

バイオ実験キット Dr.ジーンシリーズ

Dr.ジーン 7
植物多型解析PCRキット

取扱説明書 第3版

株式会社ニッポンジーン

富士フイルム和光純薬株式会社

目次

1. 本キットについて	2
2. キット内容	
1) キット構成 (6 班分)	3
2) キット以外に必要なもの	4
3. 使用上の注意	5
4. 実験準備	
1) 氷の準備	6
2) ウォーターバスの準備	6
3) フロートの準備	6
4) 電気泳動の準備	7
5. 実験の流れ	9
6. 実験プロトコル	10
1) 実験をはじめる前に	11
2) 実験操作	12
7. データの解析	19
8. 廃棄物の処理	21

1. 本キットについて

本キットは、「サンプルから DNA を抽出」、「Polymerase chain reaction (PCR) 法により植物の特定の遺伝子領域を増幅」、「増幅した DNA 断片をアガロースゲル電気泳動により確認」といった実際に大学や企業・研究所のラボで行われている操作を実習しながら、植物の種類の違いと遺伝子の関係を遺伝子レベルで調べることを目的としています。

植物は、進化の過程や人為的改良のため多様性を持っています。同一種内の個体間にある形質や形態について多様性の存在する状態を多形現象といいます。多型現象が遺伝的差によって生じる場合を遺伝的多型 (genetic polymorphism) といいます。遺伝的多型には、いろいろな種類が知られていますが、本キットでは植物の葉緑体 DNA 内に存在する特定遺伝子領域 (trnH 遺伝子、psbA 遺伝子間のスペーサー領域) の多型を知ることができます。増幅される塩基配列に欠失や挿入などがある場合、PCR で増幅される DNA 断片の長さ (塩基数) が異なります。本キットでは、この違いを電気泳動で確認することができます。

PCR 反応は、一般的にサーマルサイクラーと呼ばれる装置を使って行います。本キットは装置を使つての PCR はもちろんですが、手動で PCR を行うこともできます。

本キットにはアガロースゲル電気泳動を行うための試薬は付いておりません。

電気泳動を行うためには、別売の「Dr.ジーン 9 アガロースゲル電気泳動セット」をご購入ください。「Dr.ジーン 9 アガロースゲル電気泳動セット」は、発がん物質を含まない「CLEAR STAIN Blue」という染色試薬を用いています。核酸は青色に染まり、安全に目視での観察ができます。(UV イルミネーター等特別な装置は必要ありません。)

本キットで増幅する領域

一般的に真核生物には核が存在し、核の内部に染色体 DNA があります。真核生物である植物も同様に核内に染色体 DNA を持っています。しかし、染色体 DNA とは別に、植物がもつ葉緑体の内部には「葉緑体 DNA (chloroplast DNA)」と呼ばれる DNA が存在しています。この葉緑体 DNA は、葉緑体の維持や機能発現に必要な遺伝子がコードされています。本キットでは、この葉緑体 DNA 内に存在する trnH 遺伝子と psbA 遺伝子の間のスペーサー領域 (発現する遺伝子間に存在する、発現しない領域) を PCR 反応により増幅し検出します。trnH 遺伝子はヒスチジン tRNA 遺伝子、psbA 遺伝子は光合成に関する遺伝子を表しています。

2. キット内容

1) キット構成(6 班分)

内容	容量	数量	保存	チェック
コントロール DNA	15 μ l	6 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
プライマー-Fw	15 μ l	6 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
プライマー-Rv	15 μ l	6 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
PCR バッファー	30 μ l	6 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
dNTP	20 μ l	6 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
<i>Taq</i> ポリメラーゼ	15 μ l	6 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
マスターMix 用 H ₂ O	135 μ l	6 本	室温	<input type="checkbox"/>
抽出バッファー	200 μ l	24 本	室温	<input type="checkbox"/>
希釈用 H ₂ O	500 μ l	24 本	室温	<input type="checkbox"/>
PCR チューブ	6 本×8 連	1 袋	室温	<input type="checkbox"/>
チューブ立て	—	6 箱	室温	<input type="checkbox"/>
フロート	—	6 箱	室温	<input type="checkbox"/>
サンプルマッシャー	10 本×1 袋	3 袋	室温	<input type="checkbox"/>

※ 本キットは保存温度の異なる試薬で構成されています。必ずそれぞれ指定の温度で保管してください。

※ サンプルマッシャーは右図のようなものです。



2) キット以外に必要なもの

	補足	チェック
マイクロピペット：～20 μl 用	～200 μl 用もあると便利ですが、なくても実験できます。	<input type="checkbox"/>
マイクロピペット用チップ	オートクレーブ滅菌済が望ましいです。	<input type="checkbox"/>
ウォーターバス 3 台	電気ポットでの代用が可能です。 3 台異なる温度で使用します。	<input type="checkbox"/>
氷、及び氷を入れる容器	各班 1 つ以上ずつが望ましいです。	<input type="checkbox"/>
タイマー	手動 PCR 反応時に使用します。	<input type="checkbox"/>
油性ペン	極細が便利です。記名に使用します。	<input type="checkbox"/>
滅菌用エタノール（70%程度）	実験台を拭く際に使用します。	<input type="checkbox"/>
廃棄チップ入れ	使用済みチップを入れます。 ビーカーや半分に切ったペットボトルでも代用が可能です。	<input type="checkbox"/>
植物サンプル	実験前に採集してください。 野菜は結果が出やすいです。	<input type="checkbox"/>
割りばし	手動 PCR を行う際に便利です。ピンセットでも代用できます。	<input type="checkbox"/>
電気泳動に必要な試薬 (Dr.ジーン 9 アガロースゲル電気泳動セット)	アガロース、泳動用バッファー、マーカー DNA、ローディングバッファー、核酸染色用試薬が必要です。	<input type="checkbox"/>
電気泳動装置一式 (電気泳動槽、パワーサプライ、ゲル作製台、ゲルトレイ、コーム)	「Dr. ジーン 9 アガロースゲル電気泳動セット」は MARINE23ST(wako #298-35271) の使用を想定して作られています。Mupid-2plus などの他の小型電気泳動装置でも使用できます。電気泳動の際は感電しないように十分注意してください。	<input type="checkbox"/>

※ 本キットには PCR 反応後の電気泳動を行うための試薬は付いておりません。別売りの、「Dr.ジーン 9 アガロースゲル電気泳動セット」(1 Kit) で本キット (1 Kit) には必要な電気泳動試薬がそろっています。

3. 使用上の注意

- ◆ 本品は試験研究用試薬ですので、医薬品、その他の目的にはご使用できません。また、試薬についての基本的な知識を十分に理解した上で使用してください。
- ◆ 本品の取扱いは、マニュアルの記載通りに行ってください。マニュアルの記載内容と異なった取り扱いによるトラブル、事故につきましては、弊社では責任を負いかねます。
- ◆ 本品の仕様は、ご使用になったお客様のご意見等を参考に予告なく変更されることがあります。
- ◆ お湯を使用します。火傷には充分注意してください。

4. 実験準備

以下の操作はあらかじめ実験を指導する方々が行ってください。
時間に余裕がある場合は学生が行ってもかまいません。

1) 氷の準備



可能であれば各班の分を準備します。
氷が大きい場合は氷中にチューブを差し込むことができるサイズに砕いてください。
氷水を作ります。氷が少量しか用意できない場合は、水を多くし、フロートでチューブを浮かべて使用してください。

実験中に氷が溶けないように注意してください。

2) ウォーターバスの準備

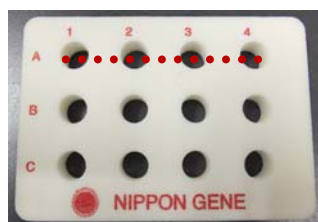


ウォーターバス、または、ポットに 94~98℃、52℃、72℃のお湯を準備します。94~98℃は電気ポットを使用すると簡単です。(94~98℃に設定ができない場合があります。沸騰させ蓋を開けておくだけで反応に必要な温度は充分保たれます。この場合、実験中に再沸騰が必要です。) 実験中、お湯の温度は必ず一定に保ってください。温度が変化すると実験はうまくいきません。

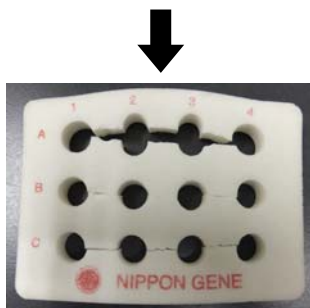
火傷には充分注意してください。

手動 PCR を行わない場合、サーマルサイクラーをご利用ください。機器によっては本マニュアルの PCR 条件では増幅しにくい場合があります。事前に予備実験を行うことをお勧めします。

3) フロートの準備



付属のフロートに点線のようにカッターで切り込みを入れ、下の図の状態にします。手動 PCR を行う際、8 連の PCR チューブを差し込み使用します。切り込みが入っていても 1.5 ml チューブは使用できます。



4) 電気泳動の準備

必要な試薬

電気泳動に必要な試薬・装置は以下の通りです。

1 班あたり 6 レーン (6 ウェル) 使用します。6 班で 1.5%アガロースゲル (12 ウェル) を 3 枚使用します。

	必要数	
電気泳動装置 MARINE23ST (wako#298-35271)	3 台 / 6 班	<input type="checkbox"/>
電気泳動用試薬 Dr.ジーン 9 アガロースゲル電気泳動セット (ニッポンジーン#315-08481)	1 set / 6 班	<input type="checkbox"/>

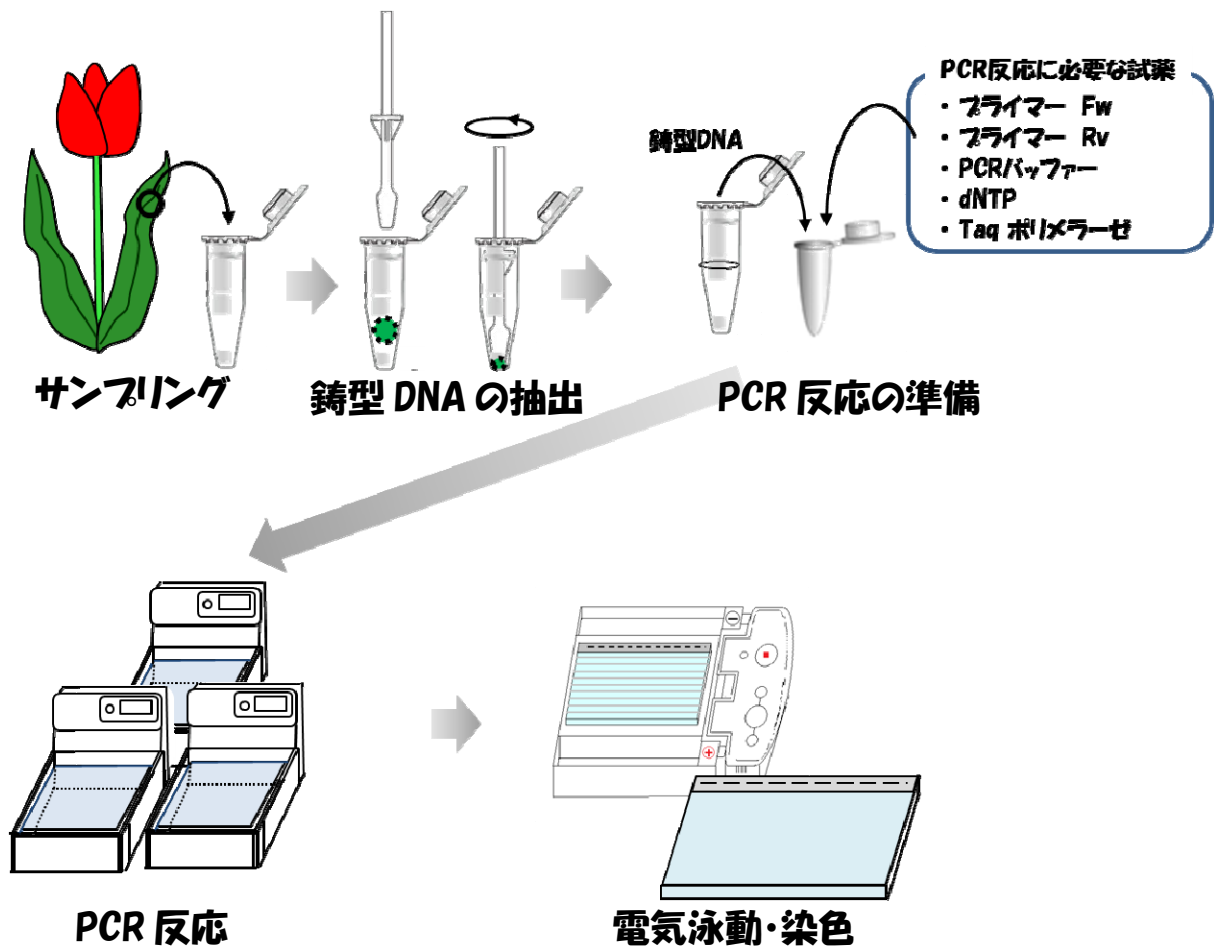
※ 「Dr.ジーン 9 アガロースゲル電気泳動セット」のキット構成は単品でもご購入になれます。詳しくは、ニッポンジーンのホームページより、Dr.ジーン 9 取扱い説明書をご参照ください。

試薬の調製

詳しくは、「Dr. ジーン 9 アガロースゲル電気泳動セット」の取扱説明書をご参照ください。詳細な準備方法が記載されています。

	必要量	
1.5%アガロースゲル	L サイズゲル(12 ウェル) 3 枚 / 6 班	<input type="checkbox"/>
1×TAE	3L / 6 班	<input type="checkbox"/>
染色液	1200 ml / 6 班	<input type="checkbox"/>

5. 実験の流れ



植物は、進化の過程や人為的改良のため多様性を持っています。同一種内の個体間にも多様性（多型現象）が存在します。多型現象が遺伝的差によって生じる場合を遺伝的多型（genetic polymorphism）といいます。

本実験では、サンプリングした植物より植物の DNA を抽出します。この抽出した DNA を PCR 反応の鋳型 DNA とし、植物の DNA の特定の領域を PCR 法によって増幅します。植物の種類により PCR で増幅される DNA 断片の長さ（塩基数）が異なります。これをアガロースゲル電気泳動で分離すると、バンドの有無、あるいはバンドのパターンなどに差が生じます。この差を利用して DNA 多型を検出します。

コントロール DNA として、ホウレン草の DNA を使用しています。ホウレン草の結果と採集した植物の結果などを比較してみましょう。

6. 実験プロトコル

	内容	温度	時間
<u>実験準備</u>			
<input type="checkbox"/>	必要なものがそろっているか確認	室温	5分
<input type="checkbox"/>	チューブ、プレートへの記名、準備		5分
<input type="checkbox"/>	試薬の分注	氷水上	10分
<u>植物 DNA の抽出</u>			
<input type="checkbox"/>	破碎	室温	5分
<input type="checkbox"/>	希釈・分注		5分
<u>マスターMix.の調製</u>			
<input type="checkbox"/>	調製	氷水上	5分
<input type="checkbox"/>	分注		10分
<u>PCR 反応</u>			
<input type="checkbox"/>	PCR 反応	室温	33分～40分
<u>電気泳動</u>			
<input type="checkbox"/>	サンプルのアプライ	室温	10分
<input type="checkbox"/>	電気泳動		30分
<u>染色・脱色</u>			
<input type="checkbox"/>	染色	室温	10分
<input type="checkbox"/>	脱色	37°C	15分～一晩
<u>考察</u>		室温	—

1) 実験をはじめる前に

実験を行う際は、実験室の窓及び扉は閉めてください。

- ①石鹸で手を洗います。
- ②ティッシュペーパーやペーパータオル等に滅菌用 70%エタノールを含ませ、実験台を拭きます。
- ③以下の試薬が実験台にあるか確認してください。(一つの班に必要な試薬です。) 一つの班で、2種類の植物サンプルを使用します。

内容 (省略名)	容量	数量	保存	チェック
コントロール DNA (コントロール)	15 μ l	1 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
プライマー-Fw (Fw)	15 μ l	1 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
プライマー-Rv (Rv)	15 μ l	1 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
PCR バッファー	30 μ l	1 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
dNTP	20 μ l	1 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
<i>Taq</i> ポリメラーゼ	15 μ l	1 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
マスターMix 用 H ₂ O (マスターMix)	135 μ l	1 本	-20°C	<input type="checkbox"/>
抽出バッファー (抽出 S)	200 μ l	2 本	室温	<input type="checkbox"/>
希釈用 H ₂ O (希釈 S)	500 μ l	2 本	室温	<input type="checkbox"/>
PCR チューブ	—	1 本(8 連)	室温	<input type="checkbox"/>
チューブ立て	—	1 個	室温	<input type="checkbox"/>
フロート	—	1 個	室温	<input type="checkbox"/>
サンプルマッシャー	—	2 本	室温	<input type="checkbox"/>

実験操作における注意点

チップは使い捨てです。

一度チューブ内へ入れたチップは捨て、毎回新しいチップを使用してください。

コンタミネーションを防止します。

コンタミネーションとは、不必要なものが混入することを意味します。

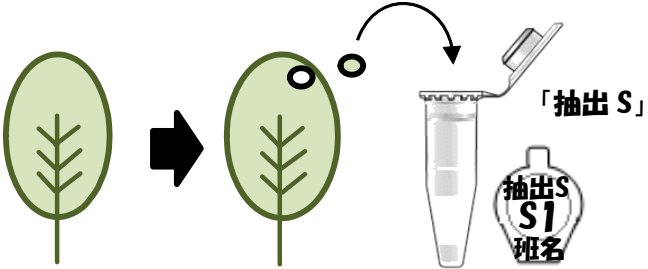
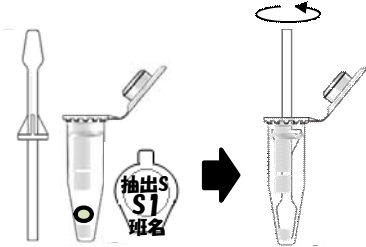
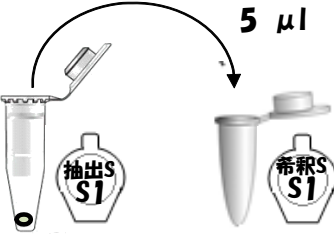
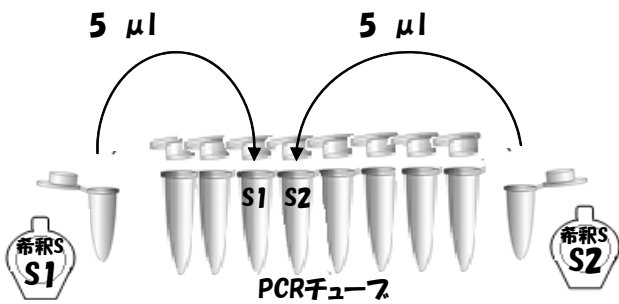
PCR 反応は微量な鋳型 DNA でも反応がすすみます。二種類のサンプルの DNA が混ざると二種類の植物の DNA が同時に増幅します。

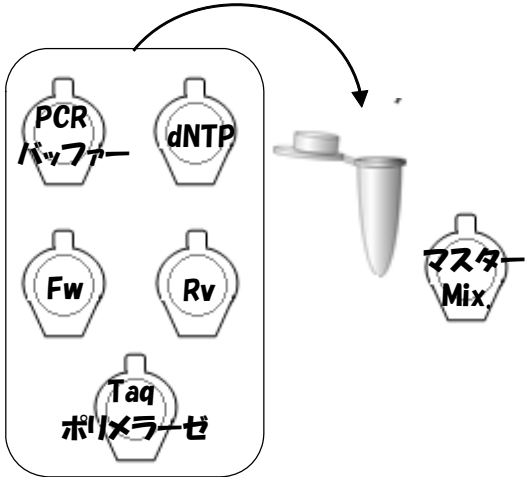
2) 実験操作

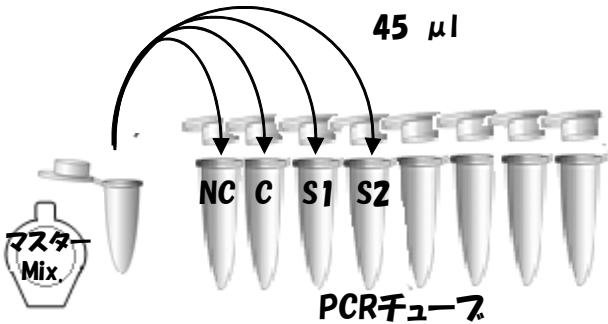
実験手順	注意点
<p><実験の準備></p>	
<p>各チューブにラベル名を記入する</p>	
<p>1. 以下のチューブ類に油性ペンで名前、ラベルを書きます。</p> <p>①「抽出バッファ（抽出 S）」チューブ、「希釈用 H₂O（希釈 S）」チューブ</p> <p>「S1」、「S2」とそれぞれのチューブに記入します。</p> <div data-bbox="343 705 933 884" style="text-align: center;"> </div> <p>②PCR チューブ</p> <p>「NC」（ネガティブコントロール）、「C」（コントロール）、「S1」、「S2」、と記入します。</p> <div data-bbox="375 1052 813 1243" style="text-align: center;"> </div> <p>以降、本マニュアル中では「S」「C」「NC」と表します。</p>	<p>名前、班名等を記入してください。</p> <p>PCR チューブの蓋は文字が消えやすいため、必ず側面にも記入してください。</p> <div data-bbox="1204 1041 1284 1232" style="text-align: center;"> </div>
<p>試薬の分注</p>	
<p>2. 植物サンプルを抽出する前に、コントロール実験用の鋳型 DNA を分注します。（*1）「希釈用 H₂O（希釈 S）」チューブ「S1」より水を 5 μl とり、「PCR チューブ」の「NC」へ入れます。</p> <p>「コントロール DNA（コントロール）」のチューブには植物 DNA が入っています。チューブより植物 DNA の溶液を 5 μl とり、「PCR チューブ」の「C」へ入れます。</p> <div data-bbox="406 1680 981 1915" style="text-align: center;"> </div>	<p>PCR 反応の鋳型となります。</p>

(*1) 「NC」（ネガティブコントロール）では、DNA が混入していない水を PCR 反応に用いることで、調製する反応液中に他の DNA が混入していないか確認するためにおこないます。

「C」（ポジティブコントロール）では、PCR 反応が成立することが分かっている DNA を鋳型に PCR 反応を行い、実験が成立していることを確認するためにおこないます。

実験手順	注意点
＜植物 DNA の抽出＞	
破碎	
<p>3. 採集した植物サンプルを水道水で軽くゆすぎ、土などを除きます。水気をふきとり、5 mm 角程度に切り取ります。穴あけパンチを使用すると便利です。切り取った植物片を「抽出 S」チューブへ入れます。</p>  <p>4. 「サンプルマッシャー」を用意し、植物片をすりつぶします。溶液に色が付く程度に破碎が終わったら、植物片をサンプルマッシャーでチューブの奥へ押し込みます。</p> 	<p>使用するはさみや、穴あけパンチの刃さを 70%エタノールをしみこませたペーパータオル等でよくふき取ってください。</p> <p>「S1」、「S2」のチューブに入れた植物名をノートに記録しましょう。</p> <p>1 サンプルにつき新しいサンプルマッシャーを使用してください。コンタミネーションを防ぎます。</p>
希釈・分注	
<p>5. 破碎した「抽出 S」チューブより、植物片をとらないように上の方の破碎液を「希釈 S」チューブへ 5μl 入れ、よく混和します。</p>  <p>6. 希釈・混和した「希釈 S」チューブの溶液を「PCR チューブ」に 5μl 入れられます。</p> 	<p>PCR 反応の鑄型となります。</p> <p>チューブをはじいて混ぜるタッピングや、転倒混和により混和します。チューブを激しく振っても構いません。ボルテックスがある場合はボルテックスを使用して混和します。</p> <p>「PCR チューブ」は蓋をしめ、氷水上においておきます。</p>

＜マスターMix(PCR 反応液)の調製＞																												
<p>7. 以下の試薬を氷上に置き融解していることを確認します。 マスターMix 用を調製します。</p> <p>①マスターMix ②dNTP ③PCR バッファー ④Fw ⑤Rv ⑥ <i>Taq</i> ポリメラーゼ</p> <p>8. ①「マスターMix」のチューブには 4.5 反応分の調製に必要な量(135 μl)の水が入っています。4.5 反応分のマスターMix をまとめて調製します。</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>マスター Mix</th> <th>1 反応</th> <th>4 反応+0.5 反応</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>①H₂O</td> <td>30 μl</td> <td>135 μl</td> </tr> <tr> <td>②dNTP</td> <td>4 μl</td> <td>18 μl</td> </tr> <tr> <td>③PCR バッファー</td> <td>5 μl</td> <td>22.5 μl</td> </tr> <tr> <td>④プライマー-Fw</td> <td>2 μl</td> <td>9 μl</td> </tr> <tr> <td>⑤プライマー-Rv</td> <td>2 μl</td> <td>9 μl</td> </tr> <tr> <td>⑥ <i>Taq</i> ポリメラーゼ</td> <td>2 μl</td> <td>9 μl</td> </tr> <tr> <td>鋳型 DNA</td> <td>5 μl</td> <td>(別途添加)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>50 μl</td> <td>225 μl</td> </tr> </tbody> </table> <p>①「マスターMix」のチューブを氷上に置き、②～⑤をそれぞれ添加します。</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>最後に⑥ <i>Taq</i> ポリメラーゼを添加します。 全ての試薬を添加し終えたら、ボルテックスで充分混和します。 これで、マスターMix の完成です。</p>	マスター Mix	1 反応	4 反応+0.5 反応	①H ₂ O	30 μ l	135 μ l	②dNTP	4 μ l	18 μ l	③PCR バッファー	5 μ l	22.5 μ l	④プライマー-Fw	2 μ l	9 μ l	⑤プライマー-Rv	2 μ l	9 μ l	⑥ <i>Taq</i> ポリメラーゼ	2 μ l	9 μ l	鋳型 DNA	5 μ l	(別途添加)		50 μ l	225 μ l	<p>氷上で操作してください。</p> <p>マスターMix とは、PCR 反応に必要な試薬を調製した PCR 反応液です。</p> <p>鋳型 DNA は、実験操作 2、実験操作 6. で PCR チューブへ分取しています。</p> <p>ボルテックスの使用をお勧めします。ボルテックスは振動を利用して溶液を攪拌する装置です。</p>
マスター Mix	1 反応	4 反応+0.5 反応																										
①H ₂ O	30 μ l	135 μ l																										
②dNTP	4 μ l	18 μ l																										
③PCR バッファー	5 μ l	22.5 μ l																										
④プライマー-Fw	2 μ l	9 μ l																										
⑤プライマー-Rv	2 μ l	9 μ l																										
⑥ <i>Taq</i> ポリメラーゼ	2 μ l	9 μ l																										
鋳型 DNA	5 μ l	(別途添加)																										
	50 μ l	225 μ l																										

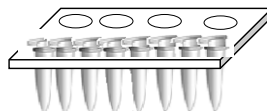
＜マスターMix の分注＞		
<p>9.</p>	<p>実験操作 6. で 5 μl ずつ鋳型 DNA を入れた「PCR チューブ」に、実験操作 8. 調製した「マスターMix」を 45 μl ずついれます。 チップは操作ごとに新しいチップを使用します。 添加後、ピペッティングでよく混和します。</p> 	<p>氷上で操作してください。</p> <p>「NC」に DNA が混入しないよう、「NC」から先に添加します。次に、「S1」、「S2」、「C」の順番で添加します。</p>

<PCR 反応> (A) 手動の場合 (B) 装置使用の場合

(A) 手動 PCR の場合

10. 「PCR チューブ」の先がフロートより出ていること、蓋がしっかり閉まっていることを確認してください。

以下の方法で手動 PCR を行います。



①94~98℃ 2分

②94~98℃ 10秒間

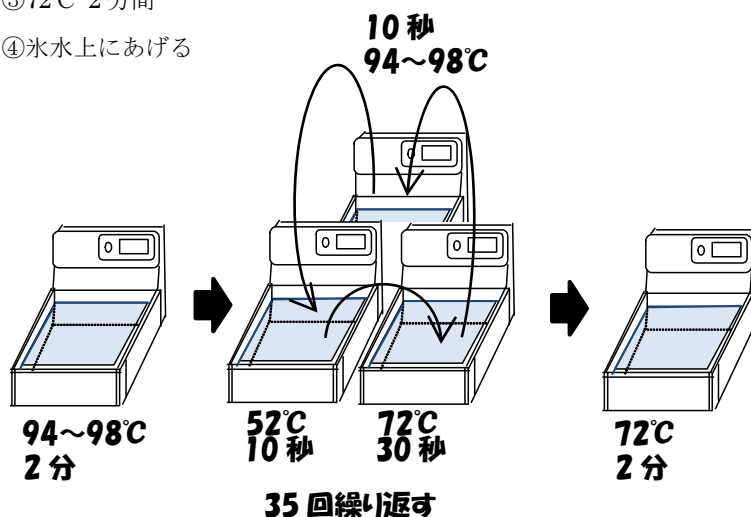
52℃ 10秒間

72℃ 30秒間

②の操作を 35 回繰り返す

③72℃ 2分間

④氷水にあげる



手動 PCR では、

a. タイマーで時間をカウントする人

b. チューブをフロートごとに持ち上げ移動させる人

c. ②の操作回数をカウントする人

d. お湯の温度が一定か確認する人

各班役割分担すると操作が楽です。

(B) サーマルサイクラー使用の場合

10. サーマルサイクラーを以下のプログラムに設定します。

94℃ 2分

94℃ 10秒間

52℃ 10秒間

72℃ 30秒間

35 cycles

72℃ 2分間

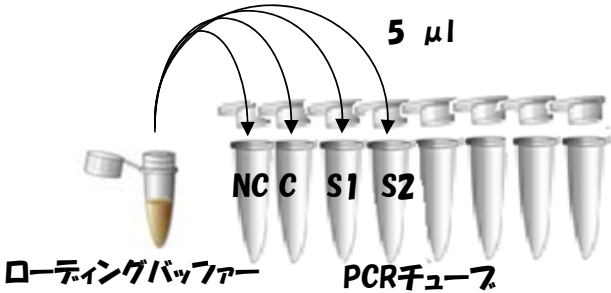
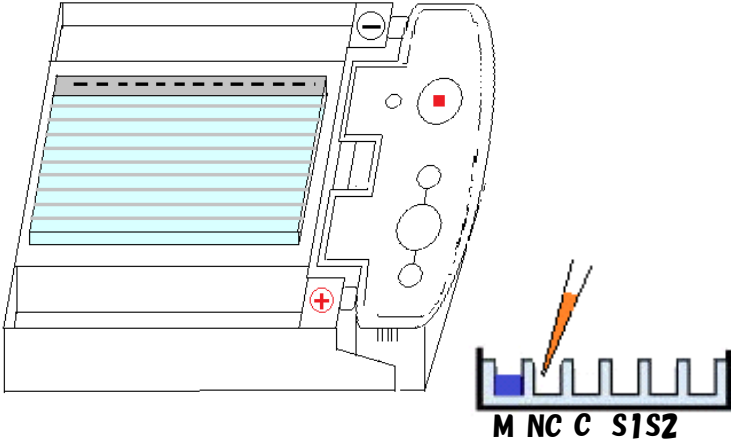
4℃ ∞

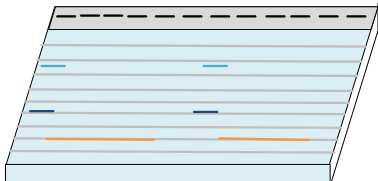
「PCR チューブ」をサーマルサイクラーにセットしスタートします。

サーマルサイクラーを使用する場合、プログラムの熱変性温度の設定を 94℃にします。

手動 PCR と温度条件が異なりますのでご注意ください。

ここからは、2班で1枚のアガロースゲル(12 ウェル)を使用します。電気泳動の操作について詳細は、「Dr.ジーン 9 アガロースゲル電気泳動セット」取扱説明書をご参照ください。

＜電気泳動＞	
電気泳動 (Dr.ジーン 9 の使用を想定しています。他社の試薬を使用する場合は適宜変更してください。)	
<p>11. 反応液の入った「PCR チューブ」にローディングバッファーを 5 μl ずつ加え、ピペティングを数回行い、反応液を混合します。</p>	 <p style="text-align: center;">ローディングバッファー PCRチューブ</p>
<p>12. あらかじめ作製しておいた泳動用バッファー (1×TAE) を泳動槽に約 230 ml (目安) 注ぎ、1.5%アガロースゲル(12 ウェル)を泳動槽に置きます。<u>ゲルはウェル (コームで作った DNA サンプルを入れるための穴) がある方がマイナス (-) 極側になるようにセットしてください。</u></p>	<p>このとき、チップの先をゲルに突き通さないようにちゅういししてください。</p>
<p>13. マーカーDNA を 5 μl、PCR チューブからサンプルを 10 μl ずつウェルにアプライします。</p>	

14.	<p>泳動槽に蓋をして、100V で約 30～40 分、あるいは 50V で 60 分～90 分程泳動します。泳動時間は使用する電気泳動槽によって異なります。低い電圧で流すと時間はかかりますが、きれいな泳動像が得られます。<u>電気泳動中は泳動槽のバッファー内に手や指などを入れないでください。感電する恐れがあり危険です。</u></p>  <p>オレンジ色の色素がゲルの末端(+極側)から 2 cm 程度まできたら、泳動を止めてください。</p>	<p>電気が流れると電極の白金線より泡が発生します。</p>
染色・脱色		
15.	<p>ゲルをゲルトレイからはずし、染色用容器(タッパーなど)へ入れます。以下に「Dr. ジーン 9 アガロースゲル電気泳動セット」の染色方法の一例を示します。</p> <p>染色例)</p> <p>①染色液に 10 分間つけます。</p> <p>②染色液から取り出し、60℃以下のお湯につけ脱色します。</p> <p>約 15 分程度でバンドを確認することができます。</p>	<p><u>アガロースゲルは壊れやすいので、取り扱いには十分注意して下さい。</u>熱湯は使わないでください。</p>
16	<p>写真等で記録を残す場合は、2 時間から一晩、常温の水につけます。</p>	<p><u>デジタルカメラよりも、スマートフォン、コピー機をお勧めいたします。</u></p>

7.データの解析

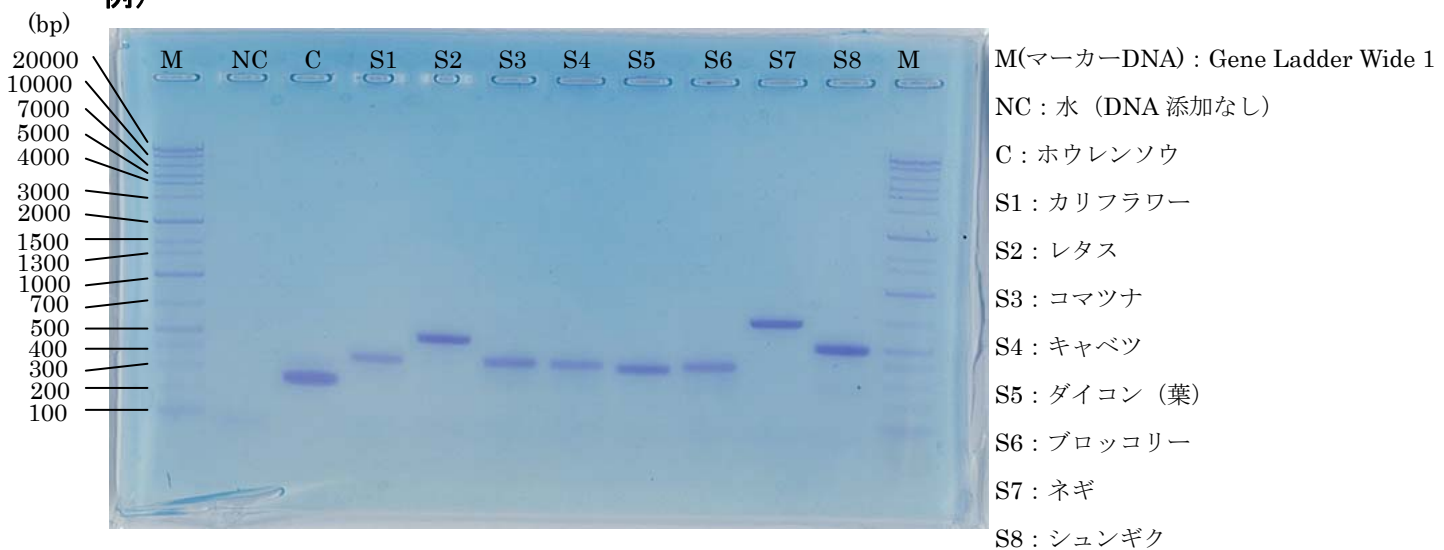
結果の考察

1. サンプルのバンドの塩基数はどれくらいでしたか？*1) (約 bp)
2. サンプルの植物の種類は何ですか？ (名称 :)
(科 :)
(属 :)
3. 電気泳動の結果を他の人と比較してみましょう。
植物による違い、共通点がありますか？

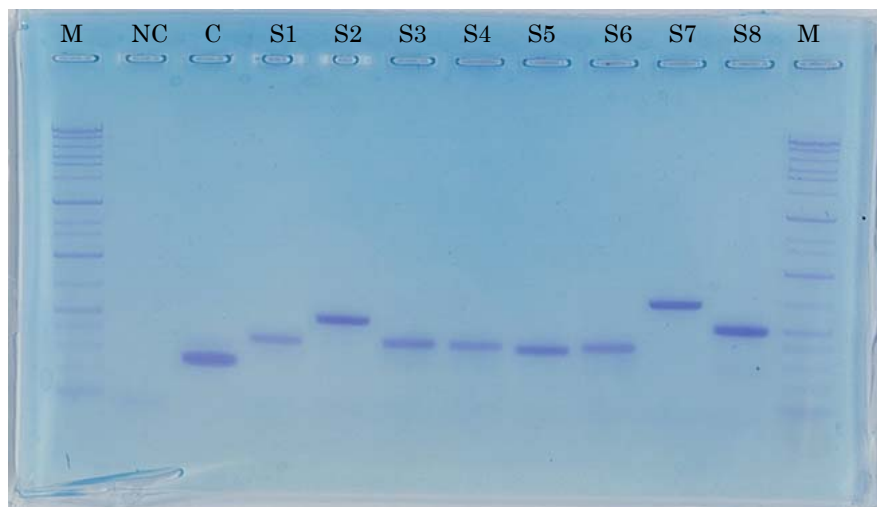
(*1) Dr.ジーン 9 を用いた場合、付属のマーカーDNAは Gene Ladder Wide 1 です。

下の例) を参考にバンドのサイズを確認してください。

例)



考察



M(マーカー-DNA) : Gene Ladder Wide 1

NC : 水 (DNA 添加なし)

C : ホウレンソウ

S1 : カリフラワー

S2 : レタス

S3 : コマツナ

S4 : キャベツ

S5 : ダイコン (葉)

S6 : ブロッコリー

S7 : ネギ

S8 : シュンギク

	およその塩基数(bp)	科	属
ホウレンソウ	250	アカザ科	ホウレンソウ属
カリフラワー	400	アブラナ科	アブラナ属
レタス	500	キク科	アキノノゲシ属
コマツナ	400	アブラナ科	アブラナ属
キャベツ	400	アブラナ科	アブラナ属
ダイコン (葉)	390	アブラナ科	ダイコン属
ブロッコリー	400	アブラナ科	アブラナ属
ネギ	700	ヒガンバナ科	ネギ属
シュンギク	500	キク科	シュンギク属

ブロッコリーとカリフラワーは見た目が似ているため、類縁関係が示唆されます。PCRで増幅した塩基数も同じであり、同じアブラナ科に属します。同様に、ホウレンソウとコマツナも見た目が似ています。しかし、両社はアカザ科およびアブラナ科と異なり、PCRで増幅したサイズも異なる結果となりました。また、コマツナとキャベツ、カリフラワー、ブロッコリーは見た目からは類縁関係は想像できませんが、同じアブラナ科に属しPCRで増幅するサイズも同じになりました。同じアブラナ科ですが、ダイコンはダイコン属に属するため、他のアブラナ科より少し増幅サイズが小さくなりました。また、キャベツとレタスは見た目が似ていますが、レタスはシュンギクと同じキク科に属します。

このように、見た目だけでは類縁関係は判断できない結果が、PCRにより確認することができました。系統樹等を作成し、共通点をみつけてもおもしろいかもしれません。

8. 廃棄物の処理

1) 実験後の培地、器具等の廃棄について

電気泳動バッファー(TAE 廃液)は産業廃棄物として処理してください。

染色液 (CLEAR STAIN Blue と 1×TAE の混合液) は、活性炭に色素を吸着させろ過します。活性炭は可燃物、ろ液(TAE 廃液)は産業廃棄物として処理してください。

アガロースゲルは可燃物として廃棄してください。

製品についてのお問い合わせ先

富士フイルム和光純薬株式会社

フリーダイヤル: 0120-052-099

フリーファックス: 0120-052-806

株式会社ニッポンジーン_

TEL: 076-451-6548

FAX: 076-451-6547

ホームページ: <http://www.nippongene.com/siyaku/>