

環境調査に活用できるその他解析サービス

生物種の同定

生物技研では、次世代シーケンサーを用いた同定サービスを基本としています。従来のサンガーシーケンサーでは同定困難だった複数種が混じったサンプルでも同定が可能のため、生態調査にぴったりのサービスです。
※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。

価格	10,000円/サンプル (税別)
納期	20営業日
解析の流れ	<お客様>・サンプルを冷凍便で弊社に送付 <弊社>・サンプルからDNAを抽出 ↓ ・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
オプション	系統樹の作成 30,000円/回

<同定の実施事例>

テンの糞かな？
ニホンイタチかな？

イタチ属の種同定
(サンプル:糞)

何の魚の卵？

魚卵の種同定
(サンプル:魚卵)

何の稚魚？

稚仔の種同定
(サンプル:稚仔魚)

ニッポンバラタナゴ？
タイリクバラタナゴ？
ナギサシロ？

バラタナゴ属の種判別
(サンプル:ヒレ)

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の大部分はホスト由来であるため、弊社ではホスト由来DNAのPCR増幅を抑制するブロッキングプライマーを生物種ごとにご用意します。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	30,000円/サンプル (税別)
	ブロッキングプライマーの設計・合成	20,000円/生物種 (税別)
納期	20営業日	
解析の流れ	<お客様>・サンプルを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、ホスト生物の学名を弊社にご連絡。 <弊社>・サンプルからDNAを抽出 ↓ ・ブロッキングプライマーの設計・合成 ・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	

環境DNA用ポータブルチューブポンプの貸出しサービス

解析を弊社にご依頼いただける場合に無償で貸し出ししています。

◎現場でろ過するメリット

- ・水を送付するよりも、DNAの分解が抑えられる。
- ・輸送費用が安くなる。
- ・解析費用が、1サンプルあたり30,000円→26,000円(税別)と安くなる。

◎費用(税別) ※本体貸出しは0円です

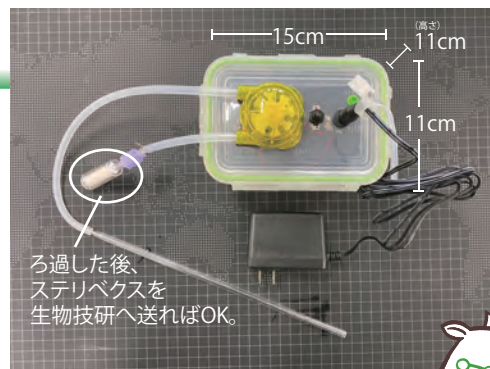
発送/返却費用 4,000円(着払い伝票を同梱)
 消耗品セット(チューブやステリベクスなど) 2,000円/セット(1サンプル分)
 核酸保存液セット* 500円/セット(1サンプル分)

*ろ過後すぐに冷凍できない場合は核酸保存液の添加が必要ですので、このセットもご購入いただくか、ご自身でそれをご用意ください。

◎ご依頼方法

メール等で以下の内容をお知らせください。

①本体台数 ②消耗品セットと核酸保存液セットの個数
 ③使用日程 ④送付先 ⑤無償の練習用キット同梱の必要の有無



ろ過した後、ステリベクスを生物技研へ送ればOK。

コンパクトでいいねえ



使い方など詳細は弊社HPで



生物技研の環境DNA解析は3通り

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、水に含まれる生物の体液や鱗、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。

魚類以外にも可能!

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用いた解析です。環境中のDNAを網羅的なプライマーセットで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、生物相を解析します。

4反復の場合 30,000円/サンプル(税別)

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を用いた解析です。環境中のDNAを種特異的なプライマーセットでPCR増幅しながら、特定生物の在・不在を解析します。

4反復の場合 20,000円/サンプル(税別)



どのハプロタイプかな?

遺伝的多様性解析

次世代シーケンサーを用いた解析です。同じ生物種内で遺伝的に異なる集団(ハプロタイプ)を解析します。

4反復の場合 45,000円/サンプル(税別)

こちらは別途ご用意しています。

より良い解析結果を得るために、現場でろ過しよう!

環境DNA用ポータブルチューブポンプの貸出し始めました。



詳しくは裏表紙をご覧ください。



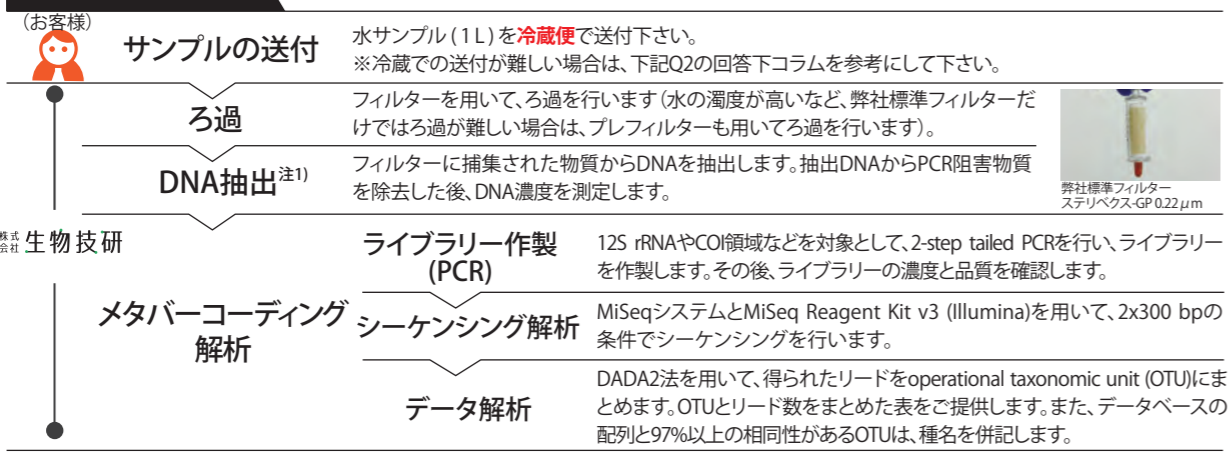
環境DNA 網羅的解析 (メタバーコーディング解析)

※価格は税別です

価格	30,000円/サンプル 底生動物の解析は 35,000円/サンプル	内訳	<ul style="list-style-type: none"> ろ過 4,000円/サンプル DNA抽出 6,000円/サンプル メタバーコーディング解析 20,000円/サンプル (底生動物の解析は25,000円/サンプル)
納期	20営業日		
解析可能な生物種	動物 (COI)、魚類 (cMiFish) ^{*1} 、哺乳類 (MiMammal) ^{*2} 、節足動物 (gInsect) ^{*3} 、鳥類 (gBird) ^{*3,4} 、二枚貝 (gClam) ^{*3} 、巻貝 (gSnail) ^{*3} 、有尾目<イモリ類とサンショウウオ類> (gSalamander) ^{*3} 、無尾目 (gFrog) ^{*3} 、環形動物 (gWorm) ^{*3} 、線虫 (Ecdysozoa) ^{*3} 、陸上植物 (rbcl) ^{*3} 、光合成生物 (psbA) ^{*3} 、褐藻 (gKasso) ^{*3} 、紅藻 (gKoso) ^{*3} 、真核生物 (18S rRNA)、底生動物 (gBenthos) ^{*3-5} ()は使用するプライマーセット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、1st PCRを標準の4反復から8反復へ増やすオプションです。 プライマー追加 + 2,000円/依頼 cMiFishに円口類(スナヤツメやヌタウナギなど)プライマーを追加するオプションです。		

※1 2020年5月よりプライマーセットの名称・混合内容が変わりました。
旧) 淡水用MiFish→MiFish-U-F/RとMiFish-E-F/R (Miya et al., 2015)を1:1で混合
海水用MiFish→MiFish-U-F/RとMiFish-E-F/R-v2、MiFish-U2-F/R (unpublished primer)を2:1で混合
新) cMiFish→MiFish-U-F/RとMiFish-E-F/R-v2、MiFish-U2-F/R、MiFish-Ayu&Wakasagi(unpublished primer)を4:2:2:1で混合
※2 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。 ※3 自社で開発したプライマーセットでの解析です。
※4 鳥類は環境DNAへの移行が少なく、検出が困難な傾向にあります。 ※5 節足動物、環形動物、貝(二枚貝・巻貝)、十脚甲殻類が解析対象です。

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: 10,000円/サンプル・生物種)。

解析具体例

相模川における動物相



OTU名	sagami-1	sagami-2	sagami-3	sagami-4	和名
OTU128	73	0	38	5	スシホトムシ属
OTU63	518	0	54	0	ツボウフシ
OTU1171	12	2	0	0	キンギョ
OTU341	21	8	4	1	トックリヤドリミズ
OTU124	24	30	7	14	マダモクダグ
OTU451	3	13	0	2	ボウ
OTU121	62	33	11	6	アユ

各サンプリング地点におけるOTUごとのリード数と種名を示しています。動物 (COI) プライマー(Leray et al., 2013)を使用しました。



MiSeqを使用し、左のようなデータ解析結果を納品します。

よくあるご質問

Q1.採水時の注意点は?

<容器>再利用する場合は10倍希釈した漂白剤(ブリーチ)に3時間以上浸漬した後、水道水と純水や超純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下さい。
<採水>必ず手袋をして下さい。
<保存>採水後はできる限り早く冷蔵して下さい。

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)へ送付して下さい。
※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。

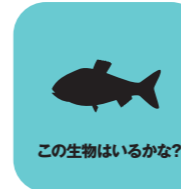
冷蔵での保存・送付が難しい場合
「オスバン消毒液」を、水1Lに対して1ml添加すると10日程度の保存が可能となるようです。参照論文など詳しくは弊社HPをご覧ください。

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、フィルターが目詰まりを起こした時は、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.フィルターの種類やろ過方法は?

弊社標準は、ステリベクス-GP 0.22 μm(メルクミリポア)で加圧ろ過になります。プレフィルターは、ガラス繊維ろ紙GF/A (Whatman)で減圧ろ過になります。

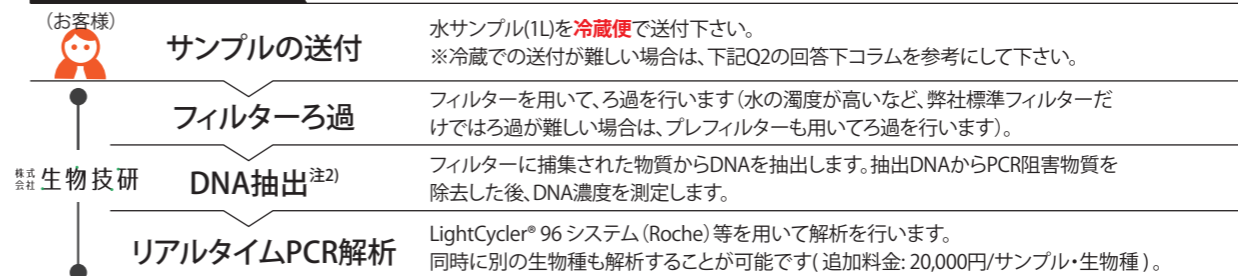


環境DNA 種特異的解析 (リアルタイムPCR解析)

※価格は税別です

価格	解析	20,000円/サンプル	内訳	<ul style="list-style-type: none"> ろ過 4,000円/サンプル DNA抽出 6,000円/サンプル リアルタイムPCR解析 10,000円/サンプル
価格	プライマーの設計・合成	100,000円	<p>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</p> <p>対象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、対象生物種のみを検出できる保証はできません。対象生物やその近縁種の個体や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。</p>	
納期	6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6営業日です。 ※ダウンロード形式で納品します。		
オプション	定量解析 (DNAコピー数の算出)	2サンプルまで: +10,000円/サンプル 3~20サンプル: +30,000円/依頼・生物種		
	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、標準の4反復から8反復へ増やすオプションです。		

解析の流れ



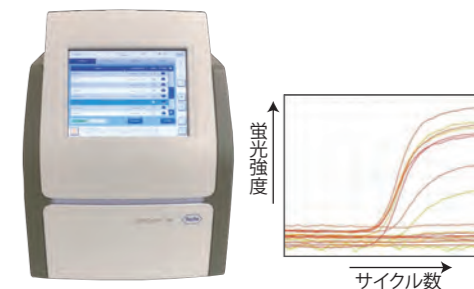
注2) 抽出されたDNAは、リアルタイムPCR解析だけでなく、メタバーコーディング解析にも使用することが可能です(追加料金: 20,000円/サンプル)。

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結果で、分母が反復数、分子が検出回数を示しています。
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。



LightCycler® 96 システム (Roche)等を使用し、右のようなデータから在・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の両方を行う>

例: 1サンプルについて魚類相の網羅的解析とアユの種特異的解析

ろ過とDNA抽出	10,000円
メタバーコーディング解析	20,000円
リアルタイムPCR解析	10,000円
合計	40,000円

お問合せ・見積依頼 サンプル送付先

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

