



## ※2 DNA バーコーディングとは？

未知のサンプルからバーコードを読むかのように種を同定する手法。決められた領域の DNA 配列分析し、予め登録されている DNA 配列のデータベースに照合して種を特定する。

## ※3 サンプルの凍結粉砕

乳鉢にサンプルと液体窒素を入れ、乳棒を使って磨り潰す。凍結して機械的に粉砕することで、DNA を回収しやすくなる。



## ※4 DNA 抽出

DNeasy Blood & Tissue キット (Qiagen 社) を用いて、爪および毛髪からのトータル DNA 分離のプロトコルに従って DNA を抽出する。

<https://www.qiagen.com/us/resources/download.aspx?id=eccc0cdd-a180-45e6-a842-fa5567bf6edc&lang=ja-JP>

表1 各分類群の同定で使用したミトコンドリア DNA の領域とプライマー配列

分類群	領域名	プライマー名	プライマー配列 [5'→3']
哺乳類	12S rRNA	MiMammal-U-F	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNNNNNNGGGTTGGTAAATTCGTGCCAGC
		MiMammal-U-R	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNNNNNNNCATAGTGGGTATCTAATCCCGATTG
		MiMammal-E-F	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNNNNNNGGACTGGTCAATTCGTGCCAGC
		MiMammal-E-R	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNNNNNNNCATAGTGAGGTATCTAATCTCAGTTTG
		MiMimml-B-F	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNNNNNNGGGTTGGTAAATTCGTGCCAGC
		MiMimml-B-R	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNNNNNNNCATAGTGGGTATCTAATCCCGATTG
両生類	16S rRNA	gFrog-U-F	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNNNNNNNAGACCCCATGGAGCTTHAAAC
		gFrog-U-R	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNNNNNNATTGCGCTGTATCCCYAGG
	12S rRNA	gSalamander-U-F	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNNNNNNCACCGGGTATACGAGARAC
		gSalamander-U-R	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNNNNNNGCACCGCAAGTCCCTTGAG
爬虫類	16S rRNA	gTurtles-U-F	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTGAGGYCYACCTGTCTCTTAC
		gTurtles-U-R	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTTGATCAADTATATTGGATCRITTTGC
	16S rRNA	gSnake-U-F	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNNNNNNTTGTAGACCHGTATGAAAGG
		gSnake-U-R	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNNNNNNGGTGCTAAACCTTCTTTTTG
昆虫類	16S rRNA	gInsect-U-F	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNNNNNNGATAGAAACCAACCTGGCT
		gInsect-U-R	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNNNNNNGACGAGAAGACCCATA
鳥類	16S rRNA	gBird-U-F	ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNNNNNNCAAGTATTGAAGGTGATG
		gBird-U-R	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTNNNNNNCCCTGGGGTAGCTTGG

### ■どのような結果が得られるか

DNA 配列の分析結果で検出された全種に対して、以下の項目がリストアップされる。

- ・データベースの配列と比較して相同性（一致度）が高い生物の種名
- ・リード数（配列決定が成功した DNA の数）

■ さらに詳細な WEB 情報

- ・ 次世代シーケンサーの DNA 配列決定の原理

[https://jp.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/apac/japan/documents/pdf/2013\\_illumina\\_techsupport\\_session19.pdf](https://jp.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/apac/japan/documents/pdf/2013_illumina_techsupport_session19.pdf)

- ・ DNA バーコーディングについて：日本バーコードオブライフ・イニシアティブ (JBOLI)

<http://www.jboli.org/>

- ・ バーコードオブライフデータを用いた生物種同定システム

<http://www.gbif.jp/bol/>

- ・ 相同性検索ツール：BLAST

<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>