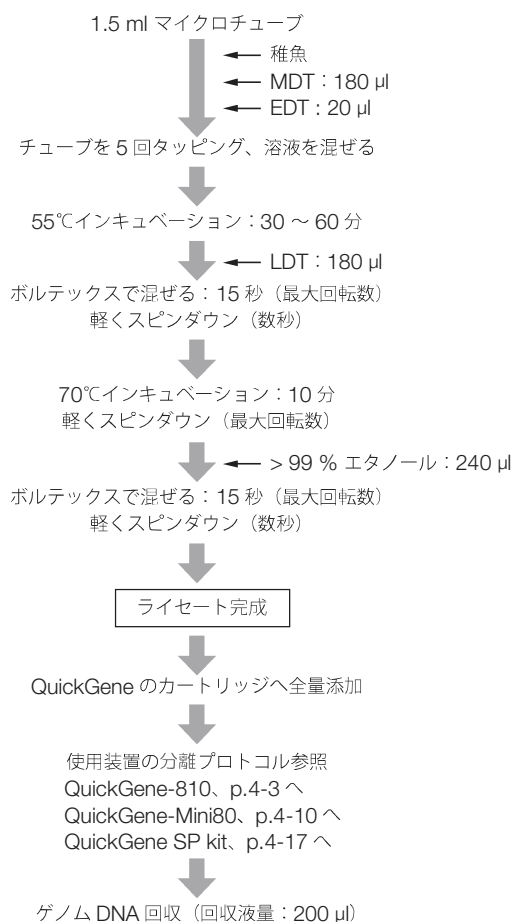


3-V 章

魚および貝からのゲノム DNA分離

稚魚からのゲノムDNA分離

プロトコル



結果

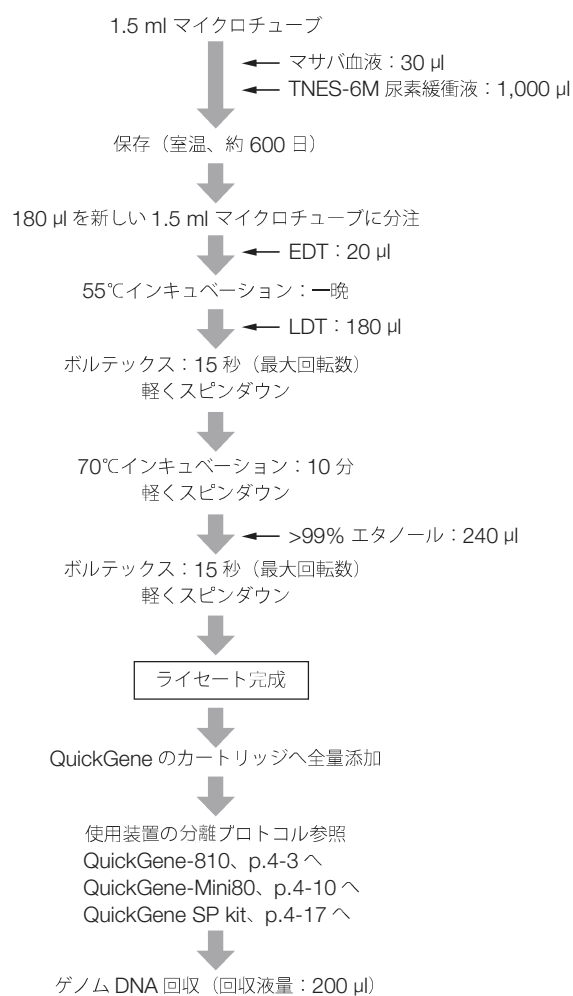
- 電気泳動図
データなし
- ゲノム DNA の収量
データなし
- タンパク質の混入 : A260/280
データなし
- カオトロピック塩の混入 : A260/230
データなし
- その他
データなし

共通プロトコルサンプル

シジミ

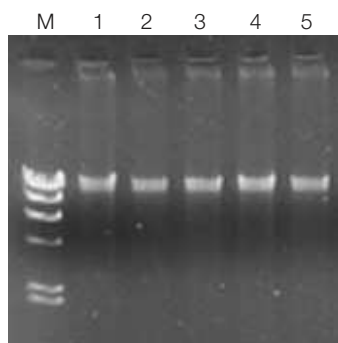
TNES-6M尿素緩衝液中で長期間保存されたマサバ血液からのゲノムDNA分離

■ プロトコル



■ 結果

■ 電気泳動図



M： λ -Hind III digest
1～5：マサバサンプル

■ ゲノム DNA の収量

	サンプル 1	サンプル 2	サンプル 3	サンプル 4	サンプル 5
収量 (μg)	13.2	11.6	9.5	9.1	16.6

■ タンパク質の混入：A260/280

データなし

■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

■ その他

● PCR



M：マーカー（100 bp DNA Ladder：TaKaRa）
1～3：マサバサンプル

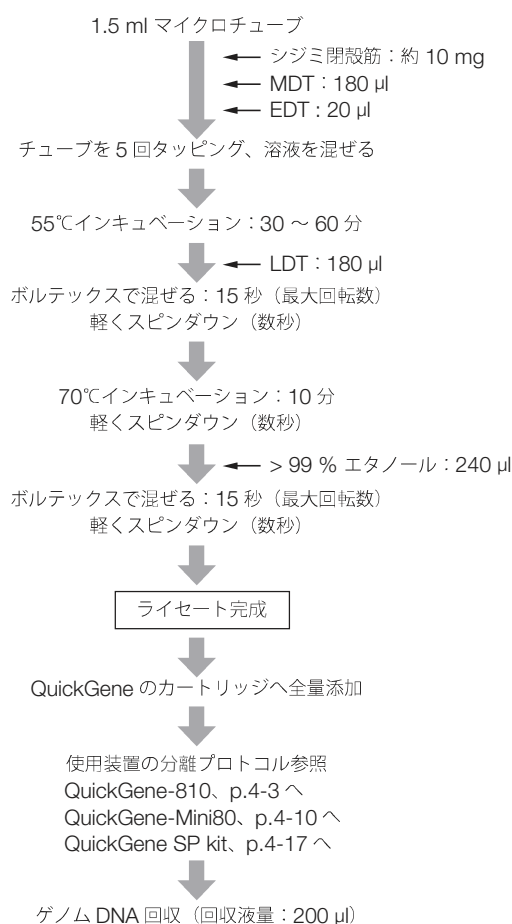
QuickGene システムを用いて、TINES-6M 尿素緩衝液中で長期間保存されたマサバの血液から分離した DNA を用いて、マイクロサテライトの PCR を行った。
いずれのサンプルでも増幅産物の電気泳動バンドを検出できた。

■ 共通プロトコルサンプル

データなし

シジミからのゲノムDNA分離

■ プロトコル



■ 結果

■ 電気泳動図

データなし

■ ゲノム DNA の収量

データなし

■ タンパク質の混入：A260/280

データなし

■ カオトロピック塩の混入：A260/230

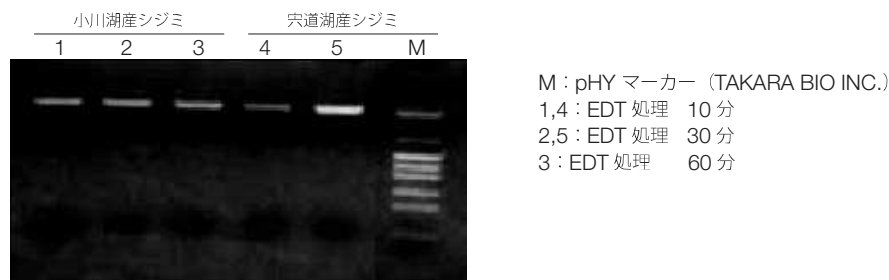
データなし

■ その他

● QuickGene システムを用いて分離した mtDNA で行った PCR

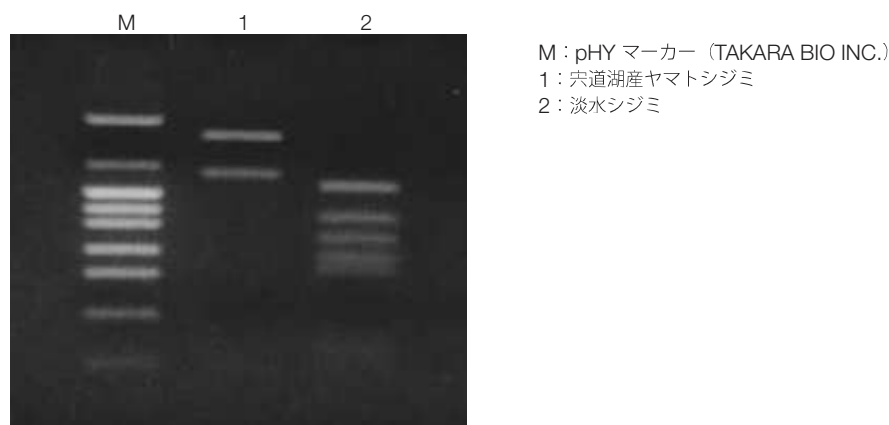
(EDT 処理時間の検討実験)

QuickGene システムを用いて、10 mg のシジミ閉殻筋から分離した mtDNA で、COI1 - 16SrRNA にかけての約 5Kbp をターゲットに PCR を行った。



● QuickGene システムを用いて分離した mtDNA に対し PCR を行った後の制限酵素切断

QuickGene システムを用いて、10 mg のシジミ閉殻筋から分離した mtDNA で、COI1 - 16SrRNA にかけての約 5Kbp をターゲットに PCR を行った後、制限酵素 (*Msp* I) 切断を行った。



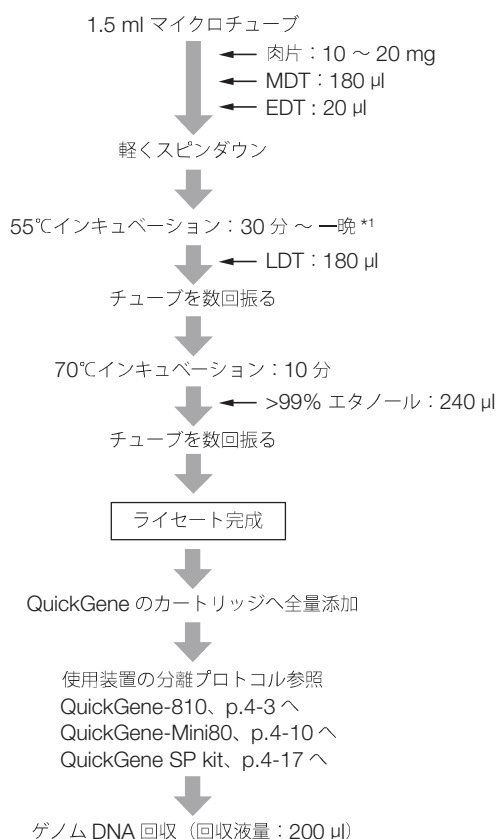
QuickGene システムを用いてシジミ閉殻筋から分離した mtDNA で、シジミ種を判別できた。

■ 共通プロトコルサンプル

稚魚

海洋生物からのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 肉片が溶けた段階で終了。

結果

電気泳動図

データなし

ゲノム DNA の収量

キンメダイ、エゾイバラガニ、マグロ類、コウイカの 10 個体の平均収量

魚種名	濃度 (μg)
キンメダイ	2.2
エゾイバラガニ	2.8
マグロ類	2.1
コウイカ	4.6

タンパク質の混入：A260/280

キンメダイ、エゾイバラガニ、マグロ類、コウイカの 10 個体の平均純度

魚種名	260/280
キンメダイ	1.70
エゾイバラガニ	1.72
マグロ類	2.29
コウイカ	2.31

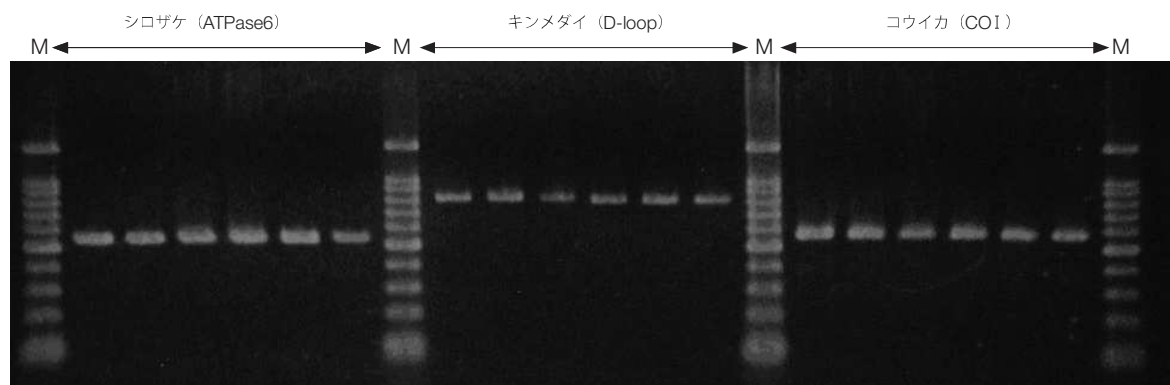
カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

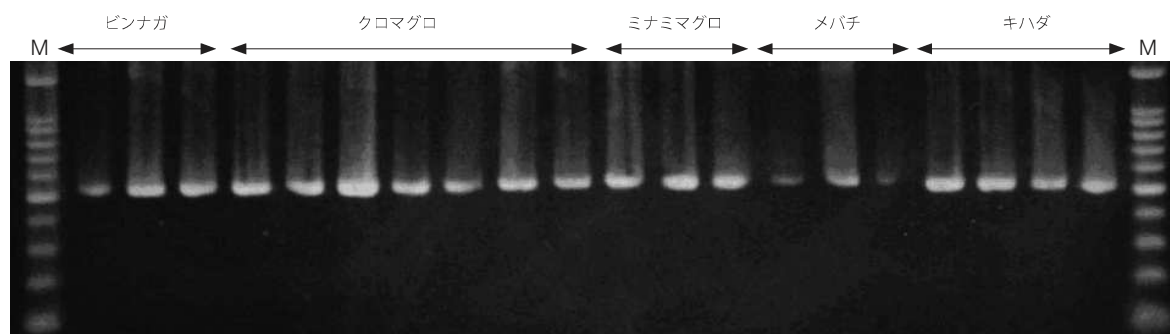
■ その他

● PCR

QuickGene を用いて分離した DNA から PCR を行った例



QuickGene を用いて分離した DNA から PCR を行った例 (マグロ類、ATPase6-COⅢ)



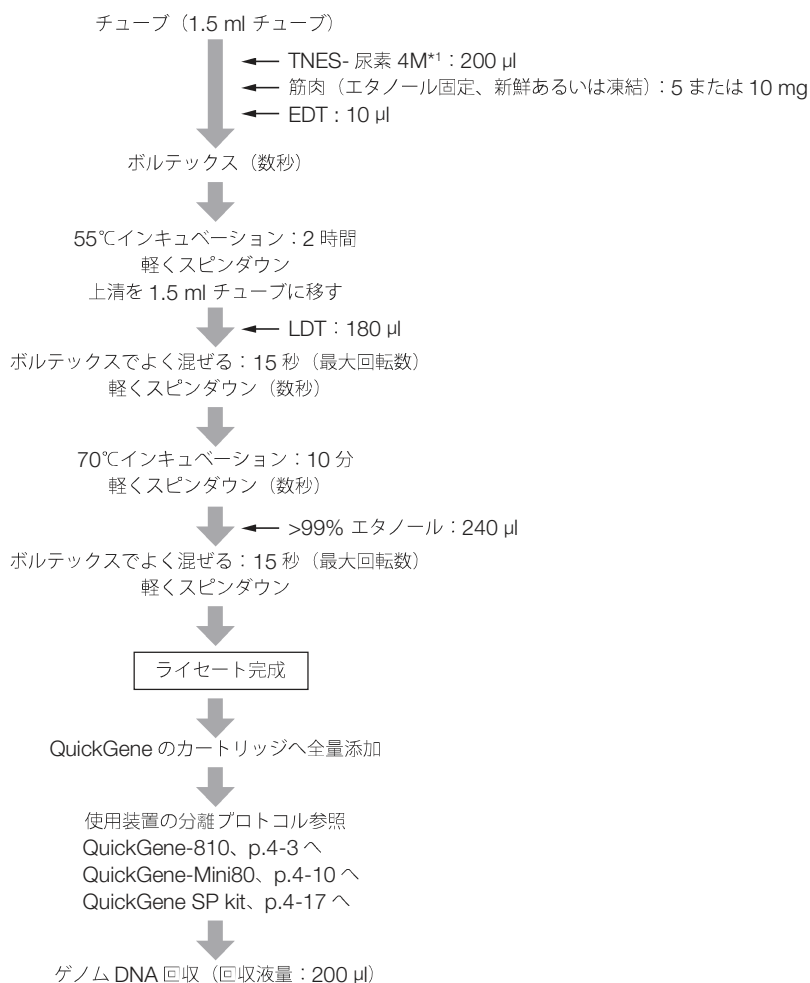
M : 100dp Ladder (Qiagen)

共通プロトコルサンプル

データなし

フグ筋肉からのゲノムDNA分離

■ プロトコル



^{*1} <TNES-尿素 4M>
10 mM トリス塩酸 pH7.5
125mM 塩化ナトリウム (NaCl)
10mM エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)
1% ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) 4M 尿素

■ 結果

■ 電気泳動図

データなし

■ ゲノム DNA の収量

データなし

■ タンパク質の混入 : A260/280

データなし

■ カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

■ その他

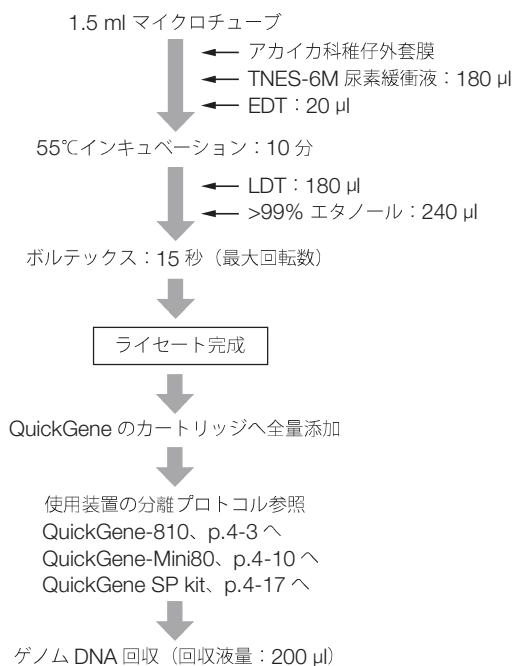
データなし

■ 共通プロトコルサンプル

データなし

船上でのアカイカ科稚仔からのゲノムDNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

ゲノム DNA の収量

	収量 (ng)
1	1.7
2	2.2
3	1.6
4	2.9
5	2.5

タンパク質の混入: A260/280

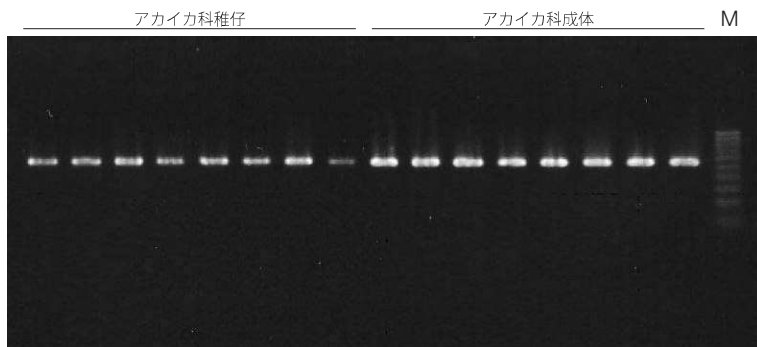
データなし

カオトロピック塩の混入: A260/230

データなし

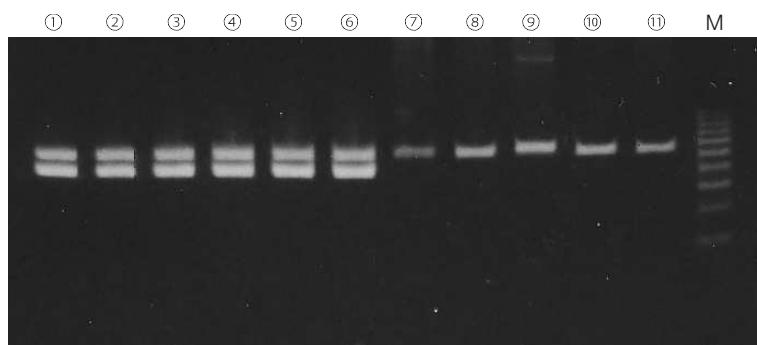
■ その他

● PCR



M : DNA Ladder マーカー 100bp (BEXEL)
ごく少量の組織から回収した DNA でも成体とかわらない電気泳動図が得られた。

● SSP-PCR



①～⑥ : アメリカオオアカイカ
⑦～⑪ : アメリカオオアカイカ以外 (主にトビイカ)
M : DNA Ladder マーカー 100bp (BEXEL)

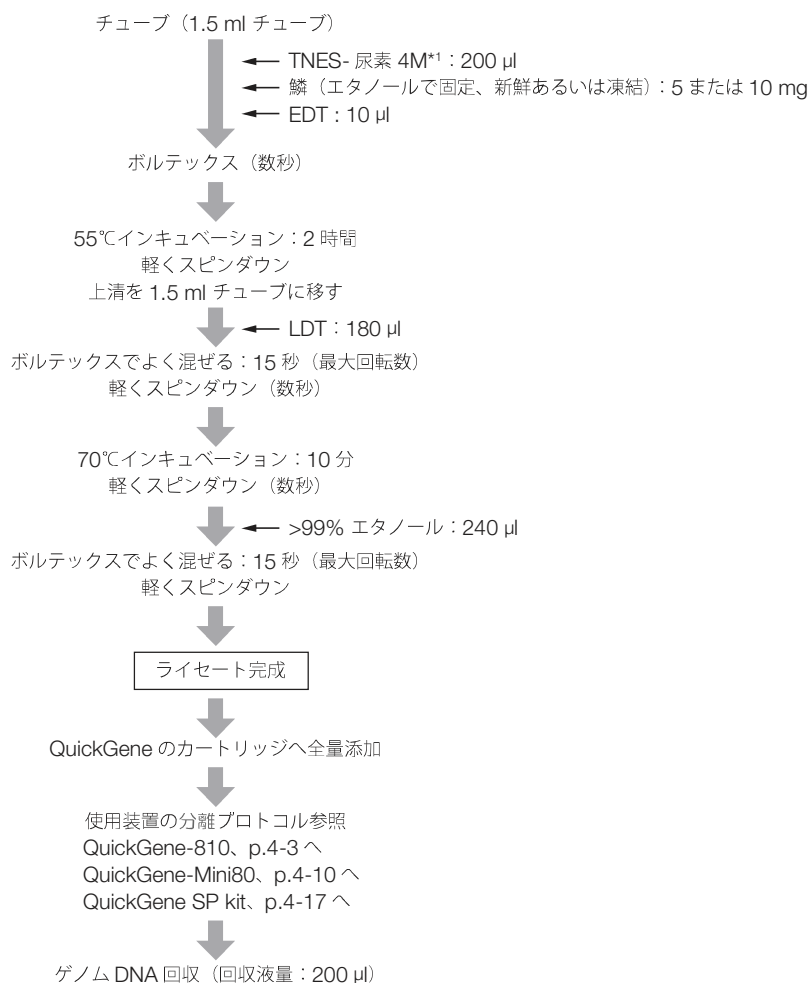
QuickGene システムを用いて、揺れる船上でも問題なく DNA を分離することができた。また分離した DNA を用い、COI 前半部で種特異的なプライマーを作製し PCR を行ったら、アメリカオオアカイカとトビイカの稚仔を判別することができた。

■ 共通プロトコルサンプル

データなし

鱗からのゲノムDNA分離

プロトコル



^{*1} <TNES-尿素 4M>
10 mM トリス塩酸 pH7.5
125 mM 塩化ナトリウム (NaCl)
10 mM エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)
1% ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) 4M 尿素

結果

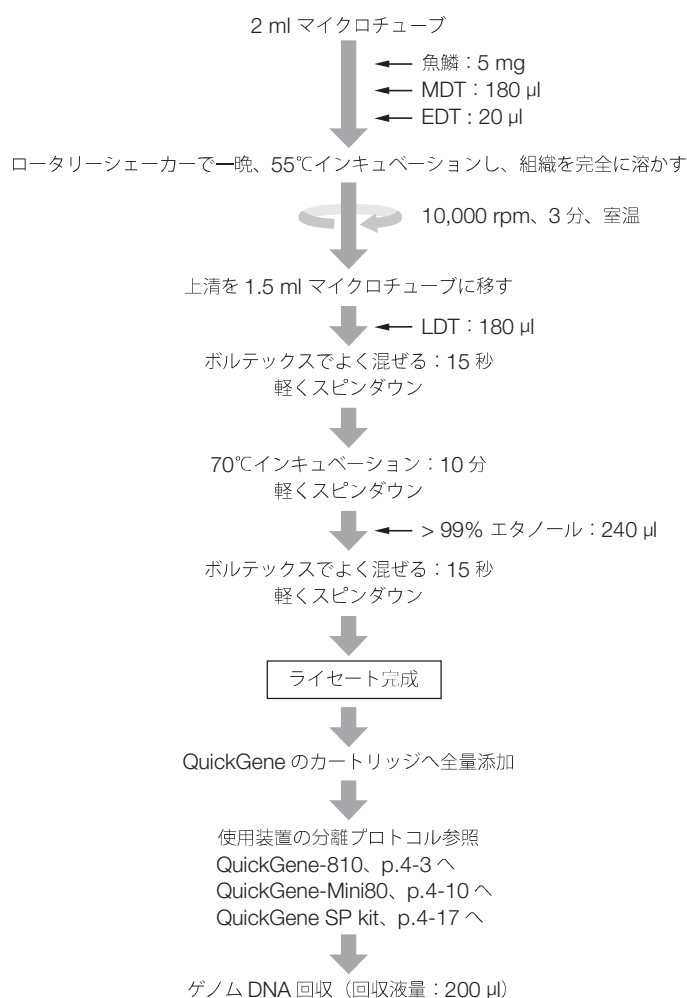
- 電気泳動図
データなし
- ゲノム DNA の収量
データなし
- タンパク質の混入: A260/280
データなし
- カオトロピック塩の混入: A260/230
データなし
- その他
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

魚鱗からのゲノムDNA分離

■ プロトコル



■ 結果

■ 電気泳動図

データなし

■ ゲノム DNA の収量

データなし

■ タンパク質の混入 : A260/280

データなし

■ カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

■ その他

• PCR

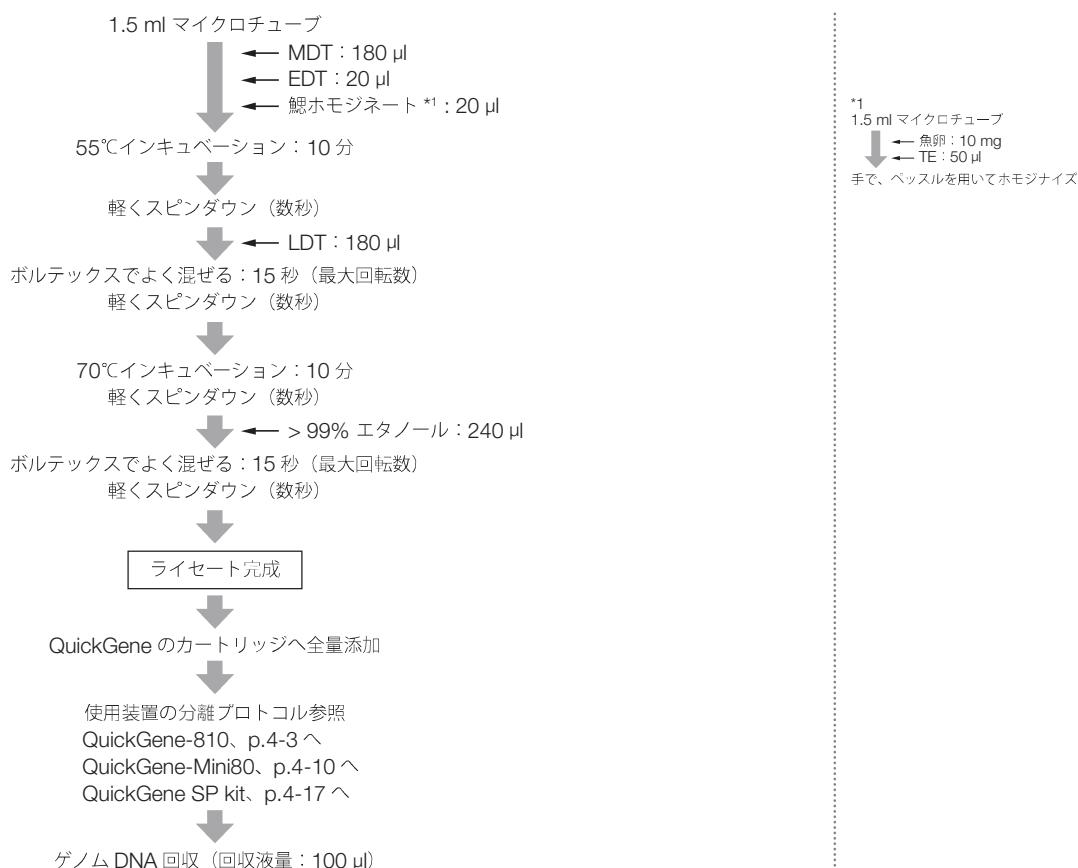
PCS 成功

■ 共通プロトコルサンプル

データなし

魚卵からのゲノムDNA分離

プロトコル



結果

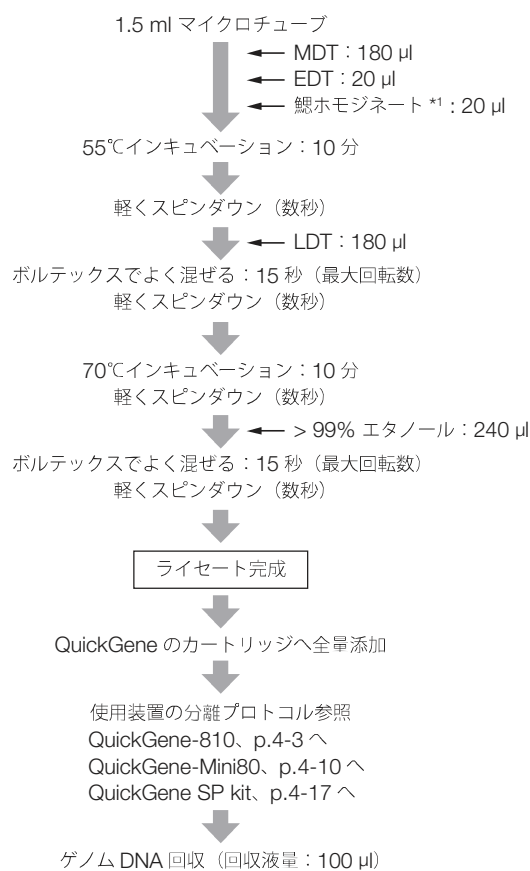
- 電気泳動図
データなし
- ゲノム DNA の収量
データなし
- タンパク質の混入: A260/280
データなし
- カオトロピック塩の混入: A260/230
データなし
- その他
データなし

共通プロトコルサンプル

魚の筋肉

魚の筋肉からのゲノムDNA分離

■ プロトコル



*1
1.5 ml マイクロチューブ
← 魚の筋肉 : 10 mg
← TE : 50 µl
手で、ベッスルを用いてホモジナイズ

■ 結果

■ 電気泳動図

データなし

■ ゲノム DNA の収量

データなし

■ タンパク質の混入 : A260/280

データなし

■ カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

■ その他

データなし

■ 共通プロトコルサンプル

魚卵

