

mPing 挿入多型を利用した「えみほころ」の識別と

異品種混入の検出技術の検討

小山浩由*・宗方淳**

Identification of rice cultivar ‘Emihokoro’ using *mPing* insertion polymorphisms and Investigation of methods to detect contamination of different cultivars

Hiroyoshi KOYAMA, Jun MUNAKATA

要 約 埼玉県育成の水稻新品種「えみほころ」と県内主要品種を識別可能な DNA マーカーの選定および異品種混入を定量的に検出する技術を検討した。*mPing* 挿入多型を判別する DNA マーカーを用いて解析した結果、No.34 と No.64 の組合せにより「えみほころ」と埼玉県主要品種・系統を識別することが可能であった。このマーカーを対象として、異品種混入を検出するためのプライマーセットを設計し、玄米混合試料を用いて検証した結果、0.5%程度の割合まで検出することが可能であった。また、内在性遺伝子を補正に用いる手法を用いることで、混入割合の定量も可能になると考えられた。本試験で開発した手法は低い混入割合まで検出できるため、種子中の異品種の検出に有用な技術であると考えられる。

埼玉県では高温登熟耐性を持つ水稻新品種として「えみほころ」が育成され（大岡ら，2023），2024 年 3 月 31 日時点で「埼玉県主要農作物種子条例」に基づき認定品種に採用されている。本県ではこの条例に基づき，認定品種を含む水稻奨励品種等の優良種子を生産，供給している。このような種子生産では，一般的に原品種と形態的，生態的に異なる株の除去により種子の純度を維持しているが，これらの差異が小さい異品種の判別は困難であるため，DNA マーカー等を用いた確認技術の開発が重要となる。このような技術を活用して種子中の異品種混入程度を明らかにできれば，混種の発生時期や原因の絞り込みが可能となり得

る。

水稻品種を識別する技術として，単純反復配列（SSR）や一塩基多型（SNP），挿入欠失（InDel）など様々な遺伝的多型を DNA マーカーとして利用する手法がある（橋本ら，2004，江嶋ら，2007，小原ら，2007，森谷ら，2009，癸生川ら，2013，渡邊ら，2015，両角ら，2018，橋口・藤川，2021，村上ら，2022，渡辺ら，2024）。各育成機関では知的財産権の保護等を目的として品種識別のための DNA マーカーセットの開発や選定が行われており，一部の先行研究では混入試料中の異品種検出についても検討されている。著者らも *mPing* 挿入多型判別マーカーを利用して埼玉県育成水稻

*遺伝子情報活用担当，**遺伝子情報活用担当（現 加須農林振興センター）

品種の「むさしの 27 号」を識別する技術および異品種の混入を検出する技術を開発した (小山・宗方, 2023). 本報では, 埼玉県の新たな育成新品種である「えみほころ」を対象として, *mPing* 挿入多型判別マーカーを利用した識別技術および種子中の異品種混入を検出する手法を開発したので報告する.

本試験の実施にあたり, 試料の分譲をいただいた有限会社但木米店に深謝の意を表する.

材料および方法

1 「えみほころ」品種識別マーカーの選定

(1) 供試品種

埼玉県育成品種・系統である「えみほころ」, 「彩のかがやき」, 「彩のみり」, 「彩のほほえみ」, 「彩のきずな」, 「むさしの 26 号」, 「むさしの 27 号」, 「むさしの 29 号」, 「むさしの 33 号」, 「さけ武蔵」および「へいせいもち」と, 他県や民間育成品種である「コシヒカリ」, 「あきたこまち」, 「ひとめぼれ」, 「日本晴」, 「朝の光」, 「あかね空」, 「キヌヒカリ」, 「新生夢ごこち」および「峰の雪もち」の合計 20 種類の種子を供試した.

(2) *mPing* 挿入多型の判別

始めに岸根・奥西 (2014) の *mPing* 挿入多型判別マーカー 224 種類について, 「えみほころ」の多型を調査した. 「えみほころ」と岸根・奥西 (2014) で供試された品種の多型を比較し, 「えみほころ」識別に有効と考えられるマーカーを選定した. 選定したマーカーについて, 「えみほころ」を除く前述の品種・系統の多型を解析し, 「えみほころ」との識別が可能か検証した.

玄米からの DNA 抽出, PCR, *mPing* 挿入多型判別マーカーにおける遺伝子型の判定は小山・宗方 (2023) に従った. すなわち, 玄米をミルサー IFM-800 (岩谷産業) で粉碎し, GM Quiker2 (ニッポンジーン) を用いて DNA を抽出した後, GoTaq Green Master Mix (プロメガ) を用いて PCR を行った. PCR には岸根・奥西 (2014) 付表の各プライマーセットを供試した. アガロースゲル電気泳動により 100-500bp の増幅産物が認められた場合を *mPing* 「挿入なし」, 500-900bp

の増幅産物が認められた場合を *mPing* 「挿入あり」と判定した.

2 異品種混入の検出技術の開発

(1) 供試品種

識別マーカーとして選抜した No.34 と No.64 において *mPing* 挿入がある「えみほころ」と, *mPing* 挿入がない「彩のほほえみ」を供試した.

(2) リアルタイム PCR 条件

リアルタイム PCR 反応液の組成は 1ng/ μ L DNA 溶液 3.00 μ L, Nuclease Free Water 2.22 μ L, 5 μ M フォワードプライマー 0.75 μ L, 5 μ M リバープライマー 0.75 μ L, 20 $\times$ EvaGreen (Biotium) 0.75 μ L, 50 $\times$ ROX reference dye (TOYOBO) 0.03 μ L, AmpliTaq Gold 360 Master Mix (Thermo Fisher Scientific) 7.50 μ L の計 15 μ L とした. 反応は 95 $^{\circ}$ C 10 分の後, 95 $^{\circ}$ C 15 秒, 60 $^{\circ}$ C 30 秒を 40 サイクル繰返す条件で実施した. 検出および解析には Stratagene Mx3000P (Agilent Tech.) を用いた.

(3) 異品種混入の検出プライマーセットの開発

No.34 と No.64 において *mPing* 挿入の無い品種を特異的に検出するプライマーセットを設計した (表 1). 設計条件は, フォワードまたはリバーすいずれかのプライマーが *mPing* 挿入予想箇所をまたぎ, かつ, 増幅産物長が 70-200bp, Multiple Primer Analyzer (Thermo Fisher Scientific) による確認で Self Dimer や Cross Primer Dimer が無いこととした. 参照配列には「日本晴」のゲノム配列 (IRGSP-1.0) を用いた. これらのプライマーセットを用い, 「えみほころ」および「彩のほほえみ」の DNA を鋳型として, リアルタイム PCR を実施した. 選定したプライマーセットの増幅領域について, イネアノテーションプロジェクトデータベース RAP-DB で提供されているゲノムブラウザ TASUKE+ (<https://agrigenome.dna.affrc.go.jp/tasuke/ricegenomes/>) を用いてイネ 685 品種・系統における保存性を調査した.

(4) 玄米混合試料を用いた検出限界の検討

本調査には「えみほころ」および「彩のほほえ

表 1 供試プライマー

対象領域	プライマー名	プライマー塩基配列 (5'-3')	引用元
No. 34	F	TGCTCCATCGCTTCGTATCC	岸根・奥西 (2014)
	qF01	TCCCGTGGATTACTCATGTTT	本試験で設計
	qF02	CGGAGGGGAGTAT_TATTGTAGGC	〃
	qF03	AATGTGAACGGAGGGGAGTAT_TAT	〃
	qF04	GTGAACGGAGGGGAGTAT_TATTG	〃
	R	CCTCGCTGACCATTGCCTAC	岸根・奥西 (2014)
	qR01	TGCCTACAATA_ATACTCCCCTCC	本試験で設計
	qR02	CATTGCCTACAATA_ATACTCCCCT	〃
	qR03	ATTAGGTCGCCACGTAAGGG	〃
	qR04	TTTCGCGGGGAGACGGTAAAT	〃
	qR05	ATTGCCTTTGTCCGGGTTTC	〃
	qR06	TATAACGGCCGGTGCTTACG	〃
	qR07	CCGCTTTGAATGAATGCCGT	〃
	qR08	CTTAAGCACCATTCCCGCCA	〃
	qR09	CTGACCATTGCCTACAATA_ATACTC	〃
No. 64	F	GCATCTCGTCTCGTTCCATC	岸根・奥西 (2014)
	qF01	TGATGCGAGGTCCAACGAAA	本試験で設計
	qF02	GGTAGAGGCTCTCTCGAGGT	〃
	qF03	AGTATAGCTTA_TTAGGATCCTCCC	〃
	qF04	AGCTTA_TTAGGATCCTCCCGT	〃
	R	AAACCATACATTTCAGCCATAGC	岸根・奥西 (2014)
	qR01	CGGGAGGATCCTAA_TAAGCTATAC	本試験で設計
	qR02	AGAACGGGAGGATCCTAA_TAAGC	〃
	qR03	GCCATAGCTGCAAGACAAGC	〃
	qR04	GAACGGGAGGATCCTAA_TAAGCT	〃
	qR05	GAAGAACGGGAGGATCCTAA_TAA	〃
PLD2	3959F	GCTTAGGGAACAGGAAGTAAAGTT	厚生労働省 (2012)
	4038R	CTTAGCATAGTCTGTGCCATCCA	〃

網掛けは *mPing* 挿入予想箇所にまたがるプライマーを表す。

〃は *mPing* 挿入予想箇所を表す。

み」と、「えみほころ」に対し「彩のほほえみ」を重量比 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10%相当の割合で混合した玄米試料を供試した。重量比 0.5~10%の混合試料は玄米の状態で秤量後に混合し、ミルサーで粉碎した。重量比 0.1%の試料は両品種の玄米をそれぞれミルサーで粉碎した粉末を秤量後に混合した。混合試料は割合別に 3~5 反復を作製した。各試料から GM Quiker2 を用いて DNA を抽出し、濃度を 1ng/μL に調製した。各 DNA 試料を鋳型としてリアルタイム PCR を 3 反復行った。プライマーセットは、No.34 では No.34-qF04 と No.34-qR03, No.64 では No.64-qF02 と No.64-qR05 を供試した (表 1)。

(5) 内在性遺伝子を用いた補正による異品種混入割合の推定

内在性遺伝子を異品種混入割合の補正に用いる

推定手法 (以下, EG 補正法) は, トウモロコシやダイズにおいて遺伝子組換え個体の混入量を定量的に調査する方法として開発されており, 分析試料中の対象作物に共通する内在性遺伝子配列と検出対象個体のみが有する遺伝子組換え配列のコピー数から推定混入割合を算出する手法である (Kuribara *et al.*, 2002, Mano *et al.*, 2013)。本試験では内在性遺伝子として PCR 効率が高く, 品種間でのばらつきが小さいとされる PLD2 遺伝子領域を使用した (Takabatake *et al.*, 2015)。また, 遺伝子組換え領域の代替配列として「えみほころ」以外の異品種が有する *mPing* 挿入なしの DNA 領域を用いて試験を行った。

供試試料中の DNA コピー数解析用の検量線の作製は以下のとおり行った。まず, 表 1 に示した No.34-qF04 と No.34-qR03, No.64-qF02 と No.64-qR05, PLD3959F と PLD4038R の各プラ

イマーセットを用いて「彩のほほえみ」DNA を鋳型に PCR を行った。これらの増幅産物を ISO SPIN PCR Product (ニッポンジーン) で精製し、その濃度から各 DNA を 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 copies/ μ L に調製した。調製した各 DNA 試料を鋳型としてリアルタイム PCR を 4 反復行い、得られたデータをもとに検量線を作製した。

PLD2 遺伝子領域については、2-(4)で供試した「えみほころ」および「彩のほほえみ」と玄米混合試料 DNA 中のコピー数を算出するため、それらを鋳型に PLD3959F と PLD4038R をプライマーセットとしたリアルタイム PCR を 3 反復行った。

異品種の推定含有割合 (%) は Kuribara *et al.* (2002) および Mano *et al.* (2013) の計算式を参考に算出した。まず、検量線を用いて「えみほころ」、「彩のほほえみ」および混合試料の鋳型 DNA 中の各配列のコピー数を求めた。そして、以下の計算式により混合試料中の異品種の推定含有割合 (%) を算出した。なお、本試験では Kuribara *et al.* (2002) の計算式における “Copies of endogenous sequence in the DNA extracted from GM seeds (遺伝子組換え作物種子の内在性遺伝子のコピー数)” について、品種間のばらつきをより抑えるために “「えみほころ」と「彩のほほえみ」両品種 DNA の PLD2 配列の平均コピー数” とした。

異品種の推定混合割合 (%) =

$$\frac{(\text{混合試料のマーカー配列のコピー数}) \times (\text{両品種 DNA の PLD2 配列の平均コピー数})}{(\text{混合試料の PLD2 配列のコピー数}) \times (\text{「彩のほほえみ」DNA のマーカー配列のコピー数})} \times 100$$

結果および考察

1 「えみほころ」品種識別マーカーの選定

「えみほころ」の多型を調査した結果、224 マーカーのうち 209 マーカーで「挿入あり」または「挿入なし」の多型を決定した (データ省略)。これらと岸根・奥西 (2014) で供試された品種の多型を比較した結果、「えみほころ」のみで「挿入あり」または「挿入なし」となるマーカーは確認されなかった。「えみほころ」と同様の多型を示す品種が最も少ないマーカーは No.34 で、「えみほころ」の他「キヌヒカリ」の 1 品種のみ「挿入あり」

の多型を示した。No.34 に次ぐマーカーは No.64 であり、「えみほころ」の他「あきたこまち」「はえぬき」「こしいぶき」「つがるロマン」「ササニシキ」「こがねもち」の 6 品種が「挿入あり」の多型を示した。岸根・奥西 (2014) は 2012 年における農産物検査数量が概ね 2 万トン以上である全国の 33 品種を供試しており、これらの品種とも識別可能であると考えられる No.34 と No.64 の組合せを「えみほころ」識別マーカーとして選定した。

県有成品種・系統および埼玉県内で栽培される品種を含めた計 20 品種について No.34 と No.64 の 2 マーカーの多型を解析した結果、いずれのマーカーにおいても「挿入あり」の多型を示した品種は「えみほころ」のみであった (図 1)。これらのことから、選定したマーカーを組合せて検定すれば「えみほころ」と他の品種・系統を識別可能であることが確認された。

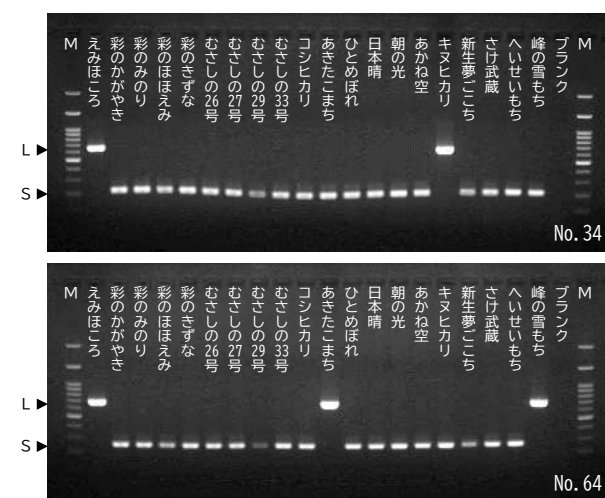


図 1 *mPing* 挿入多型判別マーカー No. 34 および No. 64 における 20 品種・系統の多型

M : 100bpDNA ラダーマーカー

図左側の矢印は各マーカーの多型別の増幅産物長の位置を表す。(L : *mPing* 挿入あり, S : *mPing* 挿入なし)

2 異品種混入の検出プライマーセットの開発および選定

No.34 ではフォワードプライマー 4 種類とリバースプライマー 9 種類により、計 19 組合せ、No.64 では各 5 種類により、計 13 組合せのプライマーセットを設計した (表 1, 2)。これらを用いたり

表2 定量検出プライマーセットの有用性検証

No. 34	プライマー組合せ		リアルタイム PCR 検出			No. 64	プライマー組合せ		リアルタイム PCR 検出		
	Fw	Rv	えみほころ	彩のほほえみ	Ct 値*		Fw	Rv	えみほころ	彩のほほえみ	Ct 値*
1	qF01	qR01	+	+	27.27	1	F	qR01	+	+	27.67
2	qF01	qR02	+	+	27.11	2	qF01	qR01	+	+	27.80
3	qF01	qR09	+	+	28.99	3	qF01	qR02	+	+	28.29
4	qF02	qR03	+	+	27.58	4	qF02	qR01	+	+	27.65
5	qF02	qR04	+	+	27.57	5	qF02	qR02	+	+	27.89
6	qF02	qR05	+	+	27.18	6	qF03	qR03	+	+	28.28
7	qF02	qR06	+	+	28.49	7	qF04	qR03	+	+	27.52
8	qF02	qR07	+	+	27.18	8	F	qR04	+	+	28.65
9	qF02	qR08	+	+	32.73	9	qF01	qR04	+	+	29.78
10	qF03	qR03	-	+	30.04	10	qF02	qR04	+	+	29.50
11	qF03	qR04	-	+	30.38	11	F	qR05	-	+	29.24
12	qF03	qR05	-	+	30.60	12	qF01	qR05	-	+	30.61
13	qF03	qR06	-	+	32.15	13	qF02	qR05	-	+	29.20
14	qF03	qR07	-	+	31.51						
15	qF04	qR03	-	+	29.04						
16	qF04	qR04	-	+	29.79						
17	qF04	qR05	-	+	29.76						
18	qF04	qR06	-	+	31.26						
19	qF04	qR07	-	+	30.13						

表中の記号はリアルタイム PCR による増幅の有無を表す。（+：増幅あり，-：増幅なし）

網掛けは *mPing* 挿入予想箇所にもたがるプライマーを表す。

*：「彩のほほえみ」DNA 試料の測定で得られた Ct 値を表す。

リアルタイム PCR の結果、想定された「えみほころ」で検出なし、「彩のほほえみ」で検出ありを示すプライマーセットは、No.34で10組合せ、No.64で3組合せであった（表2）。供試プライマーのうち *mPing* 挿入予想箇所以降の3'末端の塩基長が概ね5bp以下の場合に「えみほころ」で検出なし、6bp以上の場合に検出ありとなった。両マーカーの *mPing* 挿入の隣接配列はプライマー設計に用いた「日本晴」の配列と相同性が高いとされる（岸根・奥西，2014）。このことから、*mPing* 挿入予想箇所以降の3'末端が6bp以上のプライマーは3'末端のみで挿入の隣接配列と結合を起こし、「えみほころ」においても非特異的に増幅したと考えられる。

各プライマーセットのうち、「彩のほほえみ」DNA 試料における Ct 値が最小となる組合せは No.34-15（qF04/qR03）と No.64-13（qF02/qR05）であった。いずれの反応においても鋳型とした DNA 量は同じであるため、これらのセットは増幅効率および検出感度が高いと推察されることから、異品種混入の定量検出プライマーセットとして選定した。

選定したプライマーセットの増幅領域を TASUKE+により解析した結果、比較品種・系統のほとんどで増幅効率に影響するプライマーの結合領域の変異は確認されなかった（データ省略）。そのため、これらの領域は保存性が高いと考えられ、「彩のほほえみ」以外の同様の遺伝子型を示す品種・系統の検出においても選定したプライマーセットは適用可能であると推察される。ただし、本試験で対象とした以外の品種・系統で異なる変異を持つ場合の適用性は不明である。

3 開発した検出手法の検出限界の検討

「えみほころ」に異品種が混入した場合を想定した玄米混合試料を用いてリアルタイム PCR を行った結果、選定したプライマーセット No.34-15 および No.64-13 とともに「彩のほほえみ」の混入量が0.5%以上の試料全てにおいて増幅が確認された（表3）。同混入量が0.1%の試料においては、No.34-15では9反復中6反復、No.64-13では9反復中5反復で増幅が確認された。これらのことから、本検出方法による異品種の検出限界は0.1～0.5%程度であると考えられた。

表3 玄米混合試料を用いた検出，定量限界の調査

混合割合 (w/w)	(実混入割合)	No. 34	No. 64
0.1%	(0.10 ~ 0.11 %)	6 / 9	5 / 9
0.5%	(0.54 ~ 0.68 %)	12 / 12	12 / 12
1%	(1.00 ~ 1.14 %)	15 / 15	15 / 15
5%	(5.26 ~ 5.47 %)	9 / 9	9 / 9
10%	(10.43 ~ 10.88 %)	9 / 9	9 / 9

表中の数字は「検出数 / PCR サンプル反復数」を表す。

水稻における異品種混入検出技術については，品種判別マーカー等を利用した様々な報告があり，その検出限界割合は 0.2~20%程度である（橋本ら，2004，江嶋ら，2007，小原ら，2007，癸生川ら，2013，田淵ら，2016，橋口・藤川，2021）．一方，著者らが「むさしの 27 号」で実施した PCR 増幅産物のアガロースゲル電気泳動による異品種検出法では 400 粒中に 1 粒（0.25%）の玄米混合試料までの検出が確認されており（小山・宗方，2023），本手法も同程度の感度であることが確認された．以上のことから，本報におけるリアルタイム PCR を用いる手法は検出限界割合が低いことから，異品種混入の検査において有用であると推察される．

日本国内の主要分析機関における異品種の混入検査は，一般的に定性分析では一定量の検体を 1 試料として行うのに対し，定量分析では検体から無作為に採取した 25 粒の試料を 1 粒ごとに検定を行っている．田淵ら（2016）は 5%の危険率（見逃し率）で 1 粒以上の異品種を検出するために必

要な検査粒数は，混入割合が 5%の場合は 59 粒，同 1%では 299 粒，同 0.1%では 2995 粒であると試算している．種子生産においては高い水準での純度維持が求められるが，この水準が高くなるほど必要な検査粒数も増加する．本報で開発した手法は混合割合 0.5%の検出が可能であることから，上記に示した試算の 3000 粒を検査する場合，200 粒バルクで 15 試料の分析によって検査が可能である．

4 EG 補正法による異品種混入割合の推定

検量線を図 2 に，EG 補正法により算出した推定値の結果を図 3 に示した．算出した混入割合の推定値は，No.34 では実際の混入割合と概ね一致し，No.64 では比較的高い値を示した．No.64 の推定値が実際の混入割合より高くなった理由としては，コピー数の解析では PCR の鋳型に精製した PCR 産物を用いたが，測定試料では抽出した total DNA を使用したことから，対象領域以外の配列と No.64-13 のプライマーセットが干渉して

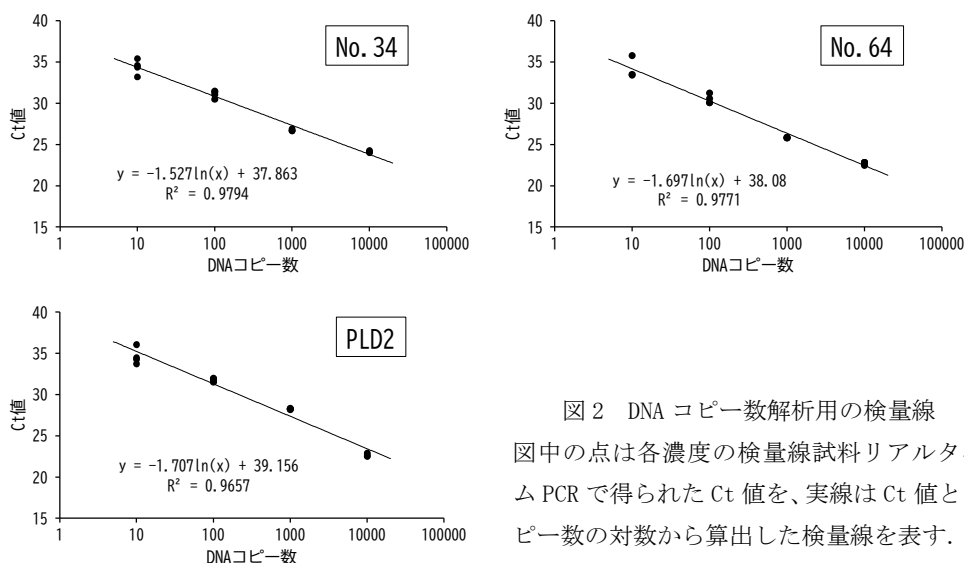


図2 DNA コピー数解析用の検量線

図中の点は各濃度の検量線試料リアルタイム PCR で得られた Ct 値を、実線は Ct 値とコピー数の対数から算出した検量線を表す。

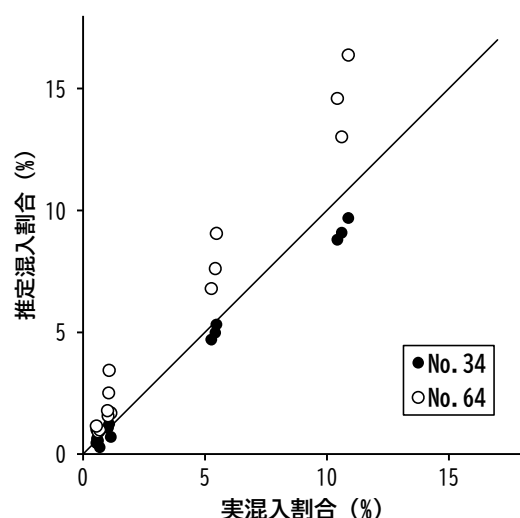


図3 EG補正法による異品種混入割合の推定
図中の点は推定された混入割合の値を、実線は理論値
(実混入割合＝推定混入割合)を表す。

増幅効率が落ちる等の影響が要因として推察される。今後、No.64の推定値の精度をより高めるためには、両者の増幅効率が同程度となるようにPCR条件を検討するなどの改善が課題となる。

引用文献

- 江嶋亜祐子・和田卓也・坪根正雄・尾形武文 (2007)：米の品種識別のためのSSRマーカーの選抜と効率的な品種識別システムの構築。福岡農総試研報 26, 19-23.
- 橋口太亮・藤川和博 (2021)：DNAマーカーによる鹿児島県水稻奨励品種・適品種の識別技術。日本作物学会九州支部会報 87, 1-5.
- 橋本憲明・大源正明・石村尚子・高原美規・山元皓二 (2004)：PCR法を利用した新潟県内で栽培・流通する水稻品種の判別。北陸作物学会報 39, 15-17.
- 癸生川真也・中澤佳子・天谷正行・生井潔 (2013)：ポストラベル法を用いた栃木県水稻奨励品種を識別するSSRマーカーセットの開発。栃木農試研報 71, 55-61.
- 岸根雅宏・奥西智哉 (2014)：日本のイネ主要品種における*mPing*挿入多型。育種学研究 16(4), 139-146.

厚生労働省 (2012)：安全性未審査の中国産米および米加工品の検知法について

https://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/other/2012/dl/120528_1.pdf

小山浩由・宗方淳 (2023)：*mPing*挿入多型を利用した「むさしの27号」の判別と異品種混入検出手法の開発。埼玉農技研研報 22, 49-57.

Kuribara, H., Shindo, Y., Matsuoka, T., Takubo, K., Futo, S., Aoki, N., Hirao, T., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M. and Hino, A. (2002)：Novel reference molecules for quantitation of genetically modified maize and soybean. Journal of AOAC International 85(5), 1077-1089.

Mano, J., Masubuchi, T., Hatano, S., Futo, S., Koiwa, T., Minegishi, Y., Noguchi, A., Kondo, K., Akiyama, H., Teshima, R., Kurashima, T., Takabatake, R. and Kitta, K. (2013)：Development and validation of event-specific quantitative PCR method for genetically modified maize LY038. Food Hygiene and Safety Science 54(1), 25-30.

森谷真紀子・岸根雅宏・鈴木啓太郎・結城和博 (2009)：Insertion/Deletionマーカーを用いた山形県水稻奨励品種の判別。日本作物学会東北支部会報 52, 25-26.

両角悠作・小林麻子・富田桂 (2018)：福井県的水稻奨励品種を判別するSSRマーカーセットの改良。北陸作物学会報 53, 50-52.

村上恭子・河原望遥・田淵宏朗 (2022)：香川県水稻奨励品種等の品種判別法の開発。香川農試研報 73, 15-20.

小原麻里・鎌形民子・大越一雄 (2007)：千葉県水稻奨励品種のDNAによる識別方法。千葉農総研研報 6, 117-124.

大岡直人・大戸敦也・武井由美子・荒川誠・矢ヶ崎健治・加藤徹 (2023)：水稻新品種「えみほころ」の育成。埼玉農技研研報 22, 1-12.

田淵宏朗・橋本憲明・林敬子・芦川育夫・吉田均 (2016)：新潟県水稻16品種の混入・交雑検定用DNAネガマーカーセットによるバルク検定。中央農研研報 26, 39-55.

Takabatake, R., Onishi, M., Futo, S., Minegishi,

Y., Noguchi, A., Nakamura, K., Kondo, K., Teshima, R., Mano, J. and Kitta, K. (2015) : Comparison of the specificity, stability, and PCR efficiency of six rice endogenous sequences for detection analyses of genetically modified rice. Food Control 50, 949-955.

渡邊洋一・佐々木園子・佐藤弘一・佐藤誠(2015) : 福島県の水稲育成品種および奨励品種を識別する SSR マーカーセットの開発. 日本作物学会東北支部会報 58, 21-22.

渡辺脩斗・小林麻子・中岡史裕・茶谷弦輝(2024) : 福井県の水稲奨励品種を判別する SSR マーカーセットの再改良. 北陸作物学会報 59, 20-23.