

日本のコムギ品種育成および品種保証に おけるDNAマーカーの開発と利用

藤田由美子

抄 録

コムギはイネ、トウモロコシと並ぶ主要な穀類の一つである。日本では、食の多様化に伴い拡大した加工用途に対応し、自給率の向上を図るため、十数年前から新品種の育成が促進されてきた。その一方、近年の消費者の食の安全・安心に対する関心の高まりに対して、国内品種を保証するため、品種識別技術を確立することの重要性が増している。DNAマーカーは、生育ステージや組織に関わりなく適用できることから、品種育成およびその後の品種保証において有用なツールとなり得る。近年、病害抵抗性や障害抵抗性、種子の硬軟質性や生地物性等の品質関連形質に関し、遺伝子の探索とDNAマーカーの開発が進められ、育種現場においてDNAマーカー選抜 (MAS: Marker assisted selection) が定着してきたところである。一方、品種保証においては、これまでに加工食品に適用できるDNAマーカーの条件やDNA抽出法が検討され、DNAマーカーの利用にあたって注意すべき点や問題点が明らかになってきた。本稿では、日本国内のコムギ品種育成および品種保証のそれぞれの場におけるDNAマーカーの開発と利用の状況について概説した。

キーワード：コムギ、DNAマーカー、品種育成、MAS、品種保証、品種識別

Development and use of DNA markers for wheat breeding and breed guarantee in Japan

Yumiko FUJITA

Abstract

Wheat is a major cereal alongside rice and corn. In the last decade, wheat breeding has been promoted in Japan to cope with the expansion of food processing use due to diversification in the Japanese diet. Incidents of misleading food labels and distrust in imported foods have led to an increased interest regarding food safety and reliability among consumers. Therefore, a cultivar identification tool is required to guarantee domestic wheat cultivars. Because they can be applied regardless of the growth stage and tissue, DNA markers are a useful tool in breeding and subsequent breed guarantee. In recent years, DNA markers have been developed for disease resistance, pre-harvest sprouting resistance, and quality-related traits, such as grain hardness and dough properties. Marker assisted selection (MAS) has been established in wheat breeding programs. Investigating the conditions for the cultivar identification and DNA extraction of wheat food products revealed problems associated with applying DNA markers to breed guarantee. The status of development and use of DNA markers in wheat breeding and breed guarantee in Japan has been reviewed in this article.

Key Words: wheat, DNA marker, breeding, MAS, breed guarantee, cultivar identification

I 緒 言

コムギは主要穀類の一つで、日本における年間消費量は600万トンに及ぶ。コムギの加工用途はかつてめん類が主であったが、第二次世界大戦後の食の多様化に伴って、パン類や中華めん、菓子類が広く普及し、加工用途は大きく拡大した。そのため、めん用に適した品質を持つ従来の国内品種のみでは需要の拡大に対応できず、多くを輸入に依存するようになった。そこで、1999年に「麦新品種緊急開発プロジェクト」が発足し、継続的な研究プロジェクトによって多用途に対応するための新品種育成が促進され、同時に製パン性や製めん性等の用途に応じた品質評価法の開発や加工適性の解明が行われ、現在までに多くの成果が上げられている。

一方、近年の食品偽装表示問題や輸入食品におけるトラブルに端を発し、消費者の食の安全・安心に対する関心は高まりを見せている。国産コムギで作られた食品に対する需要もまた増加の一途をたどっており、特定品種名や「国産コムギ使用」の表示がなされた商品が散見される。偽装表示等に対する法的措置および取締りが徐々に強化され、それに伴って食品表示を科学的に証明する技術が求められるようになった。次々

生み出される新品種とそれらの流通拡大に伴って、品種を識別する技術を確立することの重要性が増している。

DNAレベルにおいて見出される品種間差異は、上述した品種育成およびその後の品種保証において大いに役立つ。コムギのゲノムDNAは約170億塩基対からなると言われており、その中には品種間で異なる塩基配列が数多く散在している。それらの違いはDNA多型と呼ばれ、多型を利用したゲノム中の指標がDNAマーカーである。DNAは生育ステージや組織に関わりなく分析対象にすることができる。そのため、育種目標とする形質に関わるDNA領域を見出してマーカー化し、遺伝子型を確認することで簡便に目的形質をもった個体を選抜することが可能となる。また、DNAマーカーを用いて品種を特徴付ける遺伝子型をカタログ化することにより、種子生産や一般栽培、収穫後の販売、流通、加工のすべての現場で品種の保証に役立つことも可能である。

本稿では、日本国内のコムギ品種育成および品種保証のそれぞれの場におけるDNAマーカーの開発と利用の状況について概説する。

II コムギ品種育成におけるDNAマーカーの開発と利用

多用途に対応する品種育成が活発になった10年程の間に、DNAマーカーの開発・利用は飛躍的な進歩を遂げている。育成されたコムギ品種の中にはMAS (Marker assisted selection) による成果もあり、育種においてMASは定着しつつあるところである。現在、日本国内のコムギ品種育成地においてMASが利用されている遺伝子やQTL (量的形質遺伝子座) に関する情報を表1に示した。

1 品質関連形質に関するDNAマーカー

品質に関わる形質としては、製粉性に関与する硬軟質性や製パン性、製めん性を計る生地物性、製めん性を評価する上で重要な粘弾性を左右するアミロース含量がある。アミロース含量に係る*Waxy*遺伝子は、早くから注目されていた形質の一つであり、低アミロースコムギを選抜するためのDNAマーカーを品種育成へ適用

表1 日本国内においてMAS利用されている遺伝子とDNAマーカー

形質	主な遺伝子座	マーカーの種類	主な参考文献
アミロース含量	<i>Wx-A1, Wx-B1, Wx-D1</i>	遺伝子	Nakamura <i>et al.</i> 2002, 鈴木ら 2006, 齊藤ら 2011
硬軟質性			
ピュロインドリ 生地物性	<i>pin-a, pin-b</i>	遺伝子	Gautier <i>et al.</i> 1994, 鈴木ら 2006
高分子量グルテニンサブユニット	<i>Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1</i>	遺伝子	石川ら 2005, 鈴木ら 2006, 池田ら 2006, 高田ら 2008, 福田ら 2010
低分子量グルテニンサブユニット	<i>Glu-A3, Glu-B3</i>	遺伝子	Zhang <i>et al.</i> 2004, 鈴木ら 2006, 福田ら 2010
病害抵抗性			
縞萎縮病抵抗性	<i>Ymlb, YmMD, Qym.njau-5A.1</i>	QTL	Nishio <i>et al.</i> 2010, 竹内ら 2010, Zhu <i>et al.</i> 2012
赤さび病抵抗性	<i>Lr9, Lr19, Lr24</i> , その他	QTL	Chelkowski <i>et al.</i> 2003
赤かび病抵抗性	<i>Fhb1</i> , その他	QTL	久保ら 2011, 2012, 吉村ら 2011, 西尾ら 2011
穂発芽耐性	<i>Phs1, MFT</i>	QTL, 遺伝子	Torada <i>et al.</i> 2005, 2008, Nakamura <i>et al.</i> 2011

したのがMASの最初であると思われる（中村ら 2003）。これまでに「スイートウィート」（Nakamura *et al.* 2006）や「ゆきはるか」（谷口ら 2012）など多くの品種がWaxy遺伝子のMASによって生み出されている。

MASの精度や効率の高さが認識されるに従い、アミロース以外の形質についても積極的にMASが利用されるようになってきた。製粉性に関わる種子の硬軟質性を決定するピュロインドリ遺伝子は現在、主要なMASの対象形質となっている。また、パン用品種の育成にあたり、高製パン性を示す高分子量グルテニンサブユニットの遺伝子型*Glu-D1d*は現在、ほとんどの育成地においてMASを利用して導入が行われている。最近では、低分子量グルテニンサブユニット*Glu-B3*の遺伝子型*Glu-B3g*または*Glu-B3b*と*Glu-D1d*の組合せが強い生地物性をもたらすことからMASが促進されており、その成果として、2011年に「銀河のちから」（東北農業研究センター）が品種登録出願されている。各育成地において育種目標に適合した組合せのグルテニン遺伝子の導入が進められ、愛知県農業総合試験場で育成された「東海103号」（藤井ら 2009）や「東海104号」（吉田ら 2012）は、MASを利用して生み出された品種である。なお、作物研究所のコムギ育種では、*Wx-A1*、*Wx-B1*、*Pin a*、*Pin b*、*Glu-A1*、*Glu-D1*、*Glu-B3*についてそれぞれいくつかの遺伝子型を識別できる体制を整えており、年間約3000個体を対象に、育種目標に応じてMASを行っている。

2 病害・障害抵抗性に関するDNAマーカー

病害抵抗性については、赤さび病や赤かび病、縞萎縮病について抵抗性遺伝子の導入やDNAマーカー開発が行われており、いずれもQTLに連鎖したSSRマーカー等が選定、利用されている。赤さび病は、国内において古くから問題となっており、抵抗性品種の育成に取り組みられてきた。国内のレースの調査やそれらに有効な抵抗性遺伝子の同定が行われている（中村ら 1999, Singh *et al.* 2001）。多くの赤さび病抵抗性遺伝子は近縁野生種から見出されたもので、準同質遺伝子系統群と抵抗性遺伝子の連鎖マーカーが作出されている（Chelkowski *et al.* 2003）。それらを用いて、国内品種・系統へ抵抗性遺伝子の導入が行われた例もある（筒井ら 2003）。

赤かび病については抵抗性品種の「蘇麦3号」から*Fhb1*をはじめとするいくつかのQTLが見出されており、連鎖マーカーを利用して、それらのQTLを導入した系統の育成と形質評価が進められている（久保ら 2011, 2012, 吉村ら 2011）。また、北海道の赤かび病抵抗性品種「ゆめちから」において効果の大きいQTLが見出されている（西尾ら 2011）。

近年とくに問題となっている縞萎縮病は、いくつかの抵抗性品種から効果の高いQTLが見出されてきている（Nishio *et al.* 2010, 竹内ら 2010, Zhu *et al.* 2012）。国内のウィルス系統

に抵抗性を示すQTLの組合せが調査されており（小島ら 2012）、MASによる抵抗性遺伝子の導入に向けて取り組まれている。

また、障害抵抗性の一つに穂発芽耐性がある。穂発芽は、収量低下や品質劣化を引き起こし、生産者および実需者に甚大な被害をもたらすことから抵抗性の付与は重要な育種目標とされている。これまで種子休眠性に関わるQTLがいくつか見出され、連鎖マーカーが選定されてきた（Osa *et al.* 2003、Mori *et al.* 2005、Torada *et al.* 2005、2008）。MASによって、北海道のパン用品種「春よ恋」にそれらの3A染色体短腕および4A染色体長腕上のQTLを導入した準同質遺伝子系統が作出されており、元品種と比較し

て穂発芽抵抗性が優れることが明らかにされている（厩田 2010）。また、2011年には3A染色体短腕上のQTLの原因遺伝子として発芽を抑制する*MFT (Mother of FT and TFL1)* 遺伝子が同定され、原因となる配列多型に対するDNAマーカーが開発された（Nakamura *et al.* 2011）。現在までに国内の160品種系統の*MFT*遺伝子型が調査されており、このマーカーを用いることで、国内品種の*MFT*対立遺伝子型に地域性が見られ、日本在来の関東以西の品種のほとんどが休眠強型の*MFT*対立遺伝子型を持つのに対して、北海道や東北の品種では、休眠弱型の*MFT*対立遺伝子型が一般的であることが明らかになった（中村ら 2011、蝶野ら 2012）。

III 品種保証のためのDNAマーカーの開発

品種育成で利用されるDNAマーカーは、形質に関わる遺伝子を導入あるいは排除するためのものであり、形質と遺伝子の関係が明らかにされている。しかし、品種保証に用いられるDNAマーカーは、必ずしも形質との関係が分かっているなくてもよい。自殖性作物のコムギは、交配から十数世代を経て品種になった段階では、遺伝的に固定されていると考えられる。そのため、DNAマーカーを用いて品種間で異なる遺伝子型を認識し、カタログ化することで品種を特徴付けることができる。カタログ化する品種数が多ければ多いほど、品種の識別精度は高まる。マーカーで検出するDNA領域は、品種間で差異があることに加え、品種内の個体間で一致していることが重要である（DNA品種識別技術検討会 2003）。また、育種現場を含め、種子生産や一般栽培、収穫後の販売、流通、加工のいずれの現場でも利用できるように、植物体のみならず収穫物および加工品にまで適用可能なDNAマーカーを開発することが望ましい。本章では、筆者らが取り組んできた加工食品を対象とした品種保証のためのDNAマーカー開発の事例について紹介する。

1 加工食品に適用できるDNAマーカーの開発

コムギは製粉されて捏ねる、加熱する等の工程を経て、パンやめん、菓子等の食品へ加工される。様々な種類の加工食品から抽出したDNAの電気泳動図を図1に示した。小麦粉やゆでめ

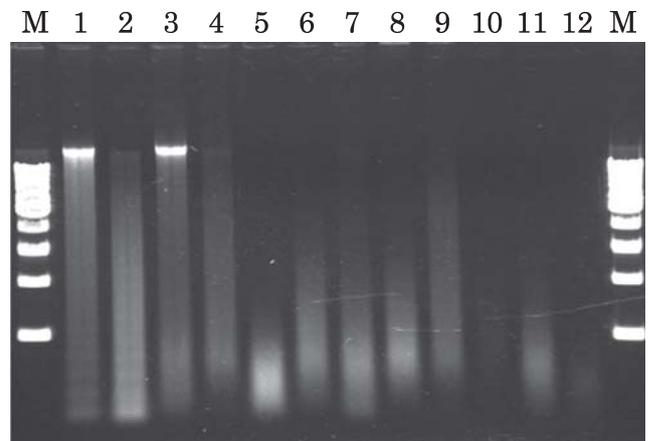


図1 DNeasy Plant Mini Kitにより加工食品から抽出したDNAのアガロースゲル電気泳動図

M.1kbp ladder marker; 1.小麦粉; 2.乾めん; 3.ゆでめん; 4.味付油揚げめん; 5.食パン; 6.蒸しパン; 7.クラッカー; 8.ビスケット; 9.クッキー; 10.カステラ; 11.パイ; 12.かりんとう。(藤田ら 2012)

んのように、加工度が低い食品では高分子ゲノムが確認できるが、高温加熱した食品では断片化されて低分子の状態になっていることが分かる。DNAは耐熱性があり、部分的に分解、断片化されても分析に供試できるが、DNAマーカーを作成するにあたり、いくつか考慮しなければならない点がある。短くランダムに断片化したDNAから特定領域の増幅産物を得るために、抽出されるDNAの平均的な長さよりも短い増幅長を設定しておくことで確実な検出が可能となる。筆者らはパンやクッキー、うどん等の食品から抽出したDNAを用いて、300bp程度の増幅長であれば、断片化の異なるいずれのDNAにおいても安定的に検出できることを示した(図2)。また、焼成後の時間経過に関わりなくパンからDNAを抽出することができ、適切な増幅長を設定していれば、遺伝子のコピー数に関わりなく検出できることが示されている(Tilley 2004)。一方で、食品から抽出したDNA溶液中には、副原料によって様々な生物種に由来するDNAが含まれる。そのため、データベースに登録されている塩基配列情報を参考に

しながらコムギに特異的なプライマー配列を設計し、実際にPCR実験を繰り返すことが重要である。

筆者らは、これらの条件を踏まえて品種識別に用いるためのEST (Expressed sequence tag)-SSR (Simple sequence repeat) マーカーを作成し、国内外のコムギ58品種の遺伝子型カタログを作成した(Fujita *et al.* 2009)。マーカー開発の流れは図3に示す通りである。ESTをマーカーにした場合、実際に機能を持つ遺伝子をマーカーとして利用できる可能性があり、遺伝子として機能しない領域に由来するマーカーと比較して、塩基配列の保存性が高く、長期間あるいは広範囲に栽培される品種であっても変異が生じにくいと考えられる。そのため、品種内における遺伝子型の均一性や結果の安定性が得られやすいメリットがある。実際に、開発したEST-SSRマーカー10組について国内で複数の府県に普及する15品種の品種内多型を調査したが、60年以上にわたって栽培され続けている「農林61号」を含め、ほとんどの品種で品種内多型は見られなかった(藤田ら 2010)。

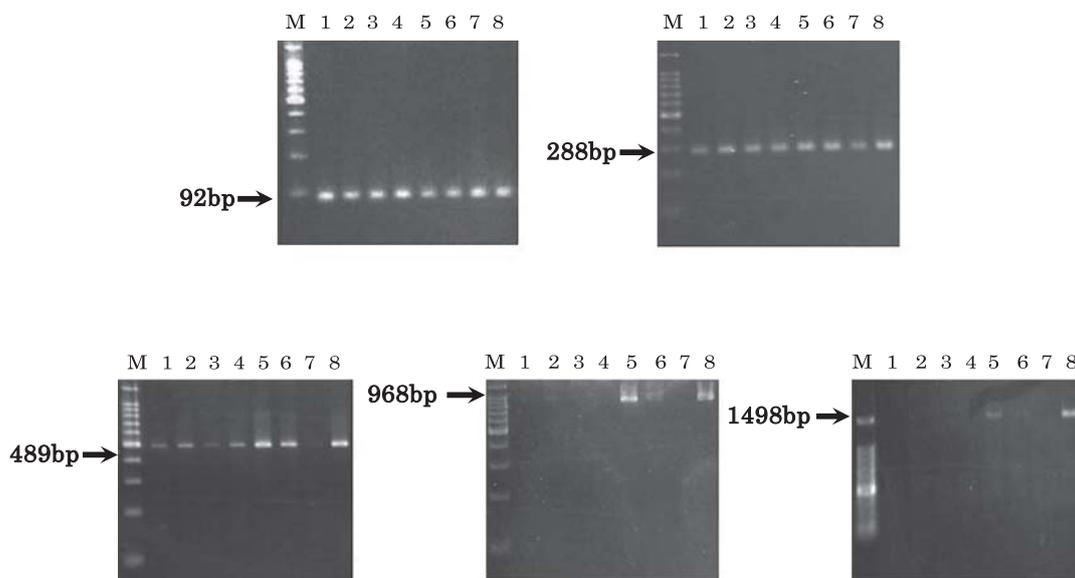


図2 市販加工食品から抽出したDNAを用いた5組のプライマー対によるPCR増幅産物のアガロースゲル電気泳動図

M: サイズマーカー; 1. クッキー(A); 2. クッキー(B); 3. クラッカー; 4. パン; 5. 半生うどん加熱前; 6. 半生うどん加熱後; 7. パイ; 8.小麦粉 (藤田ら 2006)

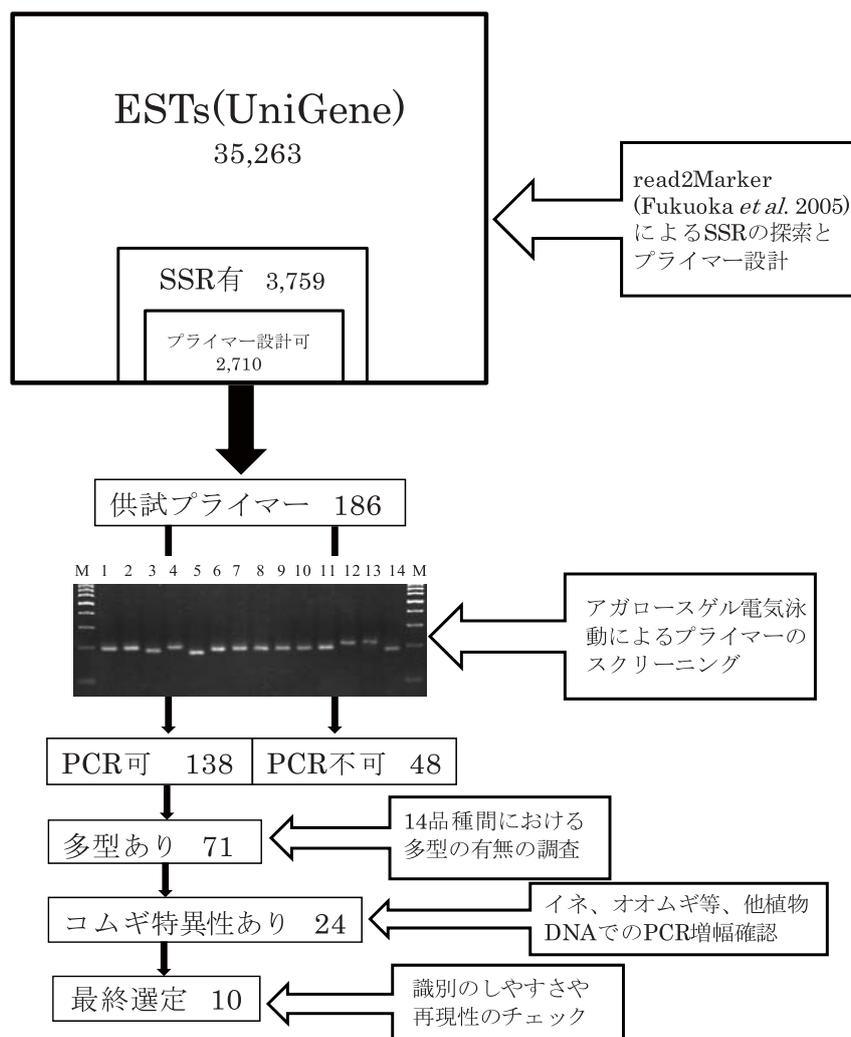


図3 コムギESTからのSSRマーカー開発の流れ

2 加工食品からのDNA抽出法

加工食品には、加熱により糊化したデンプンや変性したタンパク質、砂糖や油脂等の副原料が含まれる場合が多く、DNAの抽出を阻害する要因になっていると考えられる。そのため、食品からDNAを抽出する際、それらを効率よく除去することが重要なポイントである。DNA抽出キットは様々なものが市販されているが、3種類のキットを利用した加工食品からのDNA抽出手順について図4に示した。DNeasy Plant Mini Kitは植物体を対象としたキットであるが、村上ら(2008, 2010)により α -AmylaseやProteinaseKを用いた処理を追加することでめん類や菓子等の加工食品に適用されている。Genomic

-tip20/Gはダイズやトウモロコシ等の遺伝子組換え作物の検出のために、加工食品からDNAを抽出する基準法として採用されている(独立行政法人農林水産消費安全技術センター2002)。また、*GM quicker 3*(ニッポンジーン)は加工食品用のDNA抽出キットとして開発、販売されているものである。いずれも初めの段階で α -AmylaseやProteinaseKを使用して夾雑物を処理しており、クロロホルム等の有害試薬を使用しない。これらの抽出法によって得られた食品からのDNAについては、陰イオン交換カラムを使用するGenomic-tip20/Gが最も多様な食品から安定して高純度なDNAが得られる傾向が確認されている(藤田ら2012)。しかし、コムギ由来のDNAを検出するプライマー(厚生労働省2002)を用いてPCRを行うと、いずれの

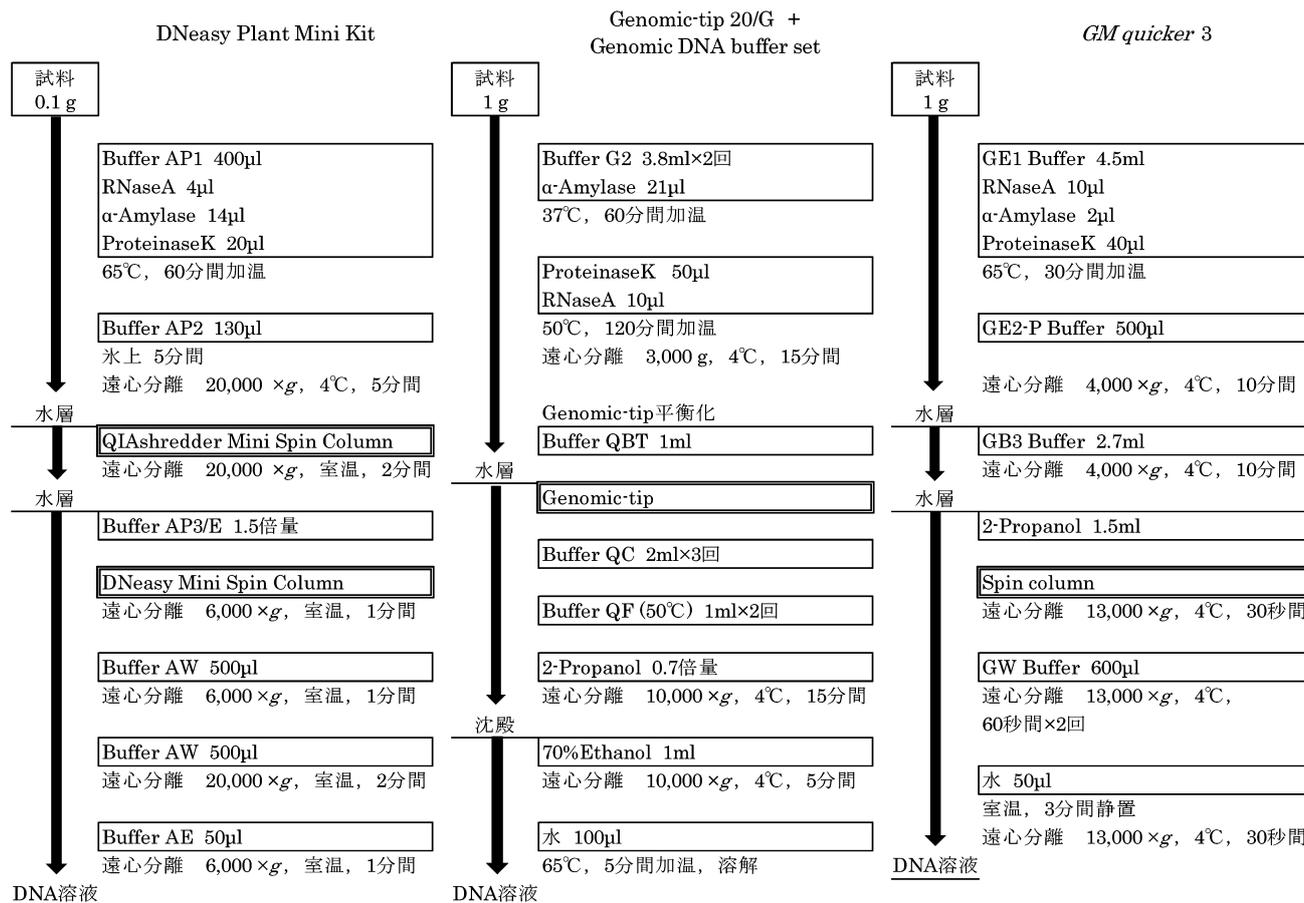


図4 3種の市販キットによるコムギ加工食品からのDNA抽出手順 (藤田ら 2012)

抽出法でも目的とする増幅産物を得ることができる (図5、一例)。これらの結果は実験環境や作業者が違っていても同様であり、いずれもPCRを行うために十分なDNAが得られる再現性に優れた手法であった (藤田ら 2012)。

それぞれの抽出法の費用を表2に示した。DNeasy Plant Mini KitおよびGenomic-tip20/Gは、酵素がキットに含まれていないため別に購入する必要がある。抽出にかかる時間はDNeasy Plant Mini Kitが最も短く、GM quicker 3はそれよりもやや時間を要する。Genomic-tip20/GはDNeasy Plant Mini Kitの2倍程度の時間が必要である。

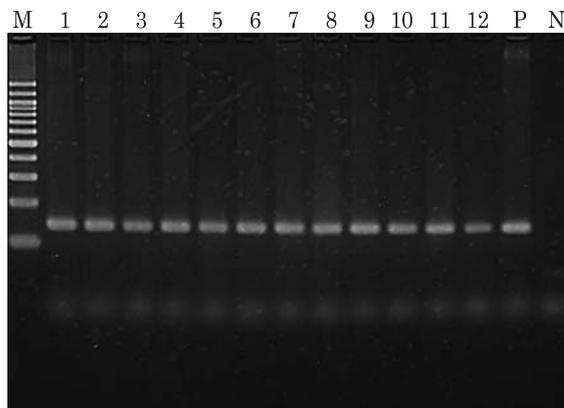


図5 加工食品から抽出したDNAのコムギ検出プライマーによるPCR産物の0.8%アガロース電気泳動図

M.100bp ladder marker; 1.小麦粉; 2.乾めん; 3.ゆでめん; 4.味付油揚げめん; 5.食パン; 6.蒸しパン; 7.クラッカー; 8.ビスケット; 9.クッキー; 10.カステラ; 11.パイ; 12.かりんとう; P. Positive control (ASW 小麦粉); N.Negative control. (藤田ら 2012)

表2 加工食品に適用できるDNA抽出キットと1試料あたりのおおよその費用 (円)

DNA抽出キット	販売元	キット費用/1試料	α-amylase費用/1試料	Proteinase K費用/1試料	合計費用/1試料
DNeasy Plant Mini Kit	QIAGEN	500	400	100	1,000
Genomic-tip 20/G + Genomic DNA buffer set	QIAGEN	1,340	600	250	2,190
GM quicker 3	ニッポンジーン	1,080	キットに含まれる		1,080

3 実用化の取組み

これらのDNAマーカーやDNA抽出法について、有難いことに、これまでに検査機関や企業の方々から数件の問い合わせをいただいた。技術に対する需要や要望を直接的に伺うことができ、非常に貴重な機会であった。現在のところ、イネとは異なり、コムギ品種のブランド化は極一部のものに限定されているため、特定品種の識別に対する需要よりも、輸入コムギと国産コムギの識別や輸入コムギの銘柄間の識別に対して関心が高いと感じられた。著者らは、開発したEST-SSRマーカーのうち、一部のものによって検出される外国品種特有の遺伝子型を利用し

て、国産コムギで作られた食品中から外国産コムギの混入を簡便に確認できる可能性があることを示しており（藤田ら 2009）、問合せでは、この件について興味を持たれることが多かった。現在、目的に応じて技術の有用性の検証やマニュアル作成が行われているところであり、詳しくは記述できないが、検証を進めるにつれ、具体的な問題点も浮上してきた。コムギの栽培、流通、加工における長く複雑な過程を考慮すると、このような技術の精度や有用性については十分に検討される必要がある。現段階では、実際に実用化に至るかどうかが未定の状況であるが、これらの試行錯誤によってまた新たな改善点や対応策が見出され、貴重な知見が積み重なっていくことと思われる。

IV 終わりに

コムギのゲノムは異質 6 倍体であり、各形質を支配する遺伝子座が 3 重複する。そのため、形質と遺伝子の関係を解明する際、類似した 3 種の DNA 塩基配列を考慮する必要がある。また、コムギのゲノムサイズはイネの約 40 倍と推定されており、これらの複雑さが遺伝子解析や塩基配列の解読を困難にし、マーカー開発の障壁となっている。しかしながら、アメリカ、カナダ、オーストラリア等世界各国において活発な品種育成が進められる一方で、より有用なコムギの DNA マーカーを開発するため耐病性や品質関連形質等について様々な研究が展開されている（Gupta *et al.* 2010）。また、2005 年から、普通系コムギの 21 対の染色体のゲノム情報を各国が分担して解析する国際共同ゲノムプロジェクトが立ち上げられ（<http://www.wheatgenome.org/>）、全ゲノム解読が進められている。日本も本プロジェクトに参画しており（小林ら 2012）、今後、形質に関する詳細な解析が進められ、MAS や品種保証への活用につながることを期待されている。

育種現場における MAS の利用にあたって、

植物体から DNA を抽出することが不可欠であるものの、前章で述べたように、加工食品から DNA を抽出するほどに手間やコストをかける必要はない。市販の DNA 抽出キットを用いると、有害試薬を使用しない、作業が簡便、作業者が違って安定して抽出ができる等の利点があるが、その分、コストが高めとなる。しかし、植物体から DNA を抽出するために一般的に用いられている CTAB 法（Murray *et al.* 1980）や SDS 法（Dellaporta *et al.* 1983）等を利用することで、市販キットを使用する場合と比較して格段に低コストで済み、MAS に利用するために十分な量と純度の DNA を得ることが可能である。

MAS では対象とする個体数が多いことに加えて、利用する DNA マーカーの数を増やせばその分、PCR 反応や電気泳動等、その後の分析作業は増加する。そのため、分析コストを下げることは重要な課題であり、複数の DNA マーカーを一度に分析する、試薬類を安価なものに変更するなど、様々な点で低コスト化を図ることが望ましい。今後、MAS を継続的に利用し、

新しく開発される有用なDNAマーカーを必要に応じて育種現場にスムーズに導入していくためにも、作業環境や作業者の人数、予算を考慮しながら適切な体制を整えること、また、状況に応じて迅速に見直しを図ることが重要であると考えられる。

一方、品種保証で利用されるDNAマーカーは、識別技術としての精度の高さが求められる。品種の識別結果は、場合によっては大きな社会的影響を及ぼすことが懸念される。そのため、品種を特定する作業は、できるかぎり曖昧

さを排除し、結果の再現性や識別の確実性を重視して慎重に行われるべきである。植物体から加工食品まで幅広い種類の試料に対応でき、作業環境や作業者が変わっても同じように品種を特定するためには、分析コストの低減よりも、まずは高精度な実験系を組み立てることが優先される。品種育成および品種保証のそれぞれの場においてDNAマーカーが適切に利用され、そのメリットが十分に活かされることを期待したい。

引用文献

- Chelkowski, J., L. Golka and L. Stepien (2003) Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. Thatcher. *J. Appl. Genet.*, 44(3), 323-338.
- 蝶野真喜子・松中仁・関昌子・藤田雅也・乙部千雅子・田谷省三・小田俊介・小島久代・中村信吾・芦川育夫 (2012) 日本のコムギにおける変異型 *Mother of FT and TFL1* の分布とその種子休眠性に与える影響. *育種学研究*, 14(別2), 251pp.
- Dellaporta, S. L., J. Wood and J. B. Hicks (1983) A plant DNA miniprep: version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1, 19-21.
- DNA品種識別技術検討会 (2003) 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—. 1-2.
- 独立行政法人農林水産消費技術センター (2002) JAS分析試験ハンドブック 遺伝子組換え食品検査分析マニュアル 改訂第2版 基本操作編. 5-7.
- 藤井潔・辻孝子・吉田朋史・井澤敏彦・船附稚子・池田達哉 (2009) めんの食感、色、生地物性に優れる小麦新品種「東海103号」の育成. *愛知農総試研報*, 41, 35-45.
- 藤田由美子・池田達哉・荒木悦子・矢野博 (2006) 小麦加工食品からのDNA抽出法およびDNA断片化程度の評価. *DNA多型*, 14, 154-156.
- Fujita, Y., H. Fukuoka and H. Yano (2009) Identification of wheat cultivars using EST-SSR markers. *Breed. Sci.*, 59, 159-167.
- 藤田由美子・石川直幸・矢野博 (2009) SSRマーカーを用いた国産小麦と輸入小麦銘柄の効率的判別法. *DNA多型*, 17, 110-113.
- 藤田由美子・矢野博 (2010) EST-SSRマーカーを用いた国産コムギの品種内多型の評価. *育種学研究*, 12(3), 96-101.
- 藤田由美子・村上恭子・原口浩幸 (2012) 市販キットを用いたコムギ加工食品からのDNA抽出法の比較. *食工学会誌*, 59(8), 414-421.
- 福田至朗・辻孝子・池田達哉・吉田朋史・藤井潔 (2010) 麺用コムギの生地物性を高める *Glu-B3*, *Glu-A3*, *Glu-A1* 座の loop-mediated isothermal amplification (LAMP) マーカーの開発. *育種学研究*, 12, 87-95.
- Fukuoka, H., T. Nunome, Y. Minamiyama, I. Kono, N. Namiki and A. Kojima (2005) read 2Marker: a data processing tool for micro-satellite marker development from a large data set. *Bio Techniques*, 39, 472-476.
- Gautier MF., ME. Aleman, A. Guirao, D. Marion and P. Joudrier (1994) *Triticum aesti-*

- vum* puroindolines, two cystine-rich seed proteins: cDNA sequence analysis and developmental gene expression. *Plant Mol. Biol.*, 25, 43-57.
- Gupta, P.K, P. Langridge and R. R. Mir (2010) Marker-assisted wheat breeding: present status and future possibilities. *Mol. Breed.*, 26, 145-161.
- 池田達哉・谷中美貴子・高田兼則・石川直幸 (2006) 小麦生地物性を低下させる高分子量グルテニン・サブユニットの簡易判別法. 研究成果情報.
- 石川吾郎・齊藤美香・伊藤裕之・平将人・前島秀和・谷口義則・中村俊樹 (2005) コムギ高分子量グルテニンサブユニット「5+10」を判別するPCR用DNAマーカーの開発およびその東北地方向けパン用品種への適用. 東北農研研報, 103, 27-37.
- 小林史典・片桐敏・唐沢渉・塙優美子・金森裕之・金子聡子・渡邊将太・那須田周平・早川克志・阿部千香子・宅見薫雄・藤澤弘子・伊藤幸代・向井喜之・Dolezel Jaroslav・川浦香奈子・荻原保成・松本隆・片寄裕一・呉健忠・半田裕一 (2012) コムギ6B染色体塩基配列の解読に向けたBAC物理地図の構築. 育種学研究, 14(別2), 58pp.
- 小島久代・西尾善太・八田浩一・関昌子・乙部千雅子・高山敏之・蝶野真喜子・松中仁・笹谷孝英・小田俊介 (2012) 日本における3系統のコムギ縞萎縮ウイルスに対する複数の抵抗性遺伝子の効果. 育種学研究, 14(別2), 209pp.
- 厚生労働省 (2002) 特定原材料 (卵、乳、小麦、そば、落花生) の検査方法. 食発第1106001号, 別添1.
- 久保堅司・藤田雅也・河田尚之・小田俊介・八田浩一・松中仁・牛山智彦・前島秀和・中村和弘・中島隆 (2011) 6B染色体上のQTLがコムギ系統「西海165号」の赤かび病抵抗性に及ぼす影響について. 育種学研究, 13(別1), 229pp.
- 久保堅司・河田尚之・藤田雅也・八田浩一・松中仁・小田俊介・波多野哲也・関昌子・吉岡藤治・乙部千雅子・中島隆 (2012) 閉花性で赤かび病抵抗性に優れる「小麦中間母本農9号」(赤かび系3号)の育成. 九州沖縄農研研報, 57, 21-34.
- Mori, M., N. Uchino, M. Chono, K. Kato and H. Miura (2005) Mapping QTLs for grain dormancy on wheat chromosome 3A and the group 4 chromosome, and their combined effect.
- 村上恭子・河田利和 (2008) 市販キットを用いた小麦加工品からの簡便迅速なDNA抽出法. 香川県農試研報, 59, 45-49.
- 村上恭子・本田雄一・十鳥秀樹・藤田由美子 (2010) 小麦品種判別のための菓子類からの簡便迅速なDNA抽出法. *DNA多型*, 18, 89-92.
- Murray, M. G. and W. F. Thompson (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.*, 8, 4321-4325.
- 中村和弘・細田清・八田浩一・中村洋・吉川亮 (1999) コムギ赤さび病菌極強レース21Bに有効な抵抗性遺伝子の同定. 育種学研究, 1(別1), 267pp.
- Nakamura, S., F. Abe, H. Kawahigashi, K. Nakazono, A. Tagiri, T. Matsumoto, S. Utsugi, T. Ogawa, H. Handa, H. Ishida, M. Mori, K. Kawaura, Y. Ogihara and H. Miura (2011) A Wheat Homolog of MOTHER OF FT AND TFL1 Acts in the Regulation of Germination. *Plant Cell*, 23, 3215-3229.
- 中村信吾・安倍史高・川東広幸・中園江・田切明美・松本隆・宇都木繁子・小川泰一・半田裕一・石田浩規・森正彦・川浦香奈子・荻原保成・蝶野真喜子・芦川育夫・三浦秀穂 (2011) コムギ穂発芽耐性遺伝子を検出できるDNAマーカー. 研究成果情報.
- Nakamura, T., P. Vrinten, M. Saito and M. Konda (2002) Rapid classification of partial waxy wheats using PCR-based markers. *Genome*, 45, 1150-1156.
- 中村俊樹・石川吾郎・齊藤美香 (2003) 部分的

- モチコムギ選抜からみたDNAマーカーの実用化. 冬作物研究, 3, 7-16.
- Nakamura, T., T. Shimbata, P. Vrinten, M. Saito, J. Yonemaru, Y. Seto, H. Yasuda and M. Takahama (2006) Sweet Wheat. *Genes Genet Syst*, 81, 361-365.
- Nishio, Z., H. Kojima, A. Hayata, N. Iriki, T. Tabiki, M. Ito, H. Yamauchi and T. D. Murray (2010) Mapping a gene conferring resistance to *Wheat yellow mosaic virus* in European winter wheat cultivar 'Ibis' (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 176, 223-229.
- 西尾善太・尾上ちひろ・早田暁世・伊藤美環子・田引正・長澤幸一・山内宏昭・三浦秀穂 (2011) コムギの穎色遺伝子Rg1近傍に見出された赤かび病抵抗性QTLの効果. 育種学研究, 13(別1), 230pp.
- Osa, M., K. Kato, M. Mori, C. Shindo, A. Torada and H. Miura (2003) Mapping QTLs for seed dormancy and the Vp1 homologue on chromosome 3A in wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 106, 1491-1496.
- 齊藤美香・乙部千雅子・小林史典・中村俊樹 (2011) 極低アミロースコムギを選抜できるDNAマーカーの開発. 育種学研究, 13(別1), 46pp.
- Singh, R., K. Nakamura and J. Huerta-Espino (2001) Leaf rust resistance genes in Japanese wheat cultivars. *Breed. Sci.*, 51, 83-87.
- 鈴木孝子・佐藤導謙・神野裕信・中道浩司・佐藤奈奈・西村努・小林聡・池永充伸・吉村康弘・竹内徹 (2006) 北海道小麦品種におけるDNAマーカーを利用したピュロインドリン、グルテニン、Wx遺伝子タイプの解析. 育種・作物学会北海道談話会会報, 47, 89-90.
- 高田兼則・谷中美貴子・池田達哉・石川直幸 (2008) 日本麺用小麦の生地物性に対する *Glu-A1*と *Glu-D1*対立遺伝子の相互作用と *Glu-A1*対立遺伝子のPCRマーカーの開発. 育種学研究, 10, 41-48.
- 竹内徹・宗形信也・鈴木孝子・千田圭一・堀田治邦・荒木和哉・浅山聡・佐藤導謙 (2010) コムギ縞萎縮病抵抗性系統の育成と「Madsen」由来の抵抗性遺伝子 *YmMD*の座乗領域の推定. 育種学研究, 12, 1-8.
- 谷口義則・中村和弘・伊藤裕之・平将人・中村俊樹・石川吾郎・吉川亮・八田浩一・前島秀和・伊藤美環子・中村洋・伊藤誠治 (2012) 寒冷地向け菓子用小麦新品種「ゆきはるか」の育成. 東北農研研報, 114, 23-37.
- Tilley, M. (2004) PCR amplification of wheat sequences from DNA extracted during milling and baking. *Cereal Chem*, 81, 44-47.
- Torada, A., S. Ikeguchi and M. Koike (2005) Mapping and validation of PCR-based markers associated with a major QTL for seed dormancy in wheat. *Euphytica*, 143, 251-255.
- Torada, A., M. Koike, S. Ikeguchi and I. Tsutsui (2008) Mapping of a major locus controlling seed dormancy using backcrossed progenies in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome*, 51, 426-432.
- 帛田淳史 (2010) パン用春播小麦における穂発芽抵抗性育種へのDNAマーカーの利用. 農林水産技術研究ジャーナル, 33(12), 23-26.
- 筒井一郎・山下耕一郎・長谷川明彦・池口正二郎 (2003) 小麦赤さび病抵抗性遺伝子Lr9を導入した春まき小麦系統の特性. 育種・作物学会北海道談話会会報, 44, 75-76.
- 吉田朋史・中嶋泰則・伊藤幸司・片岡幸次・橋詰一・野々山利博・久野智香子・辻孝子・藤井潔・井澤敏彦 (2012) パン・中華麺用硬質小麦系統「東海104号」の育成. 育種学研究, 14(別2), 185pp.
- 吉村康弘・鈴木孝子・足利奈奈・来嶋正朋・神野裕信・小林聡・西村努 (2011) 赤かび病抵抗性QTLを戻し交配により導入した春播きコムギ系統の開発. 育種学研究, 13(別1), 68pp.
- Zhang, W., M. C. Gianibelli, L. R. Rampling and K. R. Gale (2004) Characterisation and marker development for low molecular weight glutenin genes from *Glu-A3* alleles of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet*, 108, 1409-1419.

Zhu, X., H. Wang, J. Guo, Z. Wu, A. Cao, T. Bie, M. Nie, F. M. You, Z. Cheng, J. Xiao, Y. Liu, S. Cheng, P. Chen and X. Wang (2012) Mapping and validation of quantitative trait

loci associated with wheat yellow mosaic bymovirus resistance in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 124, 177-188.