

令和7年度有明海漁業振興技術開発事業に係る
ガザミのDNA抽出及びMS-DNA分析業務委託仕様書

- 1 委託内容：ガザミのDNA抽出及びMS-DNAの遺伝子型の決定
- 2 分析検体：県が送付するガザミ検体（エタノール保存）
- 3 分析予定検体数：約6,000検体（漁獲状況等により増減有）
※ガザミ検体は、種苗生産に用いた親ガニ、種苗（約3～10mm）及び漁獲物。
- 4 分析方法：
 - （1）DNA抽出
 - ① エタノールで保存したガザミ検体から、DNAの抽出を行う。
 - ② DNA抽出液は（2）で使用するほか、200 μ lチューブ、1.5mlチューブ、200 μ l PCRプレートの中のいずれかの容器に総DNA質量200ng以上の溶液を入れて保存すること。
 - （2）MS-DNAについて、以下のプライマー（Applied Biosystems社が提供する7塩基のテール配列は付加しない）を用いてPCR反応で目的領域を増幅した後、DNAシーケンサーApplied Biosystems 3730 xl DNA Analyzer を用いて増幅産物のサイズを測定する。その際、サイズスタンダードにはGeneScan™ 600 LIZ Size Standard v2.0（Applied Biosystems社製）を使用する。また、キャピラリー長及びランモジュールについては、長崎県の指示に従う。

<プライマー配列>

PT69（色素VIC）

Forward: 5' -TTATAATGTAGGCGCTCGCTGGAC-3'

Reverse: 5' -CCTTCCTCTGCTGCGTCTCGTC-3'

PT720（色素NED）

Forward: 5' -CAGGGAGGCTGAGACAAGGTGTGT-3'

Reverse: 5' -TCAGTGCGTGGTGTAATCATGTCA-3'

PT322（色素PET）

Forward: 5' -GCCAGTCCACTAGTCGTACGGTCA-3'

Reverse: 5' -ATGGAGACGTGACCGAGATTGCAT-3'

PT659 (色素PET)

Forward: 5' -TCACGGAAGGACTGAATAGAGACG-3'

Reverse: 5' -TTTCTGGCAGTCCTTTTCCTTTCAA-3'

C5 (色素VIC)

Forward: 5' -TGTAGGTAGATAGGTAGGAAGG-3'

Reverse: 5' -ATGAACTGAGCACAGGAG-3'

C6 (色素FAM)

Forward: 5' -CGCTACCTCTACTCATCC-3'

Reverse: 5' -GTGTCTAGTGCGTCCAAC-3'

C13 (色素FAM)

Forward: 5' -CTGTCTGATGAGTGAGGCTAC-3'

Reverse: 5' -TGACCACGAGGAAAGGAG-3'

H11 (色素NED)

Forward: 5' -GCCCTGATACTCGGTGAA-3'

Reverse: 5' -GGAGCAGAGGCAGCAATA-3'

- ・ 遺伝子型の決定については、解析ソフト（株式会社 Applied Biosystems社製 GeneMapper）を用い、検体ごとに行うこと。
- ・ 別途送付するサイズスタンダードのチェック表、もしくは任意の様式にてサイズスタンダードの波形が良好であるかどうか、サイズの設定が正しいかどうかを確認し、確認した結果を成果品として納品すること。
- ・ 分析値（アリアル実測値）は少数点第2位まで記載すること。
- ・ その他、疑問がある場合や詳細は委託者側担当者の指示に従うこと。

5 成果品：

（1）DNA抽出液

- ・ 1 検体につき 1 本。
- ・ 200 μ l チューブ、1.5ml チューブ、200 μ l PCRプレート のいずれかの容器に総DNA質量 200ng以上の溶液を入れて納品すること。
- ・ DNA抽出液を入れた容器には、個々に読み返しが可能な方法で指定されたサンプル番号を付すこと。
- ・ 10/100検体の割合で分光光度計で測定したDNAの濃度 (ng/ μ l) とDNA抽出液の容量 (μ l) をまとめたデータを添付すること。

（2）泳動結果生データ（拡張子が「.fsa」の電子ファイル） 1 式

（3）シーケンス波形データ（拡張子が「.pdf」の電子ファイル） 1 式

（4）遺伝子型決定結果（電子ファイル） 1 式

（5）サイズスタンダードチェック表（電子ファイル） 1 式

なお、（4）遺伝子型決定結果 については、C5、C13、H11、PT659、C6、PT322、PT69、PT720のマーカー順で結果に示すこと。

※（2）～（5）は、電子媒体（DVD-RあるいはCD-R） 正副2部を提出すること。

6 委託者の立ち会い及び作業履歴の保存等：

成果品の品質等について委託者において疑義があると判断した場合、品質の確認を目的として、受託者の事業所において委託者側担当者立ち会いのもと、当該検体又は試験用サンプル等の分析を命じることがある。

なお、同様の目的のため、分析した際の作業履歴、生データ及び日報等の書類等は、最終成果品が検査合格するまでの期間、本業務に係る発注検体分すべてを保存しておくこと。

7 機密の厳守：

受託者は、本業務に関する全ての事項について、本業務の契約期間に関わらず委託者の許可なく第三者に漏らしてはならない。本業務に関する資料の転写又は第三者への閲覧若しくは貸し出しについても、同様に委託者の許可なく行ってはならない。

8 成果品等の利用：

受託者は、本業務に関する全ての事項について、本業務の契約期間に関わらず、委託者の許可なく当該分析検体及びデータを用いた報告書、論文又は宣伝広告等を作成並びに発表してはならない。ただし、具体的な内容発表を伴わない宣伝（例として受注実績のみを記載する等）についてはこの限りではない。

9 知的財産権：

委託者及び受託者は、本業務の遂行に関して、第三者の著作権を含む知的財産権その他いかなる権利をも侵害しないよう万全の注意を払うものとする。

10 納入場所：

長崎県総合水産試験場（栽培漁業科）

〒851-2213 長崎市多以良町 1551-4 電話 095-850-6306

11 納期：

契約締結後、総合水産試験場から親ガニ、種苗（約 3～10mm）及び漁獲物の検体を数回に分けて送付する。

送付する検体に関する「5 成果品（2）～（5）」については、検体到着日の翌日から起算して原則 60 日以内に納品するものとし、成果品（1）を含む全てについては、令和 8 年 2 月 27 日までに完納するものとする。