

NBRP-Wheat 配布実績(平成19年度)

文責:遠藤隆 2008年3月30日

リソース	国内		国外		合計	
	件数	系統・クローン数	件数	系統・クローン数	件数*	系統・クローン数
種子						
LPGKU	10	440	33	1064	43	1504
KU	13	147	9	252	22	399
KT	5	27	3	31	8	58
TACBOW	2	15	4	30	6	45
合計	30	629	49	1377	79	2006
DNAクローン	7	61	6	82	13	143

* 注文の79件の内9件は遺伝研のシステム外。

第 2 期 NBRP・コムギ 運営委員会 資料

2008 年 3 月 30 日
於：京都大学東京連絡事務所

「DNA マーカー多型調査」担当
那須田 周平

1. 事業概要（第二期 全期間）

コムギ遺伝子の単離と機能解析を目指して、既報 PCR マーカーを収集し、6 倍体コムギとその祖先種の代表的 48 系統を用いて PCR プロファイル进行调查し（目標：平成 23 年度までに 2000 PCR マーカー）、コア・マーカーセットを選定した上公開する。

2. 平成 19 年度事業経過報告

（1）業務計画

6 倍体コムギとその祖先種の代表的 48 系統を用いて 300 PCR マーカーの PCR プロファイル进行调查し、ウェブ上から公開することで、種子系統リソースに付加価値を与え、利用の向上を図る。平成 19 年 8 月末にあった、「実施に係る追加経費の要望」に対応して、設備備品費と消耗品費を追加経費として申請した。追加経費が認められ、本年度内に調査する目標マーカー数を 33%増しの 400 マーカーとした。

（2）業務担当者

村井みゆき（技術補佐員）、那須田周平（責任者）

（3）進捗状況

① マーカー情報の収集

原著論文とそれに関連するウェブページ等からマーカー情報を入手。

Graingenes にあるマーカー情報（コムギ、エギロプスのみ）は約 3000 マーカー。

② PCR プライマーの合成

2545 マーカーについてフォワード、リバースプライマーを合成。

合成したのは barc, cfa, cfd, cfe, cft, gdm, gwm(wms), hbg, hbe, hbd, wmc

の各 SSR マーカー（小計 1861 マーカー）と STM マーカー（684 マーカー）。フォワード・リバース両プライマーを混合したワーキング液をマイナス 30 度保存している。

これらとは別に、62 の SSR マーカーについて蛍光プライマーを作成した。染色体腕マーカーとして有効か検討予定（鳥取大）。

③ PCR 条件の検討

各マーカー群（wmc, barc など）から 12 のマーカーをランダムに選出し、バンドサイズが既知である 6 倍体コムギの 2 系統（T. aestivum cv. Opata と Synthetic hexaploid）の DNA を鋳型として、原著論文等に記載されている条件を踏襲して増幅試験を行ったが、期待されるサイズのバンドが必ずしも再現されなかった。そのため、PCR 反応の条件（反応液の組成、温度）を振って、最適化を図った。

④ 電気泳動条件の検討

キャピラリー電気泳動装置で SSR マーカー（平均断片長 300 bp）が最適に検出されるキャピラリーカートリッジの種類、泳動条件、標準マーカーを決定した。最適化したにもかかわらず、スコア可能な泳動像が毎回得られるわけではない。これは、マーカーごとに増幅量、増幅バンドサイズにばらつきがあるため。おなじ PCR 反応物を複数回電気泳動する手間が生じている（20%程度のマーカーについて再電気泳動が必要）。

⑤ 多型調査

12 系統からなる多型パネルセット A（別紙参照）について、464 マーカー調査した。セット B に関しては 120 マーカー、セット B' に関しては 272 マーカーについて調査した。多型の出現頻度は、6 倍体パンコムギ品種間でおおよそ 10 から 15% 程度であった。ゲノム特異性が高く、例えば A ゲノム染色体に座乗するマーカーは、*Aegilops tauschii* では増幅しない場合が多い。各調査について、推定フラグメントサイズ表（エクセル）、波形データ（画像データ）、擬似電気泳動像（画像データ）を得た。

3. 平成 20 年度事業予定

（1）多型パネルの確定

選定中の 48 系統からなる多型パネルを確定し、種子を入手して栽培する。

これらから DNA を抽出し、PCR の鋳型とする。

(2) 多型調査

6 倍体コムギとその祖先種の代表的 48 系統を用いて 400 PCR マーカーの PCR プロファイルを調査する。

(3) 多型調査の委託

中核機関では、上記 48 系統における多型調査しか行わない。マーカーの有用性を示すためには、分離集団や自然集団でのマーカーの適用可能性を示す必要がある。この部分に関しては、国内の研究者にマーカーを送付し、調査を委託する。

(4) データ公開の方法の検討

KOMUGI データベースに得られた情報を逐次公開する。

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	番号	品種名・系統名	プライオリティー			選定理由	入手先	入手形態	入手依頼	種子	DNA抽出状況	Set A	Set B	Set B'
2	1	Opata	A	確定		ITMI親	KSU, WGGRC	種子	○	○	○		B	B'
3	2	Synthetic	A	確定		ITMI親	KSU, WGGRC	種子	○	○	○		B	B'
4	3	Ae. speltooides (S)	A	確定		Sゲノム	京大、物集女	種子	○	○	○			
5	4	Ae. longissima (L)	A	確定		Lゲノム	京大、物集女	種子	○	○	○		B	B'
6	5	Ae. tauschii (D)	A	確定		Dゲノム	京大、物集女	種子	○	○	○	A		
7	6	Ae. umbellulata (U)	A	確定		Uゲノム	京大、物集女	種子	○	○	○		B	B'
8	7	Ae. caudata (C)	A	確定		Cゲノム	京大、物集女	種子	○	○	○(2個体しかない)			
9	8	Ae. uniaristata (N)	A	確定		Nゲノム	京大、物集女	種子	○	○	○		B	B'
10	9	Ae. comosa (M)	A	確定		Mゲノム	京大、物集女	種子	○	○	○			
11	10	Ae. mutica (T)	A	確定		Tゲノム	京大、物集女	種子	○	○	×(栽培失敗)			
12	11	T. monococcum (early)	A	確定		RIL親	福井県立大(村井)	種子	○	○	×(栽培失敗)			
13	12	T. boeoticum (parental)	A	確定		RIL親	福井県立大(村井)	種子	○	○	△(少量抽出後枯死)		B	
14	13	T. urartu	A	確定		Aゲノム	京大、物集女	種子	○	○	○(2個体しかない)			
15	14	T. durum cv. Langdon	A	確定		4倍体	福井県立大(松岡)	種子	○	○	○		B	B'
16	15	T. aestivum cv. Chinese	A	確定		遺伝学標準系統	京大、植物遺伝	種子	○	○	○		B	B'
17	16	T. spelta var. duhameri	A	確定		RIL親	京大、植物遺伝	種子	○	○	○		B	B'
18	17	T. aestivum cv. Timstei	A	確定		置換系統ドナー	鳥取大学(辻本)	種子	○	○	○		B	B'
19	18	T. aestivum cv. Hope	A	確定		置換系統ドナー	鳥取大学(辻本)	種子	○	○	○		B	B'
20	19	T. aestivum cv. Cheyer	A	確定		置換系統ドナー	鳥取大学(辻本)	種子	○	○	○		B	B'
21	20	北海240号	A	確定		RIL親	九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
22	21	関東107号	A	確定		分離集団親	九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
23	22	農林26号	A	確定		分離集団親	福井県立大(村井)	種子	○	○	○	A		
24	23	農林61号	A	確定		分離集団親	福井県立大(村井)	種子	○	○	○	A		
25	24	ホクシン	A	確定		主要品種	道立北見農試	種子						
26	25	チホクコムギ	A	確定		主要品種	岡山大(加藤)	種子	○	○	○	A		
27	26	ナンブコムギ	A	確定		分離集団親	九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
28	27	フクホコムギ	A	確定		分離集団親	九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
29	28	ゼンコウジコムギ	A	確定		RIL親	帯広畜産大(三浦)	種子	○	○	○	A		
30	29	蘇麦3号	A	確定		赤かび病抵抗性	横浜市立大学(坂)	種子	○	○	○	A		
31	30	北海261号	A	確定		DH親	北海道農研センター	種子	○	だめ				
32	31	勝系62号	A	確定		DH親	北海道農研センター	種子	○	だめ				
33	32	キタノカオリ	A	確定		秋播パン用	北海道農研センター	種子	○	だめ				
34	33	ミナミノカオリ	A	確定		製パン製	九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
35	34	春よ恋	A	確定		春播パン用	ホクレン	種子						
36	35	KS831957	A	確定		超強力	岡山大(加藤)	種子	○	○	○			
37	36	ハナマンテン	A	確定		超強力	長野農事試験場	種子	○	○	○	A		
38	37	きたほなみ	A	確定		DH親	道立北見農試	種子						
39	38	きぬいろは	A	確定		DH親	九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
40	39	U24	A	確定		DH親	九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
41	40	西海165号	A	確定		赤かび病抵抗性	九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
42	41	あやひかり	A	確定		DH親	作物研	種子						
43	42	ミナミノコムギ	A	確定		RIL親	九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
44	43	超極早生	A	確定		DH親	岡山大(加藤)	種子	○	○	○			B'
45	44	秋播型アブクマワセ	A	確定		DH親	岡山大(加藤)	種子	○	○	○	A		
46	45	Secale cereale cv. Impe	A	確定		アウトグループ	京大、植物遺伝	種子	○	○	○(2個体しかない)	A		
47	46	Hordeum vulgare cv. Be	A	確定		アウトグループ	京大、植物遺伝	種子	○	○	○	A		
48	47	Hordeum vulgare はるな	A	確定		オオムギ集団親	岡山大(佐藤)	種子	○	○	○	A		
49	48	Hordeum spontaneum f	A	確定		オオムギ集団親	岡山大(佐藤)	種子	○	○	○	A		
50	49	チクゴイズミ	A	選外			九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
51	50	イワイノダイチ	A	選外			九州沖縄農研センター	種子	手続き中					
52	51	Munstertaler	A	選外		DH親	北海道農研センター	種子						
53	52	Ibis	A	選外		DH親	北海道農研センター	種子						
54	53	延岡坊主小麦	B	選外					手続き中					
55	54	ハルヒカリ	B	選外										
56	55	きたもえ	B	選外										
57	56	ニシカゼコムギ	C	選外		DH親			手続き中					
58	57	タマイズミ	C	選外		DH親								
59	58	綿陽11号	C	選外										
60	59	Bersee	C	選外										
61	60	Marquis	C	選外										
62	61	アブクマワセ	C	選外										
63	62	T. monococcum (DV92)	C	選外										
64	63	T. aestivum S615	C	選外										

NRBP・コムギ(第2期) 種子系統の増殖

1. 業務題目: コムギ近縁野生種・コムギ在来品種の収集・調査・保存。
(第2期は種子更新などの業務を主体とする。)

2. 業務担当者:

京都大学農学研究科栽培植物起原学分野(物集女)

河原太八(責任者), 水口理明・長谷川悦子(技官), 他 1名

京都大学農学研究科植物遺伝学分野(遺伝)

遠藤 隆, 他 1名

横浜市立大学木原生物学研究所植物遺伝資源科学部門(木原)

笹沼恒男, 他 1名

3. 種子更新の実績と予定

実績 野生種・在来・実験系統の種子更新 (2006/2007)。

物集女: 合計 659 系統の栽培を行ない, 収穫後の燻蒸をすませ, 種子の調整中。

木原: 四倍性コムギの在来系統および実験系統, 計89系統を更新し, あわせて基本的な形態形質の調査を行った。

栽培中 (2007/2008)

物集女: 750 系統栽培中。主なものは, *T. dicoccum*, *T. spelta* それぞれ全系統, *T. durum*, *Ae. variabilis*, *kotschyi*, *triaristata*, *triuncialis* である。

遺伝: アフガニスタン在来パンコムギ, 191 系統(うち 8 系統は不発芽)。

木原: アルメニア・グルジア在来パンコムギ, 155 系統, ネパール・ブータン在来パンコムギ 199 系統の合計 354 系統。

4. その他の事業

- ① コムギ近縁野生種の播性スクリーニング (第1期の実験が終了)

Ae. caudata 約 210 系統についてスクリーニングし, パンコムギの播性程度 I (鴻巣25号)と同程度の春播極早生2系統のほか, いくつかの春播の系統を確認した。ただし個体数が少なくデータにならない場合も多かったので, *caudata* 全体については再実験が必要である。

- ② タルホコムギコアコレクションの作成 (経費については, 科学研究費基盤(A)を主に利用)。

葉緑体 DNA 塩基配列変異の解析は終了したが, それ以外の生理・生態的形質についての調査を継続。核ゲノムの変異についても一部調査中。

- ③ 第1期の成果を取りまとめ, e-WIS で発表。

5. 来年度の更新予定

遺伝と木原が在来コムギを中心に各 350 系統前後分担し, 全体で約 1,400 系統の更新が可能な体制を目指す

6. その他

第6回国際コムギ連シンポジウム (6th International Triticeae Symposium) は2009年の6月に京都で開催する予定。この4月に Prof. Roland von Bothmer (Lund Univ.) が来日するので, 協議の上で日程を確定。国内組織委員は, 三浦秀穂・小松田隆夫・坂智広・宅見薫雄・辻本壽・佐藤和広・河原太八(委員長)の7名。

第 II 期 ナショナルバイオリソース・コムギ
第 3 回 運営委員会 コムギ小委員会

ゲノムリソース部会

2008. 3. 30.

横浜市立大学木原生物学研究所

荻原保成

川浦香奈子

今村寿子

持田恵一（理研 PSC）

1. 2007 年度の成果報告

1) 収集 DNA リソース

(1) EST シークエンスデータ

(a) コムギ EST シークエンス

いもち病菌処理組織由来の 4 cDNA ライブラリ 合計 約 8 万 5 千シーケンス

(b) コムギ完全長 cDNA ライブラリシーケンスデータ

ゲノム情報プロジェクト報告参照

(2) 特定遺伝子領域を含むゲノミッククローン（1 4 TAC クローン）の収集

2) 保存 DNA リソース

(1) EST クローンの保存

(a) コムギ EST

約 4 万 3 千 cDNA クローンの保存

(b) コムギ完全長 cDNA クローン：

調整中

(2) EST シークエンスをデータベース化して国立遺伝学研究所生物遺伝資源データベース KOMUGI に登録中。

(3) 特定遺伝子領域を含むゲノミッククローン（TAC クローン）1 4 クローンの保存

3) DNA クローンの送付

(1) EST クローン

国内：8 9 クローン（1 3 件） 国外：4 9 クローン（3 件）

合計 1 3 8 クローン

(2) TAC クローン

国内：1 4 クローン

2. その他の活動

- 1) アジレント社との共同研究で、コムギ遺伝子発現パターンを体系的にモニターできるコムギ 3 8 K cDNA マイクロアレイを作成し、国内の研究者に分譲した。

2) パンコムギの TILLING 系統の作成

パンコムギ Chinese Spring の種子を EMS 処理し、M1 の自殖により 3307 系統の M2 をえた。これらの系統から全 DNA を抽出した。TILLING 系統として使用可能であると判断している。

第 II 期 ナショナルバイオリソース・コムギ
第 1 回 運営委員会 コムギ小委員会

ゲノム情報プログラム報告

ゲノムリソース部会

2008. 3. 30.

横浜市立大学木原生物学研究所

荻原保成

川浦香奈子

今村寿子

持田恵一（理研 PSC）

1. 2007 年度の報告 ―パンコムギ完全長 cDNA リソースの整備―

1) 収集 DNA リソース

パンコムギ Chinese Spring の完全長 cDNA クローンの完全解読

・これまでの経緯

コムギは、第 1 期 NBRP の活動として、系統および発現遺伝子（EST）の体系的な収集・保存・提供を行ってきた。その活動の一環として、完全長 cDNA クローンの収集・保存を行ってきた。完全長 cDNA クローンの完全解読は内外のユーザーの強い要望があり、国際コンソーシアムからも正式に要請されている。現在までに、6162 クローンの完全解読を完了した。さらに、完全長 cDNA クローンの端読みを継続し、9044 遺伝子クローンをえた。これを従来のクローンとの相同性を検索してみると、6590 クローンが新規の完全長 cDNA であった。平成 19 年度は、この 6590 クローンの完全解読を行う。

2) 分担

代表機関：横浜市立大学木原生物学研究所 代表 荻原保成

完全長 cDNA クローンの整備およびアノテーション解析

サブ機関：理化学研究所ゲノムサイエンスセンター 代表 河合 純

完全長 cDNA クローンの完全解読

3) 進捗状況

- ・平成 20 年 2 月 22 日現在で 4040 クローンの完全解読が完了した。
- ・年度を多少またぐかもしれないが、当初予定のクローンの完全解読を完了する予定。

第 II 期 ナショナルバイオリソース・コムギ
第 3 回 運営委員会 コムギ小委員会

ゲノムリソース部会

2008. 3. 30.

横浜市立大学木原生物学研究所

荻原保成

川浦香奈子

今村寿子

持田恵一（理研 PSC）

1. 2008 年度の業務計画

1) ゲノムリソースの収集

(1) パンコムギ EST クローン

(a) コムギ EST シークエンス

ホウ素処理組織由来の 4 種類の cDNA ライブラリからの端読みをした約 4 万クローンを収集する。EST シークエンスとしては、約 8 万シークエンスをめざす。

(b) コムギ完全長 cDNA クローン

現在の完全長 cDNA ライブラリーからサブトラクションにより、約 1 万の新規完全長 cDNA クローンを選抜した。このうち、約 3 千クローンの完全解読を行う（申請中）。

(2) 特定遺伝子領域を含むゲノミッククローン（約 10 程度の TAC クローン）の収集

2) 保存 DNA リソース

(1) EST クローンの保存

(a) コムギ EST

シークエンスを決定した約 4 万 cDNA クローンの保存

(b) コムギ完全長 cDNA クローン：

完全解読した完全長 cDNA クローン、約 3 千の保存（申請中）。

(2) EST シークエンスをデータベース化して国立遺伝学研究所生物遺伝資源データベース KOMUGI に登録する。

(3) 特定遺伝子領域を含むゲノミッククローン（TAC クローン）の保存

3) DNA クローンの

ユーザーのリクエストに応じて、DNA クローンを提供する。

2. その他の活動

1) 38K 遺伝子プローブを登載したコムギ cDNA マイクロアレイを提供可能である。

2) パンコムギの TILLING 系統の作成

パンコムギ Chinese Spring の種子を EMS 処理した 3307 の TILLING 系統の利用が可能である。