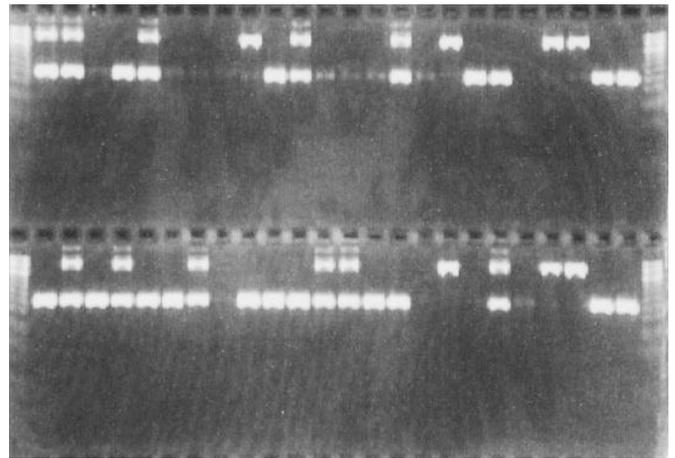


「コシヒカリ環1号」の判別マーカーによる
**ハイスループットなDNAマーカー選抜
実験プロトコール ver2.0**

- DNA抽出から電気泳動による判別まで -



**農研機構
農業環境研究部門
(2026年3月)**

はじめに

本マニュアルは、2015年3月に発行した、ハイスループットなDNAマーカー選抜実験プロトコール ver1.0の改訂版です。水稻品種「コシヒカリ環1号」¹⁾由来のカドミウム吸収抑制遺伝子 (*OsNRAMP5* ²⁾ の一塩基欠損型) を持つ品種と持たない品種をDNAマーカーで判別する方法を記したものです。

本DNAマーカーは、主にカドミウム低吸収性の新たな水稻品種を作出する目的において、活用できます。交配によって得られた多数の個体をマーカー選抜し、カドミウム吸収抑制遺伝子の有無を効率的に調査できるように、ハイスループットな方法を載せました。

また、生産・流通・小売りの段階においてカドミウム低吸収性品種を判別する目的で、コメサンプルからDNAを抽出し、DNAマーカーで調べる方法を新たに参考情報として掲載しました。本マニュアルを参考に、利用者の施設や目的に合わせて方法を改良することも可能です。

なお、本遺伝資源の利用に関しては、内容に応じて（育種目的か、品種判別目的か）農研機構との共同研究契約や特許実施許諾契約が必要です。詳細については、19ページに掲載しているお問い合わせフォームよりご連絡ください。

1) コシヒカリ環1号：イオンビーム照射によって作出した、低カドミウムのコシヒカリ変異体。

2015年に品種登録（登録番号 第24338号）

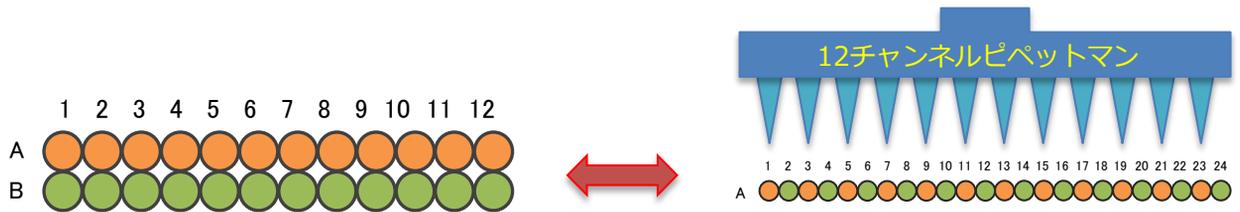
2) *OsNRAMP5*：重金属（カドミウム、マンガン）を輸送する膜タンパク質をコードする遺伝子。

目次

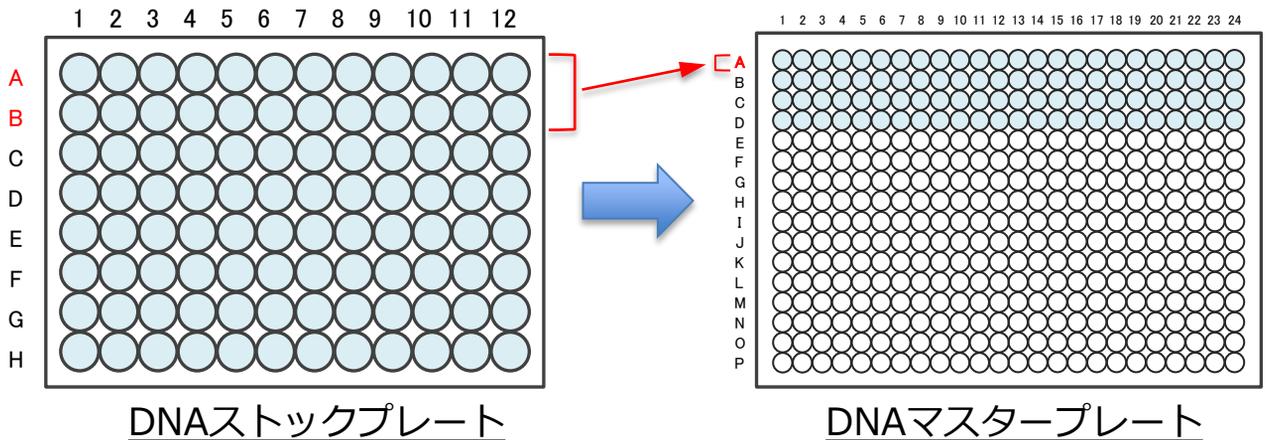
	ページ
1. 育苗計画	1
2. 個体選抜のためのDNA抽出（簡易法）	3
3. PCR	7
4. 電気泳動	10
5. 参考情報	
参考1：粳、玄米、精米からのDNA抽出と判別法	13
参考2：制限酵素を使うCAPSマーカーで判別する方法	16
参考3：市販の品種判別キットを用いた場合	18
6. 重要事項	19

3) サンプルDNAマスタープレートの作成

96ウェルプレートの2列が384ウェルプレートの1列に移る。

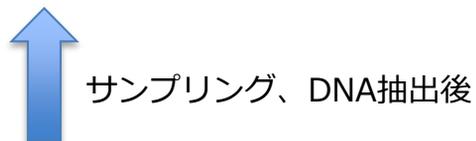


例えば、96プレートで列Aにサンプルの奇数番、列Bに偶数番を配置しておくと、384プレートの列Aには1～最大24サンプルまで順に配置される。

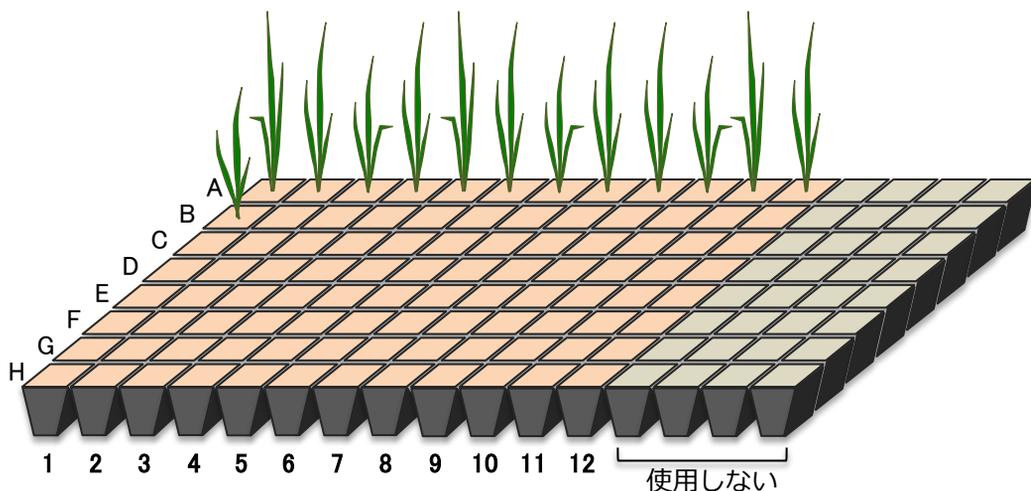


96-ウェル PCRプレート (DNA抽出用) 1枚分のサンプルは、384-ウェルプレートの4列分にまとめられる。

4) 育苗とサンプリング



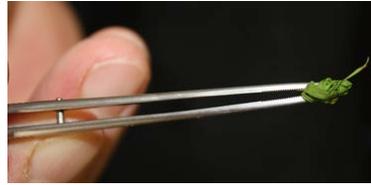
8 x 12列 (96ウェル) の範囲で播種・育苗し、マス目の配置通りに最新葉の先端約2 cmをサンプリングする。



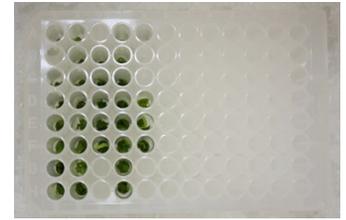
2. 個体選抜のためのDNA抽出（簡易法）

1) サンプリング

第3葉身展開期以降の新展開葉を先端から2 cm程度を切り取り、葉を折りたたみ深型96ウェルプレート（奥に入れる）。温室でサンプリングに時間がかかる場合は、葉を入れ終わったプレートをクーラーボックス内で一時的に氷冷しておくが良い。



折り畳んだ葉身をピンセットで摘み、ウェルの奥に入れる



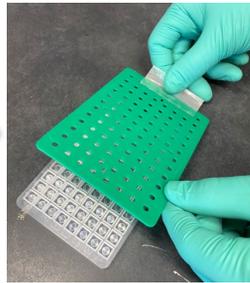
育苗トレイと同じ配置に入れる

2) 破碎と抽出

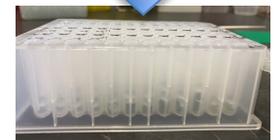
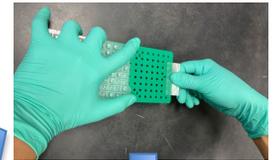
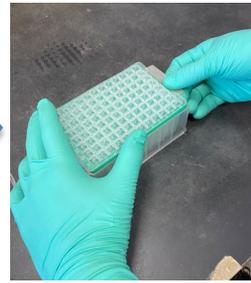
4 mmのガラス球を各ウェルに2個ずつ入れる。（破碎機や遠心機でのバランスのために全てのウェルにガラス球を入れる。）



角形96穴用プレートマットの凹みを利用してガラス球を掬い取る



プラ板（緑）を当ててプレートマットを上下反転させ、そのまま深型96穴プレート上にセットする



プラ板のみを引き抜き、ガラス球を落とす。同じ操作を繰り返して2球入れる

TPEバッファーを各ウェルに300 μ Lずつ加え、シリコンマットでフタをする。シリコンマットがしっかりシールされているかを十分に確認する。ビーズ破碎機で1500 rpmで30秒（シェイクマスターネオの場合）の振とう破碎を行った後、一度取出して抽出バッファーが緑色になっている（組織が十分に破碎されている）ことを確認する。色が薄く葉が残っている場合は繰り返し振とう破碎を行なう。



サンプルの有無にかかわらず、全てのウェルに抽出バッファーを入れる



麺棒などでシリコンマットをしっかり押しつけ、シールする

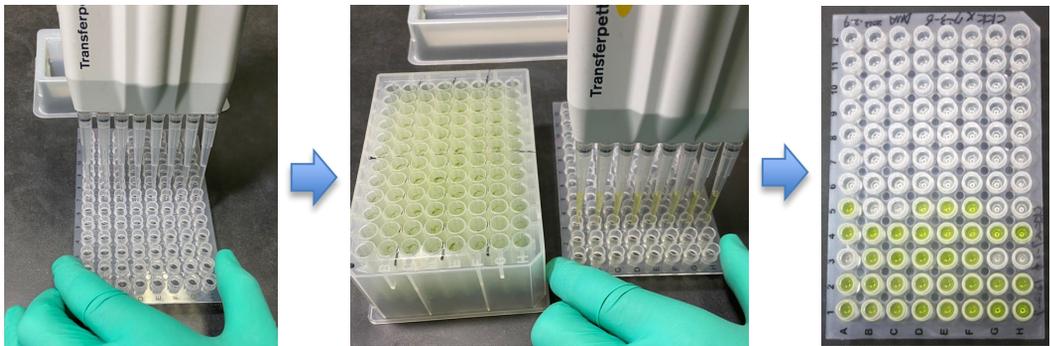


一様に破碎されていることを確認できたら、深型プレートをセットできる遠心分離器（4 $^{\circ}$ C, 1870 x g, 10 min）で残渣を沈殿させる。



3) エタノール沈殿

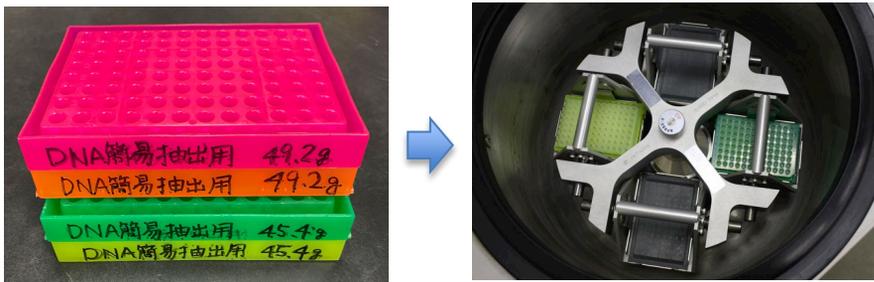
Chimney TopのPCRプレートにイソプロパノールを100 μ Lずつ分注したところに、破碎液上清100 μ Lを移し、ピペティングで混合する。



サンプルの有無にかかわらず、全てのウェルにイソプロパノールを分注した後、すべてのウェルの抽出バッファーを移す

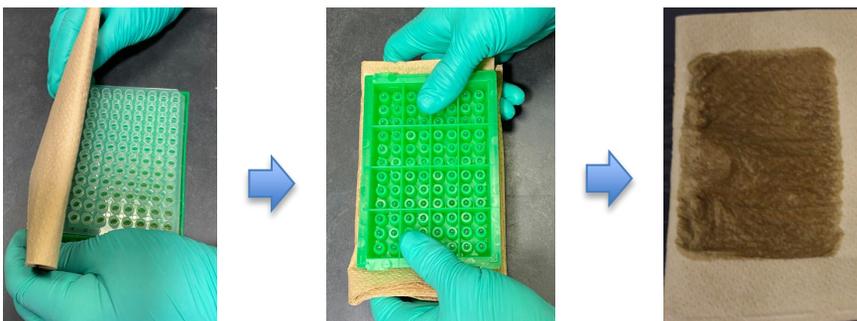
フタをしないまま96-ウェルチューブスタンドに乗せて、遠心分離器にセットする。4 $^{\circ}$ C, 1,870 x gで30分間遠心分離をかける。

(チューブスタンドは個体間重量差が大きいのので事前に測定し、重さが同等のものを確認しておく。)



ペアとなるチューブスタンドにPCRプレートをセットし、遠心分離器にセットする

遠心分離の後、プレートにキムタオルを乗せ上下反転してキムタオルに上清を吸わせる。再度、新しいキムタオルをプレートの上に置きそのまま逆さにして、さらに余分な上清を除く。

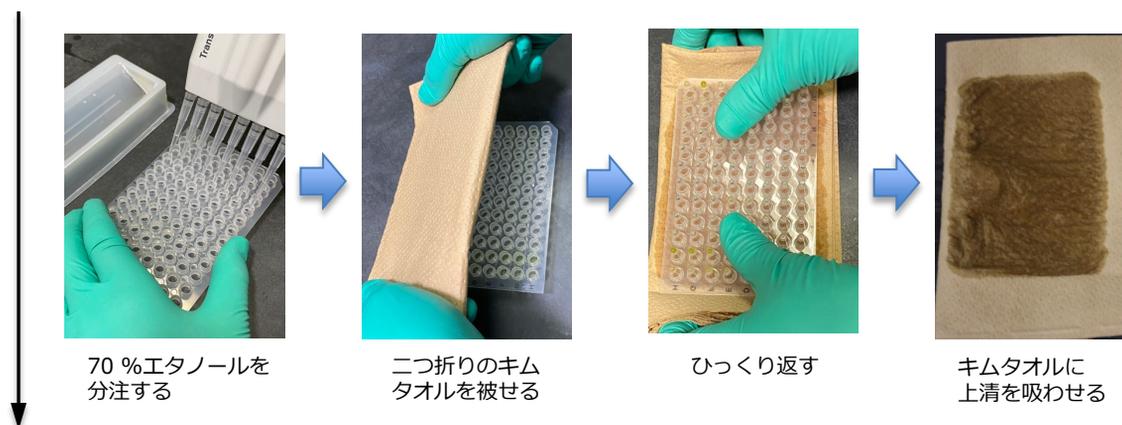


二つ折りにした
キムタオルを被せる

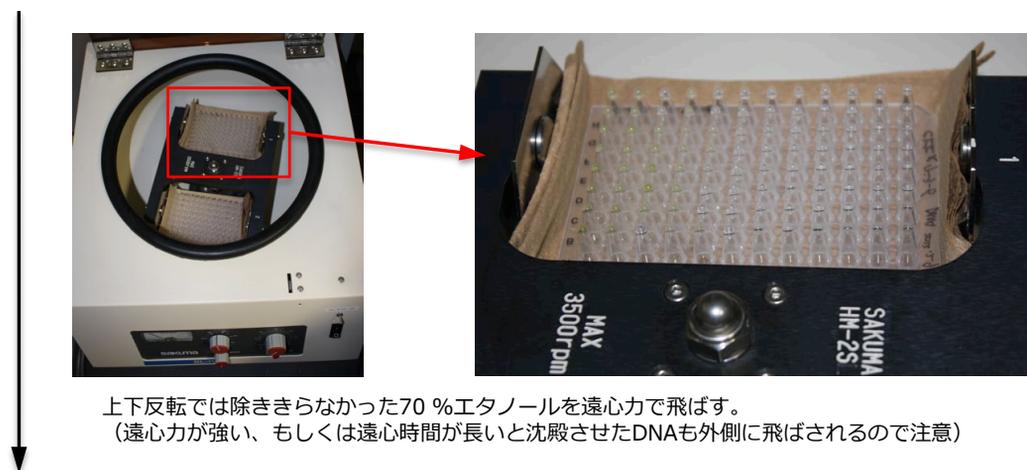
ひっくり返す

キムタオルに
上清を吸わせる

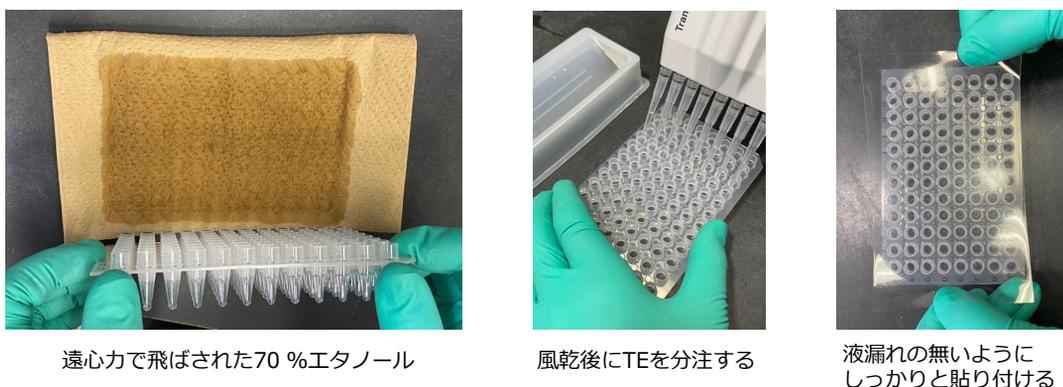
150 μ Lの70 %エタノールをプレート各ウェルに分注し沈殿物を洗う。70 %エタノール分注後、時間を置かずプレートの上にキムタオルを当てて上下反転して上清を除く。



新しいキムタオルの上にプレートを逆さに置き、スイング式の低速遠心分離器でフラッシュスピン（300 rpmに達したらストップ）をかけてウェル底に溜まった余分な70 %エタノールを除く。機械がない場合は手で振っても良い。



プレートを上向きに置き風乾させる。TE（RNaseを加えておくと良い）を100 μ L加え、沈殿したDNAを溶解させる。PCRプレートシールを貼り、サンプル名を記載後、4 $^{\circ}$ C（短期保存）もしくは-20 $^{\circ}$ C（長期保存）で保存する。



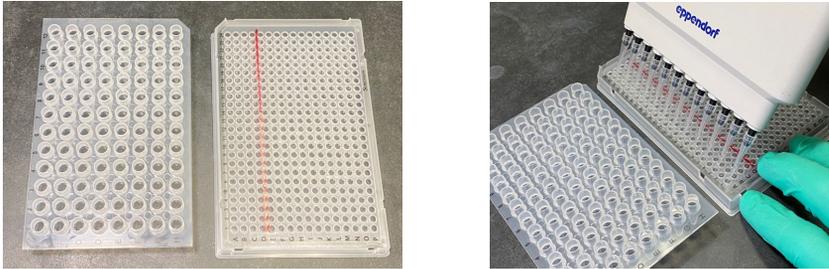
4) 実験に必要な装置、試薬類等

設備/装置	必要事項 (代替品の参考)
フレークアイス製氷機 (Hoshizaki)	
卓上型ビーズ式破碎装置 シェイクマスターネオ (BMS)	96穴深型プレートの振とう破碎に対応
himac CR20E スイングローターR3S (HITACHI)	1,800 x g 以上の遠心力
冷凍冷蔵庫	
ハンドリング	必要事項 (代替品の参考)
ステンレスハサミ	
ピンセット	
Matrix™ 1.0 mL Deepwell Storage Blocks (Thermo Scientific)	頑丈でチムニーウェル設計
Matrix 96 Well Cap Mat (Thermo Scientific)	液漏れしない
Chimney Top 96-well PCRプレート (Bmbio)	
アドヒシブ PCR シール (4titude)	粘着力が強い
96穴PCRチューブ用ラック	スイングローターバケットに収まるサイズ
キムタオル	
ピペッティングリザーバー	
麺棒 (またはキッチンラップの芯)	
試薬類	組成
DNA簡易抽出バッファー(TPE バッファー)	1 M KCl、0.1 M Tris-HCl (pH8.0)、10 mM EDTA (pH8.0)
イソプロパノール	
70 %エタノール	99.5 %エタノール : 滅菌済精製水 = 7 : 3 (w/w)
TE バッファー	10 mM Tris-HCl (pH8.0)、1 mM EDTA (pH8.0)

3. PCR

1) マスタープレートの作製 (384-ウェルプレートでPCRを行う場合)

96-ウェル プレートで調製したDNAサンプルを384-ウェル プレートに10 μLずつ移しマスタープレートを作成する。マスタープレートは4 °C (短期保存) もしくは-20 °C (長期保存) で保存する。

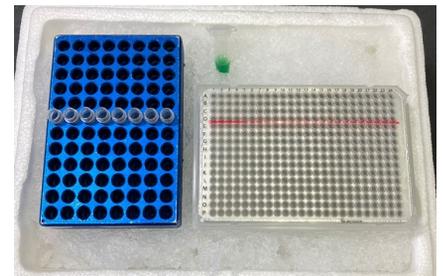


2) 反応液の調製

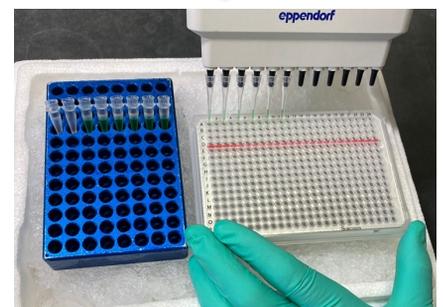
氷上でDye入りプレミックスPCR試薬とマーカー用PCRプライマーを混合し、PCRマスターミックスを調製する。
1サンプルあたりの反応液は5~10 μL。分注する際に多少のロスがあるためマスターミックスを多めに調製しておく。

例) 384サンプルの場合は400サンプル分、96サンプルの場合は100サンプル分を調製

PCRマスターミックス組成/サンプル	PCRプレート	
	384-ウェル	96-ウェル (参考) ※
x2 PCR試薬	2.5 μL	5.0 μL
10 μM Fwd primer	0.5 μL	1.0 μL
10 μM Rev primer1	0.25 μL	0.5 μL
10 μM Rev primer2	0.25 μL	0.5 μL
滅菌済精製水	1.5 μL	3.0 μL
Total	5.0 μL	10.0 μL



氷上でPCRマスターミックスを調製し、分注用の8連PCRチューブを用意する。



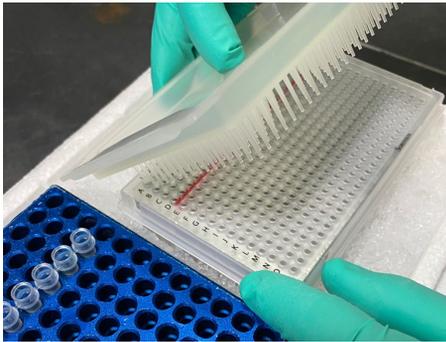
8連PCRチューブの6本にPCR反応液を分注し、そこからマルチチャンネルピペットマンで384-ウェルPCRプレートに分注する。

※96-ウェルでは口径が大きくなり、水分の蒸発量が384プレートの場合より多くなるので、最低でも10 μLの液量でPCRを行う。

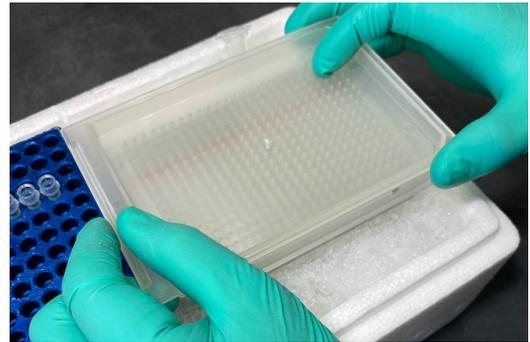
プライマー名	配列 (5' → 3')
Fwd primer (共通)	CCTGTACGAGAGCGGGTTC
Rev primer1 (一般品種用)	TTTATATTATTATTTATATTATTATTATATTCGAGGCTGAGGTTGGC
Rev primer2 (環1号用)	CACTCGAGGCTGAGGTTGCG

3) 鋳型 (サンプル) DNAを混和

384 ピンレプリケーターでマスタープレートからのサンプルDNAをPCRプレートに移し、よく混ぜる。



鋳型DNAはピン先に少しだけ付着する量で十分



レプリケーターを小刻みに上下に動かし鋳型DNAと反応液を良く混ぜる

卓上のプレート用小型遠心分離器によるフラッシュスピンドで反応液をプレートの底に落とし、シリコンマットのふたをする。



指圧である程度シール (仮止め) した後、サランラップの芯、麺棒などでマット全体を押し付ける。
(指圧だけでは、シーリングにムラでき、PCR中に反応液が蒸発してしまうことがある。)

4) PCR

サーマルサイクラーのヒーティングブロックが70 °C以上になってからサンプルプレートをセットする。

PCR条件				
		サイクル数	温度	時間
Step 1	初期熱変性 PCR酵素活性化	1	95 °C	1 min 45 sec.
	熱変性	35	95 °C	15 sec
アニーリング	58 °C		15 sec	
伸長反応	72 °C		3 sec ※1	
Step 3	最終伸長反応	1	72 °C	10 sec
	保冷		15 °C	∞

※1) 高速PCR試薬、KAPA2G Fast ReadyMix w/ dye (KAPA BIOSYSTEMS) を用いたときの時間設定である。他社のPCR試薬を用いるときはその製品プロトコールを参照。

反応後のPCR産物は冷蔵庫で1週間保存可能である。

(サンプルの水分蒸発を防ぐためプレートをラップで包む、ジッパー付きビニール袋に入れると良い)

5) 実験に必要な装置、試薬類等

設備/装置	必要事項（代替品の参考）
フレークアイス製氷機（Hoshizaki）	
卓上遠心機ミニプレートスピナー （日本ジェネティクス）	1,000 rpm程度の回転数
ABI GeneAmp 9700 Dual 384 Blocks Thermal Cycler（Applied BioSystems）	384ウェル対応
冷凍冷蔵庫	
ハンドリング	必要事項（代替品の参考）
10～200 μL用の8または12チャンネルのピペットマン	
0.2～1000 μLまでの各種シングルチャンネルのピペ ットマン	
1.5 mLマイクロチューブ	
384-well PCRプレート用アルミブロック	
384ピンレプリケーター	
384-well PCRプレート	
384-well PCRプレート用シリコンラバーマットまたは PCRプレートシール	高い密着性
8連PCRチューブまたはピペッティングリザーバー	
麺棒（またはキッチンラップの芯）	
試薬類	組成
KAPA2G Fast ReadyMix w/ dye（KAPA BIOSYSTEMS）	Dye入りプレミックスPCR試薬 （例. プロメガ GoTaq Green Master Mix）
カスタムプライマー	脱塩のみの精製グレードで可、 OPC精製推奨
滅菌済精製水	

4. 電気泳動

1) 3%アガロースゲルの調製

電気泳動用アガロースを精製水に懸濁し、加熱して※完全に溶解させる。容器には予め高粘度用スターラーを入れておく。 ※1) 電子レンジ、ヒートスターラーの他に120℃、20分のオートクレーブも可



電子レンジで加熱したx20 SBバッファー（推奨）をアガロース溶解液に加え、アガロースを念入りに攪拌する※2。高温で溶液の粘性が低いうちラックとコムをセットしたにゲル作製台に約100 mLずつ分注する。 ※2) 攪拌が強く、空気をゲル溶液内に巻き込むとゲルから気泡が抜けず電気泳動像が乱れるので要注意



ゲル表面に大きな気泡が浮くことがあるので、キムワイブなどを使って取り除く。
(ゲルが熱いうちにしか行えないので注意)

室温でゲルを冷まし固化させた後、コムを抜いてゲルを作製台からラックごと取り出して使用する。使用しないゲルについてはラックから外して1 mM EDTAを加えたSBバッファーに浸漬し保存する。(常温で3カ月程度の長期保存可)



2) 電気泳動

実験台にラップを敷き、その上にゲルを置き、ゲルのサンプルウェルにx1 泳動バッファーまたは精製水を満たしておく。12チャンネルのピペットマンでPCRプレートからPCR産物を適量取り、ゲルのサンプルウェルにロードする。両端のウェルにはDNAサイズマーカーを200 ng程度ロードする。

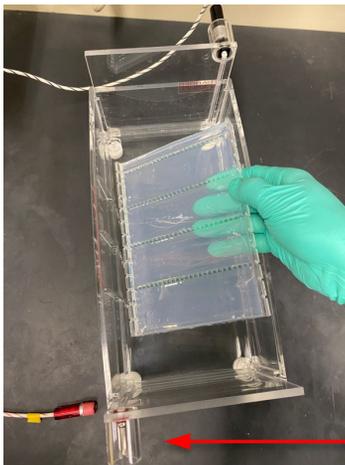


電気泳動バッファーを満した泳動槽にゲルを静かに沈める。電気泳動用パワーサプライを定電圧200 Vで40分間※にセットし、泳動槽に通電する。通電すると陰電極から細かい泡がたくさん出るので、陰電極の位置を再確認する。

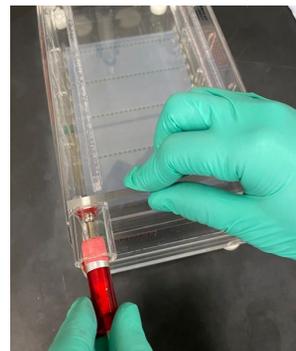
※バッファーの使用回数や温度によってDNAの泳動速度が変わるので調整が必要

(重要)

DNAは、陰電極 (-) から陽電極 (+) に向かって流れるので、電極に対するゲルの向きを間違えないようにする。



万が一の感電を防ぐため片側電極のプラグを外しておく



ゲルを泳動バッファーに沈め、蓋をした後にプラグをつなぐ

3) ゲルの染色と多型の検出

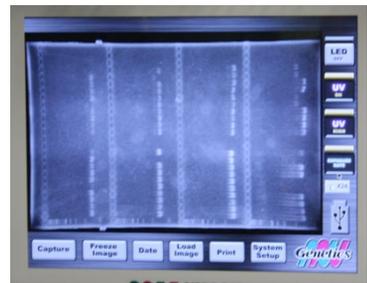
電気泳動終了後、ゲルを適当濃度のエチジウムブロマイド (EtBr) 等の核酸用染色試薬を加えた溶液に20~30分間浸漬する。



溶媒は蒸留水で良く、泳動バッファーを用いる必要は無い。EtBrは光で退色するため、ゲルの出し入れ以外の時は容器にフタをして遮光しておく。

染色後、ゲルを1枚ずつサランラップに移し、撮影装置で泳動像の写真を撮影。

(EtBrを使用する場合は安全データシート (SDS) に従って取り扱いに注意し、使用後の染色液およびゲルは、所属機関の規定や関連法令に従い適切に分別して廃棄する。)



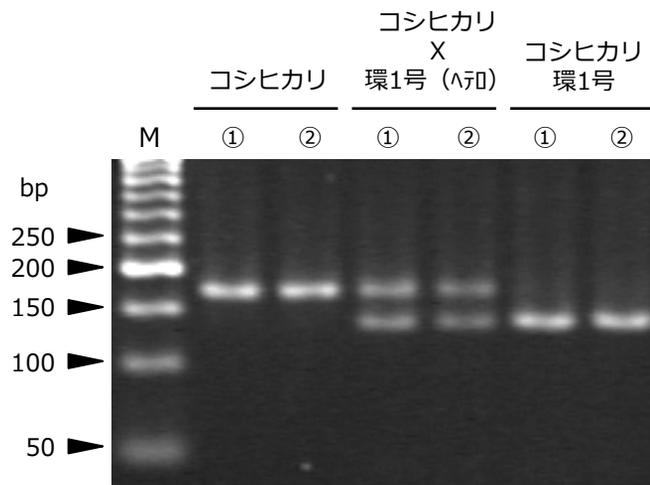
増幅断片の大きさをもとに遺伝子型をA親型、B親型、H型とし、エクセルでデータ管理を行う。

4) 判別結果

増幅断片

コシヒカリ : 164 bp

コシヒカリ環1号 : 137 bp



5) 実験に必要な装置、試薬類等

設備/装置	必要事項（代替品の参考）
電子天秤	小数点第一位まで表示
高粘度液専用スターラー	アガロース溶解液の攪拌に使用する
オートクレーブ	
冷凍冷蔵庫	
フォーラック24サブマリンゲル電気泳動装置（日本エイドー）※UVラック 6ch（標準）→ 4ch（オプション）	96サンプル x 4枚を1回のアガロースゲル電気泳動で処理できる
パワーパック HV（バイオラッド）	200 V定電圧設定、タイマー機能
電子レンジ	
ハンドリング	必要事項（代替品の参考）
1L広口メジューム瓶	耐圧、ネジ口規格：GL45
高粘度用スターラーバー	
シリコンミトン（または軍手の上からゴム手袋）	万がーでも吹きこぼれたアガロース溶液が染み込まない素材
100 mLビーカー	
タッパーウェア（アガロースゲル保存用）	
マルチチャンネルピペット リサーチプラスM 12ch 0.5–10 µL（Eppendorf）	チップ装着部にOリングがないもの
キッチンラップ	
蓋付きステンレスバット（ゲル染色用）	
試薬類	組成
電気泳動用アガロース	3 % (w/v)で使用
精製水	
SBバッファー※	10 mM NaOH、ホウ酸でpH 8.5 に調整
50 bp DNA Ladder（FastGene）	50～200 bsの各バンドが30 ng/5 µL程度
エチジウムブロマイド	染色液中の濃度 1 µg/mL
エチジウムブロマイド処理剤	

※ SB バッファーのほかに、TBE, TEAバッファーも利用できるが、ゲルの透明度やDNA断片の分離能はSBバッファーの方が良いとされている。

x20 SB バッファーストック（1 L）：NaOH 8 g, ホウ酸 45 g (pH 8.0#)

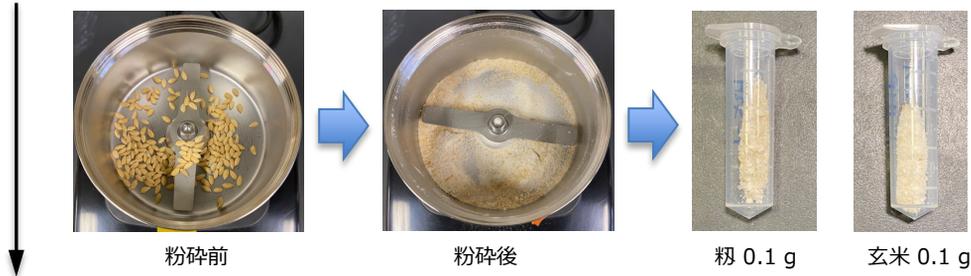
#希釈すると自動的にpH 8.5まで上昇

5. 参考情報

参考1：粳、玄米、精米からのDNA抽出と判別法

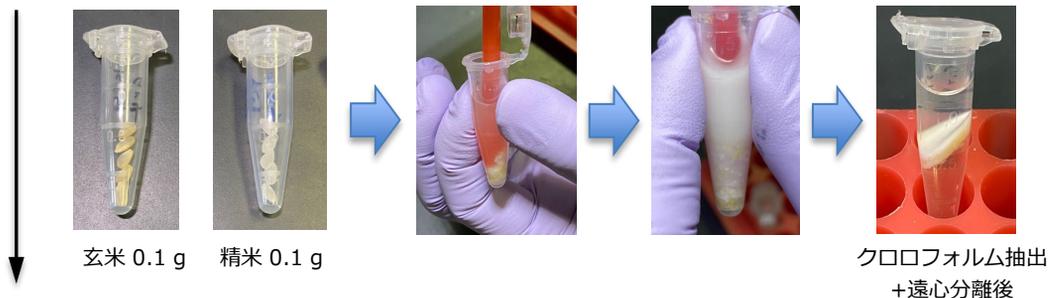
1) 試料の粉碎

特に粳は硬いため、ミルによる粉碎を行うと良い。玄米、精米の場合も粉碎して良い。
例) 約5 gの粳をアブソルートミル（最大回転数で1~2秒）で粉碎



2) 抽出

玄米、精米は粒のままでも抽出できる。抽出バッファーを700 μ L加え、ヒートブロックまたは湯煎で65 $^{\circ}$ C、2時間加温した後、ペッスルで米粒をすり潰す。玄米の場合、糠層は細かくなならないので、目視で米粒がだいたい細かくなったら抽出工程に進む。



米粉の懸濁液に500 μ Lのクロロフォルムを加え、ボルテクスミキサーなどでしっかりと混合攪拌した後、15,000 x gで5分間遠心分離し、クロロフォルム、残渣、上清に分け、上清500 μ Lを新しいマイクロチューブに移す。

↓

等量の沈殿バッファーを加え、55 $^{\circ}$ Cで30分加温した後、18,000 x gで5分間遠心分離する。

↓

上清を除き、400 μ Lの1 M NaCl-TEを加え、55 $^{\circ}$ Cで加温しながら時々攪拌し沈殿物を溶解させる。

↓

18,000 x gで20分間遠心分離後、上清を完全に除き、500 μ Lの70 %エタノールを加えチューブ内をリンスする。

↓

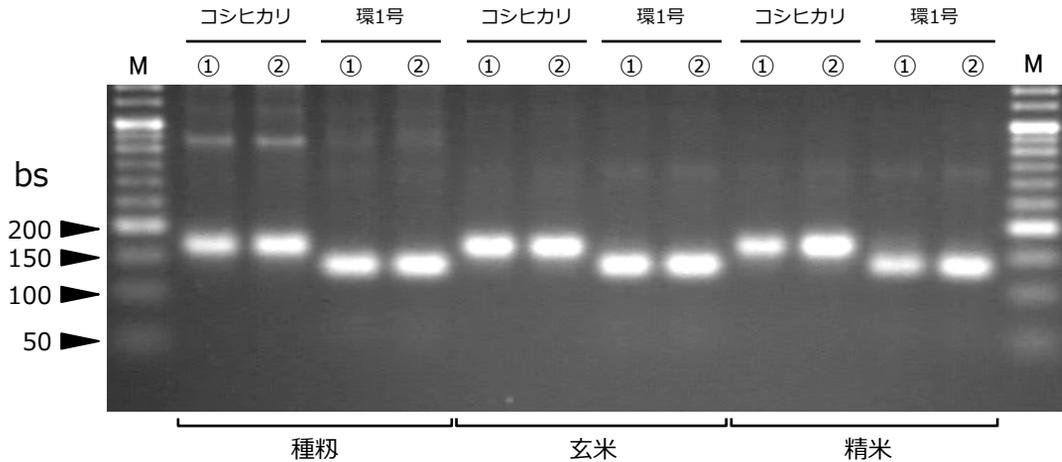
18,000 x gで5分間遠心分離後、上清を完全に除き、沈殿物を風乾させる。

↓

白色の沈殿物が乾燥して透明になったら、200 μ LのTEバッファー (+RNase推奨)を加え、DNAを溶解させた後、-20 $^{\circ}$ Cで保管する。

3) PCR～電気泳動

本プロトコールに記載したPCR試薬、DNAマーカー等の条件で20 μLのPCR反応系に対して抽出・精製したDNA溶液1 μLを用い、そのPCR産物2 μLを3 %アガロースゲルにアプライし電気泳動した。

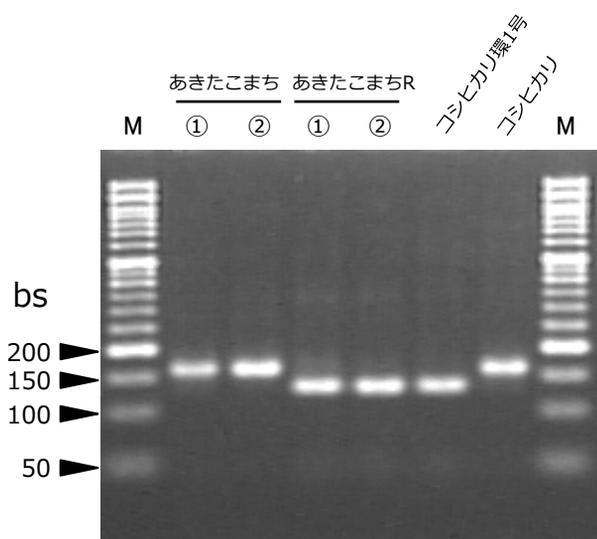


4) 試薬類

試薬類	組成	
抽出バッファー (750 mL)	臭化セチルトリメチルアンモニウム 1 M Tris-HCl (pH 8.0) 0.5 M EDTA NaCl ポリビニルピロリドン(K-30)	10 g 50 mL 20 mL 41 g 5 g
沈殿バッファー (1,000 mL)	臭化セチルトリメチルアンモニウム 1 M Tris-HCl (pH 8.0) 0.5 M EDTA	10 g 50 mL 20 mL
1M NaCl-TE (1,000 mL)	NaCl 1 M Tris-HCl (pH8.0) 0.5 M EDTA	58.4 g 10 mL 2 mL
クロロフォルム		
エタノール		
TE (100 mL)	1 M Tris-HCl (pH8.0) 0.5 M EDTA (RNase)	1 mL 0.2 mL (0.1 mg)

<参考> <https://tos.nias.affrc.go.jp/doc/ctab.html>

(あきたこまちRでの実施例)



あきたこまちRはコシヒカリ環1号と同じ位置にバンドが現れます
(なお、本マーカ―ではカドミウム低吸収性品種同士の品種判別はできません。)

< 粳、玄米からのDNA抽出に関する製品、文献情報 >

【製品】

コメDNA抽出キット(精米20粒スケール)(コメ判別用PCR Kit用) : タカラバイオ
ジーエム クイッカー 2 : ニッポンジーン

【本項の参考元の文献】

Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA.
Nucleic Acids Research 8: 4321-4326.

【抽出確認できたその他の文献】

Xu X. et al. (2005) A Protocol for High-Throughput Extraction of DNA From Rice Leaves.
Plant Molecular Biology Reporter 23: 291-295.

参考2：制限酵素を使うCAPSマーカで判別する方法

1) プライマー配列情報

プライマー名	配列 (5' → 3')
F3189 (Fwd primer)	ATGGAAAGAAACCGAACAAAGATCCAGG
R3612 (Rev primer)	CGGAGAAATCGTGTAGACTAATTCGGT

本マーカはPCRで増幅させたDNA断片を制限酵素で切断するCAPSマーカである。「コシヒカリ環1号型」は制限酵素 FspI による消化でPCR産物は切断されるが、コシヒカリ型は切断されず、DNA断片長に明確な違いが表れるため、両品種の識別が可能となる。

2) PCR反応

反応条件におけるプライマー濃度およびアニーリング温度はp.9~10に記載の3-Primer PCR法と同様で、それ以外の条件はPCR酵素の製品情報を参照する。

3) 制限酵素によるPCR産物の消化

FastDigest FspI (制限酵素) のx1反応液(付属のGreen Buffer推奨、消化後そのまま電気泳動できて便利)を氷上で調製しPCRプレートに10 µLずつ分注する。そこに、PCR産物を3 µLほど加え新しいピンレプリケーターで攪拌した後、再度シリコンマットでフタをして37 °Cで60分間サーマルサイクラーでインキュベーションする。

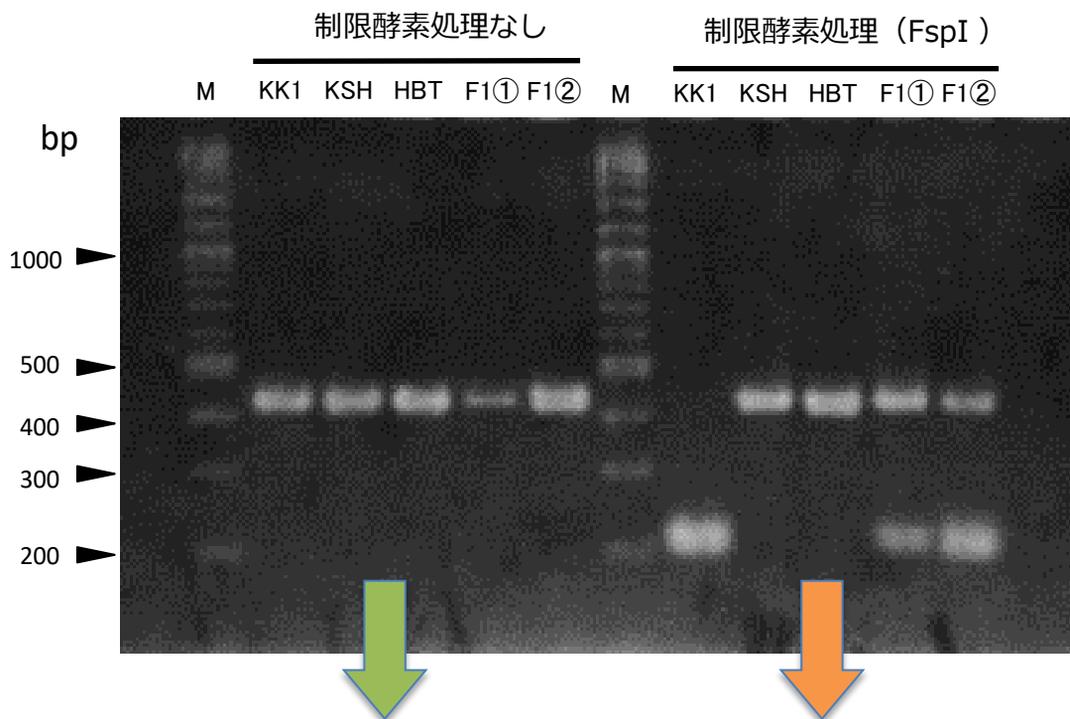
FspI酵素は他のメーカーものでも代用できるが、消化後の電気泳動でLoading Dyeの添加が必要である。

酵素反応液組成	1 サンプルあたり
x10 FastDigest® Green Buffer	0.9 µL
FspI (制限酵素)	0.3 µL
Milli-Q 水 (滅菌済)	8.8 µL
Total	9.0 µL

この制限酵素処理ではPCR反応液と酵素反応液の混合により、酵素反応液のバッファーが希釈されるため制限酵素のメーカーが保証する酵素活性が得られない可能性がある。したがって、上記の反応系でPCR産物の消化が不十分な場合は反応時間を延長する、酵素反応液量を増す、酵素量を増すといった順序で対処する。

4) 電気泳動後の判別結果

M	: サイズマーカー	HBT	: ハバタキ
KK1	: コシヒカリ環1号	F1①	: KK1 x KSH
KSH	: コシヒカリ	F2②	: KK1 x HBT



制限酵素処理をしていないの場合

主な日本型品種 (コシヒカリ等) の増幅断片 : 425 bp
 主なインド型品種 (ハバタキ等) の増幅断片 : 423 bp
 コシヒカリ環1号の増幅断片 : 424 bp

FspIによる digestion (消化) の場合

主な日本型品種 (コシヒカリ等) の増幅断片 : 425 bp
 主なインド型品種 (ハバタキ等) の増幅断片 : 423 bp
 コシヒカリ環1号の増幅断片 : 207bp + 217 bp

酵素処理後バンドが重なるため、1本に見える

参考3：市販の品種判別キットを用いた場合

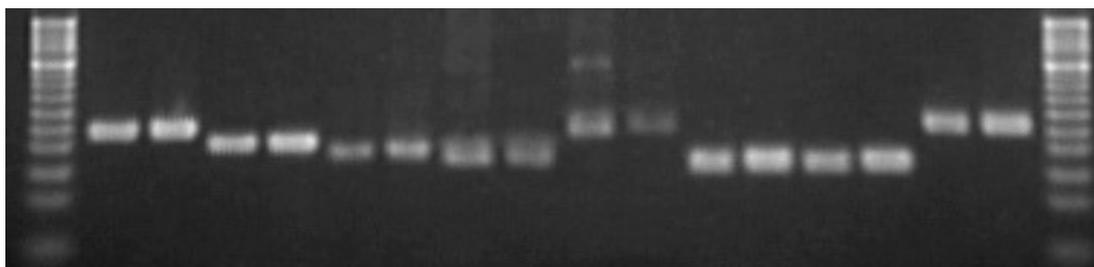
(株) ビジョンバイオ お米鑑定団® ver.4
農林水産省モニタリング検査対応キット

1 2 3 4 5 6 7 8: プライマーセット
M P S P S P S P S P S P S P S M

コシヒカリ



コシヒカリ環1号



P: キット付属コントロール, S: サンプル, M: DNA ladder

市販の品種判別キットでは、コシヒカリと
コシヒカリ環1号の区別はできません。

6. 重要事項

□ 著作権に関する事項

本技術に掲載された内容は「私的使用」または「引用」など著作権法上認められた場合を除き、無断で転載、複製、販売などはできません。

□ 免責事項

利用者が記載された技術を利用したこと、あるいは技術を利用できないことによる結果について農研機構は一切責任を負いません。

□ 特許権等

本技術に必要な遺伝子やDNAマーカ―等には特許権があります。また、「コシヒカリ環1号」は品種登録されています。本技術を利用する際は、下記の問い合わせフォームにご連絡ください。

● 品種に関する問い合わせフォーム:

https://prd.form.naro.go.jp/form/pub/naro01/hinshu?_gl=1*1vygszq*_ga*MTMzMjc4NzU2OS4xNjIwMjkyNDIx*_ga_7LKJ8GGK67*MTc0MDA0MzgzMy4zNjAuMS4xNzQwMDQ2OTI1LjYwLjAuMA..

● 特許権等の実施手続きに関する問い合わせフォーム:

https://prd.form.naro.go.jp/form/pub/naro01/patent?_gl=1*1w2eeb3*_ga*MTMzMjc4NzU2OS4xNjIwMjkyNDIx*_ga_7LKJ8GGK67*MTc0MDA0MzgzMy4zNjAuMS4xNzQwMDQ1OTk2LjU4LjAuMA..

□ 妥当性確認

本技術は〈DNA品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン〉は満たした試験構成ではありません。

マニュアルに関する問い合わせ先：
農研機構 農業環境研究部門
(〒305-8604 茨城県つくば市観音台3-1-3)
E-mail: niaes_manual@ml.affrc.go.jp