

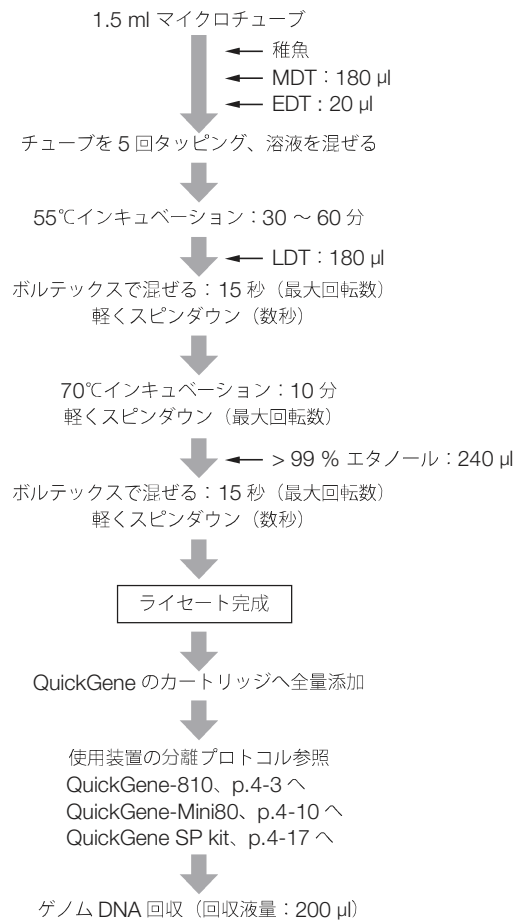
## 3-V 章

### 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

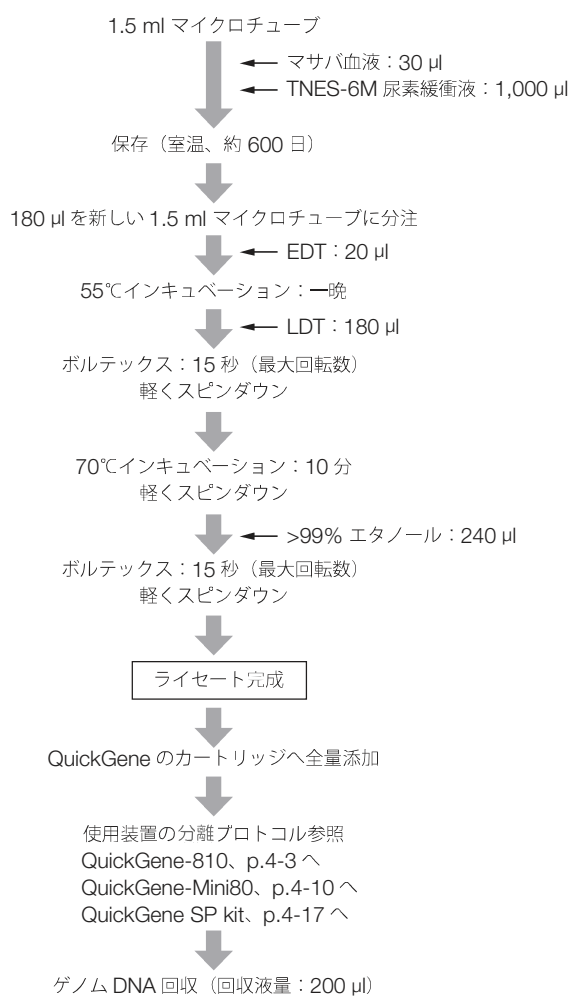
- 電気泳動図  
データなし
- ゲノム DNA の収量  
データなし
- タンパク質の混入 : A260/280  
データなし
- カオトロピック塩の混入 : A260/230  
データなし
- その他  
データなし

### 共通プロトコルサンプル

シジミ

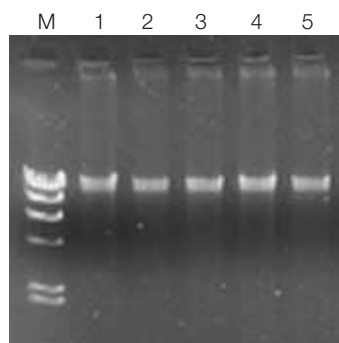
## TNES-6M尿素緩衝液中で長期間保存されたマサバ血液からのゲノムDNA分離

## プロトコル



## 結果

## 電気泳動図



M： $\lambda$ -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

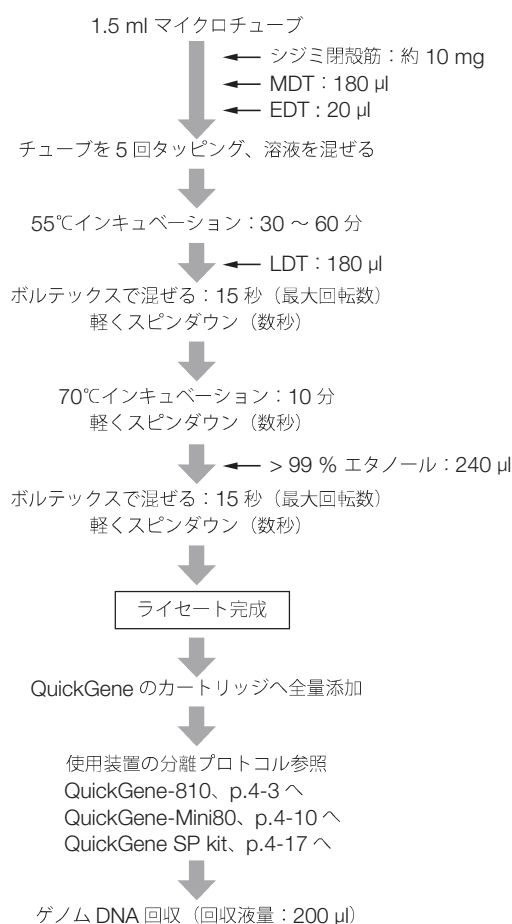
QuickGene システムを用いて、TINES-6M 尿素緩衝液中で長期間保存されたマサバの血液から分離した DNA を用いて、マイクロサテライトの PCR を行った。  
いずれのサンプルでも増幅産物の電気泳動バンドを検出できた。

■ 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

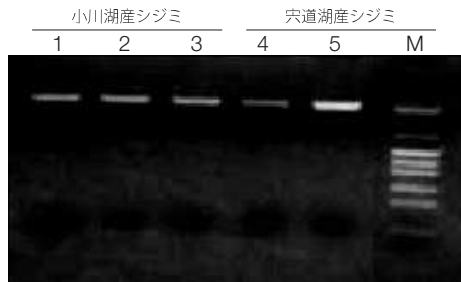
- 電気泳動図  
データなし
- ゲノム DNA の収量  
データなし
- タンパク質の混入：A260/280  
データなし
- カオトロピック塩の混入：A260/230  
データなし

■ 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)

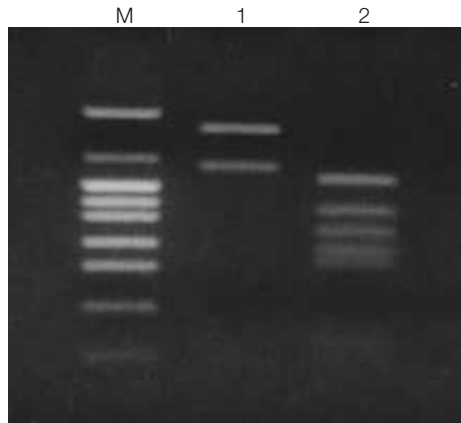
QuickGene システムを用いて、10 mg のシジミ閉殻筋から分離した mtDNA で、COI1 - 16SrRNA にかけての約 5Kbp をターゲットに PCR を行った。



M : pHY マーカー (TAKARA BIO INC.)  
 1,4 : EDT 処理 10 分  
 2,5 : EDT 処理 30 分  
 3 : EDT 処理 60 分

● 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。



M : pHY マーカー (TAKARA BIO INC.)  
 1 : 宍道湖産ヤマトシジミ  
 2 : 淡水シジミ

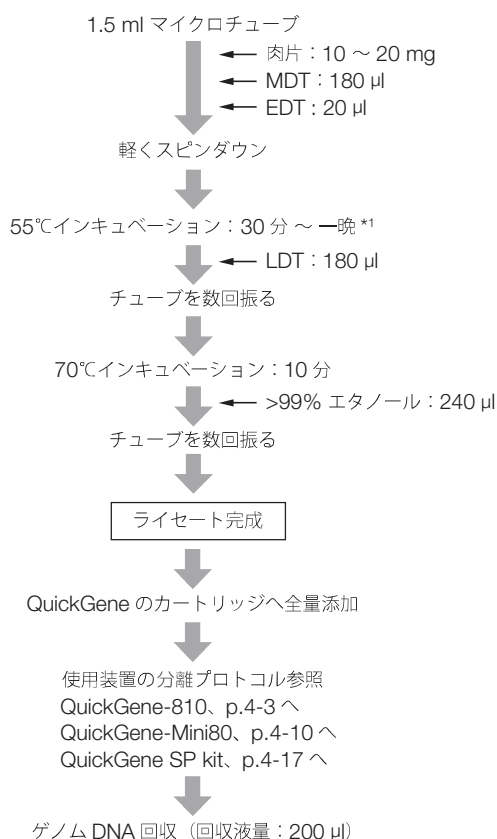
QuickGene システムを用いてシジミ閉殻筋から分離した mtDNA で、シジミ種を判別できた。

■ 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

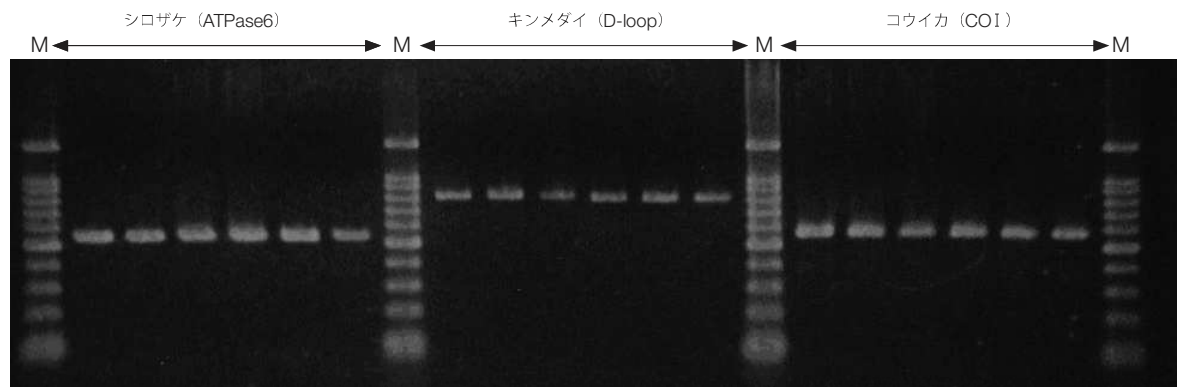
## カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

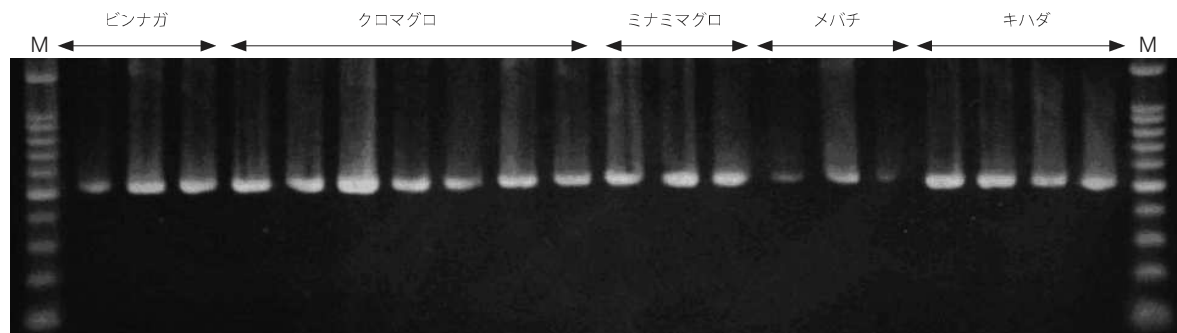
■ その他

● 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)

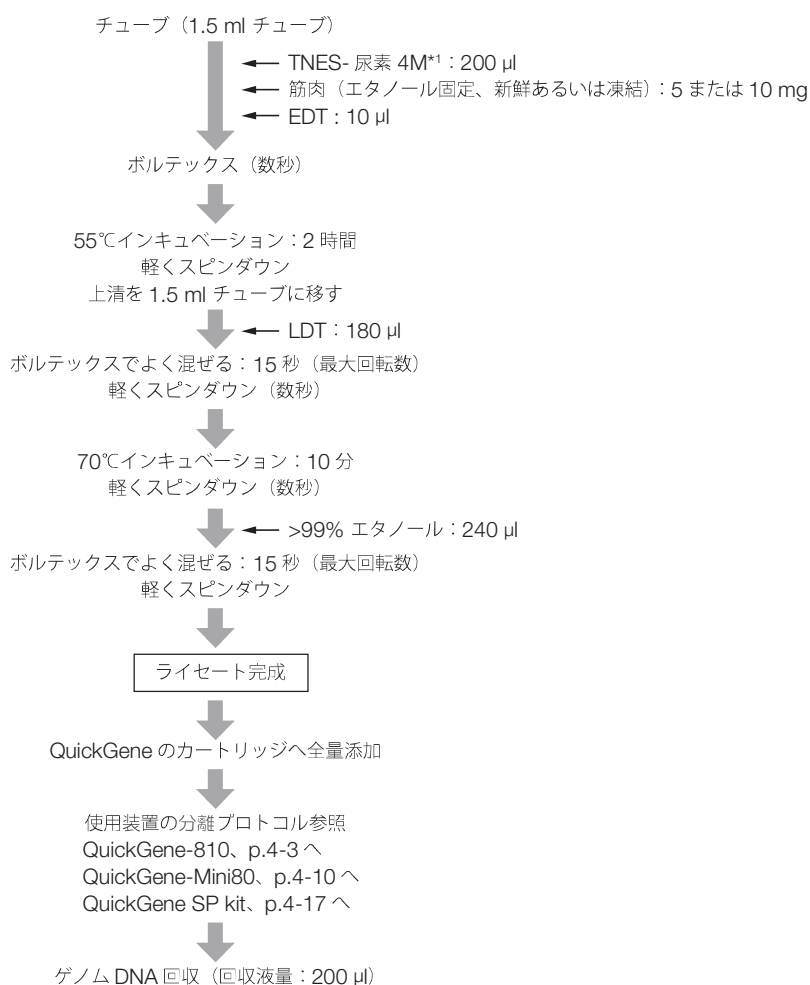
■ 共通プロトコルサンプル

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

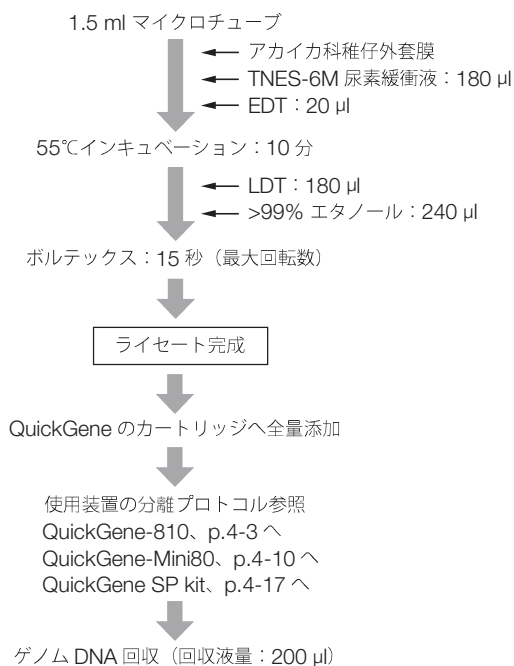
- 電気泳動図  
データなし
- ゲノム DNA の収量  
データなし
- タンパク質の混入 : A260/280  
データなし
- カオトロピック塩の混入 : A260/230  
データなし
- その他  
データなし

## 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

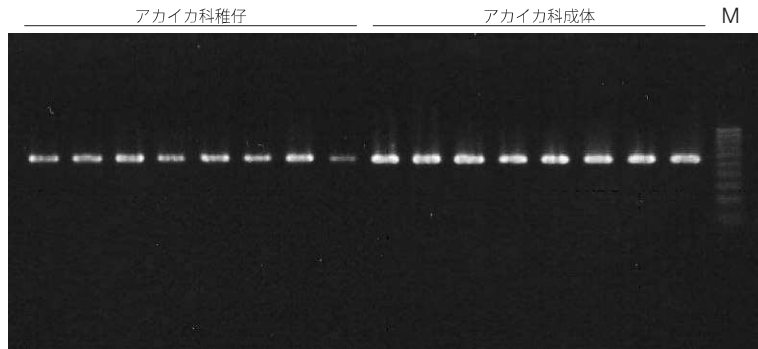
データなし

#### カオトロピック塩の混入: A260/230

データなし

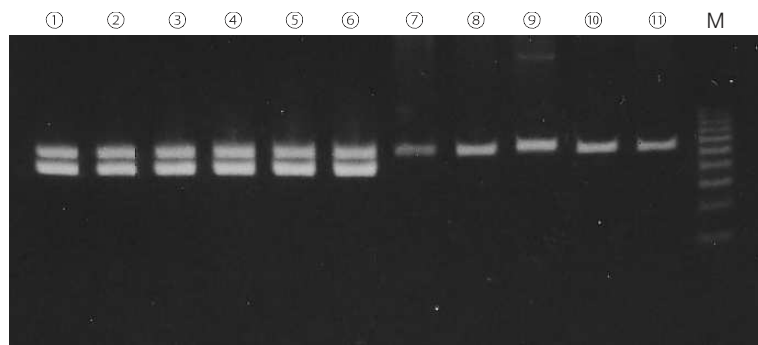
## ■ その他

## ● 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)

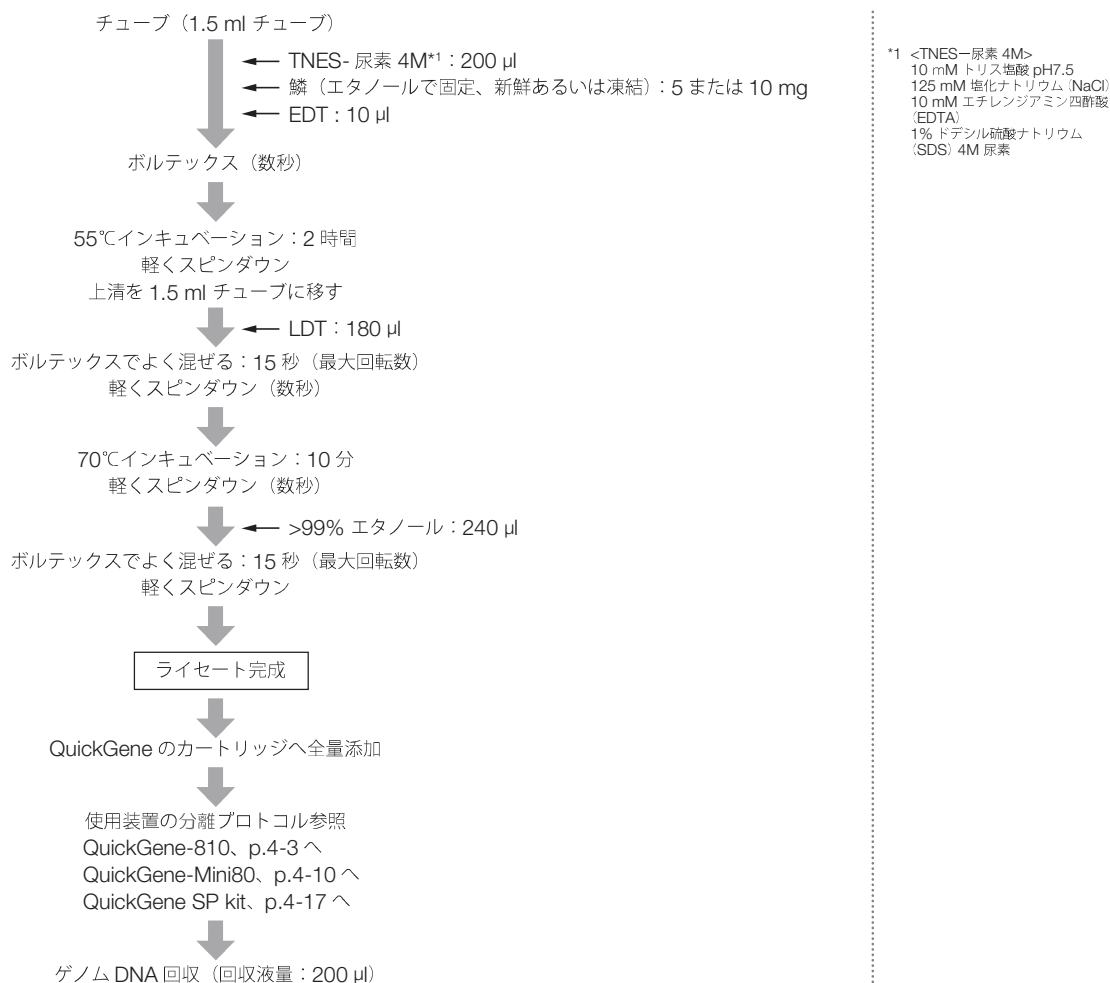
QuickGene システムを用いて、揺れる船上でも問題なく DNA を分離することができた。また分離した DNA を用い、COI 前半部で種特異的なプライマーを作製し PCR を行ったところ、アメリカオオアカイカとトビイカの稚仔を判別することができた。

## ■ 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



### 結果

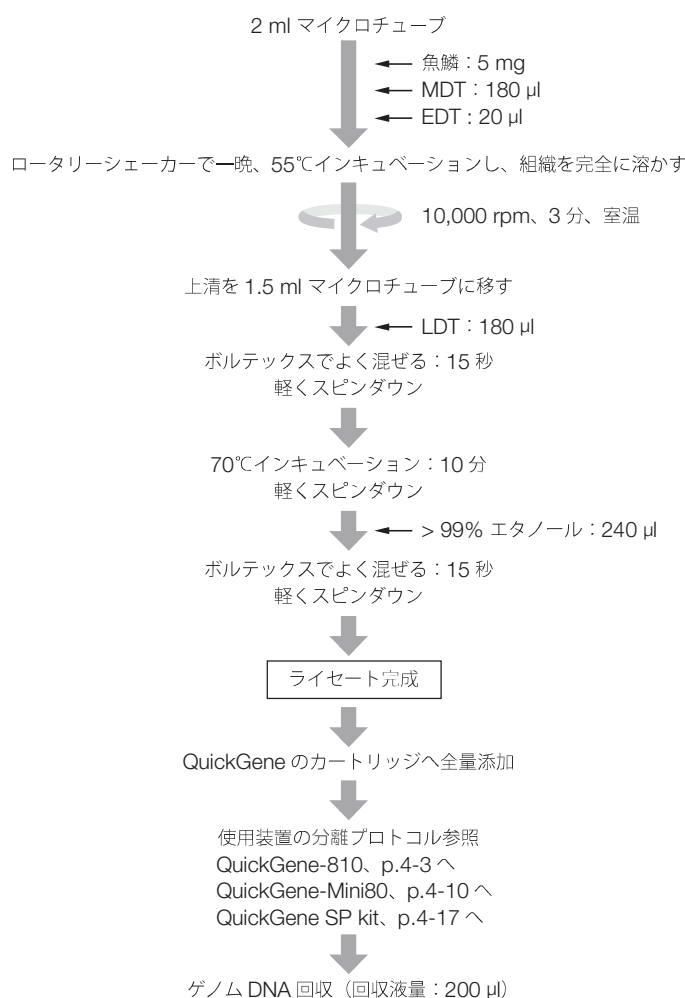
- 電気泳動図  
データなし
- ゲノム DNA の収量  
データなし
- タンパク質の混入 : A260/280  
データなし
- カオトロピック塩の混入 : A260/230  
データなし
- その他  
データなし

### 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

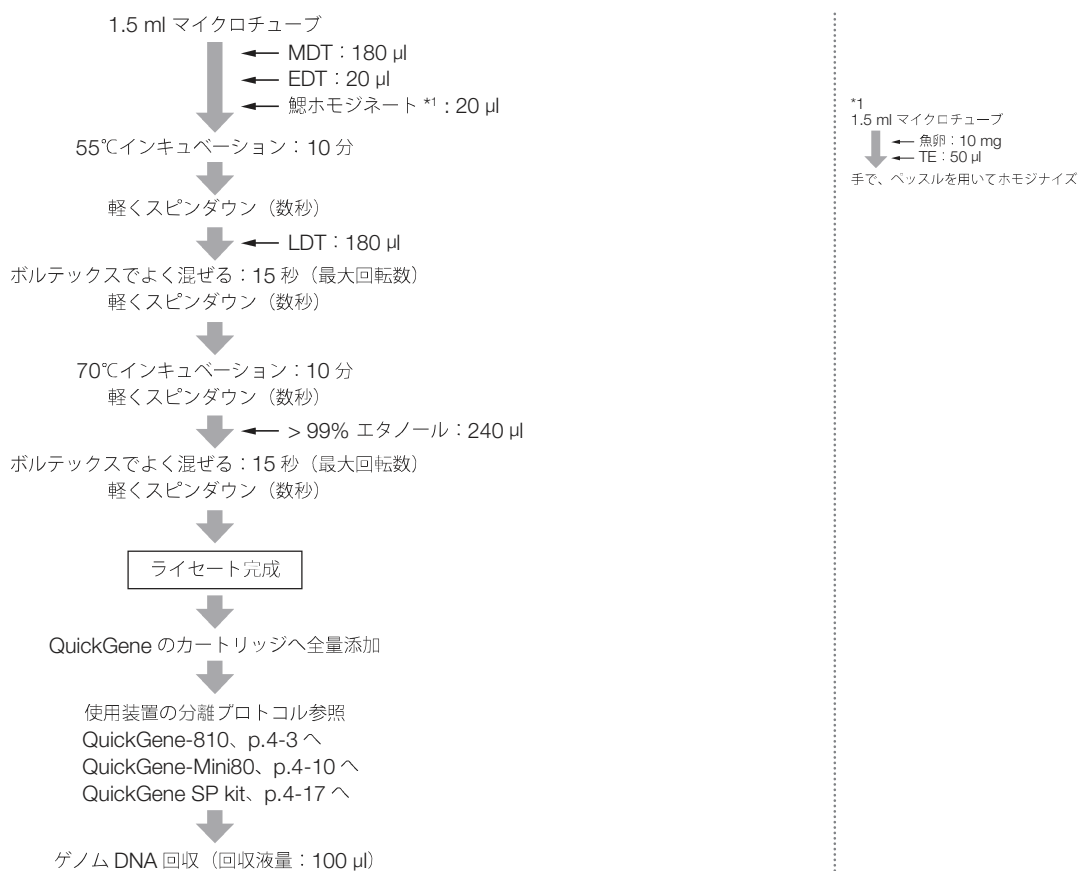
- 電気泳動図  
データなし
- ゲノム DNA の収量  
データなし
- タンパク質の混入 : A260/280  
データなし
- カオトロピック塩の混入 : A260/230  
データなし
- その他
  - PCR  
PCS 成功

## 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

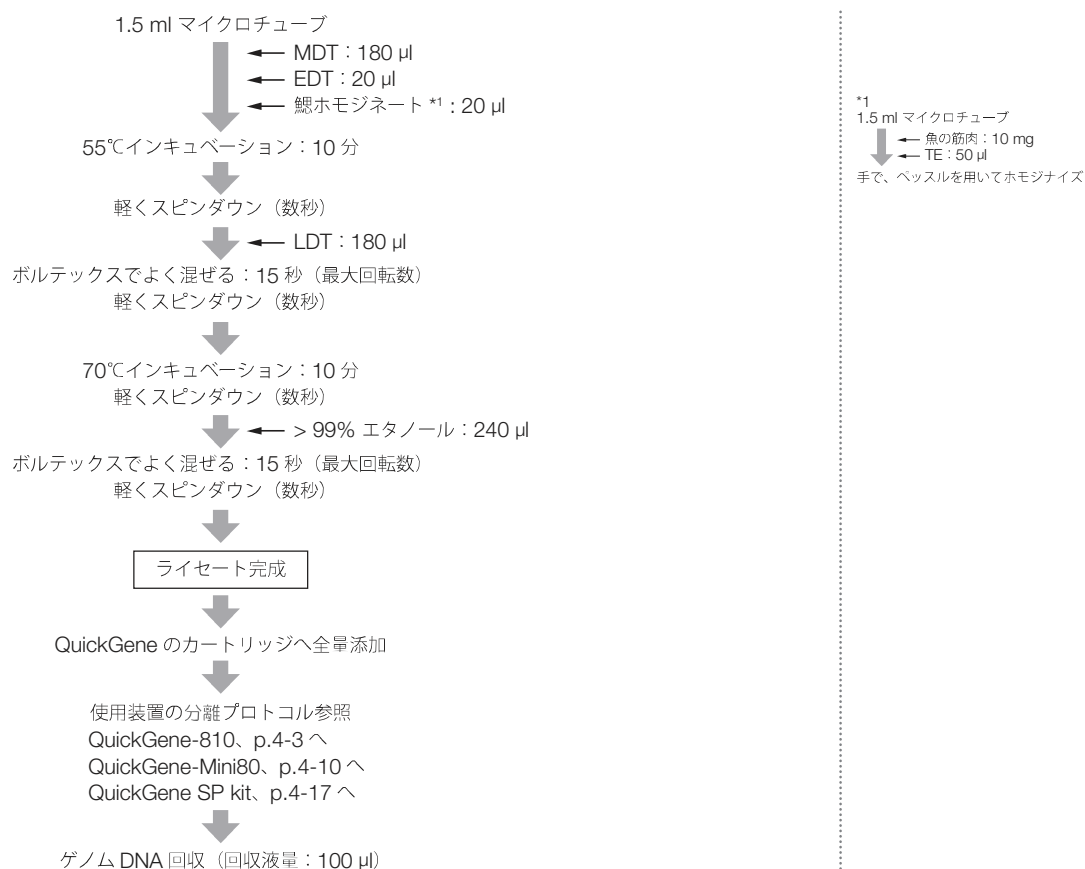
- 電気泳動図  
データなし
- ゲノム DNA の収量  
データなし
- タンパク質の混入 : A260/280  
データなし
- カオトロピック塩の混入 : A260/230  
データなし
- その他  
データなし

### 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



## ■ 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

