

製品コード RR211A

食品・環境分析用

---

**Takara**

**コメ判別用 PCR Kit I**

---

説明書

v201611Da

本キットは、4種のプライマー対によるマルチプレックスPCRを行い、その増幅パターンより、コメ品種を判別するためのものです。コシヒカリ（コシヒカリ BL は除く）は、他品種と区別できる特徴的なパターンを示すため、本キットにより、遺伝子レベルでの種別の管理や精米・米飯の品質管理が可能となります。

注) 全国 33 都道府県のコシヒカリ原種（コシヒカリ BL は除く）について、同一パターンであることを確認していますが、遺伝的変異のために異なる結果が出る可能性があります。また、コシヒカリ以外の 60 品種（表 1）につき、コシヒカリとは異なるパターンになることを確認していますが、これらの品種においても、遺伝的変異により、コシヒカリと同じパターンを示す可能性があります。なお、表 1 に記載のない品種については、確認しておりません。

表 1. コシヒカリ以外の 60 品種

|    |         |    |         |    |        |    |         |
|----|---------|----|---------|----|--------|----|---------|
| 1  | ひとめぼれ   | 16 | 月の光     | 31 | アキツホ   | 46 | ゴロピカリ   |
| 2  | ヒノヒカリ   | 17 | あいちのかおり | 32 | アケボノ   | 47 | 初星      |
| 3  | あきたこまち  | 18 | 祭り晴     | 33 | 朝日     | 48 | 中生新千本   |
| 4  | きらら 397 | 19 | あきほ     | 34 | ヤマホウシ  | 49 | 森のくまさん  |
| 5  | キヌヒカリ   | 20 | ゆきまる    | 35 | ヤマヒカリ  | 50 | ゆめさんさ   |
| 6  | ほしのゆめ   | 21 | むつかおり   | 36 | 黄金錦    | 51 | 加賀ひかり   |
| 7  | はえぬぎ    | 22 | まなむすめ   | 37 | コガネマサリ | 52 | きらり宮崎   |
| 8  | むつほまれ   | 23 | かけはし    | 38 | レイホウ   | 53 | ゆめみのり   |
| 9  | 日本晴     | 24 | キヨニシキ   | 39 | ミネアサヒ  | 54 | たかねみのり  |
| 10 | ササニシキ   | 25 | どまんなか   | 40 | ふさおとめ  | 55 | あさひの夢   |
| 11 | つがるロマン  | 26 | 越路早生    | 41 | かりの舞   | 56 | ニシホマレ   |
| 12 | ハナエチゼン  | 27 | ゆきの精    | 42 | どんとこい  | 57 | チヨニシキ   |
| 13 | 夢つくし    | 28 | ほほほの穂   | 43 | アキニシキ  | 58 | ヒヨクモチ   |
| 14 | ハツシモ    | 29 | ゆめあかり   | 44 | ながのほまれ | 59 | ヒメノモチ   |
| 15 | 朝の光     | 30 | 能登ひかり   | 45 | フクヒカリ  | 60 | はくちょうもち |

## I. 内容 (100 反応分)

|  |               |
|--|---------------|
| 1. TaKaRa Taq™ (5 U/μl)                    | 50 μl (250 U) |
| 2. 10 × PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free) | 1 ml          |
| 3. MgCl <sub>2</sub> (25 mM)               | 1 ml          |
| 4. dNTP Mixture (2.5 mM each)              | 800 μl        |
| 5. Primer Mixture                          | 160 μl        |
| 6. Control Template*1                      | 100 μl        |
| 7. Loading Buffer                          | 700 μl        |
| 8. DNA Marker Solution*2                   | 100 μl        |

\* 1 : Control Template は 50 反応分です。

\* 2 : DNA Marker Solution は 10 レーン分です。

## II. 保存

− 20℃

---

### III. キット以外に必要な試薬、機器（主なもの）

本キットを用いた判別には、さらに次のような試薬、機器が必要です。

#### 【試薬】

1. アガロース  
Agarose L03「TAKARA」(製品コード 5003/5003B)  
PrimeGel™ Agarose LE 1-20K (製品コード 5800A) など
2. 電気泳動用 Buffer  
Tris-Acetate-EDTA Buffer (TAE) 50x Powder, pH8.3 (製品コード T9131)
3. DNA マーカー  
pHY Marker (製品コード 3404A/B)  
φX174 *Hae* III digest (製品コード 3405A/B)  
100 bp DNA Ladder (製品コード 3407A/B) など
4. DNA 染色剤  
エチジウムブロマイド
5. DNA 抽出用試薬類\*1

#### 【機器】

1. PCR 装置\*2  
TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® *Touch* (製品コード TP350)  
TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice Gradient (製品コード TP600)
2. 卓上遠心機
3. 電気泳動装置  
Mupid-2plus (製品コード M-2P) など
4. UV トランスイルミネーター (波長 300 nm 前後のもの)
5. 電気泳動用ゲル撮影用装置

#### 【その他】

各種チューブ、各種ピペットなど

\* 1 : PCR の結果は、サンプル DNA 量・純度に影響されます。

\* 2 : PCR の結果は、使用する PCR 装置により影響を受けます。

本キットは、TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice により至適化されています。  
他機種をご使用の場合、結果が異なる場合があります。

### IV. 操作上の注意

1. PCR 装置の取扱いは各装置の取扱説明書に従ってください。
2. 反応液の調製から検出まで、次の 4 エリアを設定し、物理的に隔離することを推奨します (X. 補足：エリア分けについてを参照)。コンタミネーション発生の原因となりますので、エリア 4 以外では増幅産物の入ったチューブの開閉は避けてください。
  - エリア 1 : PCR 反応液の調製、分注を行います。
  - エリア 2 : 検体の調製 (DNA 抽出等) を行います。
  - エリア 3 : PCR 反応液へ鋳型 DNA の添加を行います。
  - エリア 4 : 電気泳動等で PCR 増幅産物の解析を行います。
3. 試薬汚染 (コンタミネーション) による誤った判定を防ぐために、使用するマイクロピペット用チップは 1 回毎に交換してください。
4. エチジウムブロマイドなど DNA 染色剤を扱う場合、および DNA 染色剤で染色したゲルを取り扱う場合は、必ず手袋を着用し、直接液が触れないようご注意ください。

---

## V. コメゲノム DNA の調製 (エリア 2 で実施)

### V-1. CTAB 法による精米粉からの DNA 抽出 (0.4 g)

注意：精製スタートから手袋を着用し、検体のクロスコンタミネーションを起こさないようにしてください。すべての操作において、ボルテックスミキサーでの攪拌はしないでください。

1. コメ 20 粒をコーヒーマイルで粉碎する。(数秒ずつ様子を見ながら数回行う。)
2. ロックつき 2.0 ml チューブ (エッペンドルフ社) に精米粉 0.4 g をとり、あらかじめ混合し 65°C に保温した 2 × CTAB\*<sup>1</sup> 0.6 ml ・ 精製水 0.2 ml の混合液を加え混和する。
3. 65°C の湯浴中で 30 分間振とうする。(10 分おきに転倒混和)
4. CIA\*<sup>2</sup> を 0.8 ml 加え、転倒混和する。
5. ローテーター (15 回転 / 分) で 15 分間混和する。
6. 遠心分離を行う (15,000 rpm、4°C、15 分間)。
7. 液が 3 層に分離後、最上層を新しいロックつき 2.0 ml チューブに速やかに移す。
8. 65°C の 10% CTAB\*<sup>3</sup> を上清に対し 1/10 量加える。
9. 等量の CIA を加え、転倒混和を行う。
10. ローテーター (15 回転 / 分) で 15 分間混和する。
11. 遠心分離を行う (15,000 rpm、4°C、15 分間)。
12. 上層を新しいロックつき 2.0 ml チューブに速やかに移す。
13. 65°C に加温した沈殿用 Buffer\*<sup>4</sup> をチューブ目盛り 2 ml まで加え (前操作で得られた上層の 3 ~ 4 倍量)、ゆっくり転倒混和する。
14. 4°C で 30 ~ 60 分間 (- 20°C の場合 5 分、あるいは氷上で 10 分間程度) 放置する。
15. 遠心分離を行う (15,000 rpm、4°C、20 分間)。
16. 上清を除去し、1 M NaCl/TE\*<sup>5</sup> を 200 μl 加え、沈殿物を溶解する。
17. 等量のイソプロピルアルコール 200 μl を重層し、ゆっくり転倒混和する。
18. ローテーター (15 回転 / 分) で 15 分間混和する。
19. 遠心分離を行う (15,000 rpm、4°C、15 分間)。
20. 上清を除去し、冷却 70% エタノール\*<sup>6</sup> を 50 μl 加え、洗浄する。
21. 遠心分離を行う (15,000 rpm、4°C、10 分間)。
22. 上清を除去し、エタノール臭が無くなるまで沈殿物を自然乾燥する。
23. TE\*<sup>7</sup> を 200 μl 加え、沈殿物を溶解する。(手で軽く叩く程度)
24. RNase A (10 mg/ml、QIAGEN 社など) を 1 μl 加え、55°C で 30 ~ 60 分間放置する。
25. 中性フェノール\*<sup>8</sup> を 200 μl 加え、転倒混和を行う。
26. ローテーター (15 回転 / 分) で 15 分間混和する。
27. 遠心分離を行う (15,000 rpm、4°C、15 分間)。
28. 上層を新しいロックつき 2.0 ml チューブに移す。
29. 等量の PCI\*<sup>9</sup> を加え、転倒混和を行う。
30. ローテーター (15 回転 / 分) で 15 分間混和する。
31. 遠心分離を行う (15,000 rpm、4°C、15 分間)。
32. 上層を新しいロックつき 2.0 ml チューブに移し、氷中に入れる。
33. 液量を測り、上清の 1/25 倍量 5 M NaCl\*<sup>10</sup> を加え 2 ~ 2.5 倍量冷却エタノール\*<sup>11</sup> を静かに重層し、ゆっくり転倒混和後、氷上に 30 分間静置する。
34. 遠心分離を行う (15,000 rpm、4°C、15 分間)。
35. 上清を除去し、冷却 70% エタノールを 50 μl 加え、洗浄する。
36. 遠心分離を行う (15,000 rpm、4°C、5 分間)。
37. 上清を除去し、エタノール臭がしなくなるまで 30 分間、蓋を開けた状態で沈殿物を自然乾燥する。
38. 沈殿に 1/10 TE\*<sup>12</sup> を 30 μl 加え、静置にて overnight で溶解後、静かにピペティングを行い、均質化する。



---

\* 5 : 1 M NaCl/TE

|   |       |                  |
|---|-------|------------------|
| ┌ | 10 mM | Tris-HCl (pH8.0) |
|   | 1 mM  | EDTA (pH8.0)     |
|   | 1 M   | NaCl             |

調製法 : 1 M Tris-HCl (pH8.0) \*13            1 ml  
          0.5 M EDTA (pH8.0) \*14            0.2 ml  
          5 M NaCl\*10                        20 ml

↓  
精製水で 100 ml に fill upし、オートクレーブ後室温保存

\* 6 : 冷却 70%エタノール

調製法 : エタノール (99.5 V%、特級) 70 ml

↓  
精製水にて 100 ml に fill up 後、- 20℃フリーザー保存

\* 7 : TE

|   |       |                  |
|---|-------|------------------|
| ┌ | 10 mM | Tris-HCl (pH8.0) |
|   | 1 mM  | EDTA (pH8.0)     |

調製法 : 1 M Tris-HCl (pH8.0) \*13            10 ml  
          0.5 M EDTA (pH8.0) \*14            2 ml

↓  
精製水で 1,000 ml に fill upし、オートクレーブ後室温保存

\* 8 : 中性フェノール

調製法 : 市販フェノール (特級) を 65℃で融解

↓  
8-ヒドロキシキノリンを 0.05 ~ 0.1% (w/w) 程度の濃度になるよう添加、等量の 1 M Tris-HCl (pH8.0) \*13 を加え激しく混合。水層 (上層) を除去し、水層の pH が 7.5 以上になるまでこの操作を繰り返す。

↓  
等量の 0.1 M Tris-HCl (pH8.0) \*13 を加え混合。  
2,000 rpm、5 分間遠心後冷暗所に保存し、酸化して赤みを帯びたものは使用しない。

\* 9 : PCI : フェノール / クロロホルム / イソアミルアルコール (25/24/1, v/v/v)

調製法 : 中性フェノール                    50 ml  
          クロロホルム                      48 ml  
          イソアミルアルコール            2 ml

↓  
良く混合し、遮光、4℃保存 (水層が分離するまで静置)

\* 10 : 5 M NaCl

調製法 : 29.22 g の NaCl を精製水にて溶解後、100 ml に fill upし、オートクレーブ後室温保存

\* 11 : 冷却エタノール

調製法 : エタノール (99.5 V%、特級) を - 20℃フリーザーにて保存

---

\* 12 : 1/10 TE 

|   |        |                  |
|---|--------|------------------|
| [ | 1 mM   | Tris-HCl (pH8.0) |
|   | 0.1 mM | EDTA (pH8.0)     |

\* 7 の TE を精製水にて 10 倍希釈する。

\* 13 : 1 M Tris-HCl (pH8.0)

調製法 : 121.14 g の Tris (hydroxymethyl) aminomethane を 500 ml の精製水にて溶解

↓

25°C において pH8.0 になるまで HCl を添加

↓

精製水で 1,000 ml に fill up し、オートクレーブ後室温保存

\* 14 : 0.5 M EDTA (pH8.0)

調製法 : 372.2 g の Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dehydrate を精製水 700 ml にて懸濁

↓

25°C において pH8.0 になるまで NaOH を添加

↓

1,000 ml に fill up し、オートクレーブ後室温保存

未加熱の精米 20 粒からの DNA 調製にはコメ DNA 抽出キット (精米 20 粒スケール) (コメ判別用 PCR Kit 用) (製品コード 9103) もご使用いただけます。

## V-2. コメ 1 粒からの DNA 調製方法 (酵素法)

注意：すべての操作において、ボルテックスミキサーでの攪拌はしないでください。操作 3. における処理時間は種々の条件で異なってきますので、予備実験により処理時間の目安をつけておいてください。

1. 精米試料 1 粒を 1.5 ml 容量のプラスチックチューブに採り、精製水 50  $\mu$ l を加え、スタンドに立てて、室温で 1 時間浸漬する。
2. チューブの蓋に注射針 23G  $\times$  1 にて中心に一点穴を開ける。
3. 適当なラックにチューブを立て、電子レンジのあたためモードにて 6 ~ 12 分間加熱する。(まず 2 分  $\times$  2 回加熱し、その後軽く遠心して蓋に付着した水滴を一旦落とし更に 2 分加熱する。米粒に芯が残っていれば、さらに 2 分ずつ加熱を続ける。)
4. 抽出 Buffer\*1 を 300  $\mu$ l 加え、米飯をチップの先で細かく潰す。
5. 15 mg/ml となるよう精製水で溶解した耐熱性  $\alpha$  - アミラーゼ (*Bacillus licheniformis* 由来、Sigma 社製) 10  $\mu$ l を加え、80°C で 1 時間放置する。
6. 33  $\mu$ l の 2% SDS\*2、および 20  $\mu$ l の Proteinase K (製品コード 9034 など) を加え 55°C で 1 時間放置する。
7. 遠心分離 (15,000 rpm、1 分間) を行う。
8. 沈殿物を吸い上げないように上清を新しいロック付き 2 ml チューブ (エッペンドルフ社製) に移し、2 ~ 2.5 倍量の冷却エタノール\*3 を加えて手でゆっくり転倒混和し、氷上に 15 分間静置する。
9. 遠心分離 (15,000 rpm、4°C、15 分間) し、沈殿を 300  $\mu$ l の TE\*4 で溶解する。
10. 1  $\mu$ l の RNase A (10 mg/ml、QIAGEN 社など) を加え、55°C で 1 時間放置する。
11. PCI\*3 を 300  $\mu$ l 加え、ローテーター (15 回転/分) で 15 分間攪拌する。
12. 遠心分離 (15,000 rpm、4°C、15 分間) し、上清を新しいロック付き 2 ml チューブに移す。
13. 等量の PCI\*5 を加え、ローテーター (15 回転/分) で 15 分間攪拌する。
14. 遠心分離 (15,000 rpm、4°C、15 分間) し、上層を新しいロック付き 2 ml チューブに移しすぐに氷に漬ける。
15. その後、上清に 2 ~ 2.5 倍の冷却エタノール\*3 を加えて手でゆっくりと転倒混和し、氷上に 10 分間静置する。
16. 遠心分離 (15,000 rpm、4°C、15 分間) し、沈殿を 50  $\mu$ l の冷却 70% エタノール\*6 で洗浄する。このとき、沈殿を失わないように注意する。
17. 遠心分離 (15,000 rpm、4°C、15 分間) を行う。
18. 上清を除去しエタノール臭がなくなるまで自然乾燥する。このとき、沈殿を失わないように注意する。
19. 沈殿に 1/10 TE\*7 を 30  $\mu$ l 加え、静置にて overnight で溶解後、静かにピペッティングを行い、均質化する。
20. 操作 19. で得られた溶液を 50 ~ 100 倍に希釈後、吸光度計にて 260 nm、および 280 nm における吸光度を測定する。(可能なら 220 nm ~ 320 nm の吸収スペクトルを測定する。)
21. 4°C で保存する。
22. OD<sub>260</sub> = 1 の場合を 50  $\mu$ g/ml として、操作 20. で得られた測定値から DNA 濃度を計算する。なお、OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> の値が 1.8 以上であれば、タンパク質はほぼ除かれていると考えられる。

※ 本方法は、炊飯米からでも DNA 抽出が可能です。炊飯米の場合は、試料検体 1 粒を 1.5 ml 容量のプラスチックチューブに採り、操作 4. から始めてください。



---

<試薬調製>

\* 1 : 抽出 Buffer 

|   |        |                  |
|---|--------|------------------|
| ┌ | 100 mM | Tris-HCl (pH8.0) |
|   | 100 mM | NaCl             |

調製法 : 1 M Tris-HCl (pH8.0)      10 ml  
          5 M NaCl                      2 ml

↓  
精製水で 100 ml に fill up

↓  
オートクレーブ後室温保存

\* 2 : 2% SDS    2% (W/V) Sodium Dodecyl Sulfate

調製法 : Dodecyl sulfate sodium salt    2 g

↓  
精製水にて溶解し、100 ml に fill up

↓  
0.22 μm フィルターにて濾過滅菌後、室温保存

\* 3 : 冷却エタノール : V-1 項\* 11 参照

\* 4 : TE : V-1 項\* 7 参照

\* 5 : PCI : V-1 項\* 9 参照

\* 6 : 冷却 70%エタノール : V-1 項\* 6 参照

\* 7 : 1/10 TE : V-1 項\* 12 参照

未加熱の精米 1 粒からの DNA 調製には、前記酵素法のほか、コメ DNA 抽出キット (製品コード 9197) もご使用いただけます。

## VI. PCR 反応

### 【コントロール反応について】

検出結果の信頼性を確保するために、Negative Control 試験、Positive Control 試験も同時に実施することを推奨します。

#### Negative Control 試験

DNA 溶液の代わりに滅菌精製水を添加し、最終反応液量を 20  $\mu$ l にします。

#### Positive Control 試験

DNA 溶液の代わりにキット付属の Control Template を 2  $\mu$ l 添加し、最終反応液量を 20  $\mu$ l にします。

- 以下の 2  $\times$  Master Mixture を氷上で調製する。(エリア 1 で実施)  
必要数 +  $\alpha$  分の 2  $\times$  Master Mixture をまとめて調製し、各反応チューブに 10  $\mu$ l ずつ分注し、軽くふたをする。必要本数は、サンプル数 + 2 本 (Negative Control, Positive Control) と設定する。そのうち 1 本に Negative Control として、滅菌精製水を 10  $\mu$ l 添加し、しっかりとふたをする。

#### [2 $\times$ Master Mixture (1 反応分)]

| 試薬   | 使用量           |
|--|---------------|
| 10 $\times$ PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free) | 2 $\mu$ l     |
| MgCl <sub>2</sub> (25 mM)                      | 2 $\mu$ l     |
| dNTP Mixture (2.5 mM each)                     | 2 $\mu$ l     |
| Primer Mixture                                 | 1.3 $\mu$ l   |
| TaKaRa Taq (5 U/ $\mu$ l)                      | 0.15 $\mu$ l* |
| 滅菌精製水  | 2.55 $\mu$ l  |
| Total  | 10 $\mu$ l    |

\*：識別バンドが薄い場合、TaKaRa Taq (5 U/ $\mu$ l) を 0.2  $\mu$ l に増やす。

- DNA 溶液を添加する。(エリア 3 で実施)  
10  $\mu$ l ずつ分注した 2  $\times$  Master Mixture に DNA 溶液または Positive Control を添加後、最終反応液量を 20  $\mu$ l とし、しっかりとふたをする。反応チューブを卓上遠心機で軽く遠心を行い、サーマルサイクラーにセットする。

| 試薬                        | 使用量        |
|---------------------------|------------|
| 2 $\times$ Master Mixture | 10 $\mu$ l |
| DNA 溶液                    | X $\mu$ l  |
| 滅菌精製水                     |            |
| Total                     | 20 $\mu$ l |

用いる DNA 溶液量は、純度などによって異なります。V 項記載のプロトコールにより調製した DNA 溶液の場合、吸光度値を元に算出した DNA 量で約 100 ng ~ 400 ng 相当となる液量を目安にして用いてください。

コメ DNA 抽出キット (製品コード 9103、9197) で調製した DNA 溶液の場合は、吸光度値を元に算出した DNA 量で 10 ng 相当となる液量を目安にして用いてください。アガロースゲル電気泳動を行った際、添付の分子量マーカーよりバンドが薄いようであれば、DNA 量を増やしてください。

---

3. 以下の条件で反応を実施する。

|          |      |    |           |
|----------|------|----|-----------|
| [PCR 条件] | 96°C | 2分 | } 35 サイクル |
|          | 94°C | 1分 |           |
|          | 62°C | 1分 |           |
|          | 72°C | 2分 |           |

※ 市販の加工米飯などから V-2. の酵素法で抽出・精製した DNA を鋳型とする場合には、「62°C 1分」の工程を「58～60°C 1分」にすることで増幅 DNA バンドが明瞭に出現することがあります。

## VII. アガロースゲル電気泳動 (エリア 4 で実施)

注：識別性の点から、アガロースゲルの EtBr 染色は後染めをお勧めします。  
電気泳動用緩衝液には、1×TAE Buffer \* を使用してください。

1. アガロースゲルを作製する場合は、2% (W/V) になるよう Agarose を電気泳動用緩衝液で溶解し、ゲルを作製する。
2. ゲル調製に用いた緩衝液で満たした電気泳動槽に、アガロースゲルを設置する。
3. 各 PCR 反応液に 5  $\mu$ l の Loading Buffer を添加し、1 ウェル当たり 10  $\mu$ l 分の各 PCR 反応液を注入する。(コメ DNA 抽出キット (製品コード 9103、9197) で調製した DNA 溶液を用いた反応液の場合は、5  $\mu$ l の Loading Buffer を添加し 1 ウェルあたりの泳動量を 5  $\mu$ l としてください)。Marker DNA Solution はそのまま 10  $\mu$ l 使用する。
4. 3～5 V/cm の定電圧をかけ、色素がウェルから 3～4 cm に移動するまで電気泳動を行う。

\* : 1×TAE Buffer : 50×TAE Buffer を 50 倍希釈する。

[ 50×TAE Buffer 調製法 ]

Tris-Acetate-EDTA Buffer (TAE) 50x Powder, pH8.3 (製品コード T9131) を用いて調製する。

## VIII. PCR 増幅産物の確認 (エリア 4 で実施)

1. 1  $\mu$ g/ml のエチジウムブロマイド水溶液によりゲルを染色する。
2. UV トランスイルミネーターにゲルをセットし、写真を撮影する。

## IX. 判別

### 【コントロール反応について】

|                  | 正常な場合  | 異常な場合                  |
|------------------|--|------------------------|
| Negative Control | 何も増幅断片は検出されない。   | 何らかの増幅断片が検出される。        |
| Positive Control | 約 2.7 kb の増幅断片が検出される。<br>(注意) 同時に約 0.88 kb の増幅断片が検出される場合がありますが、問題はありません。 | 約 2.7 kb の増幅断片が検出されない。 |

### 【検体の反応について】

キット添付 DNA Marker Solution を構成する 4 つのフラグメント (約 0.65 kb、0.77 kb、0.87 kb、1.6 kb) と同じ大きさの増幅物の出現パターンにより判別します。検体がコシヒカリの場合、約 0.65 kb、0.77 kb、0.87 kb の大きさの PCR 増幅断片が得られます。電気泳動パターンについては図 1 をご参照ください。

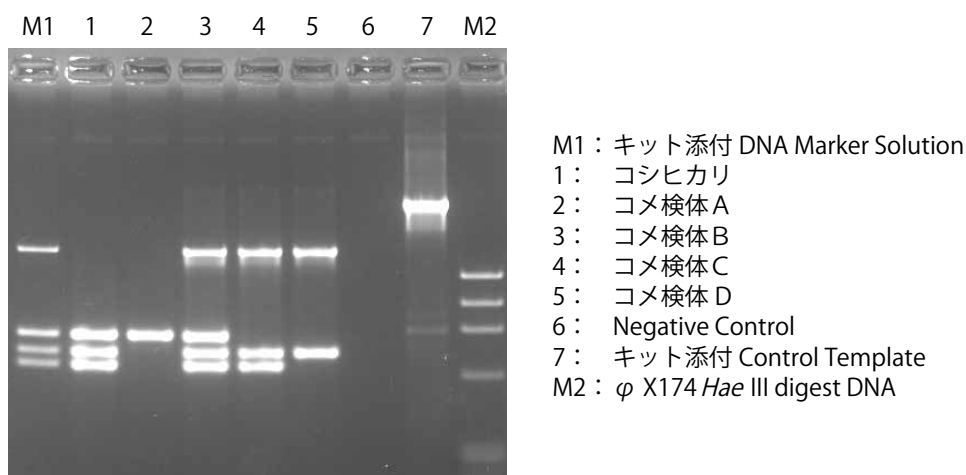
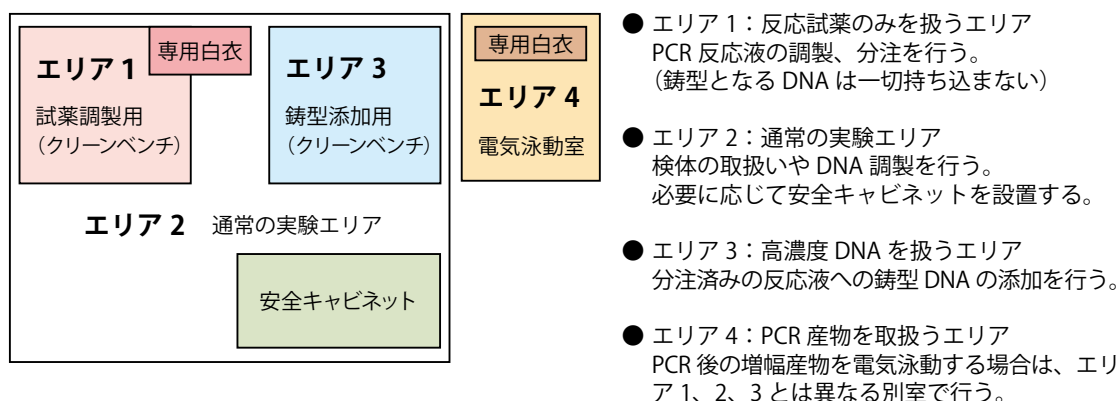


図 1. アガロースゲル電気泳動例 (2% Agarose L03、1 × TAE Buffer)

## X. 補足：エリア分けについて



## XI. 関連製品

Agarose L03「TAKARA」(製品コード 5003/5003B)  
PrimeGel™ Agarose LE 1-20K (製品コード 5800A)  
Tris-Acetate-EDTA Buffer (TAE) 50x Powder, pH8.3 (製品コード T9131)  
pHY Marker (製品コード 3404A/B)  
 $\phi$  X174 *Hae* III digest (製品コード 3405A/B)  
100 bp DNA Ladder (製品コード 3407A/B)  
TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® *Touch* (製品コード TP350)  
TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Gradient (製品コード TP600)  
Mupid-2plus (製品コード M-2P)  
Proteinase K (製品コード 9034)  
コメ DNA 抽出キット (精米 20 粒スケール) (コメ判別用 PCR Kit 用) (製品コード 9103)  
コメ DNA 抽出キット (製品コード 9197)  
コメ判別用 PCR Kit II (製品コード RR213A)

## XII. 参考文献

米 PCR 品種判別におけるコシヒカリ用判別プライマーセットの開発  
(大坪研一、中村澄子、今村太郎 日本農芸化学会誌 (2002) Vol. 76, No.4, 388-397.)

## XIII. 注意

1. 検査結果判定により発生する問題に関して、タカラバイオ株式会社は一切の責任を負いません。
2. コメ品種判別を行う場合には、本キットによる検定結果とともに、他法による検定結果をあわせて、総合的に判断されることをお勧めします。
3. 本キットは、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所のライセンスを受けて (特許出願番号 特願平 12-226854)、タカラバイオ (株) が製造販売しています。
4. 本製品は食品分析および環境分析用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
5. タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
6. ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
7. Thermal Cycler Dice はタカラバイオ株式会社の登録商標です。TaKaRa *Taq*、PrimeGel はタカラバイオ株式会社の商標です。その他、本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先

**テクニカルサポートライン**

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

**タカラバイオ株式会社**