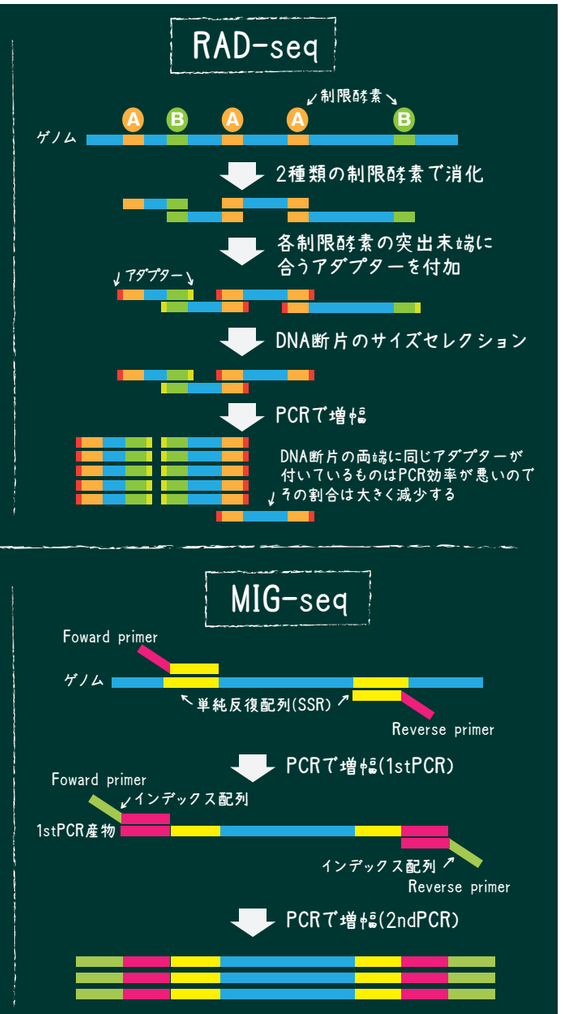
RAD-seq解析・GRAS-Di®解析・MIG-seq解析の比較

	RAD-seq解析	GRAS-Di®解析	MIG-seq解析
ライブラリー作製様式	制限酵素	PCR	
塩基解読する領域	制限酵素部位の間	ランダム	単純反復配列（SSR）の間
得られる多型の数	多い（-100,000 SNPs）		少ない（-1,000 SNPs）
適した解析名	遺伝子地図作製やqtl解析、集団解析		集団解析
必要DNA量	多い（100ng以上）	少ない（15ng）	少ない（2-100ng）
DNAの品質	高品質のDNAが必要		低品質のDNAでも可
費用	高い	安い	

RAD-seq・
GRAS-Di®・
MIG-seqは、
ライブラリー作製の
方法が異なります。



ご不明点はお気軽にお問合せください。

株式会社 生物技研

〒252-0154　神奈川県相模原市緑区長竹 657
TEL 042-780-8333　FAX 042-780-8334
＜見積り依頼・お問合せ＞ dna@gikenbio.com

www.gikenbio.com

ジェノタイピングシーケンシング解析

塩基多型を検出し、得られたSNPマーカーを用いて、系統解析や連鎖地図作成、QTLマッピングを行います。
解析内容（目的や対象生物、サンプル数など）をお知らせください。最適なプランをご提案いたします。

GRAS-Di® 技術による解析

Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct

MIG-seq解析

Multiplexed ISSR by sequencing

RAD-seq解析

Restriction Site Associated DNA Sequence

GRAS-Di®とは?

グラスディーアイと読み、トヨタ自動車株式会社が開発した技術です。
ランダムプライマーを用いて PCR することにより、ゲノムの複数個所を増幅します。ゲノムワイドに増幅されたアンプリコンを次世代シーケンサーで解析した後、ジェノタイピング解析を行います。得られる解析結果は、アンプリコン増幅の再現性が高く、ジェノタイプデータの欠損が少ないのが特徴です。

※GRAS-Di® はトヨタ自動車株式会社の登録商標です。

GRAS-Di® 解析ソフトウェアによる解析は、
弊社にご依頼いただくことが可能です。
また、以下の通りソフトウェアの販売もしております。

- GRAS-Di® 解析のソフトウェア　400,000 円（税別）
- 再解析用 GRAS-Di® Analysis のソフトウェア　100,000 円（税別）

―― お問合せ・見積依頼・サンプル送付先 ――

株式会社 生物技研

〒252-0154
神奈川県相模原市緑区長竹 657
TEL 042-780-8333
dna@gikenbio.com

1. 解析の流れ

※価格は税別

	RAD-seq解析	GRAS-Di® 技術による解析	MIG-seq解析
（お客様）サンプルと情報のご提供	ゲノムDNA※1 >10 ng/µl, >20 µl	ゲノムDNA※1 >15 ng/µl, >20 µl	ゲノムDNA※1 >1 ng/µl, >20 µl
	●冷蔵便または冷凍便で（株）生物技研へ送付ください。8連チューブまたはプレートでお願いします。 ●GRAS-Di解析の場合は、DNA濃度測定の際のブランク用に溶出バッファーを100 ul程度サンプルと一緒にご送付ください（難しければ、バッファーの情報の提供をお願いします）。 ●サンプル送付時に、当社指定の依頼書（エクセル）をご提出ください。依頼書はお見積り時に添付します。		
ライブラリー作製	ddRAD法を用いてライブラリーを作製します。使用する制限酵素は、*Msp*Iと*Eco*RIの組み合わせですが、別の制限酵素からお選び頂くことも可能です。	トヨタ自動車株式会社のプロトコールに従い、ライブラリーを作製します。 ①と②の2通りの方法があります。 ① ※2 DNBSEQのアダプター配列を付加したプライマーを用います。 ② ※2・3 イルミナ社のアダプター配列を付加したプライマーを用います。	Suyama et al., 2021. と同様の方法を用いて、ライブラリーを作製します。
シーケンス解析	MGI社 DNBSEQ 150 bpペアエンド 1サンプルあたり100万リード程度	MGI社 DNBSEQ 150 bpペアエンド 1サンプルあたり100万リード程度	MGI社 DNBSEQ 150 bpペアエンド 1サンプルあたり100万リード程度
データ解析（目的に合わせいずれかの解析を行います）：GRAS-Di®解析ソフトウェアによる解析（10万円）		○	
ジェノタイピング解析（8万円）	○	○	○
⊕ 系統解析（2万円）	○	○	○
⊕ structure解析（2万円）	○	○	○
⊕ 遺伝的指数の算出（2万円）	○	○	○
連鎖地図作成（20万円）	○	○	
QTLマッピング（20万円）	○	○	

※1　試料を送付いただき、弊社でDNA抽出を行うことも可能です（DNA抽出費用24,000円/8サンプル、納期5営業日追加）。
※2　弊社の試験では、①と②で異なる部位が増幅されることがわかりました。継続的な解析の場合、以前と同一メーカーのアダプター配列を付加したプライマーを用いる方法を選択ください。
※3　②は、リン酸化されたプライマーで2ndPCRを行った後、環状化させてDNBSEQでシーケンス解析します。イルミナ社シーケンサーでシーケンス解析した場合と同等の結果が得られることを検証済です。

データ解析の内容

GRAS-Di®解析ソフトウェアによる解析	GRAS-Di®解析ソフトウェアを用いて、アンプリコンごとのリード数やその配列、増幅断片のサイズ、遺伝子型などをExcelファイルで納品します。
ジェノタイピング解析	Stacksを用いて*de novo*アセンブルを行います。アセンブルされたカタログ配列に対し、各サンプルをジェノタイプします。レファレンスが利用できる場合は、レファレンスに対しジェノタイプします。
系統解析	RAxML（GTR+gamma）モデルを用いた最尤法により系統樹を作成します。
structure解析	structureを使用して、集団の遺伝的構成の違いを可視化します。
遺伝的指数の算出	得られたSNPデータと指定のグループ分け情報を使用し、Stacksで集団内と集団間（総当たり）の遺伝的指数（ヘテロ接合度の観察値と期待値、塩基多様度、近交係数、固定指数）を算出します。
連鎖地図作成	Bowtieを用いてレファレンスにリードをマップした後、samtoolsとbcftoolsを用いて、SNPを検出致します。その後、vcftoolsを用いてSNPのフィルタリングを行います。遺伝子型データをもとにJoinmapを使用して、連鎖地図を作成致します。
QTLマッピング	連鎖地図作成と同様の方法で遺伝子型を決定した後、R/qtlを用いてQTL領域を推定し、1,000回の並び替え検定で、5%有意水準を算出します。

よくあるご質問

Q1.シーケンス解析の生データも納品してもらえますか?

はい。fastq形式の配列データを納品しています。

Q2.推奨のDNA抽出キットはありますか?

特にございません。市販のDNA抽出キットであればどれをご使用いただいても問題ないと思います。

Q3.GRAS-Di®解析のデモデータはありますか?

弊社HPにご用意しています。エクセルデータです。

Q4.3つの解析方法の違いは何ですか?

裏表紙に比較表をご用意しています。

2. 価格と納期

解析内容（目的や対象生物、サンプル数など）をお知らせください。最適なプランをご提案いたします。

価格は税別

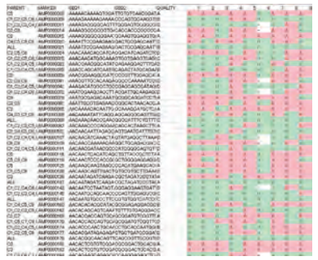
		RAD-seq解析	GRAS-Di® 技術による解析・MIG-seq解析
価格		ライブラリー調製※4　50,000円/8サンプル シーケンス解析　12,000円/8サンプル ※シーケンス解析は48サンプルまでは一律72,000円 データ解析　上記参照	ライブラリー調製※4　25,000円/8サンプル シーケンス解析　12,000円/8サンプル ※シーケンス解析は48サンプルまでは一律72,000円 データ解析　上記参照
価格例	48サンプル	ライブラリー調製　300,000円 シーケンス解析　72,000円 ジェノタイピング解析＋系統解析　100,000円 計 472,000円 （1サンプルあたり9,833円）	ライブラリー調製　150,000円 シーケンス解析　72,000円 ジェノタイピング解析＋系統解析　100,000円 計 322,000円 （1サンプルあたり6,708円）
	96サンプル	ライブラリー調製　600,000円 シーケンス解析　144,000円 ジェノタイピング解析＋系統解析　100,000円 計 844,000円 （1サンプルあたり8,791円）	ライブラリー調製　300,000円 シーケンス解析　144,000円 ジェノタイピング解析＋系統解析　100,000円 計 544,000円 （1サンプルあたり5,666円）
納期		25営業日※5　2024.05 納期短縮	GRAS-Di：30営業日※5　MIG-seq：25営業日※5　2024.05 納期短縮

※4　ライブラリー調製のみのご依頼は承っておりません。
※5　500サンプルまでの納期です。500サンプル超の場合は追加納期がかかります。

3. 解析事例

事例-1）GRAS-Di®技術による解析

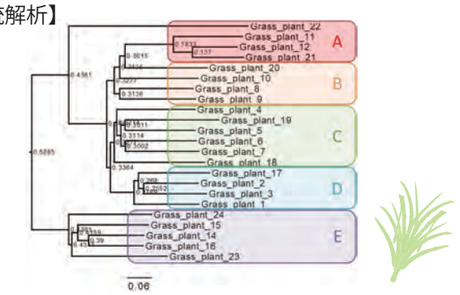
【GRAS-Di® 解析ソフトウェアを用いた結果】



弊社HP上でデモデータ（エクセル形式）をご覧いただけます。

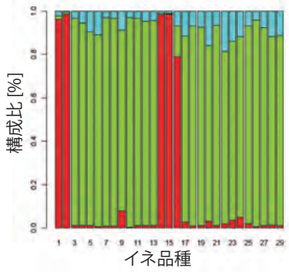
事例-2）植物の地域個体群を解析

【系統解析】



事例-3）各イネ品種の遺伝的構成の違い

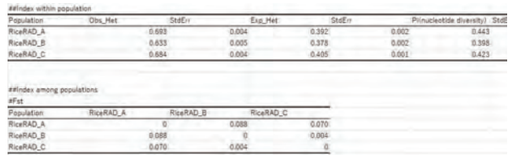
【structure 解析】



赤：北海道品種（ゆめぴりか、ななつぼしなど）の遺伝的構成

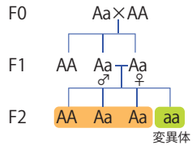
事例-4）各イネ品種の遺伝的指数

【遺伝的指数の算出】

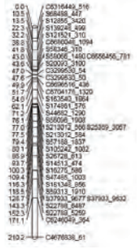


弊社HP上でデモデータ（エクセル形式）をご覧いただけます。

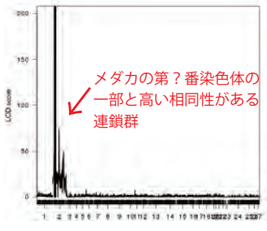
事例-5）ある特徴的な性質をもった魚類の解析



【連鎖地図作成】



【QTL マッピング】



お問合せ・見積依頼 サンプル送付先

株式会社生物技研
〒252-0154
神奈川県相模原市緑区長竹657
tel: 042-780-8333
Email: dna@gikenbio.com