

ユニバーサルプライマーを用いた DNAダイレクトシーケンス法による植物の識別

三枝 朋樹*, 三浦 徹*, 片山 貴之*

Identification of Species of Plants by DNA Direct Sequencing with Universal Primers

Tomoki SAEGUSA*, Toru MIURA* and Takayuki KATAYAMA*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

In the customs laboratory, DNA analysis for terrestrial plants has been used to identify some specific registered varieties in order to protect intellectual property rights. On the other hand, identification of species of general plants would be useful for customs work such as HS classification. Therefore, we performed DNA direct sequencing with universal primers on several plant samples in order to identify species. Subsequently, DNA sequences of most samples were confirmed, and these sequences showed high similarity with data registered in the DNA data bank on the web. In general, DNA direct sequencing with universal primers is useful for identification of species of plants.

1. 緒 言

従来、関税中央分析所では、魚類、イカ、畜肉、コンブについて DNA 分析による「種」の識別を行ってきたが、高等植物の DNA 分析は、もっぱら育成者権保護を目的とした「品種」識別技術の習得を行ってきた。広く植物一般についても「種」の識別ができれば、関税分類などの税関業務に役立つものと考えられる。そこで、複数の論文¹⁾²⁾に掲載され、幅広い植物種に有効と考えられるプライマーを用いて植物種の識別を試みた。その結果、試みたサンプルの多くで種の判別に有益と考えられる情報が得られたので、報告する。

2. 実 験

2. 1 試料

インゲンマメ、アズキ、イチゴ、イグサの抽出済み DNA
大麻種子
ルーピン豆と小麦粉の混合物と称する輸入品

2. 2 分析装置及びプライマー

PCR 増幅装置 : Gene Amp[®] PCR system9700 (アプライドバイオシステムズ社製)
DNA シークエンサー : 3130 Genetic Analyzer (アプライドバイオシステムズ社製)

プライマー³⁾

UCP-A	CATTACAAATGCGATGCTCT
UCP-B	TCTACCGATTTCGCCATATC
UCP-C	CGAAATCGGTAGACGCTACG
UCP-D	GGGGATAGAGGGACTTGAAC
UCP-E	GGTTCAAGTCCCTCTATCCC
UCP-F	ATTTGAACTGGTGACACGAG

2. 3 実験

インゲンマメ、アズキ、イチゴ、イグサは、関税中央分析所で保有していた抽出済み DNA を実験に用いた。

大麻種子は、1 粒 (約 0.05g) とタングステンボールをマイクロチューブに入れ粉砕機で粉砕し、DNeasy Plant Mini Kit (キアゲン) を用いて添付プロトコールの「植物組織からのトータル DNA 精製」に従い DNA を抽出し最終 100 μ L の buffer AE (キット添付品) に溶解した。

ルーピン豆と小麦粉の混合物と称する輸入品については、肉眼で黄色の粒と茶色の粒 (以下「黄粒」及び「茶粒」と記す) に分離したのちに乳鉢乳棒でそれぞれすりつぶし、各約 20mg を SDS フェノール法⁴⁾で DNA を抽出した。実際の手順は以下のとおりである。

- ① 1.5mL のマイクロチューブに試料約 20mg を入れ、抽出液 0.2mL を加え攪拌、55℃で 20 分間加温する。
- ② テストチューブに等量の PCI を加え 2 分間激しく振とうし、

* 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

14,000 rpm、5 分間遠心分離する。

- ③ 上の液層を新しいマイクロチューブに移し、0.2mL のイソプロパノールを加え、転倒混和する。14,000 rpm、5 分間遠心分離する。

- ④ 液層を捨て、沈殿物を風乾する。

- ⑤ 100 μ L の TE buffer に溶解する。

ただし

抽出液： (10mM Tris-HCl pH7.8, 5mM EDTA, 0.5% SDS,

0.5% NP-40 (Nonidet P-40, nacalai tesque),

0.5% Tween-20, 80 μ g/mL proteinase-K)

PCI： (TE saturated phenol / Chloroform / Isoamylalcohol)

25:24:1 (v/v/v)

抽出した DNA をプライマーUCP-A と B、UCP-C と D、UCP-E と F をそれぞれ組にして TaKaRa Ex Taq (タカラバイオ) を使用して以下の条件で PCR を行った。

反応液組成 (1 反応分)

10 x Ex Taq buffer	2.5 μ L
d NTP mixture (各 2.5mM)	2.0 μ L
Ex Taq (5U/ μ L)	0.125 μ L
F-Primer (5mM)	2.0 μ L
R-Primer (5mM)	2.0 μ L
滅菌水	14.4 μ L
DNA 抽出液	2.0 μ L
計	25.0 μ L

PCR 条件

94°C 5 分 → (94°C 30 秒→Tm 30 秒→72°C 2 分) ×30 回
→ 72°C 10 分 → 20°C ∞

Tm は UCP-A&B 及び UCP-C&D では 54°C

UCP-E&F では 50°C

PCR 産物は以下の方法で精製し、過剰なプライマー及び dNTP を除去した。

- ① PCR 産物 25 μ L に対して 3 μ L の 5 M-NaCl と 22 μ L の滅菌水を加える。
- ② 50 μ L のイソプロパノールを加え、よく混ぜる。
- ③ 14,000 rpm、10 分間遠心分離する。
- ④ 液層を捨てる。
- ⑤ 90 μ L の 70%エタノール (−20°C) を加え、よく混ぜる。
- ⑥ 14,000 rpm、10 分間 (4°C) 遠心分離する。
- ⑦ 液層を捨て風乾する。
- ⑧ 20 μ L の TE buffer に溶解する。

精製した PCR 産物溶液に対して、各プライマーそれぞれについて以下の条件で Big Dye terminator ver. 3.1 (アプライドバイオシステムズ) でサイクルシーケンス反応を行った。

反応液組成 (1 反応分)

5 x sequence buffer	2.0 μ L
滅菌水	4.0 μ L
Big Dye terminator ver. 3.1	1.5 μ L
Primer (5mM)	0.5 μ L
精製済 PCR 産物	2.0 μ L
計	10.0 μ L

サーマルサイクラー条件

96°C 1 分 → (96°C 10 秒→50°C 5 秒→60°C 2 分) ×25 回
→ 20°C ∞

反応後、以下の手順で過剰な蛍光色素を除去し、シーケンサーの測定液を作成した。

- ① 3M-Sodium Acetate (pH5.0) を 1 μ L、エタノールを 25 μ L 加える。
- ② 14,000 rpm、10 分間遠心分離する。
- ③ 液層を捨て、70%エタノールを 90 μ L 加え、14,000rpm、10 分間遠心分離する。
- ④ 液層を捨て、③を再度行う。
- ⑤ 液層を捨て、十分に風乾する。
- ⑥ Hi Di Formamide (アプライドバイオシステムズ) を 20 μ L 加え、95°C で 2 分間加熱した後、すぐに氷上に移し、5 分以上冷却したものを測定液とする。

シーケンサーで求めた塩基配列は、解析ソフトウェア Genetyx Ver.8 (ゼネティックス) で+鎖と−鎖のマッチングをして確定させた。

確定した塩基配列をインターネット上の DNA Data Bank of Japan で BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 検索し、相同性の高い塩基配列を持つ生物種を特定した。

3. 結果及び考察

3. 1 PCR 産物の電気泳動

各検体の PCR 産物について、TAE buffer を用いて 2.0%アガロースゲルで電気泳動を行った結果を Fig.1 に示す。

その結果、UCP-AB のプライマー対では、アズキ、イチゴ、イグサでバンドが確認できず、大麻種子で 3 本のバンドが観察された。インゲンマメ、茶粒、黄粒では 1 本のメインバンドが観察された。

UCP-CD のプライマー対では、茶粒では 2 本のバンドが観察されたが、他のサンプルでは、いずれも 1 本のバンドが観察された。

UCP-EF のプライマー対では、茶粒では 2 本のバンドが観察され、黄粒では 1 本のメインバンドのほか、弱いバンドが観察された。他のサンプルでは、いずれも 1 本のバンドが観察された。

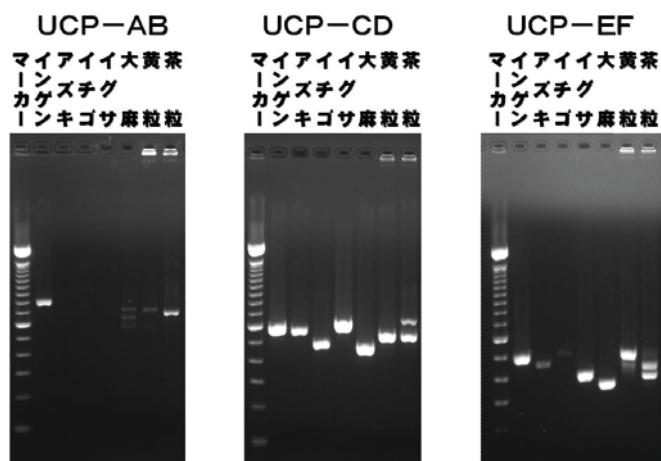


Fig.1 電気泳動の結果

3. 2 DNA シークエンサーによる塩基配列解析

各 PCR 産物につき DNA シークエンサーにより塩基配列を求め、対となるプライマーの両方から求めた結果をマッチングして確定したシーケンスを文末 Fig 2 に示す。

3. 3 塩基配列のデータベースとの照合

確定した塩基配列をインターネット上の DNA Data Bank of Japan で BLAST 検索し、相同性の高い登録データを求めた。その結果は、以下のとおりである。

(1) インゲンマメの試料

UCP-AB 712 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Phaseolus vulgaris (インゲンマメ) 相同性 100% (642/642)

2 番目に相同性が高い登録データ

Vigna unguiculata (ササゲ) 相同性 98% (636/774)
ギャップ 10% (81/774)

UCP-CD 551 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Phaseolus vulgaris (インゲンマメ) 相同性 100% (551/551)

2 番目に相同性が高い登録データ

Vigna unguiculata (ササゲ) 相同性 98% (551/539)
ギャップ 1% (8/539)

UCP-EF 450 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Phaseolus vulgaris (インゲンマメ) 相同性 100% (450/450)

2 番目に相同性が高い登録データ

Macroptilium panduratum 相同性 95% (418/437)

(2) アズキの試料

UCP-AB 塩基配列を決定できなかった。

UCP-CD 533 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Vigna angularis (アズキ) 及び

Vigna nepalensis 相同性 100% (510/510)

UCP-EF 409 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Vigna angularis (アズキ) 及び

Vigna nepalensis 相同性 100% (390/390)

(3) イチゴの試料

UCP-AB 塩基配列を決定できなかった。

UCP-CD 444 塩基を確定

以下のイチゴ属 10 種と 100% (444/444)の相同性を示した。

Fragaria chiloensis (チリイチゴ)

Fragaria moschata

Fragaria nipponica (シロバナノヘビイチゴ)

Fragaria nubicola

Fragaria orientalis

Fragaria pentaphylla

Fragaria vesca (エゾヘビイチゴ)

Fragaria virginiana (バージニアイチゴ)

Fragaria viridis

Fragaria x ananassa (オランダイチゴ)

UCP-EF 454 塩基を確定

以下のイチゴ属 4 種と 100% (454/454)の相同性を示した。

Fragaria chiloensis (チリイチゴ)

Fragaria vesca (エゾヘビイチゴ)

Fragaria virginiana (バージニアイチゴ)

Fragaria x ananassa (オランダイチゴ)

(4) イグサの試料

UCP-AB 塩基配列を決定できなかった。

UCP-CD 591 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Juncus effusus (イグサ) 相同性 99% (587/591)
ギャップ 0% (2/591)

2 番目に相同性が高い登録データ

Juncus drummondii 相同性 98% (583/591)

UCP-EF 353 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Juncus conglomeratus 相同性 99% (352/353)

2 番目に相同性が高い登録データ

Juncus effusus (イグサ) 相同性 99% (350/353)

(5) 大麻種子の試料

UCP-AB 塩基配列を決定できなかった。

UCP-CD 434 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Cannabis sativa (アサ) 相同性 100% (415/415)

2 番目に相同性が高い登録データ

Humulus lupulus (ホップ) 相同性 98% (254/259)

UCP-EF 310 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Cannabis sativa (アサ) 相同性 100% (310/310)

2 番目に相同性が高い登録データ

Humulus lupulus (ホップ) 相同性 96% (300/310)

ギャップ 0% (1/310)

(6) 黄粒の試料

UCP-AB 651 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Lupinus angustifolius (アオハルビソ) 相同性 100% (578/578)

2 番目に相同性が高い登録データ

Lupinus consentinii 相同性 98% (547/556)

UCP-CD 塩基配列を決定できなかった。

UCP-EF 450 塩基を確定

最も相同性が高い登録データ

Lupinus angustifolius (アオハルビソ) 相同性 100% (389/389)

2 番目に相同性が高い登録データ

Lupinus consentinii 相同性 96% (378/390)

ギャップ 0% (1/390)

(7) 茶粒の試料

いずれのプライマー対でも塩基配列を決定できなかった。

3. 4 考察

(1) 試みた手法の評価

今回試みた試料のうちインゲンマメ、大麻種子及び黄粒では、決定された塩基配列は、DNA Data Bank of Japan と相同性検索の結果、1 生物種の登録データと 100%の相同性を示した。アズキ、イチゴの試料では、同属複数種の登録データと 100%の相同性を示し、イグサの試料では同属複数種の登録データと 99%の相同性を示した。茶粒の試料については、いずれのプライマー対でも塩基配列を決定することができなかった。

試みた 7 種の試料のうち 6 試料で塩基配列を決定でき、その塩

基配列は、予想される種またはその近縁種の登録データと高い相同性を示したことから、植物の種について情報を得たい場合には、今回紹介した方法を試みる価値があると考えられる。

(2) 塩基配列を決定できなかった試料への対応

今回試みた試料のうち、茶粒においてはいずれのプライマーでも塩基配列が決定できず、植物種とプライマーの組み合わせによっては、植物種の判別ができないことが判明した。

このような試料に対しては、今回試みたものとは別のプライマーを使用してみることが考えられる。

2009 年 6 月現在、インターネット上で植物プライマーのデータベースが公開されており (<http://bfw.ac.at/200/2043.html>)、500 種類を超えるプライマーについて、配列、発表者名、モデル植物での増幅部位などの情報が掲載されているので、プライマー選択の参考となるとと思われる。

4. 要 約

7 種類の試料についてユニバーサルプライマーを用いたダイレクトシーケンス法で塩基配列の決定を試みた。その結果、6 試料について塩基配列を決定することができ、決定された塩基配列は、予想される種またはその近縁種の登録データと高い相同性を示した。

単独種の植物 DNA を PCR に必要な質・量で抽出できる試料であれば、今回紹介した方法で、含まれている植物の種を判別できる可能性が高いと考えられる。

文献

- 1) Christopher S. Drummond : “Diversification of *Lupinus* (Leguminosae) in the western New World: Derived evolution of perennial life history and colonization of montane habitat”, *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48 (2008) 408-421
- 2) Gussarova, G., Popp, M., Vitek, E., Brochmann, C. : “Molecular phylogeny and biogeography of the bipolar *Euphrasia* (Orobanchaceae): Recent radiations in old genus”, *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48 (2008) 444-460
- 3) Taberlet, P., Gielly, L., Patou, G., Bouvet, J., “Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA” *Plant Mol. Biol.* 17 (1991) 1105-1109
- 4) DNA 品種識別技術検討会 : “植物の品種判別についての基本的留意事項 DNA 分析による小豆品種の識別” (2003)

Fig 2 確定した塩基配列

インゲンマメ

UCP-AB

AATATACATATGCAGAAGAATTTTCATGGGATCTGAGTTATAAAATTTTAGTCTTTATAACAAAATTCAAATGAATACAAACATAGAAAATATAGAAAAT
 CAAACCAATATTTAGAAATTTCTATTATTTATATGTTATGTTAGTCCATAACATAAAGTGCAAGATAAATGAATATGAATATAATCTCTTTTGATCTA
 ATATTCTAGATATATATTATTAATTTGATTGATTTCAAAAAGATTATTTATTAGTATTGAAAGTCAATTTTCGTAAATATTAAGGAATCCAGATTCTTA
 AAGAAATGTCTAATTTCTACATTAAGAAATGATTTTTATAGCCACTAGATTCGTTTGAGTTATATCAATTGTATATGAATAAATGGATTGTTTCTTTCT
 TTTTCAGCAAAAACAAAAAATAAAGAAATCGACCATTCGAGTATTGAAAATTTGTATGAAAAATAAATAAAGTAGGTACATAGAAGATAAGTAGATA
 TGTGGTCTATATCTGTATATATTGAATTTGAATATATAGATATTAGAATCAGTTCTGATTCAAGCAATAAAGGTATCGAGTATAGATGAAATAAAATC
 AAGAAATTTGGAGAAAAAGGGTTTTAATATTGAATAGAATAATATGGATTAAATGAATTCAAAAGTTTCCGCATTATTCTCATAATAGAAATGAAAA
 AGAGCATTATAT

UCP-CD

GGAAACTTACCAAGTGATCTTTCAAATTCAGAGAAACCTGGAATTCACAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCGTTTTCTGAAAAAAGAAAAATTC
 AGAAAGTGATAATAAAAAAGGGATAGGTGCAGAGACTCTATGGAAGCTGTTCTAACAAACGAAATTGACGACTTTTTTTCTTGCAATTAGTAAAGAATCC
 TTTCACCAAAATTCAGGAATGGATCAAAAATAACATTTAGAGACATATATATACTGAAATACTCTTTCAATTTATTACTATTATTAATGAAGATCGA
 TTTGTGATAAAAAATTCACAATGAAGATGTGAATCAACCAACTCGAAGTTGAAGAAAGATGGAATATTTCTTGATGAAATTATTCACTTTATCAT
 AATCGGATAAAACCTTGAAGAACTGATCAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCTATTCTACATGTCAATACCGACAACATGAAATTGAAAGTAAGA
 GGAAATCCGTCGACTTAATAAATCATGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCCC

UCP-EF

TCTAATTTTTCTATACCTCTCTATCTTTAAGTTGTTATTTATGTTTATTTCGATTATTCTTTCCCAACTAAATTGGAATTTTTATTTTCATCAA
 TTTCTATCTATCATAATTTTCTACATAATCACAAGTCACTAGTTTTGGAATATATATAGATAGATATATATGTAACACATATCATTTTTTTGAA
 TGAGAAAGGTATAATGAATATCTTATTTTGAGCAAGAATTTGAATATGCGTAATTAACGATTAACAATATAAAGAATTATTACTACGGAACCTCAC
 TTACAACTTTTTTTTACTTAGTTGATATAGATTCATTCACATATATTTCAATAATTTTTTCAAATAAAGTCTTAAGCTGCAAGAATGGTCGGGATA
 GCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAATCCTCGTGTACCAGTTCAAA

アズキ

UCP-AB 塩基配列決定できず

UCP-CD

TGGGAACCTTACCAAGTAATAATTTCAAATTCAGAGAAACCTGGAATTCACAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCTTTTTCTGAAAACAAAGAAAAAT
 TCAGAAAGTTATAATAAAAAAGGGATAGGTGCAGAGACTCTATGGAAGCTGTTCTAACAAACGAAATTGACGACTTTTTTTATTGCATTAGTAAAGAAT
 CCTTTCACCAAAATACAGGAATGGATCACTGAAATACTCTTCAATTTGTTACTTTTTCTTTATTTTAAATGAAGATCGATTGTGATAAAAAATATT
 CACAAATGAAAAATGTGAATCAATCAATTGGAAGTTGAAGAAACGATGGAATATTTATTGATGAAATTATTCACTTTCATCATAATCGGATAAAACCTT
 GAAGAACTGATAAATCAGATGAGAATAAAGATAGAGTCTATTCTACATGTCAATACCGACAACATGAAATTGAAAGTAAGAGGAAAAATCCGTCGACTT
 AAGAAATCATGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCC

UCP-EF

ATTTTTTCTATATCCTCTCTATCTTTAAGTCCTTATTTATGTTTATTTCGATTATTATTTCCCAACTAAATTGGAATTTGTATTTTCATCAATTT
 CCTATCTATCATAATTTTCTATCTATCATAATGACAAGGGACTAGTTTTGTAATAGATATAGCTAGTTTTGGAATAGATATATATGTAACACATAGA
 ATTTTCATATGCGTAATTAACGATTAACAATACAAAAGAATTATACTACGGAACCTAATTACAACTTTTTTTTACTTAGTTGATATAGATTCATTA
 ACATATATTTCAAAAATCTTTGAAATCCAAGTATTAAGCTTCAAGAATGGTCGGGATAGCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAATCCTCGTGTAC
 CAGTTCAAA

イチゴ

UCP-AB 塩基配列決定できず

UCP-CD

ACCTACCAAGTGATAACTTTCAAATTCAGAGAAACCTGGAATTAATAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCCCGTTTTATGAAAACAAACAGGGTTTCAG
 AAAGCGAGAATAAATAAAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACAAATGGAGTTGGCTGCATTGTGTCGTAGTAAAGGAATCGAACTT
 CCGAAAGGATGAAAGATAAACCTATATACATATGTATACTTACTGAAATACTATCGCCAAATAATTCAAATGATTAATGACGACTCCGTCGGCTAAATC
 TTTTATTTTTAAAAATTTTTAAATCGGATAAGAATAAAGATAGAGTCCATTCTACATGTCAATATCGACAACATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAAAT
 CCGTCGACTTTAGAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCCC

UCP-EF

ATTATTTATCTTCTTATTTGTTAGTGACTCATAATTGGTTATAGTTCTCAGTCACTCTCACTCTACTATTTTCACATTTACAAACAGATCTGAGCGGA
 AATTTTTTTCTTATCATCATCATAAGCAAGCCTTGTGTGTATATGATACGTGTTCAAATGCAATGAGCATCTTTGAATAATATTGTTAAATTTCAAT
 AATTAACAATTCATATCATTAAATTTGATTATTTGTTACTGTATTGAACTTATAAAGTTTTTCAATTTGAAGATACAAGAAATTCGACCAGGGCCTGGATAA
 TACCTTGAATATCTGTAATATCTTTTCAATTTTTTAATTGACATAGACCCAGTCCCTATTTAAATAAATGAGGATGGTGCATCAATGGTCGGG
 ATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAATCCTCGTGTACCAGTTCAAA

イグサ

UCP-AB 塩基配列決定できず

UCP-CD

TGGAACTTGCTAAGTGGTAACCTCCAAATTCAGAGGAACCTGGAATTCAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCTTTATTTTGATAAAATTTGTTTTTA
TAGAAAAATTCAAATCAAAAAGATAGGTGCAGAGACTCAACGGAAGCTATTCTAACGAATAGAGTTGACTACGTTATATTGGTAGTTGGAATTTCTCTA
TCGAACGAAATAGTCGAAATAGATAAAGGATGATCCTATATATACTAAAATCATACGTATATATACTGATTAATCAATGATTAATGATAATAAGGAT
GAAATTCATTCTGCATCTTTCTAATCAAAATTATGAATGATTGATTATGAAATAGTAAGTTGAGAAAAAGAAATATGGTGAATTTAGTTCCAAGTAA
GTTGAATGAAAGAAGATCCAAGATTGAGTAATCAAAAATGCATTCCCGAGTTTGCTGAAAACTGATTAATCGGACGAGAATAAGAGAGAGTCCATT
CTACATGTCGATATCGACAACATGAAATTTATAGTAAGAAGAAAATCCGTCGATTTAGAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCCC

UCP-EF

CTTCCTAAAGGATTATTTTTGTTAATAGTTCAAAAAAATTACTATCTTTCTATTCACTCAACTCTTTAACAAATGGATCTGAAAAAAAAGATTT
GGATTGTATCTTATATAAAAGAATACATATAACAAGGAATCTCTAATGAAATAATGAAATCATTCCAATACATATCATTATCCTAACATTAACTGA
CTCAGTCCAAATTTATACTAAATGTTATTGGAAATTGACATAGGTACAAGAATATAAATACAAATATTCCACTAGGATGATGTACAAACAATAGCCAG
GATAGCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAATCCTCGTGTCACCGATTCAA

大麻

UCP-AB 塩基配列決定できず

UCP-CD

ACCTACCGGTGATACTTTCAATTGAGAGAAACCCAGGAATTCAAAAAAGGGCAATCCTGAGCCAAATCCGGTTTTCTGAAAAACAAACAAGGATTGAGAA
AGCAATAATAAAAAAGAAATAGGATAGGTGCAGAGACTCAATGGAAGCTGTTCTAACAAATGGAGTTGGCTGCGTTAATCCGGATTTCTTTGATTTTTCAT
GAAAAATCAAAGAATTGTTGTGAATCAATTCTAAGTTGAAAAATGAATGAATATTCATTAATCAAATCATTACTCCATCAAAATCTGATAGATTTTT
GAAGACTTGATAAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCCATCCACATGTCAATATCGACAACATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAAATCCGTCGACTT
TAAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCCC

UCP-EF

ATTATTTATCCTCTCATTCCGTTAGTGGTTTCTAATTTGTTATGTTTCTCGTTCATTCTAACTTTACAACCGGACCTGAATGACCCTTTTTTTTATTATC
ACAAGCCTTGTGATATATATGAAAGACCTACAAATGAACATAAGGAATCCCAATGTGCAATTGGAATAATTAACAATGTAATCCCCCTTTCGTCTTTTTA
ATTGACATAGTCCAAGTCTCTAGTAAAAATGATGATGATGATCATGAATGGTCGGGTAGCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAAATCCTCGTGCA
CCAGTTCAAA

黄粒

UCP-AB

CCAAAATTCGCGGTACATAGGAATTTTTAAGCTAAGCTACTAAGCTACCGGGATCTTAGTTAGTTTTAGTTACTGTATTTTATTTATATTAGAGTAT
CTTCTATTTATATAATATTATTTATATTTCATTCTAATTTTTAATACTATTGCAATTAGAAAAAACGTTCTAATTTCTTAGAATTTGGAATAA
TGAAGAATTGGATTACAGTAACAGTAATTTATATTACACTATTCTTATACATTAAGATGAAATATGTATAATACATCGATTCTATTCAAAATTAATAA
GTGGATTTTTATAAAAAAAGAAATCGACCGTTGAGTATTCCAAATTCGATGAAAAAAGAAATAGGGCAGGGACATATAAAAGGATAGATATGTGGT
ATATTTCTAGGTATATTGAATTGCGAATACAGAAATAATAGAATCATTTTAGTTAGATTCTACCAATATGAATATCCAATATCGATGAACGAGAATAA
TAAATAGGAGGAAACATCTTCAATATAGGAATCGGTATCGAATCCATTCAACAGTCTGGCATAATTCTCAGAATTTAACTGAAAAAATCCTAGTGA
GAATGAGATCCCAATCTAAAAAGAGGGGGGATTTGGCGAAATCGGTAGAA

UCP-CD 塩基配列決定できず

UCP-EF

ATTATTTCTCCTAAATTATCTTTTTTTTATTGTTATGTGCTTATTGATTCAGTCCATCTTTTACAAATGGATCTGAGTGAATTTTTATTTTTTT
ATTACAATCACAACACAAGTCTTTGAATATGTTTCTAATATATATATATGAAACATACAAATTTTTTTTATATTATATGATAAACAACCTACAACAA
ACATCTTATCCTTGAGCAATGAGCAAGCAAGCCTCATATTAATGATTAAACATACATAATGATTACTACTACTGAAAAAACAATAAATTAATAA
TACAAAAGTATTTTTATTTAGTTGACATAGATTGATGACATATATTAAGTAATCTCTTAAATGGAGATGCTGCGCCAAGAAATGGTCGGGATAGCTC
TTTTTTTTAGAGCAGAGGACTGAAAATCCTCGTGTCACCGATTCAAATAA