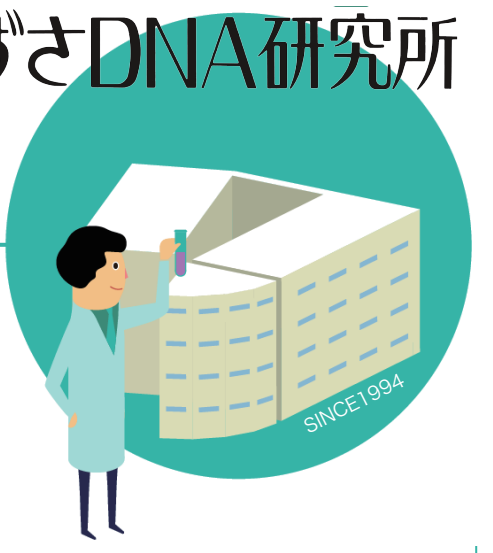
かずさDNA研究所

Development of DNA markers (SNP)



タイトル	**セリ科植物の品種識別［変異解析からSNPマーカーの開発まで］**	
提供試料	● **葉**（ 170検体 ）　□ 種子（　　）	
DNA抽出	□ なし	● **あり**（ ● **磁気ビーズ法**　□ スピンカラム法　□ ダイレクト法 ）
情報解析	□ なし（　　） ● **あり**（ **PCRマーカー設計**　　）	
作業内容	**（1）ddRAD-Seqによる変異解析** 1. DNA抽出 170サンプル ・DNA自動抽出装置oKtopure (LGC Biosearch Technologies)を使用 ・両親系統DNAについて、各10個体をバルク化 2. ddRAD-Seq用ライブラリ作製（制限酵素：PstI - MspI） ・F1品種70サンプル(7品種×10個体)、両親系統10サンプル(10個体バルク)について、それぞれ異なるタグを付与 3. 配列分析 DNBSEQ-G400RSによる100bpのペアエンド分析×１レーン、 5.6億リード、サンプルあたり平均約700万リード　※リード数は目安 4. 情報解析 ・リードの精査（QC、トリミング） ・参照ゲノム配列へのマッピング（参照配列への指定あり） ・SNPsの検出 ＊両親系統間で変異があり、さらにF1系統でヘテロかホモかに関係なく同一系統(各10サンプル)内でDNA型が均一なSNPを抽出 ・品種識別に有効なSNPを50程度選抜 ・候補SNP領域の塩基配列抽出 ・中間報告①	
	（2）SNPマーカー開発［プライマーの設計と確認試験］ 1. SNPプライマーの設計可否確認 2. 中間報告②（マーカーの選定） 3. SNPプライマーの合成［20バリアント］ KASP/**PACE試薬による解析に適したプライマー**を合成します 4. SNPマーカー解析［170サンプル×20バリアント］ PCRおよびDNA型検出は**PACE2.0**を使用し、 IntelliQube (LGC Biosearch Technologies) を用いて実施します。	