

1-2 部分的モチコムギ選抜からみたDNAマーカーの実用化

東北農業研究センター・作物機能開発部・生物工学研究室
中 村 俊 樹・石 川 吾 郎・齊 藤 美 香

[はじめに]

作物のゲノム研究は、イネの全塩基配列決定や3万クローンに近い完全長cDNAライブラリーの解析等に代表されるように急速な発展を遂げている。このイネゲノム研究の開始と同時期に、育種でのDNAマーカーの有効性、活用が叫ばれ、さまざまな作物で関連研究が開始され今日に至っており、多数の関連論文あるいは特許が出されている。しかしながら現場育種で活用できるDNAマーカー、あるいは逆にDNAマーカーで選抜された品種は非常に少ないので現状であろう。これは国内だけでは無く、世界的傾向であることも事実である。なぜであろうか？その原因として、大きく2つの要因があげられると感じている。一つは、形質と関与する遺伝子の間のリンクがなかなか得られないために、選抜に活用できる実用的なDNAマーカーが開発できない点にある。例えば、コムギで言えば、穂発芽や赤かび耐性は、耐性のメカニズムやそれを制御する関与遺伝子の関係が、ゲノム情報があったとしてもなかなかつかめない。また、異質6倍体であるために3重複する同祖遺伝子の関係から、メカニズム解明が複雑になる点や、関与遺伝子の同定のために非常に重要な役割を果たすその発現を完全に欠いた変異体の出現率も2倍体植物に比べて大幅に少ない等の理由があげられる。第2の理由としては、育種事業も含めて研究者側の体制と意識の問題である。日ごろから現場育種の現状を見ている者からすると、育種研究室で、育種事業とDNAマーカー開発・選抜の両方を行うのは、時間的にも物理的にも難しいものがあるのではと思われる。もっともそのためか、育種事業をやっている側が、必要性を感じていない部分も見受けられる。一方基礎研究側は、論文や特許出願までの努力はするが、品種育成は、育種事業で行われる場合が多いためか、自身の開発したDNAマーカーを現場育種で活用できる（使ってもらう）までのアフターケアはしないのではと思われる。

これら2つのことは、関係者皆が大なり小なり感じている問題点ではないかと思われるが、「その解決をどうするか」となると、なかなか具体性のある答えは出せないのが現状であり、個々の研究者の自助努力に委ねられる。その様な状況を踏まえ、最近自身で開発した低アミロースコムギ（部分的モチ変異体、表1）を選抜するためのDNAマーカーを用い、コムギ育種関係の方々の協力を得て、それを品種育成に結びつけるためには、何が必要でどんな具体的問題があるのかを検討してみることにした。その結果、多くの問題点とその解決の方向性に関して有意義な検討を加えることができた。選抜対象形質によってDNAマーカー開発の難易度は異なるわけで、全てのマーカー開発が、今回の事例のように行くとは考えていないが、その一連の研究過程で考慮した点、出くわした問題等は、DNAマーカーをコムギ品種育種に結びつけるための議論において、有効ではと考える。そこで、マーカー開発、その育種事業での利用、事業化、マーカー開発におけるゲノム情報の活用の4点において話を展開させて頂く。

1. 部分モチ選抜マーカーの開発

部分モチコムギ（低アミロースコムギ）選抜のためのDNAマーカーは、モチコムギ（Nakamura et al. 1996）の変異を起こしたA, B, Dの3ゲノム由来の顆粒性澱粉合成酵素遺伝子（*waxy* 遺伝子）変異の分子レベルでの原因解析（Vrinten and Nakamura, 1999）によって具体化されたわけであるが、その特定の遺伝子の変異情報を麺の粘弾性の良い低アミロース系統選抜のDNAマーカーに結びつけることができた最大の要因は、「アミロース含量が低くなると麺の粘弾性があがり、製麺適性が向上する」という情報が現場育種で発見されていたことである（星野, 2000）。この情報から、形質と関与遺伝子、さらにはそのDNA情報とのリンクが確立されたわけであり、現場育種のデータに形質と関与遺伝子の関係を暗示するヒントがある可能性は非常に高く、それらのデータや現場育種研究者の経験的な話を聞くことは、先にも述べたDNAマーカー開発で必要な形質と関与遺伝子（連鎖も含めて）の関係を探る上で非常に重要であると思われる。

もう一点、今回、部分モチ選抜マーカーを開発するにいたった経緯には、DNAマーカー選抜が、低アミロースコムギ選抜において非常に大きなメリットがあった点である。多数の材料を扱う現場育種の選抜においては、労力、コストさらに技術的面でDNAマーカー選抜が最良の方法とは言えない。むしろより簡便で、効率の良い方法があればわざわざDNAマーカー選抜を行う必要はないのである。今回の場合、SDS-PAGEで顆粒性澱粉合成酵素（＝Wx蛋白質）を確認するのも一つの方法であった（Nakamura et al. 1992）。この方法は、根本的に自身のモチコムギ開発研究で見出した方法ではあるが、半粒から澱粉を精製して、SDS-PAGEで判定するのは、非常に手間がかかるため、検体を多数扱う場合にはあまり効率的な方法とは言えなかった。また品種によっては、分子量が変化したWx蛋白質がある（Yamamori et al. 1994）ことから、組み合わせによっては、SDS-PAGEでは判定を誤る可能性も高く、最終的には2次元電気泳動（Nakamura et al. 1993）で展開し判定する必要があると考えられた。これ以外の方法としては、直接アミロース含量を測定する方法（Yamamori and Quyhn 2002）、あるいはRVAで粘性を測定する方法があるが、それらは、誤差が大きく、全ての部分モチを選別するのは不可能であると考えられた。特に同法では、最近うどん用で望まれるBゲノム由来のWxタンパク質を欠く部分的モチ系統（表1, Type3）を正確に選ぶのは容易ではないと思われた。これらの問題点を考慮した上で、低アミロース系統の選抜には、*waxy*遺伝子の変異をマーカーにしたDNA選抜が有効であると判断し、開発に着手した。

開発においては、特に育種現場での活用を考え、単純なPCR法による選抜、さらには1回のPCRで、部分モチの全タイプ（表1）を決定できることを大きな柱とした。その中身については別に発表された論文等（Nakamura et al. 2002, 中村ら 2002, 石川ら 2002）を参考にして頂き、ここでは、その開発において、気づいた点として、「コムギの場合、塩基配列の相同性の高い3組の同祖遺伝子の取り扱いを十分考慮する必要がある」ことを明記しておきたい。つまり2倍体植物であれば、1遺伝子関与の場合、1つのPCRマーカー用のプライマーセットで良いが、コムギの場合、目的形質によっては、3つのプライマーセットを作る必要が出てくると言うことである。その場合、いかに3プライマーセットを同一条件、あるいはMultiplexで行えるように設計するかを考えなければ、DNAマーカー選抜が非常に手間のかかる（育種で使えない）方法になってしまふ可能性がある。また、マーカーは、目的PCR産物の有無

表1. 部分的モチコムギのTypeとコムギ粉中のアミロース含量

Types	Wx-A1	Wx-B1	Wx-D1	アミロース含量 (%)
Types1	+	+	+	28.7
Types2	-	+	+	28.5
Types3	+	-	+	27.1
Types4	+	+	-	28.0
Types5	+	-	-	19.8
Types6	-	+	-	25.8
Types7	-	-	+	22.9
Types8	-	-	-	0.9

* A, B, Cゲノム由来の3waxy遺伝子からの顆粒性澱粉合成酵素(GBSS)が造られれば+、なければ-。Typeは完全なウルチ、Type8はモチコムギである。

で判定するより、出来れば共優性でヘテロ個体も選抜可能にできるようにすることが理想的と考えている。

2. 育種系統を用いた実際の選抜で見えてきた問題点

さて、東北農研セの系統を初めに、全国の育種研究室の系統の選抜(表2)を開始すると具体的に、育種現場でDNAマーカー選抜を行う場合の考慮点が見えてきた。

表2. 国内各地のコムギ育種機関の系統を供試したwaxy座の遺伝子型判別(2002年度分析結果)

育種機関	調査個体数	アミロース含量 (%)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
九州沖縄農業センター	294	63	45	126				60	
近畿中国四国農業研究センター	267	171		96					
群馬県農事試験場	30	3	3	18				6	
作物研究所	252	37	25	130				60	
東北農業研究センター	317	83	55	99	9	1	9	52	9
長野県農事試験場	363	200		163					
合計	1523	557	128	632	9	1	9	178	9

1) 効率的DNAサンプルの準備

今回、実際に育種研究室からの材料を分析する場合、最大の問題点は、数百～数千と言う多数の個体からいかにDNAを抽出するかと言う点であった。従来の液体窒素を用いた乳鉢と乳棒による手作業では、到底対応できなく、当然効率的なDNA抽出方法を考慮する必要があった。その場合、方法としては、簡易DNA抽出法の利用、あるいは自動化が考えられる。私達も当初、操作の単純さやコストの面から、組織切片を直接溶液中で加熱してDNAを得るなどの簡易DNA抽出法を試してみた。当初それらの方法で抽出されたDNAは問題なく部分的モチ系統同定に使えると判断されたが、その後、通常の方

法で抽出した品質の良いDNAサンプルの結果と比較して、夾雑物の影響か、あるいはやはり抽出DNAの品質に問題があるのか、①あるプライマーセットでは、PCR産物が確認できるが、別のプライマーセットでは、全くPCR産物が得られない場合がある。②3同祖遺伝子からの産物が均等にPCRで増幅されない場合があることが判明し、判定を誤る可能性が高いことに気づいた。したがって簡易抽出法を用いる場合、使用するプライマーがそのような方法で取られたDNAを用いても十分目的PCR産物を増幅するか慎重に検討する必要があると考えられる。このようなことも実際多数の系統を扱って選抜を行うことで判明したことであり、「DNAマーカー選抜」と言うのは簡単であるが、実際は、やって初めて判明する問題点であった。

簡易抽出法では、固体によって判定を誤る可能性が非常に高くなることが懸念されたために、私達は効率的DNA抽出方法として、自動DNA抽出装置（クラボウ PI-50 α）と破碎装置（同社、SH-48）の導入を行った（図1）。破碎装置により、ビーズを用い2分間で48サンプルの破碎が可能である。また本DNA抽出装置は48サンプルを6時間で処理するものであるが、夜間自動運転を行うためには1日96サンプルの抽出が可能である。この装置の導入により、DNA抽出にかかる人的操作は、組織切片のサンプリング、DNA溶液の96ウェルプレートへの移動だけとなり、実働時間は大幅に縮少された（表3）。本システムにより、葉の組織100mgから50-100 μgのDNAが得られ、そのDNAを用いた場合、先の簡易抽法で見られたような問題点は観察されず、十分な品質のDNAが得られたと判断された。全てのDNAサンプルを機械的に100倍程度に希釈した溶液を用いてPCRを行っても、検出は問題なく行えることも判明し、個々のDNAサンプルの濃度を測定し目的濃度に希釈する必要も無く、非常

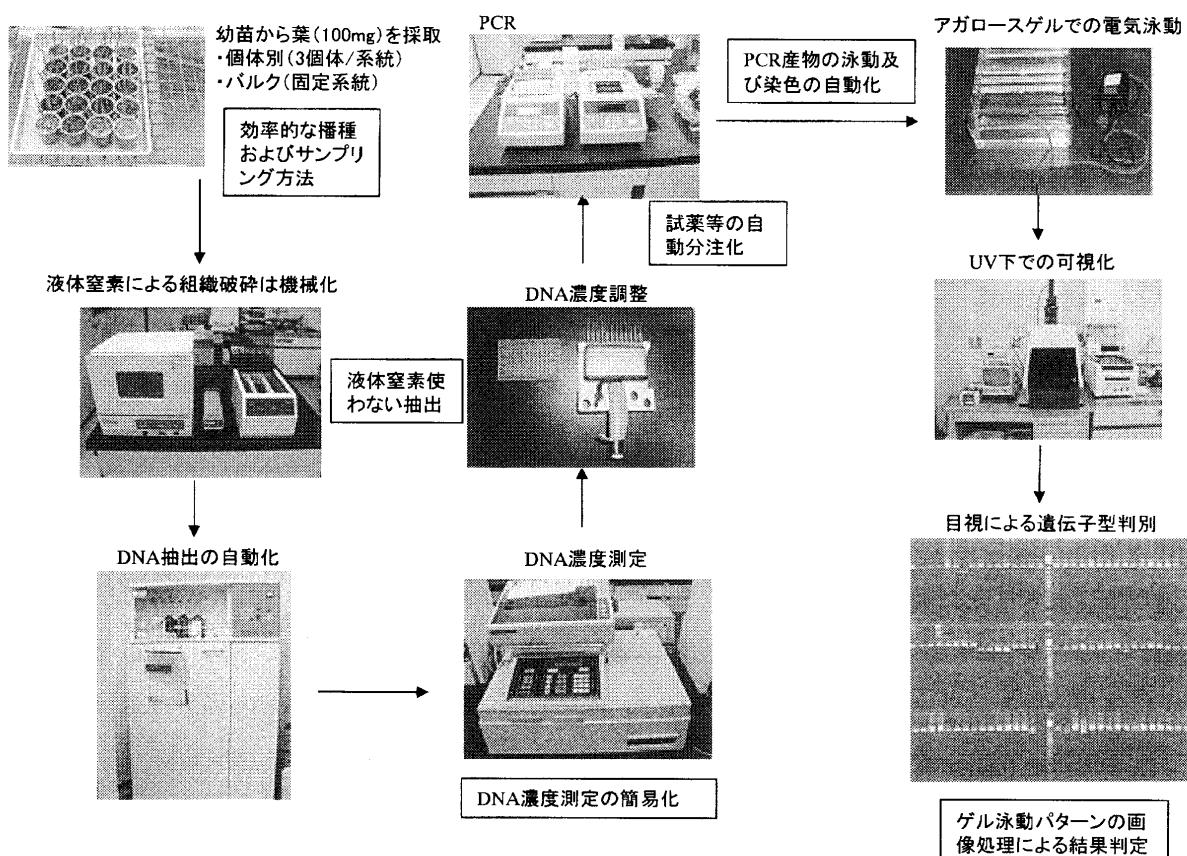


図1. 実際に育種を行ったDNA選抜の過程と効率化のために現在改良計画中の過程（黒枠囲み部分）

に効率的に選抜が可能になった。機器の導入費用が考慮されるが、もし仮に、他の作業に多くの時間を費やさなければなら現在の事業育種研究室において、さらにDNAマーカー選抜導入するのであれば、この機器の導入は必要不可欠と考えられる。

表3. PCRベースのDNAマーカーによる育種選抜の作業工程と
96点を1人で行った場合にかかるおよその作業時間

行程	細目	時間(時)
植物材料の準備	播種	1
	サンプリング	1
DNAの抽出*	(粉碎	0.1)
	(インキュベート	1)
	(抽出	12)
	回収	1
	濃度測定	1
マーカーの適用	濃度調整	1
	PCR準備	0.8
	(PCR	2.5)
	(電気泳動	1.5)
	染色	0.2
実質作業時間**		6

* クラボウのサンプル粉碎装置(SH-48)および核酸自動分離装置(PI-50 α)は、1回の操作で48点の分析が可能であるため、2回分の時間を示してある。

**括弧内は機械による自動運転のため実質の作業時間には含まない。

2) どの世代で選抜をかけるか（1系統当たりの検査個体数）

育種研究室としては全ての目的系統を選抜するのが理想であろうが、今回時間的、経費的面からある程度の絞込みをお願いした。すると、「どの世代の材料で、選抜をかけるのが効率的なのか」と「系統当たり、何個体のDNAを用いて選抜をすれば効率的なのか」との考慮点が出てきた。理論的には、交配後の世代が早いほど形質はヘテロ状態であり、選抜とともに世代が進むにつれて多くの形質はホモ化すると考えられる。しかしながら、実際にはアミロース含量やRVAで選抜をかけて選抜をかけたF6～F7でも、DNAで調べるとヘテロな場合は確認され、やはり最低1系統3個体以上の確認が必要ではと考えられた。この場合もヘテロ系統は廃棄することを前提にすれば、複数個体のDNAを混ぜてPCRを行い、調査系統がホモ集団なのかヘテロ集団なのかのある程度の判定は可能である。

3) どの組織からDNAを抽出するか

当初、各育種研究室から種子で送られてきた系統を、温室に播種し、3葉期まで成育させ、その葉を

DNA抽出の材料としていたが、多数個体を扱うため、播種、水管理作業あるいはスペースの問題が出てきた。そこで、深底の96穴プレートに1粒ずつ入れ、蒸留水を入れ、恒温器に（あるいは実験室に置いたまま）、発芽直後の実生をDNA抽出の材料としてすることで、かなり効率的に選抜を行うことを可能にした。ただ、この方法は、選抜した個体からの種子を直接次世代に利用することを各育種研究室が要求していないために可能である。もし、目的選抜個体の種子を次世代として利用する場合は、DNA選抜操作という実験室内の作業に加え、植物体を栽培した上で採種するまでが必要になる。その場合は、育種研究室が選抜対象系統を播種し、各個体より葉組織の一部を採取して送付してもらうことで対応は可能であると判断する。現在、そのような場合を考え、DNAブックに使われるような核酸吸着メンブレンを用いることで、簡単にDNAサンプルを採取して送付可能な方法についても検討を行っている。

4) 予想しない結果の取り扱い

親子判定でも知られるようにDNAマーカーで得られる判定結果は、当然親の遺伝子型から予想できるものである。しかしながら、今回多数の系統分析をした場合、頻度は低いものの、交配親の遺伝子型からは生じるはずのない遺伝子型が判定され、その結果の取り扱いについて、育種サイドから意見を求められたが、正直理由は不明である。可能性としては、多くの系統を展開する育種事業において、①圃場におけるアウトクロス、②収穫、脱穀等の操作過程で別系統種子の混入、③交配母本の遺伝子型がヘテロであった等の可能性が考えられる。今回の加工適性のように表現型で正確に拾うことが困難な形質の場合、このようなことは現在までも起こっていたであろうし、今後も起こりうると考えられる。そのようなことを防ぐためにもDNAマーカーは、今後育種の選抜のみでなく、品種判定や原種保持においても重要な役割を果たしていくと考えられる。

3. DNAマーカー選抜を育種事業に取り入れていく場合の考慮点

今回、全国の育種研究室で現在進行中の選抜対象系統を使わせていただき、シュミレーション的に低アミロース系統のDNA選抜を行っているが、今後マーカー選抜をコムギに限らず、各作物や野菜、果樹等の育種事業に導入し、定着させていく上では、以下の点を考慮すべきである。

1) DNAマーカー選抜の効率が、従来の選抜の効率を上回る必要性

育種においてDNAマーカー選抜がベストではない。矢野氏（2002）の考えにもあるように、「DNAマーカーは育種における目的形質選抜を助けるための一つのツール」である。DNAマーカー選抜より効率良い選抜方法があれば、育種の効率化からは、そちらのツールを使うべきである。もし、表現型でもタンパク質でもDNAを抽出するより効率が良い方法があれば、それを使って行くべきであり、そのような簡易マーカーの開発もDNAマーカー開発と同時に必要である。例えば、今回の部分的モチコムギ選抜マーカーでは、モチ系統も選抜できる。しかし、モチ系統をDNAマーカーで選抜するのは、経費と時間の無駄であると考えられる。なぜなら、モチかウルチかは、胚乳の一部にヨウ素溶液を垂らせば、容易に判定できるからである。多数の系統を扱い経費がかかる育種選抜においては、安価な簡易選抜法がますありきである。

またDNAマーカー選抜は、複数の形質を選抜できるDNAマーカーが揃ってきて初めてその効率が飛

躍的に向上すると考えられる。なぜなら一形質の選抜だけのために抽出DNAを用いるのは、抽出の手間や経費を考えると非常に無駄が多いと考えられるからである。ある若手育種研究者から、「最低3ないし4個の形質をDNAマーカーで一度に選抜できるなら、DNA選抜は本当に意味があるし、育種研究室でも積極的に導入するのでは」との意見があったが、この発言は示唆に富む。抽出したDNAを一形質のみの選抜ではなく、有効活用するためにも、複数の目的形質を同時に選抜するための新たなDNAマーカーを早急に開発する必要がある。現在その観点から、当研究室では、製パン性向上に大きく関与するグルテニンサブユニットのマーカー開発を行い、今回の部分的モチコムギ選抜マーカーと同時に使えるものを開発中である。今回の部分的モチのDNA判定に必要な経費は、人件費は別にして、1サンプル判定250円程度と試算された。もし、一度抽出したDNAを別の形質の選抜にも利用できれば、DNAマーカー選抜のコストは更に低くなると確信する。

2) 特許申請とDNAマーカーの普及との関係

独法化以降、特許等の業績は、個人的にも研究機関としても重要なものであり、当然作物育種に有効なDNAマーカーは、その取得対象となる。しかし、ここで大きな問題は、もし仮に特許化された（あるいは申請中の）DNAマーカーを現場育種が使う場合にどのようにアクセスするかというシステムが、「特許を獲得」の推進ほど、確立されていない点である。育種用のDNAマーカーは、当然品種育成や判定に使われて意味を成す。もし、特許が足かせとなり、育種サイドが利用しないようであれば、それらDNAマーカーの意味はないと考えられる。既に特許化されたマーカーに関しては、どのようなアクセスを行うのか最近ある程度道筋が示されたようである（星野・藤井、2003）。しかしながら、申請過程にあるものは、特許がいつ受理されるか、あるいは拒否されるかは不明であり、それが判定するまで使えないと言うのであれば、品種育種には、かなりの年数がかかることを考えると選抜用に開発されたDNAマーカーの意味は全く無くなってしまう。したがって、今後開発され特許申請されるようなDNAマーカーの取り扱いに関しても、申請中に普及を促す場合の取り扱い方法を確立する必要があると考える。また、特許との関連で言えば、PCR等の既に特許化された技術を取り入れた手法でDNAマーカーを開発した場合、そのマーカーを特許化して許諾等を行った場合、どのようなことが起こるのかも検討する必要があろう。ただこれらの問題に関しては、研究者個人が対応するよりも組織的対応が必要であり、さらに組み換え体技術でも問題になっているように、既存特許を回避するための新たな技術開発を行う必要もでてくるかもしれない。

3) さまざまな農作物のDNA選抜を担当する部署、センターの設置

今後イネを中心に、多くの育種に使えるDNAマーカーが開発されてくるであろう。しかし、先にも述べたが、それらDNAマーカーを使った選抜を育種研究室が行うことが現在の業務システムで可能かと言う問題がある。DNAマーカーが幾ら作成されても育種選抜で使わなければ、本当の意味でのDNAマーカー育種は成り立たない。現在その観点から当研究室では、DNAマーカー開発と同時に育種研究室の材料の選抜行っているわけであるが、今後マーカーが多数できた場合、選抜する系統数にもよるが両者を1、2名の研究員で担当するのは非常に負担であると同時に、一番大事な「新たなDNAマーカー

の開発」に支障をきたすと思われる。そこで、今後、DNA選抜を品種育成に定着させるには、作物、野菜、果樹も通してDNA抽出、選抜、判定等をルーチンで行う部署あるいはセンターのようなものが必要になってくるのではないだろうか、そのような集約的方法により、機器の整備、ランニングコストの削減も可能になると考えられる。またその場合、当然のことながら、そのような技術を持った外部機関への委託も当然選択肢として考えるべきではないだろうか。

4) DNAマーカー選抜操作のロボット化

3)の内容にも関連するが、イネゲノムを初めとするゲノム解読がシークエンサー等の解析機器の発達により劇的に進展したように、大量解析にはやはりその目的に合った機器の開発や感度の改良が不可欠である。私達の場合、DNA抽出過程が機器の導入により、作業時間を大幅に削減できた（表2）。育種におけるDNAマーカー選抜は、現在のロボット技術やコンピュータ制御技術を組み合わせれば、DNA抽出以降の操作は、結果判定までロボット化が可能なのではと考えている。その開発には、官民共同研究等を大いに活用すべきと考える。現在、その点から、どの過程が、どの様に機械化されると良いかのか、あるいは可能かをメーカーとも話しあっている。どの程度の需要が見込めるか、ランニングコストがどの程度かの問題があるが、DNAマーカー選抜を現在の事業育種システムの中で定着させて行く上では、全操作過程（図1）の中で、組織切片のサンプリングと結果の最終判定意外は、全て自動化することが理想的ではと考えている。

4. マーカー開発におけるイネを中心としたゲノム情報の活用

DNAマーカーをコムギ品種育種に普及、定着させるためには、「事業育種」の選抜目標に対応した「使えるDNAマーカー」の数を増やすことである。全塩基配列が解読され、完全長cDNAライブラリーが存在し、さらに詳細な連鎖地図情報や多数の同質遺伝子系統が存在するイネにおいては、現在でも他の作物に比べて格段に多いDNAマーカーを有するが、今後一気に形質とそれを支配する遺伝子の関係が解明されてくるために、現場育種が求めるDNAマーカー開発はオーダーメードのようになってくるのではと考えられる。しかし残念ながら、コムギのDNAマーカー開発が同様なレベルに達するには、さらなる歳月を経る必要があると思われる。したがって、現時点ではコムギのDNAマーカー開発のためには、今まで通り選抜対象となる形質とそれを支配する遺伝子の関係を地道に研究して行く必要がある。ただ、その場合でも、コムギとイネのゲノムのシンテニーが高い（Devos and Gale 2000, Sorrells et al. 2003）という利点は最大限に利用すべきである。イネゲノム情報を比較ゲノム的にコムギのゲノム適用することにより、形質と関与遺伝子あるいは連鎖遺伝子との関係がある程度類推されるであろうし、それによってコムギのDNAマーカー開発も加速すると考えられる。

現在私達は、コムギの新たなDNAマーカーの開発のために農業生物資源研のKOME等のイネゲノムデータベースを活用して研究を行っているが、やはり高いシンテニーがあることを再認識しており、その利用価値は高いと確信している。ただ、当然ではあるが、コムギにしか存在しない遺伝子が多数存在すること、ゲノム間でシンテニーは高いが、コリニアリティーは低い等の問題点も同時に認識している。また、6倍体であるために、イネとコムギとを直接比較をするより、2倍体であるオオムギゲノムを間

に入れると、さらにイネゲノム情報をコムギで有効に活用できることも確認している。そのようなイネ－オオムギ－コムギゲノム情報を活用して、コムギのDNAマーカー開発を効率良くまたシステムテックに進めるための支援ソフトのようなものを開発することも現在考えている。そのためには、今後益々増えるであろう各種ゲノムデータベースを理解し、それらを十分活用・加工できるバイオインフォマティクスの知識を習得する、あるいはそのような知識を持った研究者の協力を得ることが必要であると痛切に感じている。

5. 最後に

最初に述べたように、今回の部分的モチコムギ選抜マーカーの開発、その現場育種での活用を通じて、「技術」と「技術の応用・適応」の間には大きな乖離があることを実感した。「特許は多数あるが、その実用化はまた別である」と同様なことである。論文等でも色々なDNAマーカーに関する報告がある。実際私達もそれらの文献を元に幾つかのDNAマーカーを実際に使ってみたが、正直結果は論文に示されたような明確なものではなかった。また新たなテクニックを駆使している点では、論文としての新規性はあろうが、「現場育種選抜にはあまりにも非効率では」と思われるマーカーも多数報告されている。目的形質を正確に選抜できることは当然のことながら、やはり使い易いDNAマーカーの開発あるいはその加工が、長い目で見た場合、現場育種にDNAマーカー選抜を定着させる近道ではと思う。そのような観点から今後もコムギDNAマーカー選抜に関する研究を進めて行きたいと思っており、願わくば、今回の研究過程で選抜された育種系統後代から将来品種登録されるものが育成され、それが国内のコムギ品種育種においてDNAマーカー選抜の普及のきっかけになればと切に願っている。

本研究にあたって協力頂いた、全国のコムギ育種研究者の皆様に感謝すると同時に、研究推進に寛大なご配慮を頂いている当所作物機能開発部宮川三郎部長に感謝する。

引用文献

1. 石川吾郎、齊藤美香、中村俊樹（2003）コムギの製麺適性に関する選抜の実例からみたDNAマーカー育種の現状と将来（2003）「農業及び園芸」5月号：63-68
2. Devos, K and M Gale (2000) Genome Relationships : The grass in current research. Plant Cell 12 : 637-646.
3. 星野次汪（2002）低アミロース系統「関東107号」の開発と高製めん適性小麦品種の育成. 育種学研究4(別1) : 4 - 5.
4. 星野由里子、藤井潔（2003）特許DNAマーカーの利用と許諾の実際－イネ縞葉枯病および穂いもち抵抗性識別用マーカーの場合－. 育種学研究5 : 121 - 125.
5. Nakamura T, M Yamamori, S. Hidaka and T Hoshino (1992) Expression of HMW Wx protein in Japanese Common wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Japan J Breed 42 : 681-685
6. Nakamura T, M Yamamori, H Hirano and S Hidaka (1993) Identification of three Wx proteins in wheat (*Triticum aestivum* L.). Biochem. Genet. 31 : 75-86.
7. Nakamura T, M Yamamori, H Hirano, S Hidaka and T Nagamine (1996) Production of waxy (amylase-

- free) wheats. Mol. Gen. Genet. 248 : 253-259
- 8 . Nakamura T, P Vrinten, M Saito and M Konda. (2002) Rapid classification of partial waxy wheat using PCR-based markers. Genome45 : 1150-1156
- 9 . 中村俊樹, 齊藤美香, Patricia Vrinten, 石川吾郎 (2003) うどんの“こし（粘弹性）”とDNAマークー. ブレインテクノニュース 96 : 5-8.
10. Sorrells M (2003) Comparative DNA sequence analysis of wheat and rice genomes. Genome Research 13:1818-1827.
11. Vrinten et al. (1999) Molecular characterization of waxy mutations in wheat. Mol. Gen. Genet. 261 : 463-471.
12. 矢野昌裕 (2002) イネにおけるDNAマーカー選抜育種の現状と今後の展開. 「研究開発ターゲット」シンポジウム—DNAマーカー育種の推進—：1－3
13. Yamamori M, T Nakamura, TR Endo and T Nagamine (1994) Waxy protein deficiency and chromosomal location of coding genes in common wheat. Theor. Appl. Genet. 89 : 179-184
14. Yamamori M and T Quynh (2000) Differential effects of Wx-A1, -B1 and -D1 protein deficiencies on apparent amylose content and starch pasting properties in common wheat. Theor. Appl. Genet. 100 : 32-38.