

# 海洋細菌 DNA塩基配列 決定のためのプライマー設計

物質 環境システム工学科

環境生物学講座

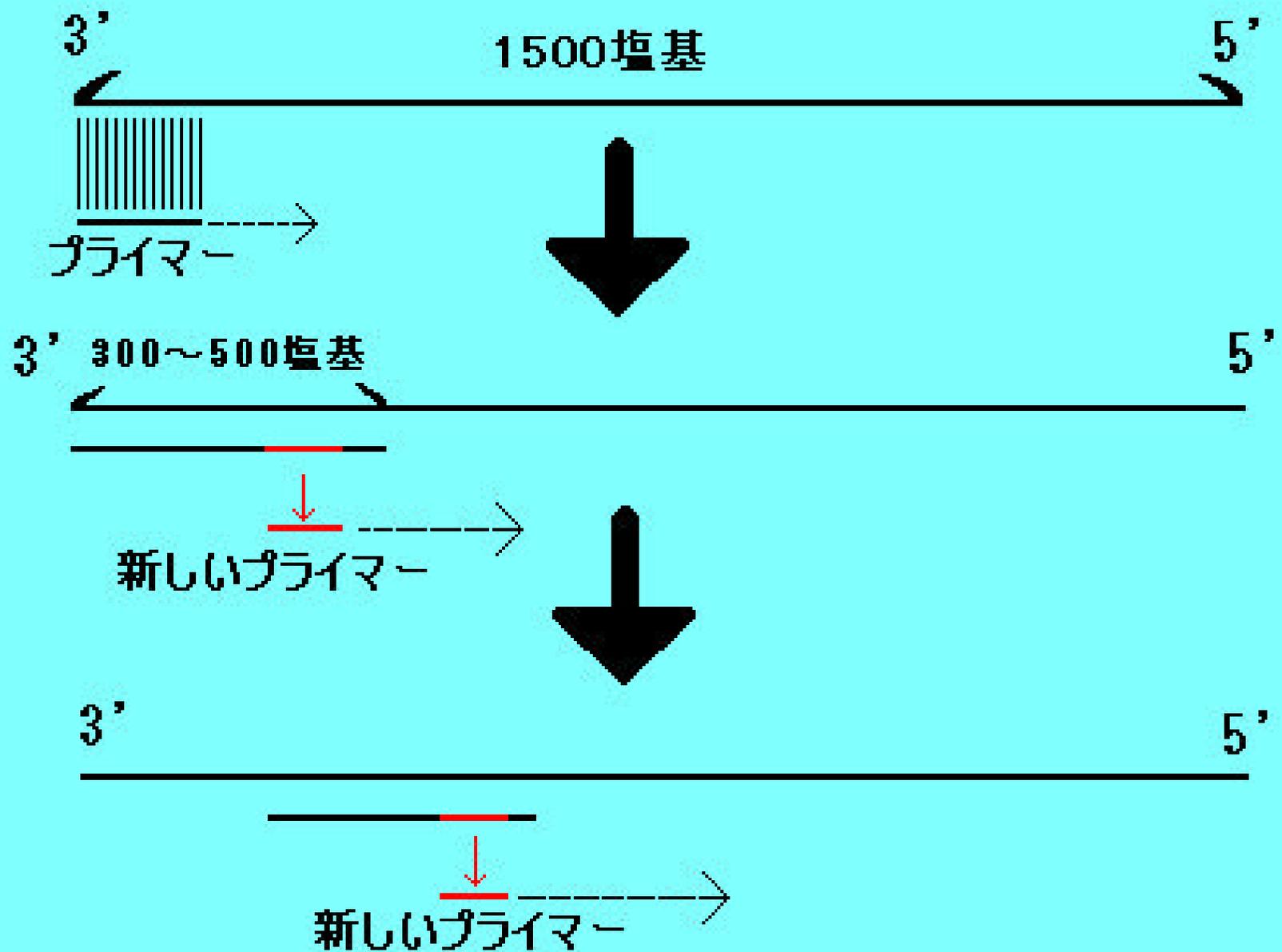
1010053

竹村 尚泰

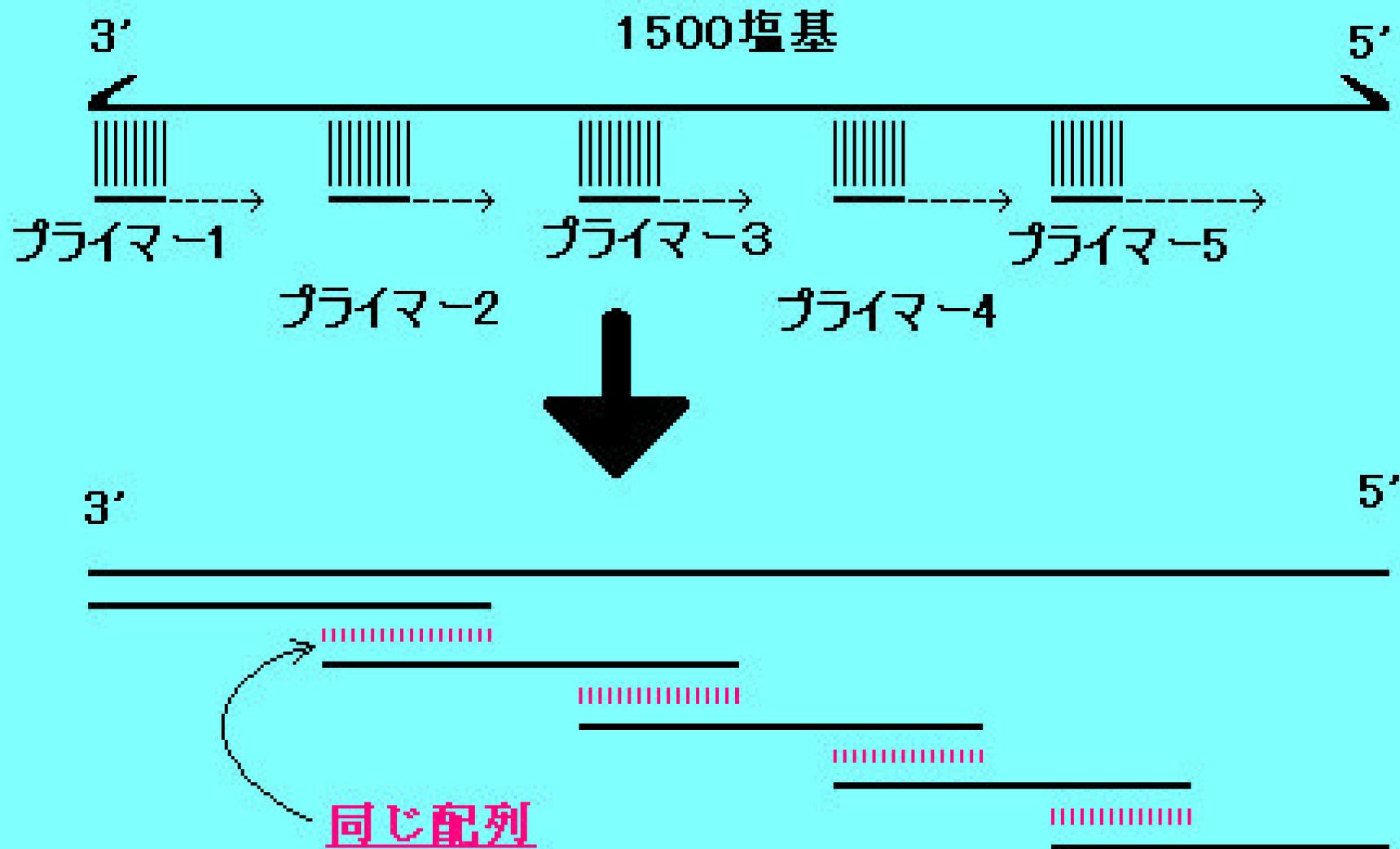
# 目的・内容

- 海洋深層水中にみられる同属の細菌の16S rRNAの遺伝子を決定するときに用いるプライマーの設計
- 全ての原核生物に利用できるプライマーの探索

# 塩基配列決定法



# 考案した塩基配列決定法



# プライマーの設計

1. 海洋細菌の属の推測
2. 推測した属 (シュートアルテロモナス属) の 16SrRNA遺伝子データの収集
3. 最も近縁種と思われる種 (*P. denitrificans*) からランダムに20塩基ほどのDNA配列を抜き出す
4. シュートアルテロモナス属に共通してこのDNA配列があるか検索 (DNASISを利用)

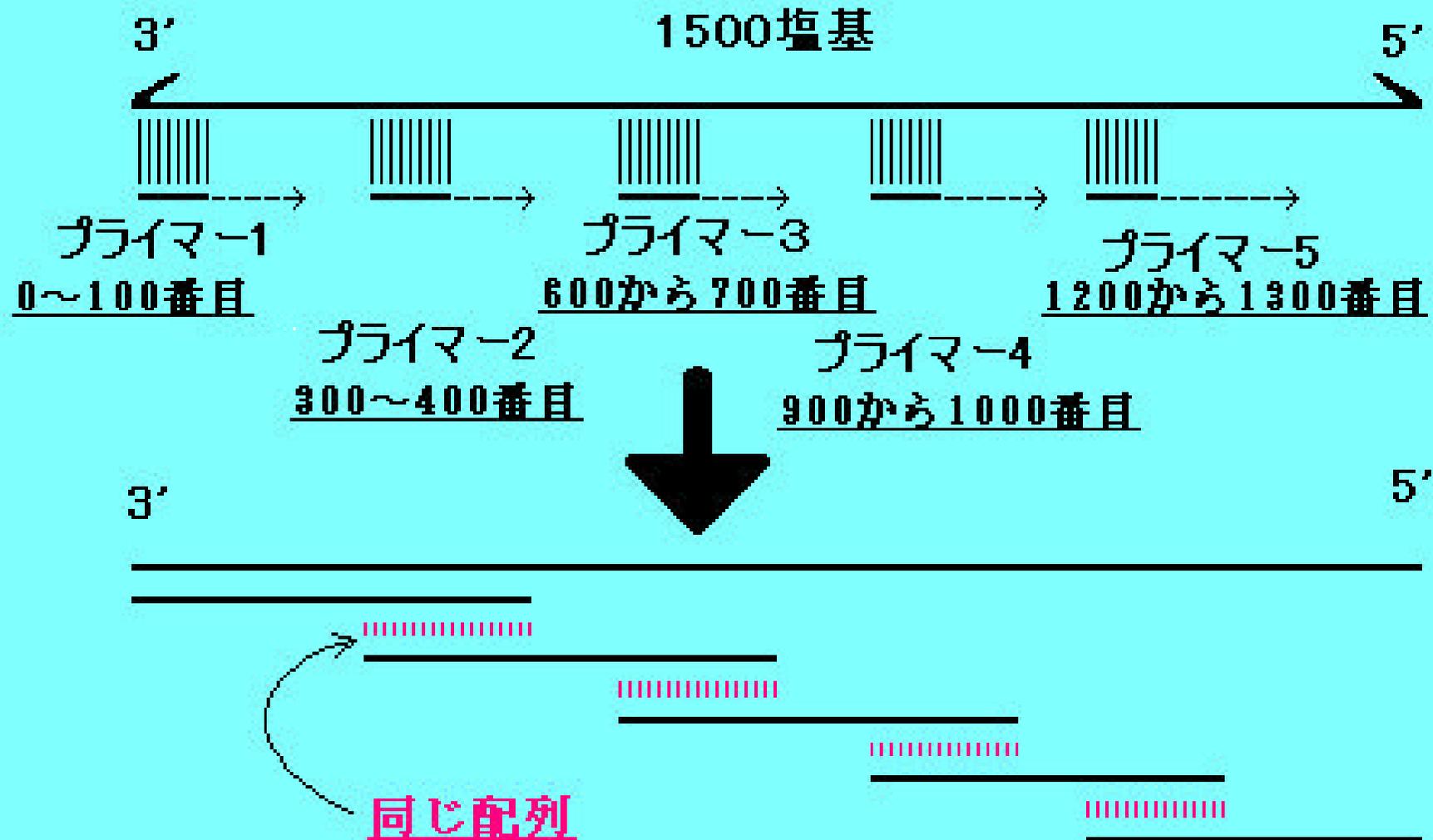
# 結果

- 調べたシュードアルテロモナス属の16種から共通な配列を11箇所見つけることができた



11個のプライマー！

# 塩基配列決定



# 設計したプライマーを用いた実験

- 520P1 (室戸海洋深層水から分離した細菌) のDNA塩基配列決定
- *Pseudoalteromonas denitrificans* のDNA塩基配列決定

# 全ての原核生物に利用できる プライマーの探索

- シュードアルテロモナス属で共通にみられた11個のDNA塩基配列 (プライマー a~ k)が他の属にも存在するか調べる
  1. 様々な属の16S rRNAデータの収集
  2. DNASISを用いて共通配列の有無を調べる

# 結果

- 11個の共通な配列 (プライマー a~ k)のうち、プライマー dの塩基配列が多くの属で発見された



プライマー dは多くの属で  
プライマーとして利用可能！

# まとめ

- プライマーを複数使うことで実験の回数を減らし、時間・経費の削減が可能
- プライマー d を利用することで未知の原核生物の DNA を決定することが可能