

ご所属□□□□

氏名□□□□

STR 分析に関する報告書

ロット：6310PA-STR2199

日付：□□□□年□□月□□日（ご報告日）

	所属	氏名
作成者	タカラバイオ株式会社 □□□□部	□□□□
受託責任者	タカラバイオ株式会社 □□□□部	□□□□

目次

1. 概要.....	3
2. 使用試薬.....	3
3. 使用機器.....	3
4. 提供サンプル.....	4
5. 方法と結果.....	4
5.1. 提供 DNA 品質検定	4
5.2. PCR 増幅.....	4
表 1. PCR 条件（1 反応あたり）	4
5.3. シーケンスおよび解析.....	4
5.4. 解析結果.....	4
6. 納品物.....	5

1. 概要

提供ゲノム DNA を用いて、プロメガ社 GenePrint 10 System を使用して、ヒトゲノム内に存在する 10 種類のローカス（9 種の STR ローカス+性別同定のためのアメロゲニン [D21S11, TH01, TPOX, vWA, Amelogenin, CSF1PO, D16S539, D7S820, D13S317 and D5S818]) を対象にした STR 解析を行った。

2. 使用試薬

1) 試薬：

試薬名	メーカー	製品コード
GenePrint 10 System	Promega	B9510
Hi-Di Formamide	Thermo Fisher Scientific	4311320
Qubit dsDNA BR Assay Kit	Thermo Fisher Scientific	Q32853

3. 使用機器

機器名	メーカー	型式
サーマルサイクラー	Thermo Fisher Scientific	9700
DNA シーケンサー	Thermo Fisher Scientific	3730xl
NanoDrop	Thermo Fisher Scientific	2000/2000c
Qubit フルオロメーター	Thermo Fisher Scientific	—

4. 提供サンプル

サンプル ID	依頼書記載名	チューブ記載名
STR2199_01_a	HCT116-1	1
STR2199_02_a	HCT116-2	2

5. 方法と結果

5.1. 提供 DNA 品質検定

提供 DNA の一部をとり、NanoDrop による吸光定量、Qubit dsDNA BR Assay Kit による蛍光定量による品質検定を行った。検定結果は「品質検定結果報告書」(QC folder) を参照。

5.2. PCR 増幅

Qubit dsDNA BR Assay Kit による結果を元に、提供 DNA を滅菌水にて約 10 ng/uL に希釈し、1 μ L を PCR に使用した。positive control はキット添付のヒトゲノム DNA (2800M Control DNA)、negative control は滅菌水を用いた。それぞれについて、表 1 の条件で PCR を行った。

表 1. PCR 条件 (1 反応あたり)

試薬	使用量	反応条件
5 \times Master Mix	5 μ L	96 $^{\circ}$ C : 1 分 (94 $^{\circ}$ C : 10 秒、59 $^{\circ}$ C : 1 分、72 $^{\circ}$ C : 30 秒) \times 30 60 $^{\circ}$ C : 10 分 4 $^{\circ}$ C
5 \times Primer Pair Mix	5 μ L	
Template DNA	1 μ L	
大塚蒸留水	14 μ L	
合計	25 μ L	

5.3. シーケンスおよび解析

2 μ L の PCR 産物を size standard ILS600 および Hi-Di Formamide と混合し、熱変性処理および氷冷を行った。Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer にて泳動し、得られた波形 data は、fsa 形式として保存した (FSA folder)。

得られた波形 data を Gene Mapper software ver. ☐* (Thermo Fisher Scientific) にて解析し、peak 検出および peak sizing を行った。これらの RAW データは csv 形式で保存した (RAW folder)。*Gene Mapper software ver. 5.0 または 6.0

5.4. 解析結果

検出された peak 波形は pdf 形式として GRAPHIC folder に、算出された fragment size は、Excel

形式として TABLE folder に保存した。

ノイズ波形が存在した場合には目視確認によりノイズ波形の削除を行った。編集前の peak 波形および RAW データは末尾に-1 を付加し、編集後（最終データ）は-2 を付加して区別した（GRAPHIC folder）。

6. 納品物

- 1) 本作業報告書
 - 2) USB または WEB 納品デレクトリ
- 各データの説明を以下に示す。

ファイル・ディレクトリ	説明
¥STR***¥	圧縮ファイル解凍後に作成されるフォルダ
FSA	フラグメント波形データ (*.fsa)
RAW	生データ (*.csv) *-1 (編集前) *-2 (編集後、最終データ)
GRAPHIC	画像解析結果 (*.pdf) *-1 (編集前) *-2 (編集後、最終データ)
TABLE	STR 解析結果 (*.xls)
QC	品質検定結果報告書 (*.pdf)

フラグメント解析用フリーソフト

* fsa file は、GeneMapper software またはフリーで提供されている PeakScanner software（ともに Thermo Fisher Scientific）にて閲覧、解析可能なデータ形式です。

以上