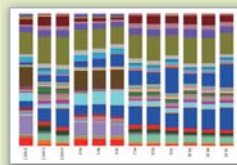


アンプリコンシーケンス解析 サービス比較	試料を送るだけ! 157,000円/8サンプル 納期:20営業日	抽出DNAを送る 125,000円/8サンプル 納期:20営業日	1stPCRまでOK PCR産物を送る 100,000円/8サンプル 納期:20営業日
サンプリング	(お客様) 弊社提供の専用1.5mlチューブに試料を入れ、冷蔵便で送付してください(注1)	(お客様) 抽出したDNAを冷蔵便で送付してください。濃度5ng/μl、液量20μl以上でお願いします。	(お客様) 弊社提供のプライマーを用いて増幅した1stPCR産物(精製不要)を冷蔵便で送付してください。濃度2ng/μl、液量15μl以上でお願いします。
DNA抽出 糞便や土壌、水など様々なサンプルからの抽出実績があり、それぞれのサンプルに最適な抽出方法で行います。	○	○	○
ライブラリー作製 PCR反応と精製を2回行い、ライブラリーを作製します。	○	○	○ (1stPCR産物の精製から)
ライブラリーの定量 蛍光法による2本鎖DNAの定量とフラグメントアナライザーによるピークの確認を行います。	○	○	○
シーケンス解析 MiSeqで300bpペアエンド解析を行います(他のお客様との相乗り)。トータル40万リード程度を取得します。	○	○	○
データ解析 菌叢解析用バイブライン「Qiime」を用いて解析を行い、「菌群組成グラフ」や「ヒートマップ」、「サンバーストチャート」の形でデータの可視化までを行います。一部の遺伝子領域(12SrRNAやCOIなどは、「エクセルデータ」のみを提供いたします。	○	○	○
多様性解析 (注2) レアファクション解析(chao1やshannonなど)と主座標分析(PCoA)の結果を提供いたします。	オプション	オプション	オプション
機能予測解析 検出されたバクテリアがコードしている遺伝子をKEGG情報に基づき、機能的分類・カウントし、さらにそれを検体ごとに比較します。	オプション	オプション	オプション

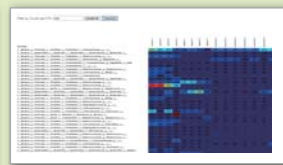
※価格は(税別)です。

解析の具体例

【16SrRNAやITS領域, 18SrRNAの場合】



菌相組成の棒グラフ



OTU heatmap



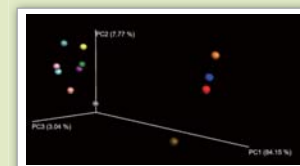
サンバーストチャート

【12SrRNAやCOIの場合】

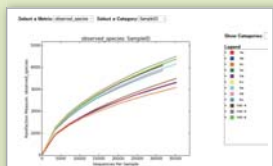
OTU ID	Sagami_river_1	Sagami_river_2	Target
OTU_2:tax=79989	6733	74878	g:AB033995 Anguilla japonica ["Anguilliformes"];["Anguillidae"];
OTU_4:tax=24509	0	10297	g:AB188176 Octopus polio ["Pulmonifera"];["Cuttlefish"];
OTU_15:tax=1184	1339	0	g:G01010 Oryzias latipes ["Oryziatrypa"];["Oryziatrypa"];
OTU_18:tax=1012	1187	0	g:AB020281 Hemibarbus barbus ["Cypriniformes"];["Cyprinidae"];
OTU_15:tax=23868	6770	0	g:AB020780 Atractodes japonicus ["Pentastemida"];["Laelaspidae"];
OTU_14:tax=1768	2058	0	g:K050950 Magnum angulicostatum ["Oryziatrypa"];["Oryziatrypa"];
OTU_1:tax=128928	62373	0	g:AF002930 Mus musculus ["Mammalia"];
OTU_12:tax=5822	0	6103	g:KJ427119 Nipponocypris koreana ["Cypriniformes"];["Cyprinidae"];
OTU_8:tax=12280	105	12812	g:U124863 Palaemonetes australis ["Decapoda"];["Decapoda"];
OTU_8:tax=17950	0	0	g:K030473 Hirudo medicinalis ["Hirudinoidea"];["Hirudinoidea"];

各OTUに対して、検出されたリード数と対応する生物種を示した「エクセルデータ」を提供致します。

【多様性解析】(オプション)



主座標分析



レアファクション解析

【機能予測解析】(オプション)

OTU ID	Species-1	Species-2	Species-3	Species-4	Species-5	Species-6	Species-7	KEGG_Descript
K01305	0	0	0	0	0	0	0	g:ca300000 L-lysine
K01306	0	0	0	0	0	0	0	g:ca300000 L-phenylalanine
K01307	1079	426	458	293	336	462	355	g:ca300000 L-threonine
K01308	11	584	12	12	27	232	72	g:ca300000 L-valine
K01309	6188	2974	8747	8742	8747	2942	729	g:ca300000 L-isoleucine
K01310	0	0	0	0	0	0	0	g:ca300000 L-methionine
K01311	0	0	1	452	1	1	1	g:ca300000 L-proline
K01312	582	540	899	854	849	1137	729	g:ca300000 L-serine
K01313	51	265	176	123	88	112	85	g:ca300000 L-cysteine
K01314	2476	4319	5828	5588	4768	4438	5318	g:ca300000 L-glutamic acid
K01315	2083	4396	5882	5476	4876	4452	5211	g:ca300000 L-aspartic acid
K01316	87	583	75	72	75	286	85	g:ca300000 L-glutamine
K01317	1174	1674	4214	4017	4179	3768	4716	g:ca300000 L-proline

KEGG Orthologyに基づく各階層の機能組成表



検体間の機能組成比較

- (注1) 弊社からご提供させていただく専用チューブに入れて発送いただけます。サンプルの形状等により弊社で追加の作業が必要と判断した場合は別途料金をいただきます。また、サンプルの内容(例えば感染性の有無)によりお断りする場合がございます。DNA抽出は、対象生物やサンプルの状況によって抽出方法を最適化する必要がございます。より良いデータを得るための非常に重要なステップであると位置づけております。この観点から弊社におけるDNA抽出ノウハウに乏しいサンプルについてはお断りさせていただく場合がございます。
- (注2) 一部の遺伝子領域において、多様性解析が行えない場合がございます。
- (注3) 一度納品させていただいたデータの中からご指定いただいたサンプルを、Qiimeを用いて再解析を行い、レアファクション解析と主座標分析(PCoA)を行うサービスです。複数のご注文にわたってサンプルをご指定いただくことが可能です。

対象遺伝子領域

ターゲット生物種	対象領域	データ解析方法
細菌と古細菌	16S rRNA V1/V2領域:27Fmod-338R 16S rRNA V4領域:515F-806R	QIIME解析 (可視化データを納品)
細菌	16S rRNA V3/V4領域:V3V4f-V3V4r ITS1領域:ITS1F_KYO1-ITS2_KYO2 (植物由来DNAは増幅しにくい)	
真菌類	ITS2領域:gITS7-ITS4 (真菌類を広くカバーしているが、植物由来DNAが増幅する)	
	ITS2領域:fITS7-ITS4 (gITSほど真菌類を広くカバーしていないが、植物由来DNAは増幅しにくい)	
真核生物	18S rRNA	USEARCH解析 (エクセルデータを納品)
動物	Cytochrome oxidase subunit I (COI)	
魚類	12S rRNA(MiFish)	
哺乳類(※1)	12S rRNA(MiMammal)	
節足動物(※2)	16S rRNA(gInsect)	
鳥類(※2)	16S rRNA(gBird)	
有尾目(イモリ類とサンショウウオ類)(※2)	16S rRNA(gSalamander)	
線虫(※2)	18S rRNA(Ecdysozoa)	
陸上植物(※2)	rbcl	
光合成生物(主に単細胞生物)(※2)	psbA	
カスタム	任意の領域(おおよそ500bp以下)	※領域による

- ※1 弊社でのテスト解析の結果、脊椎動物全般が検出されています。
 ※2 自社で開発したプライマーでの解析です。

料金早見表

※価格は税別です

サンプル数	試料を送る	抽出DNAを送る	1stPCR産物を送る
8	157,000円	125,000円	100,000円
16	294,000円	230,000円	180,000円
24	431,000円	335,000円	260,000円
32	568,000円	440,000円	340,000円

ライブラリー作製用プライマーの送料として別途1,500円がかかります。

サンプル数	試料を送る	抽出DNAを送る	PCR産物を送る	注
40	635,000円	475,000円	360,000円	<カスタムサービス料金> ・MiSeq300bpペアエンド解析(共有20%) 300,000円 ・ライブラリー調製 25,000円/8サンプル ・DNA抽出 32,000円/8サンプル ・データ解析 1,000円/サンプル ・プライマー送付(プレート) 10,000円 ※送料込
48	692,000円	500,000円	360,000円	
56	755,000円	531,000円	366,000円	
64	820,000円	564,000円	374,000円	
72	885,000円	597,000円	382,000円	
80	950,000円	630,000円	390,000円	
88	1,015,000円	663,000円	398,000円	
96	1,080,000円	696,000円	406,000円	

オプション料金表

項目	価格(税別)	項目	価格(税別)
液体サンプルのフィルターろ過	4,000円/サンプル	多様性解析(納品後 ^(注3))	10,000円(30,000円)
PCR阻害物質の除去	10,000円/8サンプル	機能予測解析	50,000円
残サンプルの返却 ※送料込	1,500円		

よくあるご質問

Q1.納品物の内容は?

DVDなどの記録媒体にて納品します。
 <データ内容>
 ・報告書
 ・シーケンスデータ
 ・QIIMEによる系統解析結果
 →エクセルファイルと解析結果を可視化したバーグラフとヒートマップ、サンバーストチャート(htmlファイル)

※一部の遺伝子領域(12SrRNAやCOIなどは、「エクセルデータ」のみになります)。
 ・DDBJのデータベース登録に必要なデータ

納品メモデータは弊社HPからダウンロードできます

Q2.得られるリード数は?

標準パッケージでは、ライブラリーの品質が良い場合(両端にアダプターがきちんと付加されている)、経験的に8サンプルで40万リード前後が得られます。
 また、カスタムサービスの場合、共有20%で通常300-400万リードが得られます。

Q3.残サンプルの返却は可能?

1,500円(送料込・税別)で対応しています。弊社では、解析完了後3カ月経過すると、サンプルを処分しますので、返却希望の場合はお早目にご連絡ください。

お問合せ・見積依頼 サンプル送付先

株式会社生物技研

〒243-0022
 神奈川県厚木市酒井3068
 天幸第7ビル5階
 tel: 046-280-4118
 Email: dna@gikenbio.com



DNA増幅阻害/選択的増幅技術を用いた生物相の解析 ブロッキング

食性解析や植物病原菌の菌叢解析に!

※価格は税別です

1. C3 spacer修飾を用いた食性解析

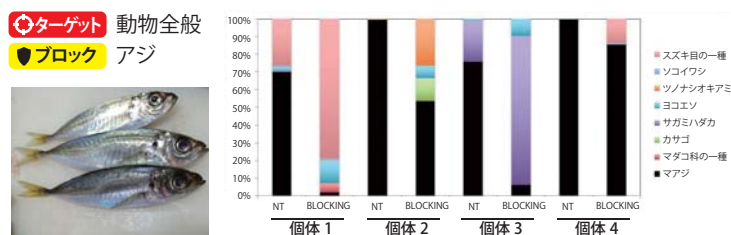
解析費用は安価ですが、宿主DNAを完全に抑制することが難しく、また種特異的なブロッキングも困難です。予備的な実験に向いています。

＜追加料金＞
ブロッキングプライマー設計・合成費用
20,000円/生物種

＜解析の具体例＞

アジの餌生物の推定(COI領域)

スーパーで購入したアジの内臓を用いて、食性解析を行いました。右下に、検出された生物由来のリード数を棒グラフで示します。



2. ペプチド核酸 Peptide Nucleic Acid (PNA) を用いた菌叢解析

解析費用は高価ですが、葉緑体とミトコンドリアのブロッキングが可能です。

＜追加料金＞
ライブラリー調製費用
15,000円/8サンプル

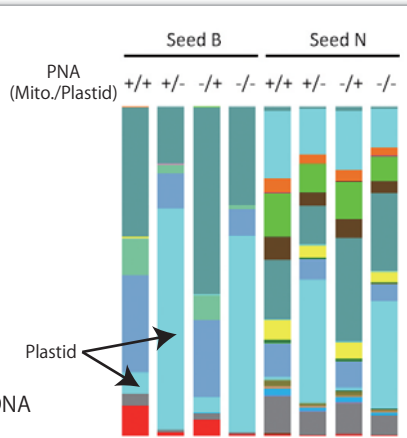
＜解析の具体例＞

種子の菌叢解析 (16S rRNA V4領域)

牧草の種子を用いて、菌叢解析を行いました。

※本解析では、種子にミトコンドリア由来DNAが少なく、Anti-mitochondriaの効果は検証できていません。

＜ターゲット＞ 細菌
＜ブロック＞ ミトコンドリア由来DNA
葉緑体由来DNA



3. 人工核酸 Locked Nucleic Acid (LNA) を用いた菌叢解析

解析費用は高価ですが、種特異的なブロッキングが可能です。

＜追加料金＞
ライブラリー調製費用
20,000円/8サンプル

LNAの設計・合成※1
120,000円/2本
真菌特異的プライマーは既に設計・合成済ですので料金不要です。

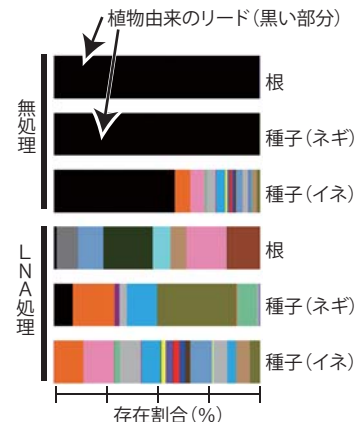
※1 鹿児島大学農学部の池永先生・境先生が開発した、特許第5846496および特願2016-051621の遺伝子増幅方法を使用します。

＜解析の具体例＞

植物サンプルの菌叢解析 (ITS領域)

ITS1からITS2領域をPCR法で増幅後、gITS7とITS4を用いてITS2領域のみを再度増幅して菌叢解析を行いました。

＜ターゲット＞ 真菌
＜ブロック＞ 植物由来DNA



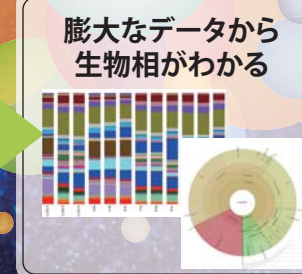
株式会社 **生物技研**

〒243-0022 神奈川県厚木市酒井 3068 天幸第7ビル5階
TEL 046-280-4118 FAX 046-280-4148
＜見積り依頼・お問合せ＞ dna@gikenbio.com



www.gikenbio.com

あらゆるサンプルの生物相が お手軽に解析できます。



アンプリコンシーケンス解析サービス価格

好評につき、引き続き
1stPCRまでOK

試料を送るだけ!	抽出DNAを送る	PCR産物を送る
157,000円/8サンプル 納期:20営業日	125,000円/8サンプル 納期:20営業日	100,000円/8サンプル 納期:20営業日

※価格は税別です。

生物技研のサービスの特徴

1. 常時ご用意しているプライマーが7種→16種に増加

微生物だけでなく様々な生物相の解析に対応できるようにしました。論文引用だけでなく、独自開発にも力を入れています。もし、お客様の解析したい生物相が3ページ目の対象領域一覧にない場合は、お気軽にご相談ください。



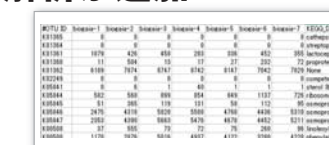
2. 可視化データにサンバーストチャートを追加

QIIME解析対応領域の場合、サンバーストチャートも納品します。各サンプルごとの菌叢を手軽に、より詳しく見ることができます。



3. オプション解析に機能予測解析が追加

検出されたバクテリアがコードしている遺伝子をKEGG情報に基づき、機能的分類・カウントし、さらにそれを検体ごとに比較します。



4. PNAやLNAなど、宿主由来のDNA増幅ブロッキングも対応可能

C3 spacer修飾・PNA・LNAの3種類の方法に対応可能(オプション)。詳しくは、最終ページをご覧ください。



株式会社 **生物技研**