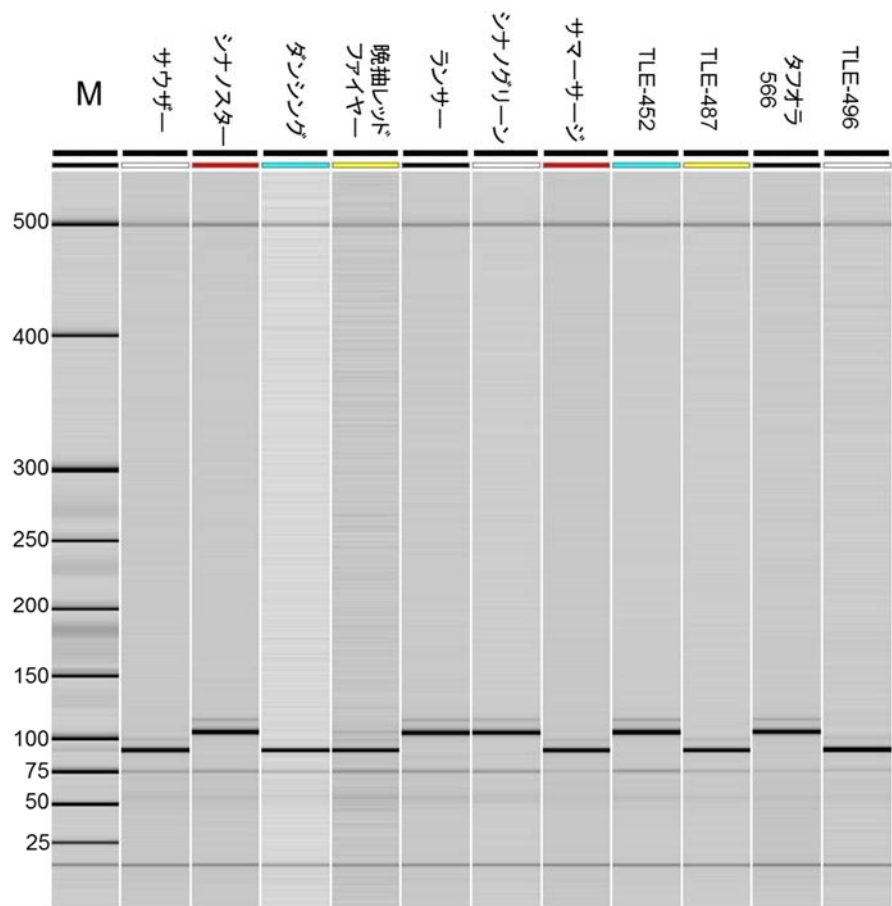
各マーカーの遺伝子型は以下の範囲にあるバンドで最も太いバンドに基づいて判定する。

140bp～160bp : TK_37

110bp～130bp : TK_11

各マーカーの遺伝子型の詳細については、シングル検出の文を参考にすること。

【TK_20】

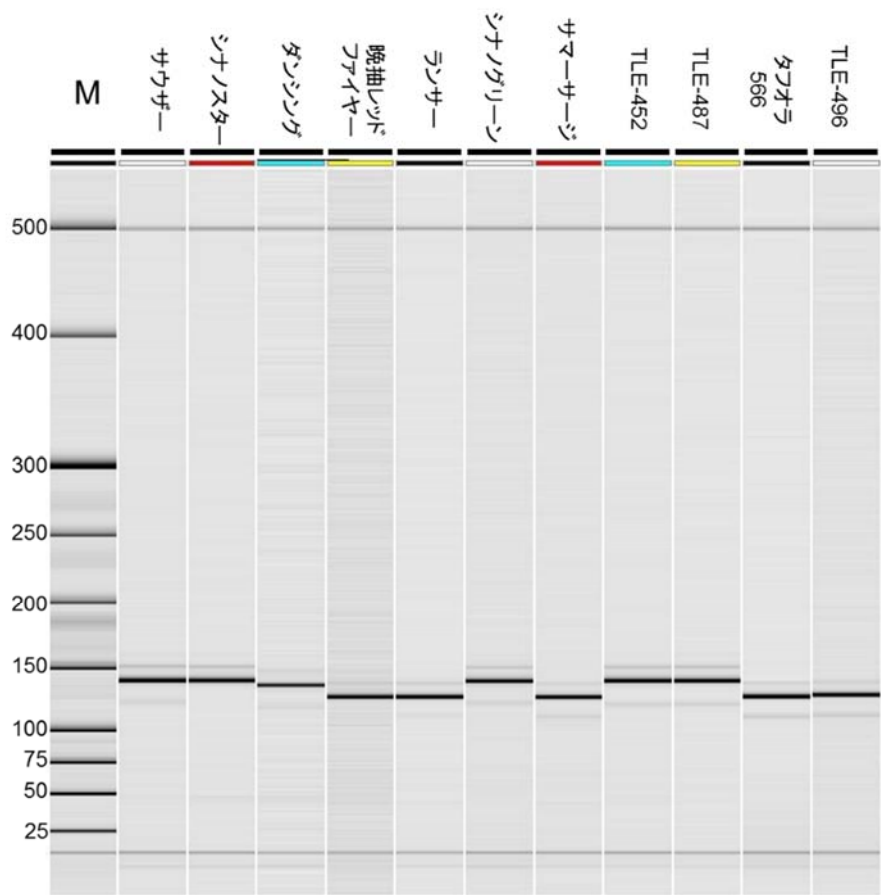


マーカーTK_20 の遺伝子型の判定方法：2 アリ-ル

- ①基準品種と比較する場合
サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を S とする。
サウザーより高いバンドサイズが検出されれば S+15 とする。
- ②サイズマーカーと比較する場合
本文 5． 7． 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する。
- ③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S+15	シナノスター	ランサー	シナノグリーン	タフオラ 567	TLE-452
	タフオラ 566				
S（基準品種）	サウザー(基準)	ダンシング	晩抽 R ファイヤー	サマーサージ	TLE-487
	TLE-496				

【TK_42】



マーカーTK_42 の遺伝子型の判定方法：3 アリ-ル

①基準品種と比較する場合

サウザーと同じサイズのバンドが検出されれば、遺伝子型を **S** とする。
サウザーよりも低いバンドサイズは補足基準品種タフオラ **567**(遺伝子型 **S-12**)と比較して
補足基準品種タフオラ **567** より高いバンドサイズが検出されれば **S-3** とする。
補足基準品種タフオラ **567** と同じバンドサイズが検出されれば **S-12** とする。

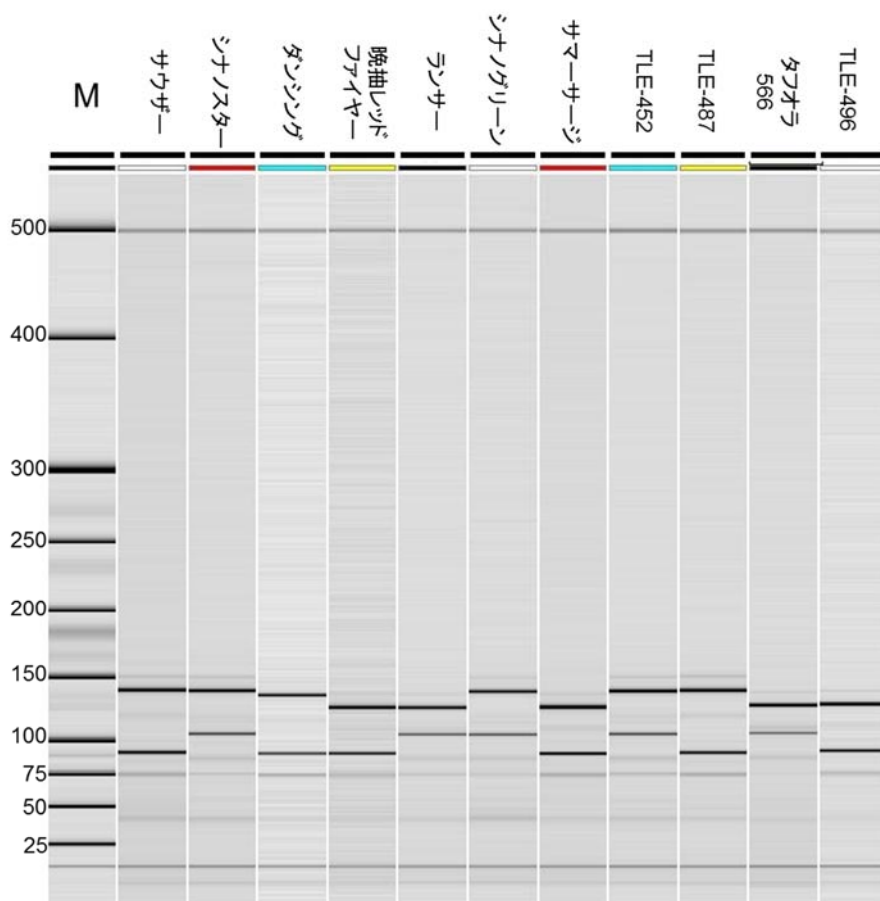
②サイズマーカーと比較する場合

本文 5. 7. 8 に従って測定値より遺伝子型を判定する。

③補足基準品種は表 3 にあるそれぞれの遺伝子型に当てはまる品種が使用可能。
比較する品種と同じバンドサイズであれば、遺伝子型を同じと判定する。

遺伝子型	各バンドサイズの補足基準品種 候補				
S (基準品種)	サウザー(基準)	シナノスター	シナノグリーン	TLE-452	TLE-487
S-3	ダンシング				
S-12	晩抽 R ファイヤー	ランサー	タフオラ 567	サマーサージ	タフオラ 566
	TLE-496				

【2Plex(TK_20 , TK_42)】



2 プレックス(TK_20 , TK_42)の判定方法

各マーカーの遺伝子型は以下の範囲にあるバンドで最も太いものに基づいて判定する。

120bp～140bp : TK_42

90bp～110bp : TK_20

各マーカーの遺伝型の詳細については、シングル検出の文を参考にすること。

付属文書 3.

参考文献

1) Ivan Simko (2009) Development of EST-SSR Markers for the Study of Population Structure in Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Heredity* 100(2):256–262

2) DNA 品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン—SSR を中心として—
平成 20 年 3 月 独立行政法人 種苗管理センター

