

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

1. 委託内容：トラフグのDNA抽出及びMS-DNA分析業務
2. 分析検体：県が送付するトラフグ天然当歳魚及び種苗生産用親魚検体
3. 分析予定検体：890検体(漁獲状況等により増減有)

4. 分析方法

1) DNA抽出

- ①冷凍保存したトラフグ検体(鱭1cm角程度)を長崎県総合水産試験場(長崎市多以良町1551-4)から発送し、DNA抽出を行う。
- ②抽出するDNA溶液の濃度は、40ng/ μ l以上とする。抽出したDNA溶液は2)で使用するほか、1.5mlマイクロチューブに少なくとも100 μ l以上入れて、納品するものとする。

2) MS-DNA分析

MS-DNAについて、以下の11種類のプライマーペアを用い、Multiplex PCR Kit (Qiagen社)を用いて3回のMultiplex PCRで目的領域を増幅した後、DNAシーケンサー(Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer: キャピラリー長36cm、ポリマーはPOP7を使用)を用いて電気泳動を行うこと。その際、サイズスタンダードにはGeneScan 500 LIZ Size Standard (Thermo Fisher Scientific社)を使用するものとする。

なお、プライマーペアには、Thermo Fisher Scientific社のABI Prism 受託合成サービスのDNAフラグメント解析用カスタム蛍光プライマーを利用すること。なお、各フォワードプライマーの5'端は以下のように蛍光標識し、リバースプライマーは、ノンラベルとし、オプションでテイル配列を付けること。

Multiplex A

・fms13 (色素 FAM)

Forward: 5'-TCCTCCATTATCCCAGTTGGT-3'

Reverse: 5'-GGATCATTATAAGATGGTGC-3'

・f178 (色素 PET)

Forward: 5'-TCGTGTGTCCCCATTCTACA-3'

Reverse: 5'-TGTTGGCAATGACGTGACTC-3'

・Cst-7 (色素 VIC)

Forward: 5'-TCCCAGCGGGCAGTAAAAT-3'

Reverse: 5'-GGGAAGTTCATGCCGCTCGTT-3'

- ・ Cst-8 (色素 FAM)

Forward: 5'- TTGACTTGTCTATTTGGAACC-3'

Reverse: 5'- TTTCCCTTGCCACTGTTGCTTG-3'

Multiplex B

- ・ f61 (色素 FAM)

Forward: 5'- TCAACCCAGAACACCACAAA-3'

Reverse: 5'- TACCCCGAATTAGTGCAAGC-3'

- ・ Tru-17 (色素 NED)

Forward: 5'- ATGCATAGGATGAAGGACACT-3'

Reverse: 5'- TGGTTAGCTGCAGGGTTTTAG-3'

- ・ Cst-6 (色素 VIC)

Forward: 5'- GTCCCTCCGGTCCGCTGAAGC-3'

Reverse: 5'- AGGATAGAATAAAGCCCATAA-3'

- ・ f65 (色素 PET)

Forward: 5'- TCAAATCAAGCGCAGACAAC-3'

Reverse: 5'- GTTGCAACATTGTGGACTCG-3'

- ・ f204 (色素 PET)

Forward: 5'- GCACTGGTGCTCACAGAAGA-3'

Reverse: 5'- CAGAAGGGTCCATCACCCT-3'

Multiplex C

- ・ f60 (色素 NED)

Forward: 5'- CTGACCCTAACTTGCCCTGA-3'

Reverse: 5'- CCAGCCATTCACTGATCAAAA-3'

- ・ f160 (色素 PET)

Forward: 5'- GCAGTGTGGGAAGGGATAAAA-3'

Reverse: 5'- TTTACCGCCCTTTGTTTCAC-3'

- ・ 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 納品 :

- (1) DNA抽出液 1検体につき1本

(10/100 検体の割合でDNAの濃度を分光光度計で測定し、その結果を添付すること) 納品物は、200 μ L チューブ、1.5mL チューブ、200 μ L PCR プレートの内いずれかを用いることとし、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。

- (2) 泳動結果生データ (拡張子が「.fsa」の電子ファイル) 1式

※ (2) については電子媒体 (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天然当歳魚及び種苗生産用親魚検体から採取した鰭の検体 9～12 月分を 11 月上旬、12 月上旬、1 月上旬を目処に 3 回に分けて送付する。納期は 3 回に分けて行い、「5 納品 (2) のみ」を検体到着日の翌日から起案して原則 40 日以内に納品するものとし、最終回に「5 納品 (1) ～ (2)」を令和 8 年 3 月 10 日までに完納するものとする。