

## GridIONを用いたゲノム解析

オススメは、

GridION+DNBSEQで

ロングリード

ショートリード

ハイブリッドアセンブル

低価格で高品質のゲノムデータを取得できます！

細菌のハイブリッドアセンブルでは、多くの場合で環状化したゲノムデータが得られています。プラスミド等は、別の配列として環状化されます。また、ゲノムサイズの大きな生物については、裏面参考例の通り、scaffold数が大きく減少する結果が得られています。

細菌の場合

14万円  
(税別)

## 細菌の解析

	ロングリード取得のみ	ハイブリッドアセンブルプラン
価格(税別)	100,000円/ サンプル <作業内容> ・送付 DNA の品質確認 ・GridION 用ライブラリー調製 ・GridION シーケンシング解析  ※ロングリードのみでのアセンブルは推奨していません。	140,000円/ サンプル <作業内容> ロングリード取得 (GridION/ 左記) 100,000円/サンプル ショートリード取得 (DNBSEQ-G400) ※1 ・ライブラリー調製 40,000円/サンプル ・シーケンシング解析 (200PE・1Gb) ハイブリッドアセンブル (オートアノテーション含む) 0円 /サンプル※2
納期	4～6週間	5～7週間

## 真核生物の解析

取得するデータ量は、ゲノムサイズから算出ください。アセンブルには、ロングリードはゲノムサイズの20倍、ショートリードはゲノムサイズの50倍のデータが必要です。

	ロングリード取得のみ	ハイブリッドアセンブルプラン
価格(税別)	225,000円/ フローセル 1 フローセルあたりの取得データ量は 5-10Gb が目安です (DNA の品質に依存します)。  例えばゲノムサイズ 200Mb の生物だと、ロングリードのデータは 4Gb 以上取得が望ましく、1 フローセルのご依頼でよいと思います。 <作業内容> ・送付 DNA の品質確認 ・GridION 用ライブラリー調製 ・GridION シーケンシング解析	ゲノムサイズに合わせて①～③を組合せてください。 ①ロングリード取得 (GridION/ 左記) 225,000円/ フローセル + ②ショートリード取得 (DNBSEQ-G400) ※1 取得データ量 5Gb 50,000円/ サンプル 10Gb 80,000円/ サンプル ・ライブラリー調製 20Gb 120,000円/ サンプル ・シーケンシング解析 (200PE) 50Gb 180,000円/ サンプル + ③ハイブリッドアセンブル ゲノムサイズ 100Mb 未満 50,000円/ サンプル 1Gb 未満 100,000円/ サンプル 1Gb 以上 要相談
納期	4～6週間	5～8週間 (ゲノムサイズ 1Gb 以上は要相談)

※1 ショートリードについては、お手持ちのデータを利用させていただくことも可能です。

※2 弊社にロングリード取得をご依頼いただいた場合に限りです。





## ご提供いただく DNA の量と品質がとても重要です。

### 1. DNA量

<バクテリアの場合> 濃度 50 ng/ul 以上、液量 100 ul 以上あることが理想です。

最低でも DNA 量は 2 ug が必要です。同時にショートリードも取得する場合は、最低 3 ug が必要です。

<真核生物の場合> 1 フローセルあたり、濃度 50 ng/ul 以上、液量 200 ul 以上あることが理想です。

最低でも DNA 量は 1 フローセルあたり 3 ug が必要です。

同時にショートリードも取得する場合は、最低 4 ug が必要です。

### 2. DNAの品質

260/230 は 2.0 以上、260/280 は 1.8 以上、電気泳動で 20kb あたりにバンドが見えていることが望ましいです。

### 3. バッファー

ヌクレアーゼ活性を抑えて分解を抑えられる TE buffer がお勧めです。

長いリードを得るためには  
断片化されていないDNAが  
必要ってことらしい



### 4. 送付方法

冷凍便でお送りください。

また、輸送中の大きな揺れによる物理的なせん断を避けるために、梱包の際はサンプルチューブを緩衝材で包んでご送付ください。

## DNA 抽出からご依頼いただくことも可能です。

弊社では、GridION ゲノム解析用のサンプルについては、Genomic-tip (QIAGEN) を用いて、DNA 抽出を行います。

DNA 抽出料金は 30,000 円 / サンプル (税別) で、納期は 1 週間追加となります。

ご提供いただくサンプル量の目安は、細胞数  $1 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$  程度、湿重量 20 ~ 100 mg 程度です。

凍結融解を避けるため冷蔵便でお送りください。

### ●ハイブリッドアセンブル 参考事例

対象生物：ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*)

※日本大学生物資源科学部 海洋生物資源科学科  
澤山英太郎様にご提供いただきました。



### ▶シーケンシング解析結果

シーケンサー	総塩基数 (Gb)	備考
DNBSEQ-G400	63.5	150 bp ペアエンド解析
GridION X5	25.6	平均リード長：7,670 bp 最長リード：158 kb

### ▶ハイブリッドアセンブル結果

アセンブラーは MaSuRCA を使用

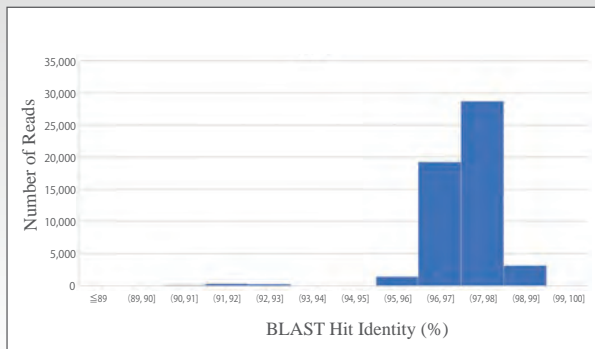
シーケンサー	DNBSEQ-G400	DNBSEQ-G400+GridION X5
scaffold 数	62,791	1,839
最長 scaffold (bp)	553,059	22,224,473
N50 * (bp)	28,809	3,706,346
総塩基数 (Mb)	565.7	590.9

\* 長い配列から加えていき、総塩基長の半分に達した時の配列長となります

ハイブリッド  
...  
つて



### DATA COLUMN



### GridIONを用いた解析における塩基配列の読み取り精度はどれくらい？

Oxford Nanopore Technologies社の継続的な技術開発によって、解析の性能が常に向上しています。左図は、Nanopore 16S Barcoding Kitを使用してシーケンスデータを取得後、品質の良い5万配列をNCBI 16S Microbial Databaseに対してBLAST検索を行った結果です。2020年7月時点では、ヒットした配列に対する配列一致率の平均値は97.0%でした(2020年4月は94.2%)。