特 集 記 事

コムギの核および細胞質ゲノムにおける機能ゲノム科学の展開

荻原保成

横浜市立大学木原生物学研究所および生命ナノシステム科学研究科, 横浜市, 〒244-0813

Development of functional genomics in wheat tripartite organellar genomes and its application to breeding science

Yasunari Ogihara

Kihara Institute for Biological Research and Graduate School of Nanobioscience, Yokohama City University, Yokohama 244-0813, Japan

キーワード

コムギ・エギロプス属植物, 機能ゲノム解析, 栽培化, 有用遺伝子探索, In silicon 解析, データベース化

1. はじめに

植物細胞内には DNA を保有する 3 種の代表的なオルガネラ（核・色素体・ミトコンドリア）が存在する。3 種のオルガネラゲノムは独自の転写・翻訳システムを保持し、環境の変化に応答して遺伝子の発現を制御している。3 種ゲノムは互いに影響を及ぼし合いながら変異・進化し、また、3 種ゲノムの遺伝情報ネットワークを調節して植物は、様々な環境に適応してきた。近年のゲノム科学の進展により、ゲノムないしは遺伝子そのものの情報が育種に応用できる時代になってきた。また、細胞質ゲノムである色素体・ミトコンドリアゲノムは、原核生物型の遺伝システムを保有しており、太古、細胞内にとりこまれ、以来細胞内共生をしてきたことが明らかになった。私は、コムギ属植物を主な材料にして、3 種ゲノムの構造を解析し、近縁な植物におけるゲノム変異生成機構を研究してきた。さらに、異なるゲノムが共存する異質倍数体であるパンコムギにおいて、環境に응答して 3 種ゲノムがどのように発現調節されているかを機能ゲノム科学的に解析した。核ゲノムのデータはコムギのゲノム育種に活用されている。一方、オルガネラゲノムの情報は、雑種強勢の育種研究や植物工場として利用されることが期待される。これらの基礎データを利用できるデータベースを公表し、育種科学に応用するシステムを構築している。

倍数性を特徴としており、また、それぞれのゲノムの DNA 量が巨大である複雑系ゲノム研究のモデルであるコムギ属のゲノム科学研究を紹介し、将来への橋渡しとしたい。

2. コムギ属植物における比較ゲノム解析

(1) 葉緑体 DNA の全塩基配列決定と品種同定

コムギ属に含まれるすべての種の葉緑体 DNA の制限酵素断片 (RFLP) 分析を世界に先駆けて行い (Ogihara *et al.* 1982), 倍数種の細胞質提供親を特定し、細胞質ゲノムの遺伝的分化に分子的分岐を与えた (Tsunewaki and Ogihara 1983)。コムギ・エギロプス属植物 35 種 44 系統を 17 の葉緑体ゲノムタイプに分類することができた。ほとんどの倍数種の祖先細胞質提供親を同定することができたが、祖先種を特定できない倍数種も存在した (Ogihara and Tsunewaki 1988)。コムギ・エギロプス属植物の葉緑体 DNA の可変領域を見出し、葉緑体ゲノムの構造変異分子機構を提唱した (Ogihara *et al.* 1988, 1991)。さらに、全塩基配列を決定したパンコムギの葉緑体 DNA (Ogihara *et al.* 2002) を基にして、近縁植物で生じる葉緑体ゲノムの構造変異をすべて葉緑体 DNA 上にマッピングした。変異領域の DNA 塩基配列を決定することにより、葉緑体ゲノムにおける構造変異の生成機構を提示した (Ogihara and Ohsawa 2002)。葉緑体 DNA の RFLP 分析法を他の植物に応用し、系統の品種同定を行った。 (Uematsu *et al.* 1991, Katayama and Ogihara 1993, Tsumura *et al.* 1993, Yaneshita *et al.* 1993)。この手法は遺伝資源の正確な分子評価法に応用されている。

(2) ミトコンドリア DNA の全塩基配列決定と遺伝様式

木原先生が核・細胞質雑種を作成して以来 (Kihara 1951), 細胞質雄性不稔を利用した作物の育種が活発になった。我々は、コムギ近縁種 *Aegilops crassa* 細胞質をもつパンコムギが日長感応性細胞質雄性不稔を示すことに着目し (Murai and Tsunewaki 1993), 異種の核の制御下におけるミトコンドリア遺伝子の発現調節システムを研究した (Ogihara *et al.* 1997, 1999)。葉緑体ゲノムと比

較して、近縁な植物間でも主に組換えを介したゲノムの構造変異が頻繁にみられ、高等植物におけるミトコンドリアゲノムの複雑性が実証された。ミトコンドリア遺伝子のプロモーター領域の構造変異が核置換系統におけるミトコンドリア遺伝子の発現制御を乱す原因になる可能性を指摘した。パンコムギミトコンドリアゲノムのマスターサークル DNA の全塩基配列を決定し、変異体 DNA 生成の分子機構を提示するとともに、ミトコンドリア DNA の進化過程を考察した (Ogihara *et al.* 2005, Tsunewaki *et al.* 2008)。さらに、異種間交雑による複 2 倍体形成におけるミトコンドリア DNA の遺伝様式を解析すると共に、核・細胞質雑種におけるミトコンドリア遺伝子の転写様式を解析し、コムギの核・細胞質雑種におけるミトコンドリアゲノムの遺伝様式を考察した。

3. パンコムギにおける機能ゲノム科学の展開

パンコムギにおける機能ゲノム科学を展開し、育種に応用する基盤を整備した。

(1) DNA マーカーの開発

パンコムギにおける染色体部分欠失系統をもちい、光合成関連遺伝子や DNA マーカーを世界に先駆けて細胞遺伝学的にマッピングした (パンコムギにおける BIN マップ作成: Anderson *et al.* 1992, Ogihara *et al.* 1994a, 1994b)。植物で最初に ISSR マーカーを開発し、コムギ染色体における有効性を検証した (Nagaoka *et al.* 1997, Kojima *et al.* 1998)。さらに、発現遺伝子 (後述) やゲノムクローンの DNA 配列を利用し、新規なマーカーを開発した (Torada *et al.* 2006)。これらのマーカーや従来のマーカーをもちい、重要農業形質の遺伝子の座乗染色体領域を特定した (Kojima *et al.* 1997, 2000, Koike *et al.* 2006)。また、パンコムギにおいて QTL 解析のランドマークとなる SSR マーカーを設定し、QTL 解析を行った (Manickavelu *et al.* 2010)。

(2) パンコムギにおけるトランスクリプトーム解析

コムギの生活環の代表的な組織、および生物的・非生物的ストレスをかけた組織、都合 55 組織からそれぞれ cDNA ライブラリーを構築し、cDNA クローンの両側から塩基を決定し、約 90 万の発現遺伝子 (EST) シークエンスを得た。これらの塩基配列をバイオインフォマティクス手法で整理化した。整理化した contig は各ゲノムから発現した遺伝子 (同祖遺伝子) に相当している。これらの EST contig は、コムギの発現遺伝子総数の 90% 以上をカバーしていると見積もっている。遺伝子の発現頻度に基づいてコムギの各組織・処理におけるボディーマップを作成し (Ogihara *et al.* 2003)、*In silico* で解析できるようにした (Mochida *et al.* 2006)。生物的 (Manickavelu *et al.* 2010)・非生物的ストレス (Mochida *et al.* 2006) に

応答する遺伝子を体系的にコンピューター上で解析できる。これは、パンコムギにおける環境に応答した種々の組織における遺伝子発現を *In silico* で研究する貴重な遺伝資源となっている。

これらの EST を整理化し、約 3 万 8 千のコムギ遺伝子を登録した cDNA マイクロアレイを作成した。この DNA マイクロアレイを塩に応答する遺伝子の発現解析に応用して耐塩性に関連する遺伝子を体系的に解析している (Kawaura *et al.* 2006, 2008)。また、パンコムギ完全長 cDNA ライブラリーを構築し、独立な約 1 万 5 千遺伝子を完全解読した (Ogihara *et al.* 2004, Kawaura *et al.* 2009)。この配列は、国際コムギゲノムシークエンシングコンソーシアムに提供し、遺伝子領域の予測に活用されている (Mochida *et al.* 2009)。

以上のコムギ発現遺伝子による機能ゲノム科学の研究基盤を図 1 に示す。

(3) 同祖遺伝子のゲノム別発現様式のバイオインフォマティクスの解析

パンコムギの発現遺伝子のうち、比較的発現量の多い 5199 遺伝子の contig の相同性解析により、全体の約 45% の遺伝子が 3 種類のゲノムのうち、1 つのゲノムからのみ発現していると推定した。6 倍体のパンコムギでこれらの遺伝子は 2 倍体のように発現している。そこで、1 ゲノム、2 ゲノム、3 ゲノムから発現している、都合 113 遺伝子についてそれぞれの同祖遺伝子の帰属染色体を決定した。また、EST データベースと対応させることにより、各組織におけるゲノム別発現パターンを明らかにした。3 種類すべてのゲノムから発現している遺伝子は、7 本の相同染色体に偏りなく存在していた。一方、2 ゲノム、1 ゲノムから発現している遺伝子は、A ゲノム由来の同祖遺伝子の発現が抑制される傾向がみられた (Mochida *et al.* 2003)。

(4) パンコムギのゲノムライブラリーの構築

ポジショナルクローニングを効率よく行うため、アグロバクテリウムを介して高分子 DNA を植物に直接導入できる TAC ベクターを用いてパンコムギのゲノミックライブラリーを構築し、効率よく遺伝子を選抜できることを示した (Liu *et al.* 2000, Nemoto *et al.* 2003)。

国際コンソーシアムと共同して、パンコムギ 6B 染色体特異的 BAC ライブラリーを構築し、染色体 DNA 塩基配列決定プロジェクトを開始した。

4. 遺伝子機能の解析

(1) 貯蔵タンパク質遺伝子座乗領域のゲノム構造解析と発現解析

コムギ貯蔵タンパク質遺伝子は多重遺伝子族を構成する。貯蔵タンパク質遺伝子の一種であるグリアジン遺伝

図 1. EST/完全長 cDNA をもちいたパンコムギにおける機能ゲノミクス研究基盤の構築

子が座乗するコムギ染色体第 6 群短腕領域を解析している。小麦粉の加工適性のうち、貯蔵タンパク質であるグルテンが弾力性を、グリアジンが粘性をきめていると考えられている。6 群染色体に座乗する α/β グリアジン遺伝子は、第 1 染色体上に座乗する相同遺伝子が比較的最近、転座してきたものと予測され、進化的にも興味深い。

パンコムギ EST の大量解析によりえられた種子発熟過程における α/β グリアジン遺伝子の発現プロファイルの詳細に解析した (Kawaura *et al.* 2005)。全部で 36 の α/β グリアジン遺伝子が発現していた。これらの遺伝子に特異的なプライマーを合成し、PCR 解析により、36 遺伝子をパンコムギの A, B, D ゲノムにそれぞれ帰属させた。また、種子発熟過程における帰属させたそれぞれの遺伝子の発現パターンを詳細に解析した。D ゲノム由来の遺伝子が優先的に発現していた。B, D ゲノム由来の遺伝子は受粉後 10 日 (DPA10) に発現のピークがみられたが、A ゲノム由来の遺伝子は DPA20 にピークがみられ、発現調節がゲノム毎に異なっていた。これは、パンコムギの EST 解析により、初めて可能になった成果である。施肥条件等によりそれぞれのグリアジン遺伝子がどのように変動するかを年次的に調査している。

(2) パンコムギの栽培化に関わる遺伝子の発現機構の解析

パンコムギの *Q* 遺伝子は、脱穀性、穎のかたさ、穂軸

の折れやすさおよび穂の形態を支配する多面効果をもつ。粒の脱穀性がコムギの栽培化に決定的に働いたと推測されているために、*Q* 遺伝子が倍数性コムギの栽培化に最も重要であると考えられている。*Q* 遺伝子は植物固有の転写因子である *APETALA2* (*AP2*) ドメイン遺伝子の 1 つで (Simons *et al.* 2006)、5A 染色体に座乗し、量的効果があることが知られている。シロイヌナズナ *AP2* は、花器官形成に関与する遺伝子である。*Q* 遺伝子に対応する *AP2* 様遺伝子 (*WAP2: Wheat AP2*) をパンコムギの 3 種ゲノムからクローニングし、発現様式を解析した。B ゲノム由来の遺伝子 (*WAP2-B*) は、エクソン中に欠失がみられた。A ゲノム由来の遺伝子 (*WAP2-A*) の mRNA が最も蓄積しており、欠失をもつ B ゲノム由来の遺伝子 (*WAP2-B*) も転写されていた。ゲノムのプロモーター領域を調べたところ、転写を促進するシス配列が見出された。また、*WAP2-A* のプロモーター領域のメチル化頻度が低かった。他の花成関連遺伝子も同様に解析し、6 倍体であるパンコムギの遺伝子発現システムにジェネティックな変異とエピジェネティックな制御が関与していることが明らかになった。

5. データの公開

上述のパンコムギのクローン、配列情報は、文部科学

省ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) の支援を受けて、国立遺伝学研究所にある NBRP・コムギのサイトから公開され、ユーザーの求めに応じて提供している。

6. おわりに

コムギは染色体観察が比較的容易であったため、細胞遺伝学的研究で遺伝学・育種学に貢献してきた。私が研究室に所属した 1970 年代後半のころは、高等生物の分子生物学の黎明期で、これを育種に活かそうと志した。世界的にも当時の研究手段では、まだ核ゲノムに十分に手がつけられず、多くの植物科学研究者がオルガネラの研究からスタートしていた。コムギでは、先達により核置換系統が体系的に作成され、表現形のデータが揃っていたことは幸運であった。オルガネラの研究が一段落した頃、核ゲノムの研究をはじめた。染色体観察が容易であることは、材料として、分子生物学的解析に向かないことを示唆する。手を付けたコムギの核ゲノムの研究は、悪戦苦闘の連続であった。特にコムギのゲノムサイズの大きいこと、倍数性であること、形質転換効率が悪いことには手を焼いた。それでも、機能ゲノム科学の基盤は整備されてきたと感じる。約 100 万の EST 情報が体系的に整備でき、組織別、環境ストレスに応答する遺伝子を *In silico* で解析可能である。完全長 cDNA も約 1 万 5 千クローンが完全解読できた。発現遺伝子情報に基づいて cDNA マイクロアレイも作成されている。

しかし、パンコムギは、6 倍体であるため、特に DNA マーカーの開発に苦労する。是非とも全染色体にわたるゲノム配列情報が必要となっている。この状況下、国際コムギゲノムシーケンシングコンソーシアム (IWGSC) が中心になって、国際分担で 21 対の染色体 DNA の塩基配列を決定するプロジェクトが進行している。日本では、国内コンソーシアムにより、6B 染色体を分担している。6B 染色体の構造解析により、コムギ染色体の特徴を解明するとともに、国際協力により、コムギゲノムの全貌を明らかにして、ゲノム育種に活用することを希望している。

謝 辞

本研究は、私が京都大学農学部遺伝学研究室でスタートさせたものである。研究室を主宰されておられた常脇恒一郎先生、また、職をえた木原生物学研究所の名誉所長であられた木原均先生に先導していただきました。特に、両先生には、研究のスタイルでとても勉強をさせていただきました。この場を借りて、感謝の意を表明させていただきます。研究は、主に、京都大学農学部遺伝学研究室、横浜市立大学木原生物学研究所、京都府立大学農学研究科遺伝子工学研究室で行われたものである。こ

れらの研究機関での基礎的な研究活動とそれを支える協力があって初めて可能となった。直接・間接的に支援していただいた教員、学生、技術員また関係する方々に深く感謝の意を表したい。

引用文献

- Anderson, J., Y. Ogihara, M.E. Sorrels and S.D. Tanksley (1992) Development of a chromosomal arm map for wheat based on RFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 83: 1035–1043.
- Katayama, H. and Y. Ogihara (1993) Structural alterations of chloroplast Genome found in grasses are not common in monocots. *Curr. Genet.* 23: 160–165.
- Kawaura, K., K. Mochida and Y. Ogihara (2005) Expression profile of two storage protein gene-families in hexaploid wheat revealed by large-scale analysis of expressed sequence tags. *Plant Physiol.* 139: 1870–1880.
- Kawaura, K., K. Mochida, Y. Yamazaki and Y. Ogihara (2006) Transcriptome analysis of salinity stress responses in common wheat using a 22k oligo DNA microarray. *Funct. Integr. Genomics* 6: 132–142.
- Kawaura, K., K. Mochida and Y. Ogihara (2008) Genome-wide analysis for identification of salt-responsive genes in common wheat. *Funct. Integr. Genomics* 8: 277–286.
- Kawaura, K., K. Mochida, A. Enju, Y. Totoki, A. Toyoda, Y. Sakaki, C. Kai, J. Kawai, Y. Hayashizaki, M. Seki, K. Shinozaki and Y. Ogihara (2009) Assessment of adaptive evolution between wheat and rice as deduced from the full-length cDNA sequence data and the expression patterns of common wheat. *BMC Genomics* E. Pub. June 18, 2009; 10: 271 doi: 10.1186/1471-2164-10-271.
- Kihara, H. (1951) Substitution of nucleus and its effects on genome manifestations. *Cytologia* 16: 177–193.
- Koike, M., K. Kawaura, Y. Ogihara and A. Torada (2006) Isolation and characterization of SSR sequences from the genome and TAC clones of common wheat using the PCR technique. *Genome* 49: 432–444.
- Kojima, T., H. Tsujimoto and Y. Ogihara (1997) High-resolution RFLP mapping of the fertility restoration (*Rf3*) gene against *Triticum timopheevi* cytoplasm located on chromosome 1BS of common wheat. *Genes Genet. Syst.* 72: 353–359.
- Kojima, T., T. Nagaoka, K. Noda and Y. Ogihara (1998) Genetic linkage map of ISSR and RAPD markers in Einkorn wheat in relation to that of RFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 96: 37–45.
- Kojima, T., Y. Habu, S. Iida and Y. Ogihara (2000) Direct isolation of differentially expressed genes from a specific chromosome region of common wheat: application of the amplified fragment length polymorphism-based mRNA fingerprinting (AMF) method in combination with a deletion line of wheat. *Mol. Gen. Genet.* 263: 635–641.
- Liu, Y.-G., K. Nagaki, M. Fujita, K. Kawaura, M. Uozumi and Y. Ogihara (2000) Development of an efficient maintenance and screening system for large-insert genomic DNA libraries of hexaploid wheat in a transformation-competent artificial chromosome (TAC) vector. *Plant J.* 23: 687–695.
- Manickavelu, A., K. Kawaura, K. Oishi, T. Shin-I, Y. Kohara, N. Yahiaoui, B. Keller, A. Suzuki, K. Yano and Y. Ogihara (2010) Comparative gene expression analysis of susceptible and resis-

- tant near-isogenic lines in common wheat infected by *Puccinia triticina*. DNA Res. 17: 211–222.
- Manickavelu, A., K. Kawaura, H. Imamura, M. Mori and Y. Ogihara (2010) Molecular mapping of quantitative trait loci for domestication traits and β -glucan content in wheat recombinant inbred line population. Euphytica DOI 10.1007/s10681-010-0217-9.
- Mochida, K., Y. Yamazaki and Y. Ogihara (2003) Discernment of homoeologous gene expression in hexaploid wheat by SNP analysis of contigs grouped from a large number of expressed sequence tags. Mol. Genet. Genomics 270: 371–377.
- Mochida, K., K. Kawaura, E. Shimosaka, N. Kawakami, T. Shin-I, Y. Kohara, Y. Yamazaki and Y. Ogihara (2006) Tissue expression map of comprehensive expressed sequence tags and its application to *in silico* screening of stress response genes in common wheat. Mol. Genet. Genomics 276: 304–312.
- Mochida, K., T. Yoshida, T. Sakurai, Y. Ogihara and K. Shinozaki (2009) TriFLDB: A database of clustered full-length coding sequences from Triticeae with applications to comparative grass genomics. Plant Physiol. 150: 1135–1146.
- Murai, K. and K. Tsunewaki (1993) Photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility in wheat with *Aegilops crassa* cytoplasm. Euphytica 67: 41–48.
- Nagaoka, T. and Y. Ogihara (1997) Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theor. Appl. Genet. 94: 597–602.
- Nemoto, Y., M. Kisaka, T. Fuse, M. Yano and Y. Ogihara (2003) Characterization and functional analysis of three wheat genes with homology to the *CONSTANS* flowering time gene in transgenic rice. Plant J. 36: 82–93.
- Ogihara, Y. and K. Tsunewaki (1982) Molecular basis of the genetic diversity of the cytoplasm in *Triticum* and *Aegilops*. I. Diversity of the chloroplast genome and its lineage revealed by the restriction pattern of ct-DNAs. Jpn. J. Genet. 57: 371–396.
- Ogihara, Y. and K. Tsunewaki (1988) Diversity and evolution of chloroplast DNA in *Triticum* and *Aegilops* as revealed by restriction fragment analysis. Theor. Appl. Genet. 76: 321–332.
- Ogihara, Y., T. Terachi and T. Sasakuma (1988) Intramolecular recombination of chloroplast genome mediated by short direct repeat sequences in wheat species. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 8573–8577.
- Ogihara, Y., T. Terachi and T. Sasakuma (1991) Molecular analysis of the hot spot region related to length mutation in wheat chloroplast DNAs. I. Nucleotide divergence of genes and intergenic spacer regions located in the hot spot region. Genetics 129: 873–884.
- Ogihara, Y., K. Hasegawa and H. Tsujimoto (1994a) High-resolution cytological mapping of the long arm of chromosome 5A in common wheat by use of a series of deletion lines induced by gametocidal (*Gc*) genes of *Aegilops speltoides*. Mol. Gen. Genet. 244: 253–259.
- Ogihara, Y., H. Shimizu, K. Hasegawa, H. Tsujimoto and T. Sasakuma (1994b) Chromosome assignment of four photosynthesis-related genes and their variability in wheat species. Theor. Appl. Genet. 88: 383–394.
- Ogihara, Y., K. Futami, K. Tsuji and K. Murai (1997) Alloplasmic wheats with *Aegilops crassa* cytoplasm which express photoperiod-sensitive homeotic transformations of anthers, show alterations in mitochondrial DNA structure and transcription. Mol. Gen. Genet. 255: 45–53.
- Ogihara, Y., Y. Kurihara, K. Futami, K. Tsuji and K. Murai (1999) Photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility in wheat: nuclear-mitochondrial incompatibility results in differential processing of the mitochondrial *orf25* gene. Curr. Genet. 36: 354–362.
- Ogihara, Y. and T. Ohsawa (2002) Molecular analysis of the complete set of length mutations found in the plastomes of *Triticum-Aegilops* species. Genome 45: 956–962.
- Ogihara, Y., K. Isono, T. Kojima, A. Endo, M. Hanaoka, T. Shiina, T. Terachi, S. Utsugi, M. Murata, N. Mori, S. Takumi, K. Ikeo, T. Gojobori, R. Murai, K. Murai, Y. Matsuoka, Y. Ohnishi, H. Tajiri and K. Tsunewaki (2002) Structural features of wheat plastome as revealed by complete sequencing of chloroplast DNA. Mol. Genet. Genomics 266: 740–746.
- Ogihara, Y., K. Mochida, Y. Nemoto, K. Murai, Y. Yamazaki, T. Shin-I and Y. Kohara (2003) Correlated clustering and virtual display of gene expression patterns in the wheat life cycle by large-scale statistical analyses of expressed sequence tags. Plant J. 33: 1001–1011.
- Ogihara, Y., K. Mochida, K. Kawaura, K. Murai, M. Seki, A. Kamiya, K. Shinozaki, P. Carninci, Y. Hayashizaki, T. Shin-I, Y. Kohara and Y. Yamazaki (2004) Construction of a full-length cDNA library from young spikelets of hexaploid wheat and its characterization by large-scale sequencing of expressed sequence tags. Genes & Genet. Syst. 79: 227–232.
- Ogihara, Y., Y. Yamazaki, K. Murai, A. Kanno, T. Terachi, T. Shiina, N. Miyashita, S. Nasuda, C. Nakamura, N. Mori, S. Takumi, M. Murata, S. Futo and K. Tsunewaki (2005) Structural dynamics of cereal mitochondrial genomes as revealed by complete nucleotide sequencing of the wheat mitochondrial genome. Nucleic Acids Res. 33: 6235–6250.
- Simons, K.J., J. . Fellers, H.N. Trick, Z. Zhang, Y.S. Tai, B.S. Gill and J.D. Faris (2006) Molecular characterization of the major wheat domestication gene Q. Genetics 172: 547–555.
- Torada, A., M. Koike, K. Mochida and Y. Ogihara (2006) SSR-based linkage map with new markers using an intraspecific population of common wheat. Theor. Appl. Genet. 112: 1042–1051.
- Tsumura, Y., Y. Ogihara, T. Sasakuma and K. Ohba (1993) Physical map of chloroplast DNA in sugi, *Cryptomeria japonica*. Theor. Appl. Genet. 86: 166–172.
- Tsunewaki, K. and Y. Ogihara (1983) The molecular basis of genetic diversity among cytoplasms of *Triticum* and *Aegilops*. II. On the origin of polyploid wheat cytoplasms as suggested by chloroplast DNA restriction fragment patterns. Genetics 104: 155–171.
- Tsunewaki, K., Y. Matsuoka, Y. Yamazaki and Y. Ogihara (2008) Evolutionary dynamics of wheat mitochondrial gene structure with special remarks on the origin and effects of RNA editing in cereals. Genes Genet. Syst. 83: 301–320.
- Uematsu, C., T. Sasakuma and Y. Ogihara (1991) Phylogenetic relationships in the stone fruits group of *Prunus* as revealed by restriction fragment analysis of chloroplast DNA. Jpn. J. Genet. 66: 59–69.
- Yaneshita, T., T. Ohmura, Y. Ogihara and T. Sasakuma (1993) Phylogenetic relationships of turfgrasses as revealed by RFLP analysis of chloroplast DNA. Theor. Appl. Genet. 87: 129–135.