DNA マーカーを用いたもち米加工品からのうるち米の検出

井伊悠介*, 足立静香

独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

DNA Markers Detecting Non-glutinous Rice in Glutinous Rice Processed Food

Yusuke Ii* and Shizuka Adachi

Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center,
1-3-7 Minatozimaminamimachi, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650-0047

To facilitate authentic food labeling, primer sets were constructed to detect contamination with non-glutinous rice in glutinous rice processed foodstuffs. Primers for two DNA markers were designed, because each glutinous rice cultivar has either 23-bp duplication or a 7764-bp insert in the *Wx* gene. Single PCR products were generated using primer set F12-R14-R15, with a 163-bp fragment obtained from non-glutinous rice, and 138-bp and 186-bp fragments from glutinous rice, due to the presence of the 23-bp duplication. A 190-bp PCR product was generated with primer set F22-R05 from non-glutinous rice, whereas this fragment was not obtained from glutinous rice, which harbors the 7764-bp insert. The PCR detection rates of non-glutinous rice with these DNA markers were evaluated using mixed DNA from rice cakes made in our laboratory. The PCR detection methods exhibited a 100% detection rate at the following sensitivities. F12-R14-R15 detected non-glutinous rice content at levels exceeding 2.5%, in samples containing glutinous rice with the 23-bp duplication. F22-R05 detected non-glutinous rice content at levels above 1.0%, in samples containing glutinous rice with the 7764-bp insert. Commercial products were analyzed, and as a result, these DNA markers were amplified from their DNA. Here, we have demonstrated that these primer sets might be useful for detection of non-glutinous rice in glutinous rice processed foods, made from glutinous rice having either the 23-bp duplication or the 7764-bp insert. (Received Apr. 26, 2013; Accepted Jul. 24, 2013)

Keywords : DNA marker, PCR, food labeling, glutinous rice, non-glutinous rice

キーワード : DNA マーカー, PCR, 食品表示, うるち米, もち米

うるち米やもち米から上新粉や白玉粉のような米粉, さらには団子や餅といった米加工品が製造される. もち米や白玉粉を主に使ったもち米加工品には道明寺粉やおはぎのようなものがあり, 原材料名の表示や「もち米ヒヨクモチ 100% 使用」等の特色ある原材料の表示は消費者の商品選択の情報の一つである.

農林物資の規格化および品質表示基準の適正化に関する法や不当景品類および不当表示防止法では原材料について適切な表示を求めている.

しかし, 原材料米としてもち米しか表示されていないもち米加工品において, もち米以外に加工用米や特定米穀等の安価なうるち米も原材料に用いている場合, 目視等によるその製品の外観の観察からではうるち米が使われているかの判断は困難である. よってうるち米混入の検出方法の開発が求められる.

近年, 加工食品の原材料等を検知する DNA マーカーが

報告されている^{1)~5)}. DNA マーカーによるもち米加工品の原材料判別法の報告⁶⁾⁷⁾はあるが, もち米の数品種のみや異種の穀類の検出を目的としており, うるち米の検出の検討は見受けられない.

うるち米と異なり, もち米にはアミロース合成に関与する *Wx* 遺伝子の第 2 エキソンに 23 bp 重複⁸⁾⁹⁾, 第 9 エキソンにレトロトランスポゾン様の 7764 bp の挿入¹⁰⁾による変異配列が存在している (以下, これらの変異をそれぞれ 23D 変異および TP 変異とする. またこれらの変異を持つもち米をそれぞれ 23D 変異型もち米および TP 変異型もち米とする). 岸根・奥西¹¹⁾はこれらの変異配列をそれぞれ特異的に増幅するプライマーセットを設計し, 日本のもち米 48 品種の *Wx* 遺伝子の変異が 23D 変異もしくは TP 変異のいずれかであることを報告している. また, うるち米の DNA 溶液に 23D 変異型もち米もしくは TP 変異型もち米の DNA が 0.5-20% になるように混合した DNA 溶液を用いて PCR を行い, もち米の DNA が 0.5% の場合においても上記のプライマーセットによる PCR 産物を確認し

〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 1-3-7

* 連絡先 (Corresponding author), yuusuke_ii@nm.famic.go.jp

ている¹¹⁾。

このプライマーセットを改変することで、うるち米が混入しているもち米加工品について、その原材料もち米が、23D 変異型もち米または TP 変異型もち米のいずれか 1 種類のみならば、うるち米の混入が検知可能と考えられる。

具体的には、23D 変異型もち米にうるち米が混入している場合は、23D 変異の両外側に結合するプライマーセットを用いた PCR により、23D 変異型もち米とうるち米からそれぞれ PCR 増幅が生じるが、23D 変異を持たないうるち米の PCR 産物は 23D 変異型もち米の PCR 産物より 23 bp 短い。また TP 変異型もち米にうるち米が混入している場合は、TP 変異の両外側に結合するプライマーセットを用いた PCR により、うるち米から TP 変異配列を含まない短い PCR 産物が生じる。これらの PCR 産物の確認によりうるち米の混入が判断できる。

ただし PCR 増幅において、うるち米と TP 変異型もち米が鑄型の場合には 23D 変異配列を挟み込むプライマーセットからの PCR 産物長はそれぞれ同じであり、またうるち米と 23D 変異型もち米が鑄型の場合には TP 変異を挟み込むプライマーセットの PCR 産物長もそれぞれ同じである。よってこの 2 種類の変異のもち米が混合された場合は、異なる *Wx* 遺伝子の米の混入は判断できるが、うるち米の使用については判断できない。このことから本研究ではどちらか 1 種類の変異型もち米へのうるち米の混入を想定して、もち米加工品からのうるち米のスクリーニング的な検出方法を検討した。

実験方法

1. 試料および DNA 抽出

精米試料として、各品種について原料玄米が単一原料米である精米を市場で購入した（括弧内は等級別品位基準による等級を示す）。23D 変異型もち米は「ヒヨクモチ」（1 等級と 2 等級の混合）、「こがねもち」（1 等級）、「風の子もち」（1 等級）、「はくちょうもち」（1 等級）、「たつこもち」（2 等級）、「きたゆきもち」（1 等級）および「きぬのはだ」（1 等級）の 7 品種、TP 変異型もち米は「ヒメノモチ」（1 等級と 2 等級の混合）および「わたぼうし」（1 等級）の 2 品種、うるち米は「日本晴」（1 等級）および「ミルキークイーン」（2 等級以上）を用いた。もち米の変異と品種の対応は岸根・奥西¹¹⁾による（「きたゆきもち」を除く）。餅の模擬試料を 23D 変異型もち米、TP 変異型もち米およびうるち米ごとに、ざるに入れて水道水で洗浄し、室温で 30 分静置して水を切った後に水と混合して、ホームベーカリー SD-BMS102（パナソニック）を用いて「もち」メニューにより作製した。洗浄前の精米 280 g に対して水を 180 mL（うるち米の場合は 240 mL）になるように加えた。模擬試料は 1 ロット作製した。

またこの模擬試料とは別に、273 g のもち米精米にうる

ち米精米を 7 g 加え、水を 180 mL 用いて上記と同様の方法により、うるち米が 2.5 % 混合された餅の模擬試料を 1 ロット作製した。なお、この試料はもち米として 23D 変異型もち米と TP 変異型もち米をそれぞれ用いることで、合計 2 種類を用意した。

さらに、本分析法の市販品への適用性の確認のために、もち加工品 12 点（桜餅 4 点、おはぎ 3 点、大福 3 点、よもぎもち 1 点および越前餅 1 点）を市場で購入し供試した。

精米試料、模擬試料および市販品から、100-150 mg を採取し DNeasy Plant Mini Kit（キアゲン）により DNA を抽出した。市販品においてはできるだけもちの部分のみを採取するようにした。RNaseA を加えた後に、藤田ら¹²⁾の方法を参考にし、10 μ L の α -アミラーゼ（シグマアルドリッチ）および 20 μ L の proteinase K（キアゲン）を添加し 65°C で 1 時間以上加温する操作を追加した。抽出 DNA は、分光光度計 NanoDrop 1000（サーモフィッシャーサイエントフィック）により測定された 260 nm の吸光度から DNA 濃度を算出した後に、AE バッファー（キアゲン）により 5 ng/ μ L に希釈した。

2. プライマーの設計

23D 変異型もち米に混入したうるち米を検知するプライマーとして、フォワードプライマー F12（5'-GCTAGACAACCACCATGTCGGCTCTCA-3'；GenBank accession no. AB281458）および 2 種類のリバースプライマー R14（5'-ACGCTGAGCGACGTCGCGTC-3'；GenBank accession no. AB281458）および R15（5'-CCCTGGAACCCGTGGGCTTGA-3'；GenBank accession no. AB281458）を作製した。F12 および R14 は 23 bp の重複の変異部位を挟むように設計し、R15 は岸根・奥西¹¹⁾を参考にして変異部位内に設計した（図 1A）。TP 変異型もち米に混入したうるち米を検知するプライマーとして、フォワードプライマー F22（5'-GAAGATCAACTGGATGAAGGCCGGAATC-3'；GenBank accession no. AB268120）およびリバースプライマー R05（5'-CTAGGATCCCACTCGCTGACGTCCA-3'；GenBank accession no. AB268120）を作製した。F22 および R05 は 7764 bp の挿入の変異部位を挟むように設計した（図 1B）。また、もち米およびうるち米で 104 bp を増幅する PCR コントロールプライマーセットとしてフォワードプライマー F34（5'-CACTTCTCTGCTTGTGTTGTTCTGTTGTTCA-3'；GenBank accession no. AB281432）およびリバースプライマー R35（5'-GTGATCGATCTGAATAAGAGGGGAAACAAAGAAT-3'；GenBank accession no. AB281432）を作製した。

3. PCR 反応および電気泳動

うるち米と 23D 変異型のもち米を識別するための PCR 反応液は、0.4 U KOD FX NEO（東洋紡）、1 $\times$ KOD FX NEO Buffer、0.5 μ M の F12 プライマーおよび R14 プライマー、0.25 μ M の R15 プライマー、0.4 mM dNTP、10 ng

A

TGCAGAGATCTTCCACAGCAACAGCTAGACAACCACCATGTCGGCTCTCAC
 CACGTCCCAGCTCGCCACCTCGGCCACCGGCTTCGGCATCGCCGACAGGT
 CGGCGCCGTCGTGCTGCTCCG CCACGGGTTCCAGGGCCTCAAGC CCACG
GGTTCCAGGGCCTCAAGC CCCCGAGCCCCGCGGGCGGCGACGCGACGTC
 GCTCAGCGTGACGACCAGCGCGCGCGCGA

B

GGTGGAGGGCAGGAAGATCAACTGGATGAAGGCCGGAATCTTGGAAGCCG
 ACAGGGTGCTCACCGTGAGCCCGTACTACGCCGAGGAGCTCATCTCCGGC
 ATCG CCAGGTGTCTG (inserted retrotransposon-like sequence) AATCTCCACA
 CCAGGGGATGCGAGCTCGACAACATCATGCGGCTCACCGGCATCACCGGC
 ATCGTCAACGGCATGCAACGGCATGGACGTCAGCGAGTGGGATCCTAGCA
 AGGACAAGTACATCACCGCCAAG

図 1 うち米ともち米を識別する DNA マーカーのプライマー部位

- (A) 23D 変異型もち米とうち米を識別する DNA マーカーの配列。四角で囲まれた 23bp が 23D 変異型もち米では重複している。矢印はプライマー部位を示す。
 (B) TP 変異型もち米とうち米を識別する DNA マーカーの配列。四角で囲まれた領域は 7764bp の挿入配列であり、TP 変異型もち米に存在している。矢印はプライマー部位を示す。

の鋳型 DNA および滅菌水を混和し、20 μ L に調製した。うち米と TP 変異型のもち米を識別するための PCR 反応液は、0.4 U KOD FX NEO (東洋紡)、1 $\times$ KOD FX NEO Buffer、0.5 μ M の F22 プライマーおよび R05 プライマー、0.25 μ M の F34 プライマーおよび R35 プライマー、0.4 mM dNTP、10 ng の鋳型 DNA および滅菌水を混和し、20 μ L に調製した。

PCR 反応は、95 $^{\circ}$ C で 4 分間変性後、98 $^{\circ}$ C で 10 秒、68 $^{\circ}$ C で 25 秒を 35 サイクル行った。PCR 産物は、核酸染色剤としてゲルレッドを含む 3% アガロースゲルを用いて TBE バッファーによる電気泳動により分離した。

実験結果および考察

F12-R14-R15 プライマーセットについては、TP 変異型もち米およびうち米では 23bp の重複変異部位を持たないことから R15 は結合せず、F12 と R14 による 163bp の増幅が期待された (図 1A)。23D 変異型もち米では F12 と R14 により 163bp より 23bp 長い 186bp および、F12 と変異配列下流に結合した R15 により 138bp の増幅が期待された (図 1A)。23D 変異型もち米 7 品種と 23bp の重複変異を有しない TP 変異型もち米 2 品種およびうち米 2 品種の精米からの抽出 DNA を用いて PCR を行ったら

ところ、23D 変異型もち米では 138bp および 186bp が、TP 変異型もち米およびうち米では 163bp の PCR 産物が確認されたことから (図 2A)、このプライマーセットにより 23D 変異型もち米とこの変異を持たない TP 変異型もち米およびうち米が判別できると考えられた。なお「きたゆきもち」の変異は、岸根・奥西¹¹⁾ の報告にないことから、彼らの PCR 条件に従って調査したところ 23D 変異と判断されたことから (データ未掲載)、23D 変異型もち米として扱った。なお、この変異の識別は F12 および R14 プライマーの 2 種類でも可能であるが、23D 変異型もち米とうち米の混合試料を用いて事前に検討したところ、R15 プライマーも加えた場合の方が 163bp と 186bp の分離がより短時間で可能だったことから (データ未掲載)、3 種類のプライマーを用いることとした。

F22-R05 プライマーセットについては、23D 変異型もち米およびうち米は 190bp の PCR 産物が生じるが、TP 変異型もち米はこれらのプライマーで挟まれた領域内に 7764bp の挿入部位¹⁰⁾ があることから、この長さの PCR 産物は増幅しないと予想された (図 1B)。また、この PCR 産物が観察されなかった場合、試料が TP 変異型もち米であるためか PCR 反応の失敗であるためかの判断が困難なことから PCR 反応のコントロールプライマーセットを設計

図2 うるち米およびもち米の精米の抽出DNAからのF12-R14-R15プライマーセットおよびF22-R05プライマーセットにより増幅されたPCR産物

1 日本晴, 2 ミルキークイーン, 3 ヒヨクモチ, 4 こがねもち, 5 風の子もち, 6 はくちょうもち, 7 たつこもち, 8 きたゆきもち, 9 きぬのはだ, 10 ヒメモノチ, 11 わたぼうし

(A) F12-R14-R15プライマーセットによるPCR産物.

(B) F22-R05プライマーセットによるPCR産物(190bp)およびPCRコントロールプライマーセットF34-R35によるPCR産物(104bp).

した. TP変異を有しない23D変異型もち米7品種およびうるち米2品種とTP変異型もち米2品種の精米からの抽出DNAにより, F22-R05プライマーセットおよびPCRコントロールプライマーセットによるマルチプレックスPCRを行った. 23D変異型もち米およびうるち米ではF22-R05プライマーセットおよびPCRコントロールプライマーセットからのPCR産物が確認され, TP変異型もち米ではF22-R05プライマーセットからのPCR産物が観察されない一方でPCRコントロールプライマーセットからのPCR産物が確認されたことから(図2B), これらのプライマーセットによりTP変異型もち米とこの変異を持たない23D変異型もち米およびうるち米が判別できると考えられた. 本研究でうるち米の一つとして用いたミルキークイーンは低アミロース米の一つであり, *Wx* 遺伝子の2箇所における1塩基ずつの変異が報告されている¹³⁾. 低アミロース米も米加工品に使用する場合もあることから用いた. ミルキークイーンの変異は23D変異やTP変異ではないので, F12-R14-R15プライマーセットおよびF22-R05プライマーセットによるPCRの結果は日本晴と同様になったと考えられた.

23D変異型もち米, TP変異型もち米およびうるち米からそれぞれ作製した模擬試料からのDNAを段階的に混合したDNA溶液(以下, 混合DNA溶液とする)を調製し, うるち米のPCR増幅産物が確認できる濃度について調査した. 混合DNA溶液に含まれるDNA量の比をうるち米/もち米で0.5/99.5, 1.0/99.0, 2.5/97.5, 5.0/95.0および7.5/92.5とし, 23D変異型もち米とうるち米およびTP変異型もち米とうるち米についてそれぞれ作製した.

23D変異型もち米およびうるち米の混合DNA溶液を用いてF12-R14-R15プライマーセットによるPCRを実施したところ, うるち米と23D変異型もち米のDNAが含まれる混合DNA溶液では23D変異型もち米に由来する138bpおよび186bpおよびうるち米に由来する163bpのPCR

図3 うるち米およびもち米の模擬試料の混合DNA溶液からのF12-R14-R15プライマーセットおよびF22-R05プライマーセットにより増幅されたPCR産物

(A) F12-R14-R15プライマーセットによるPCR産物. もち米として23D変異型もち米を用いた.

(B) F22-R05プライマーセットによるPCR産物(190bp). もち米としてTP変異型もち米を用いた. 104bpはPCRコントロールプライマーセットによるPCR産物である.

産物が確認された(図3A). うるち米のDNAのみでは163bpが, 23D変異型もち米のみだと138bpおよび186bpが増幅された. うるち米のDNAが2.5%以上の混合DNA溶液で安定して163bpのPCR産物が確認された(表1).

TP変異型もち米およびうるち米の混合DNA溶液を用いてF22-R05プライマーセットおよびPCRコントロールプライマーセットによるPCRを実施したところ, 全ての試料でPCRコントロールプライマーセットによるPCR産物が確認された. うるち米のDNAを含む混合DNA溶液ではうるち米に由来するPCR産物が確認された(図3B). うるち米のDNAが1.0%以上の混合DNA溶液で安定し

表 1 F12-R14-R15 プライマーセットによる模擬試料中のうるち米の検知結果

	模擬試料中のうるち米の DNA の割合 (%)						
	0	0.5	1.0	2.5	5.0	7.5	100
検知数/分析数	0/24	14/24	20/24	24/24	24/24	24/24	24/24
検知率 (%)	0	58	83	100	100	100	100

模擬試料のもち米には、*Wx* 遺伝子の第 2 エキソンに 23bp の重複変異⁽⁸⁾⁽⁹⁾ を持つもち米を用いた。

検知率 (%) = (検知数/分析数) × 100

表 2 F22-R05 プライマーセットによる模擬試料中のうるち米の検知結果

	模擬試料中のうるち米の DNA の割合 (%)						
	0	0.5	1.0	2.5	5.0	7.5	100
検知数/分析数	0/17	11/17	17/17	17/17	17/17	17/17	17/17
検知率 (%)	0	65	100	100	100	100	100

模擬試料のもち米には、*Wx* 遺伝子の第 9 エキソンに 7764bp の挿入変異⁽¹⁰⁾ を持つもち米を用いた。

検知率 (%) = (検知数/分析数) × 100

図 4 精米の段階で 2.5% のうるち米が混合された模擬試料から抽出した DNA から F12-R14-R15 プライマーセットおよび F22-R05 プライマーセットにより増幅された PCR 産物

(A) うるち米の混入率が 2.5% である 23D 変異型もち米から作製した模擬試料

(B) うるち米の混入率が 2.5% である TP 変異型もち米から作製した模擬試料 (104 bp は PCR コントロールプライマーセットによる PCR 産物である)

図 5 市販のもち加工品からの抽出 DNA から F12-R14-R15 プライマーセットおよび F22-R05 プライマーセットから増幅された PCR 産物

1 桜餅, 2 おはぎ, 3 越前もち, 4 おはぎ, 5 桜餅, 6 おはぎ, 7 桜餅, 8 桜餅, 9 大福, 10 よもぎもち, 11 大福, 12 大福

(A) F12-R14-R15 プライマーセットによる PCR 産物

(B) F22-R05 プライマーセットによる PCR 産物 (190 bp). 104 bp は PCR コントロールプライマーセットによる PCR 産物である。

て F22-R05 プライマーセットによる PCR 産物が確認された (表 2)。うるち米の DNA 量の増加に伴い、うるち米の DNA の PCR 産物量も増加した (図 3A および図 3B)。岸根・奥西⁽¹¹⁾ はもち米の DNA 量の増加ともち米検出マーカーの PCR 産物量に強い増幅が認められたことから、高い特異性をもつマーカーと判断しており、本研究のマーカーも高い特異性を持つと考えられた。また、精米の段階でうるち米を 2.5% 混合した餅の模擬試料を分析した結果、23D 変異型もち米から作製した餅および TP 変異型もち米から作製した餅のどちらにおいてもうるち米由来の PCR 産物が確認された (図 4)。このことから、実際にうるち米が含まれている製品からそれを検知できる可能性が示

唆された。

市販品 12 点を分析した結果、6 製品では 186 bp と 138 bp の F12-R14-R15 プライマーセットによる PCR 産物 (図 5A のレーン 1-6) および F22-R05 プライマーセットによる PCR 産物 (図 5B のレーン 1-6) が確認されたことから、23D 変異型もち米のみの使用が推定された。残りの 6 製品では 163 bp のみの F12-R14-R15 プライマーセットによる PCR 産物が確認された (図 5A のレーン 7-12) 一方で F22-R05 プライマーセットによる PCR 産物が確認されなかったことから (図 5B のレーン 7-12)、TP 変異型もち米のみの使用が推定された。なお 12 製品全てで PCR コントロールプライマーセットによる PCR 産物が確認された (図

5B). これらの結果から本分析方法は市販のもち米加工品に適用できると考えられた.

米の品種判別法として SNPs を利用した DNA マーカーによりうるち米やもち米の日本の 205 品種を識別する報告¹⁴⁾があるが, 複数品種が混合された米加工品における使用品種の特定は困難と考えられる. 本法は原材料米の品種の識別には利用できないが, 原材料もち米が 23D 変異型もち米もしくは TP 変異型もち米のいずれかであるもち米加工品についてうるち米の混入を, 上記の方法¹⁴⁾より安価で簡便に利用できるスクリーニング的な方法と考えられた.

要 約

もち米加工品におけるうるち米の混入を検知する DNA マーカーについて研究を行った. もち米はその品種により Wx 遺伝子に 23 bp の重複変異配列か 7764 bp の挿入変異配列を持つことから, もち米とうち米を識別するプライマーをそれぞれのもち米の変異配列ごとに設計した. 次にもち米とうち米との混合試料を作製し, 検知可能なうるち米量を調査した. Wx 遺伝子に 23 bp の重複変異配列を持つもち米とうち米を用いた場合には, うち米の混入率が 2.5% 以上の場合, 検知率は 100% であった. Wx 遺伝子に 7764 bp の挿入変異配列を持つもち米とうち米を用いた場合, うち米の混入率が 1.0% 以上の場合, 検知率は 100% であった. 市販の製品を分析したところ, これらの抽出 DNA から DNA マーカーが増幅された. これらのことから本研究の DNA マーカーは, もち米加工品の原材料もち米の変異が 1 種類の場合においてうるち米の混入の確認に有用であると考えられ, さらに市販のもち米加工品を分析し, 市販品にも適用できることが確認された.

文 献

- 1) Iguchi, J., Takashima, Y., Namikoshi, A. and Yamashita, M., Species identification method for marine products of *Seriola* and related species. *Fish. Sci.*, **78**, 197-206 (2012).
- 2) 岸根雅宏, 奥西智哉, 米粉パン中の米粉割合推定のための競合的 PCR 法の利用, 日本食品科学工学会誌, **59**, 616-620

- (2012).
- 3) Nagase, M., Maeta, K., Aimi, T., Suganaka, K. and Morinaga, T., Analytical methods for quantification of relative flying fish paste content in processed sea food (ago-noyaki). *Food Sci. Technol. Res.*, **16**, 703-708 (2011).
- 4) Namikoshi, A., Takashima, Y., Iguchi, J., Yanagimono, Y. and Yamashita, M., Species identification of Alaska Pollock, *Gadus* spp., and *Micromesistius* spp. in cod roe products using a PCR-based method. *Fish. Sci.*, **77**, 671-678 (2011).
- 5) Tanabe, S., Hase, M., Yano, T., Sato, M., Fujimura, T. and Akiyama, H., A Real-Time Quantitative PCR detection method for pork, chicken, beef, mutton, and horseflesh in foods. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 3131-3135 (2007).
- 6) 大坪研一, 中村澄子, 興座宏一, 穴戸功一, 餅を試料とする原料米の DNA 品種判別, 日本食品科学工学会誌, **76**, 306-310 (2001).
- 7) 中村澄子, 鈴木啓太郎, 原口和朋, 興座宏一, 奥西智哉, 松井崇晃, 石崎和彦, 吉井洋一, 大坪研一, 糯加工品における糯米の品種判別および異種穀類の混入検出技術の開発, 日本食品科学工学会誌, **78**, 984-993 (2004).
- 8) Inukai, T., Sako, A., Hirano, H. and Sano, Y., Analysis of intragenic recombination at *wx* in rice: Correlation between the molecular and genetic maps within the locus. *Genome*, **43**, 589-596 (2000).
- 9) Wanchana, S., Toojinda, T., Tragoonrungs, S. and Vanavichit, A., Duplicated coding sequence in the *waxy* allele of tropical glutinous rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*, **165**, 1193-1199 (2003).
- 10) Hori, Y., Fujimoto, R., Sato, Y. and Nishio, T., A novel *wx* mutation caused by insertion of a retrotransposon-like sequence in a glutinous cultivar of rice (*Oryza sativa*). *Theor. Appl. Genet.*, **115**, 217-224 (2007).
- 11) 岸根雅宏, 奥西智哉, DNA マーカーによる糯米検出法, 日本食品科学工学会誌, **58**, 26-29 (2011).
- 12) 藤田由美子, 村上恭子, 原口浩幸, 市販キットを用いたコメ加工食品からの DNA 抽出法の比較, 日本食品科学工学会誌, **59**, 414-421 (2012).
- 13) Sato, H., Suzuki, Y., Sakai, M. and Imbe, T., Molecular Characterization of *Wx-mq*, a nonel mutant gene for low-amylose content in endosperm of rice (*Oryza sativa* L.). *Breed. Sci.*, **52**, 131-135 (2002).
- 14) Sato, H., Endo, T., Shiokai, S., Nishio, T. and Yamaguchi, M., Identification of 205 current rice cultivar in Japan by dot-blot-SNP analysis. *Breed. Sci.*, **60**, 447-453 (2010).

(平成 25 年 4 月 26 日受付, 平成 25 年 7 月 24 日受理)