

# 環境調査に活用できるその他解析サービス

どのようなサンプルについて何を調べたいのかをご連絡いただければ、最適なサービスをご提案いたします。

## 生物種の同定 **次世代シーケンス解析による同定サービス開始! 価格はサンガー法と同じ1万円/サンプル。**

次世代シーケンス解析による同定なら複数種混じったサンプルでも同定が可能のため、生態調査のサンプルにぴったりの方法です。  
※解析するDNA配列が500bpを超える場合は、一般的なサンガー法での対応となります。

**次世代シーケンス解析による同定事例**  
・魚類の卵稚仔  
・タナゴ(サンプル:ヒレ)  
・イタチ(サンプル:糞便)

価格	<b>10,000円/サンプル</b> (税別)
納期	20営業日
解析の流れ	<p>&lt;お客様&gt; ・サンプルを冷凍便で弊社に送付</p> <p>&lt;弊社&gt; ・サンプルからDNAを抽出 ・PCR法で部分配列を増幅 ・PCR産物の塩基配列を決定 ・データベースの配列と比較して、生物種を推定 ・報告書の作成</p>
オプション	系統樹の作成 30,000円/回

## 野生生物の食性解析

糞や胃内容物に含まれる「餌生物由来のDNA」を解析することで、餌生物を推定する方法です。  
糞便などに含まれているDNAは宿主由来のDNAが圧倒的に多いため、弊社では宿主由来の増幅を抑制するブロッキングする方法を生物種ごとに用意します。これを用いると餌生物由来のリードの割合が飛躍的に向上し、より信頼性の高いデータが得られます。

価格	解析	<b>30,000円/サンプル</b> (税別)	2018.05 値下げ しました。
	ブロッキングプライマーの設計・合成	<b>20,000円/生物種</b> (税別)	
納期	20営業日		
解析の流れ	<p>&lt;お客様&gt; ・サンプルを弊社提供の専用チューブに入れていただき、冷凍便で弊社に送付。 ・ブロッキングプライマーの設計を行うため、宿主生物の学名をご連絡下さい。</p> <p>&lt;弊社&gt; ・サンプルからDNAを抽出 ・ブロッキングプライマーの設計 ・メタバーコーディング解析(詳細は中面をご覧ください) ・報告書の作成</p>		

## 会社紹介

弊社は、次世代シーケンス解析をコア技術として、大学や公的研究機関、民間企業を顧客としたDNA解析サービスを提供している会社です。DNAの抽出からデータの解析まで自社で行っていますので、総合的な技術力に自信があります。

DNAは全ての生物が持っている生命活動の基本となる情報です。つまり、DNAを調べることで、あるサンプル(試料)に含まれる生物の情報がわかります。次世代シーケンス解析の登場でDNAを調べることが質/量ともに格段に向上し、新しい世界が広がっています。その一つが環境DNAです。弊社ではお客様のご依頼だけでなく、自社での技術開発を行うことによって、この技術の利用拡大を進めております。DNAを調べることをより多くの人にとって身近な技術とすることが会社の大きなテーマです。

生物の事について調べたい、あるいは知りたいという方はお気軽にご相談ください。

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  
http://www.gikenbio.com/  
<見積り依頼・お問合せ> dna@gikenbio.com



生態調査に役立つ  
DNA解析情報の  
メルマガ配信中

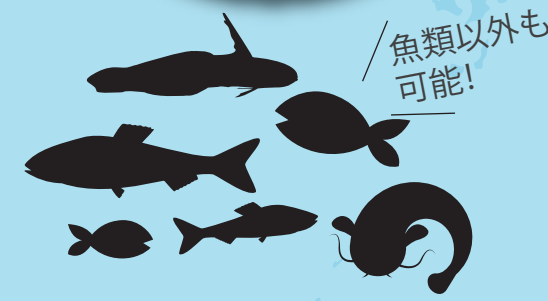
# 生物技研の 環境DNA解析は 2通り

2018.05  
値下げ  
しました。

野生生物の生態調査は捕獲や観察といった直接的手法を中心として行われており、多くの労力と費用が必要です。また、高度な専門知識と経験が必要であり、専門家以外では生態調査を行うことは不可能でした。

近年水中を泳ぐ生物から分泌される体液や鱗、排せつされる糞便由来の「環境DNA」を解析することが可能になり注目を集めています。

生物技研では次世代シーケンサーとリアルタイムPCRを用いて高解像度での解析を行い、環境サンプルに含まれている生物の痕跡を見つけ出します。網羅的解析に加え、特定の生物種に限定して解像度を上げて解析することも可能です。



魚類以外も  
可能!

どんな生物がいるかな?

## 網羅的解析

次世代シーケンサーを使用した解析です。環境中のDNAをPCR増幅した後、シーケンシングします。得られた塩基配列をデータベースと照らし合わせ、相同性の高い生物候補をリストアップします。

**30,000円/サンプル**



DNAの  
定量も可能!

この生物はいるかな?

## 種特異的解析

リアルタイムPCRを使用した解析です。種特異的なプライマーを使用して、特定の生物の在・不在を解析します。プライマーの設計・合成から承っています。

**30,000円/サンプル**

弊社サービスの特徴

- ・水を汲んで送付するだけ! ろ過から承っています。
- ・1サンプルからOK!
- ・海水と淡水どちらもOK!
- ・プライマーの設計もお任せください。
- ・より正確なデータを得るためのオプションもあります。

株式会社 **生物技研**  
Bioengineering Lab



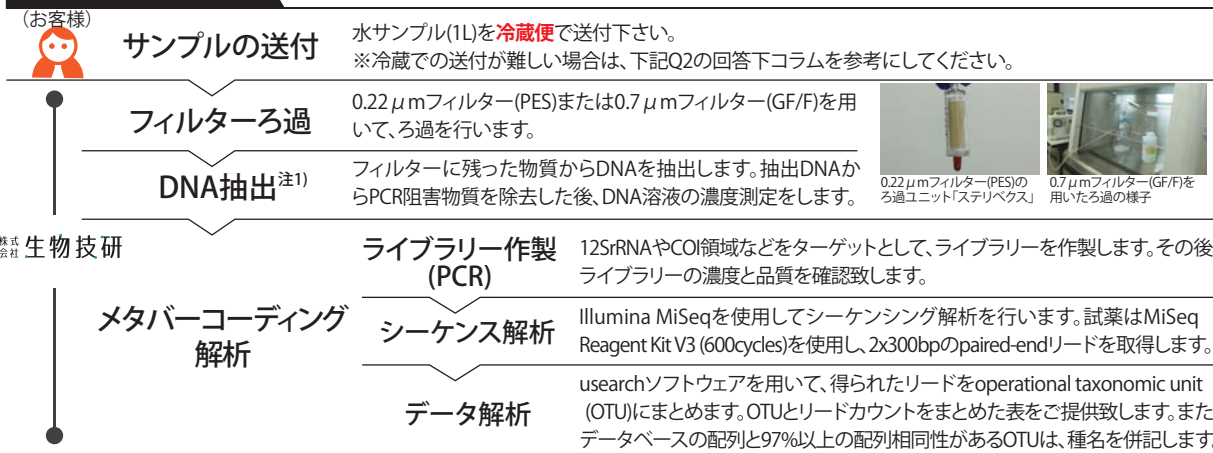
# 環境DNA メタバーコーディング解析

※価格は税別です

価格	30,000円/サンプル	内訳	・フィルターろ過とDNA抽出 10,000円/サンプル ・メタバーコーディング解析 20,000円/サンプル
納期	20営業日		
解析可能な生物種	動物 (COI)、魚類 (MiFish)、哺乳類 (MiMammal)*1、節足動物 (gInsect)*2、鳥類 (gBird)*2・3、有尾目<イモリ類とサンショウウオ類> (gSalamander)*2、線虫 (Ecdysozoa)*2、二枚貝 (gClam)*2、陸上植物 (rbcl)*2、光合成生物 (psbA)*2、真核生物 (18S rRNA) ( )は使用するプライマー名または解析対象領域の名称です。上記以外の生物種についてはご相談ください。		
オプション	1st PCR 8反復 +5,000円/サンプル より正確なデータを得るため、弊社の環境DNAメタバーコーディング解析では1st PCRを4反復行います。得られたPCR産物は1つにまとめられ、2nd PCRに使用されます。1st PCRをさらに4反復増やす上記のオプションは、サンプリングした環境中で存在割合の低い生物種をより検出したい場合にご利用をオススメしています。		

\*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。  
\*3 鳥類DNAは環境への移行が少なく、検出が困難な傾向があります。

## 解析の流れ



注1) 抽出されたDNAは、メタバーコーディング解析だけでなくリアルタイムPCR解析にも使用することが可能です(追加料金: 15,000円/生物種)。

## 解析具体例

### 1: 相模川における動物相の推定

OTU	sa-gami-1	sa-gami-2	sa-gami-3	sa-gami-4	和名
OTU128	73	0	38	5	5 スジホシムシ属
OTU43	518	0	54	0	0 ツボクムシ
OTU1171	12	2	0	0	0 キンギョ
OTU341	21	8	4	1	1 トックヤドトミミズ
OTU124	24	30	7	14	14 マミズクラゲ
OTU451	3	13	0	2	2 ポラ
OTU121	62	33	11	6	6 アユ

各サンプル地点における各生物種由来のリード数を示しています。COI増幅プライマー(Leray et al, 2013)を使用しました。

### 2: 相模湾における魚類相の推定

OTU	ME	ME0	ME1	和名
OTU3	13337	6222	0	3369 カツオ
OTU1	0	2900	26488	0 ポラ
OTU2	5376	7900	1	6184 イシダイ
OTU13	0	0	0	3401 ゴシロ
OTU11	0	3991	0	1 ササガハダ
OTU7	6365	0	0	0 カサノハチ
OTU9	5959	0	0	0 カフハギ

各サンプル地点における各生物種由来のリード数を示しています。プライマーは、MiFish (Miya et al, 2015)を使用しました。



Illumina社の次世代シーケンサーMiSeqを使用。

## よくあるご質問

### Q1.採水時の注意点は?

<容器>ポリ瓶を再利用する場合は10倍希釈した漂白剤(ブリーチ)に3時間以上浸した後、蒸留水でよく流してからお使いください。新品の場合はこの作業は必要ないと考えていますが、慎重を期す場合は行ってください。  
<採水>必ず手袋をして採水してください。  
<保存>採水後はできる限り早く冷蔵保存してください。

### Q2.サンプル送付時の注意点はありますか?

必ず平日着・冷蔵便で、弊社(右記住所)へ送付してください。  
※冷凍は推奨しません。凍結融解に伴い細胞が破壊され、解析対象であるDNAが溶液中に放出され、フィルターを通り抜けてしまうためです。

**冷蔵での保存・送付が難しい場合**  
「オスパン消毒液」を、水1Lに対して1ml添加するとして10日程度の保存が可能となります。参照論文など詳しくは弊社HPをご覧ください。

### Q3.ろ過量はどのくらい?

送付いただいたサンプル全量をろ過することを基本としていますが、濁度が高い場合など、フィルターが目詰まりを起こした場合は、その時点でろ過終了となります。複数のフィルターを使用してろ過量を多くしたい場合は、2,500円/フィルター(税別)の追加料金が発生します。

### Q4.ろ過フィルターはどちらを使う?

2017年9月より、0.22 μm(PES)のフィルターが内蔵されているろ過ユニット「ステリベクス」の使用を基本としています。濁度が高い場合は状況に応じてGF/Fフィルターを用いた吸引ろ過で行います。



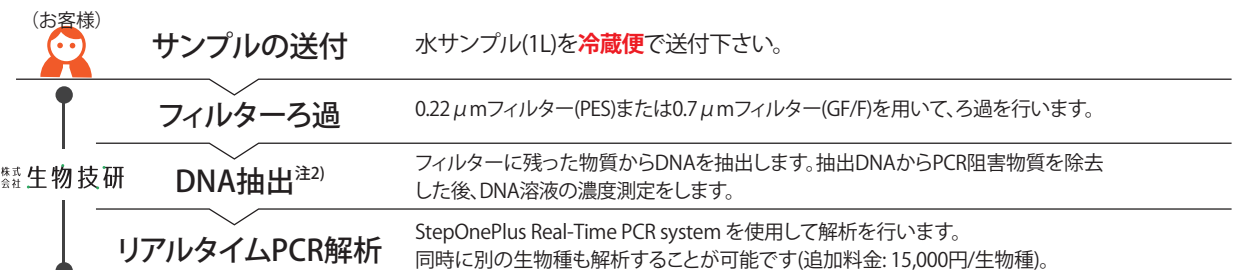
# 環境DNA 種特異的解析

※価格は税別です

解析	30,000円/サンプル	内訳	・フィルターろ過とDNA抽出 10,000円/サンプル ・リアルタイムPCR解析 20,000円/サンプル
価格	100,000円	プライマーの設計・合成	既に設計・合成済の場合は料金不要です。 例) ブルーギル、オオクチバス、アユ、オオサンショウウオ、ハクバサンショウウオ、ニホンウナギ、イワナ、ヤマメ、ニホンザリガニ、ウチダザリガニなど、お問合せください。 対象の生物種やその近縁種、生息する生物種などの情報をご連絡下さい。プライマーやプローブは、 <i>in silico</i> で設計するため、対象の生物種のみを検出できる保証はできません。対象生物や近縁種の個体やDNAをお送り頂ければ、特異性の検証を行うことも可能です。
納期	10営業日 ※プライマーの設計・合成が必要な場合は、プライマー合成完了後10営業日です。		
オプション	定量解析 (DNAコピー数の算出)	+10,000円/サンプル	
	解析の反復	8反復 +6,000円/サンプル より正確なデータを得るため、qPCRを標準の4反復から8反復へ増やすオプションです。	
	複数種の解析	+15,000円/生物種	

設計済プライマーが増えました。

## 解析の流れ



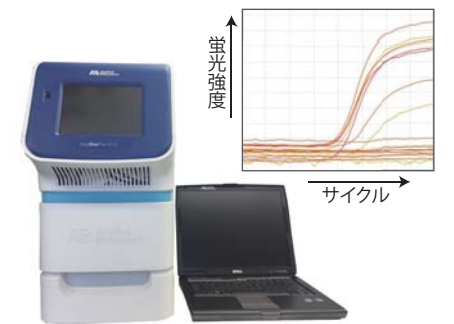
注2) 抽出されたDNAは、リアルタイムPCR解析だけでなく、メタバーコーディング解析にも使用することが可能です(追加料金: 20,000円/サンプル)。

## 解析具体例

### 群馬県と神奈川県におけるブルーギルとオオクチバスの在/不在



上段がブルーギル、下段がオオクチバスの検出回数。各地点で4回の技術的反復を行いました。ブルーギルはTakahara et al., 2013、オオクチバスはYamanaka et al., 2016の方法を参照し、解析を行いました。



StepOnePlus Real-Time PCR systemを使用し、右上のようなデータで在・不在を判断します。

## お見積り例

### <網羅的解析>

例: 1 サンプルについて魚類相と動物相を解析	
・ろ過とDNA抽出	10,000円
・メタバーコーディング解析	20,000円×2=40,000円
	合計 50,000円

### <網羅的解析と種特異的解析を両方行う>

例: 1 サンプルについて魚類相の網羅的解析とアユのDNAの定量解析	
・ろ過とDNA抽出	10,000円
・メタバーコーディング解析	20,000円
・種特異的解析	20,000円
・定量解析<オプション>	10,000円
	合計 60,000円

## 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