



# 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

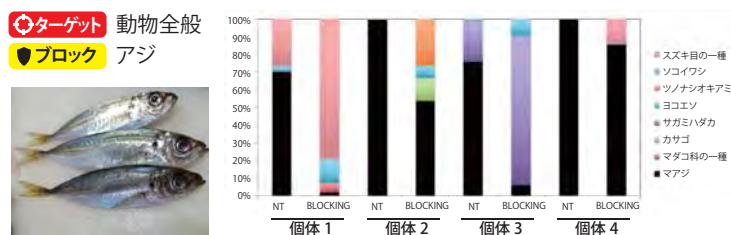
解析費用は安価ですが、宿主DNAを完全に抑制することが難しく、また種特異的なブロッキングも困難です。予備的な実験に向いています。

＜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**

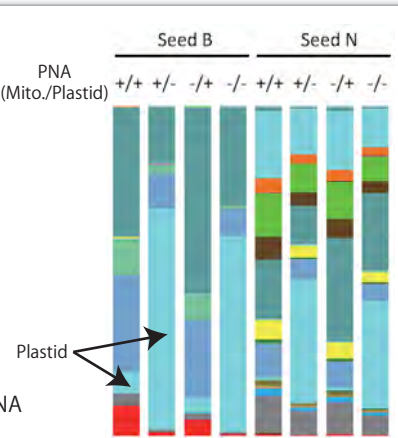
### ＜解析の具体例＞

#### 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。

＜追加料金＞  
ライブラリー調製費用  
**15,000円/8サンプル**



## 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。

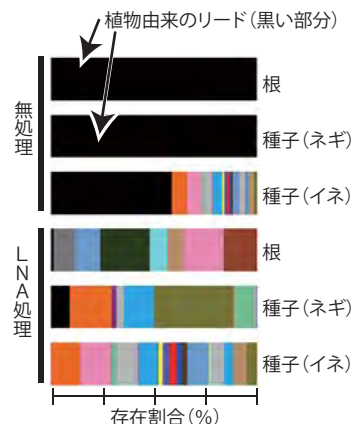
※1 鹿児島大学農学部の池永先生・境先生が開発した、特許第5846496および特願2016-051621の遺伝子増幅方法を使用します。

### ＜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。

＜追加料金＞  
ライブラリー調製費用  
**20,000円/8サンプル**



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

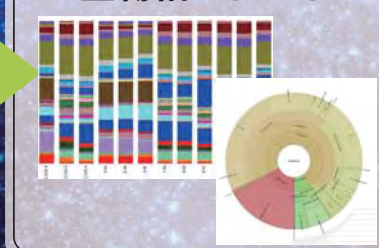
# アンプリコン シーケンス解析

2018年5月  
サービス  
**UP**

次世代シーケンサーを用いて解析



膨大なデータから生物相がわかる



あらゆるサンプルの生物相が  
お手軽に解析できます。

1サンプル  
あたり **10,000円~!**

好評につき、引き続き  
1stPCRまでOK

試料を送るだけ!

従来157,000円

**137,000円/8サンプル**  
納期:20営業日

抽出DNAを送る

従来125,000円

**105,000円/8サンプル**  
納期:20営業日

PCR産物を送る

従来100,000円

**80,000円/8サンプル**  
納期:20営業日

※2018年5月7日からの価格(税別)です。



## サービスアップの内容

### 1. 大幅値下げ!

アンプリコンシーケンス解析の価格を2万円値下げしました! 試薬類は年々値上がりしていますが、作業効率向上などコスト削減を行い、よりお手軽にご利用いただけるようにしました。

### 2. 1サンプルでもご注文可能!

まずは1~2サンプルで試してみたいというお問合せを多数いただき、1サンプルでも依頼時の価格も設定しました。試料を送る場合は30,000円、抽出DNAを送る場合は20,000円(いずれも税別)です。割高な点は、何卒ご了承ください。

### 3. 1stPCR産物の受け入れ継続

昨年度のキャンペーン特別対応でしたが、好評につき、今年度も継続します。パッケージだけでなく、カスタムサービスをご利用の場合でも、1stPCR産物での受け入れを開始しました。

## 弊社のアンプリコンシーケンス解析 サービスの特徴

### ★国内(自社内)で完結

DNA抽出からバイオインフォマティクスまで全て自社スタッフで行っています。もちろん次世代シーケンサーも自社内にありますので、納期20営業日という短納期が可能です。

### ★DNA抽出もお任せください。

土壌や水などはもちろん、昆虫の足やバイオエアロゾルなどの微量サンプルからのDNA抽出も実績があります。

### ★何でもご相談ください。

英語での対応も可能です(メール)。

お電話またはメールでお気軽にご相談ください。  
英語でのお問合せはメールでお願いいたします。

さらに  
**6月1日**  
開始予定

## 16S rRNAの全長解析サービス

OxfordNanopore社のGridION X5を使用したロングシーケンス解析です。  
現在準備を進めています。価格は100,000円(税別)を予定しています。

株式会社 **生物技研**

## 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	
動物	Cytochrome oxidase subunit I (COI)	
魚類	12S rRNA(MiFish)	USEARCH解析 (エクセルデータを納品)
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)	

※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

サンプル数	試料を送る	抽出DNAを送る	1stPCR産物を送る
1	30,000円	20,000円	-
8	137,000円	105,000円	80,000円+1,500円
16	274,000円	210,000円	160,000円+1,500円
24	411,000円	315,000円	240,000円+1,500円
32	548,000円	420,000円	320,000円+1,500円

## オプション料金表

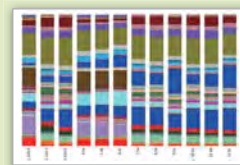
項目	価格
液体サンプルのフィルター過	4,000円/サンプル
PCR阻害物質の除去(ビーズ精製)	10,000円/8サンプル
1stPCR 4反復	16,000円/8サンプル
ライブラリーのビーズ精製*1	5,000円/8サンプル
多様性解析(納品後*)	10,000円(30,000円)
機能予測解析	50,000円
残サンプルの返却 ※送料込	1,500円

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! 137,000円/8サンプル 納期:20営業日	抽出DNAを送る 105,000円/8サンプル 納期:20営業日	1stPCRまでOK PCR産物を送る 80,000円/8サンプル 納期:20営業日
<b>サンプリング</b>	(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以上をお願いします。	(お客様) ご希望の遺伝子領域を増幅するためのライブラリー作製用プライマーは1,500円(送料込)でご提供します
<b>DNA抽出</b> 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。	○	○	○ (1stPCR産物の精製から)
<b>ライブラリー作製</b> PCR反応と精製を2回行い、ライブラリーを作製します。	○	○	○
<b>ライブラリーの定量</b> 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。	○	○	○
<b>シーケンス解析</b> 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。	○	○	○
<b>データ解析</b> 菌叢解析用パイプライン「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。	○	○	○
<b>多様性解析</b> (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
<b>機能予測解析</b> 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

※当チラシの価格は全て税別です。

## 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



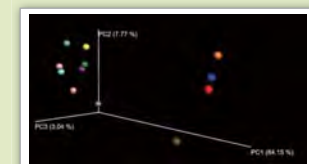
サンバーストチャート

### 【12SrRNAやCOIの場合】

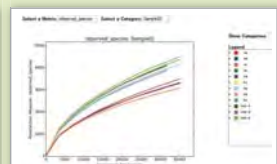
OTU#	Sagami_river_1	Sagami_river_2	Target
OTU_2:tax=79899	8730	74978	g:AB030304[Anguilla japonica][Anguilliformes][Anguillidae]
OTU_4:tax=24509	0	10297	g:AB1881[HEcturus japonicus][Penaeiformes][Decapoda]
OTU_15:tax=1164	1336	0	g:AB101050[Cyprinus carpio][Cypriniformes][Cyprinidae]
OTU_16:tax=1012	1167	0	g:AB070241[Hammarbus barbatus][Cypriniformes][Cyprinidae]
OTU_5:tax=23888	8770	0	g:AP008788[Atelabrus japonicus][Pempphiiformes][Latrodectidae]
OTU_14:tax=1768	2058	0	g:KC509950[Myiagrus angulirostratus][Cypselophoridae][Columelidae]
OTU_1:tax=126908	62373	0	g:AB002930[Myiagrus angulirostratus][Cypselophoridae][Columelidae]
OTU_12:tax=5822	6103	g:KJ427171[Neopocopsis koronensis][Cypselophoridae][Columelidae]	
OTU_8:tax=12280	105	12812	g:KJ124483[Phonogobius utriusque][Gobiiformes][Gobiidae]
OTU_6:tax=17190	0	0	g:KJ030413[Phonogobius utriusque][Gobiiformes][Gobiidae]

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)

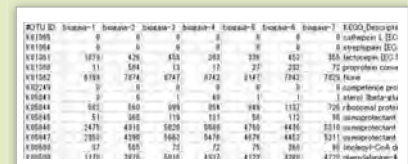


主座標分析

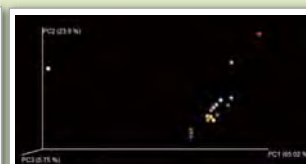


レアファクション解析

### 【機能予測解析】(オプション)



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

33サンプル以上の場合、パッケージではなく、カスタムサービスを組み合わせるほうがお得になります。

### <カスタムサービス料金>

DNA抽出		32,000円/8サンプル
ライブラリー調整	1stPCRから	25,000円/8サンプル
	1stPCR産物の精製から	15,000円/8サンプル
MiSeq300bpペアエンド解析 共有20%		300,000円
データ解析	50サンプルまで	50,000円
	50サンプル以上	1,000円/サンプル

サンプル数	試料を送る	抽出DNAを送る	1stPCR産物を送る	精製前 でOK!	2ndPCR産物 (精製済)を送る
40	635,000円	475,000円	425,000円+1,500円		350,000円+10,000円
48	692,000円	500,000円	440,000円+1,500円		350,000円+10,000円
56	755,000円	531,000円	461,000円+1,500円		356,000円+10,000円
64	820,000円	564,000円	484,000円+1,500円		364,000円+10,000円
72	885,000円	597,000円	507,000円+1,500円		372,000円+10,000円
80	950,000円	630,000円	530,000円+1,500円		380,000円+10,000円
88	1,015,000円	663,000円	553,000円+1,500円		388,000円+10,000円
96	1,080,000円	696,000円	576,000円+1,500円		396,000円+10,000円

\*1 送付いただいたライブラリーが精製不足の場合、弊社で再精製を行います。

\*2 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)を行なうサービスです。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。

## 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

納品デモデータは弊社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

(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。