

ILLUMINA MiSeq を使用した 16S rRNA 等のディープシーケンズ 微生物群集解析

■ 解析対象領域 (1st PCR プライマー)

※ 下記以外のプライマーについてはお問い合わせください。

<p>真正細菌に広く対応</p> <p>16S rRNA V3-V4 341F / 805R</p> <p>Herlemann D.P.R. et al. (2011) ISME J 5,10:1571-1579</p>	<p>古細菌の増幅効率向上</p> <p>16S rRNA V3-V4 341F' / 805R</p> <p>Hugerth L.W. et al. (2014) Appl Environ Microbiol 80:5116-5123</p>	<p>葉緑体16Sの増幅抑制</p> <p>16S rRNA V3-V4 335F / 769R</p> <p>Dorn-In S. et al. (2015) J Microbiol Methods 113: 50-56</p>	<p>真菌に対応</p> <p>fungi ITS1 region ITS1F_KY01 / ITS2_KY02</p> <p>Toju H. et al. (2012) PloS one 7(7): e40863</p>
--	--	---	---

■ 解析プラン

1 検体からご依頼いただけます。	DNA抽出からご依頼！	1st PCR からご依頼！	2nd PCR からご依頼！
ご提供いただくサンプル⇒	糞便：0.2～0.5 g 土壌：1～5 g 汚泥：5～10 mL	精製済みゲノム DNA 200ng (10ng/μL) 以上	精製済み 1st PCR 産物 5 ng (0.2 ng/μL) 以上
環境サンプルの DNA 抽出	↓ HSS にて実施	お客様にて実施	お客様にて実施
16S rRNA 領域の 1st PCR			
ライブラリ調製用の 2nd PCR		HSS にて実施	HSS にて実施
MiSeq 300bp ペアエンド 10万リードペア / 検体			
データ解析 (微生物群集解析)			

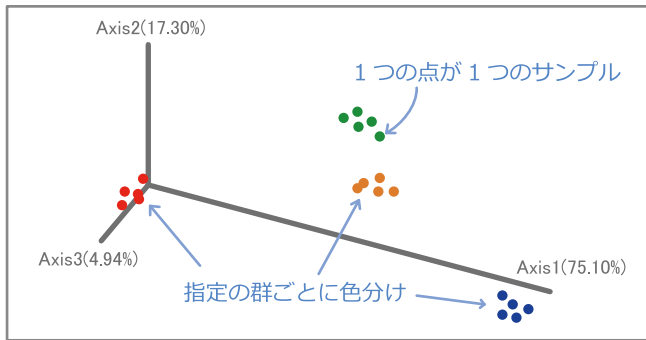
※ サンプル量が上記基準に満たない場合でもご相談ください。

■ 標準データ解析①

菌叢構成情報の算出	α多様性情報の算出											
<p>サンプルに含まれる菌の種類と占有率を算出します。 サンプルごと、群ごとの菌叢構成の傾向がわかります。</p>	<p>希薄化曲線の形状や群集の多様度を表す指標値により、 菌叢の多様性の高さや取得データの充足度がわかります。</p>											
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>SampleA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>#OTUs</td> <td>727</td> </tr> <tr> <td>good's coverage</td> <td>0.989</td> </tr> <tr> <td>chao1 index</td> <td>1847</td> </tr> <tr> <td>simpson index</td> <td>5.829</td> </tr> <tr> <td>shannon index</td> <td>0.952</td> </tr> </tbody> </table>	SampleA	#OTUs	727	good's coverage	0.989	chao1 index	1847	simpson index	5.829	shannon index	0.952
SampleA												
#OTUs	727											
good's coverage	0.989											
chao1 index	1847											
simpson index	5.829											
shannon index	0.952											

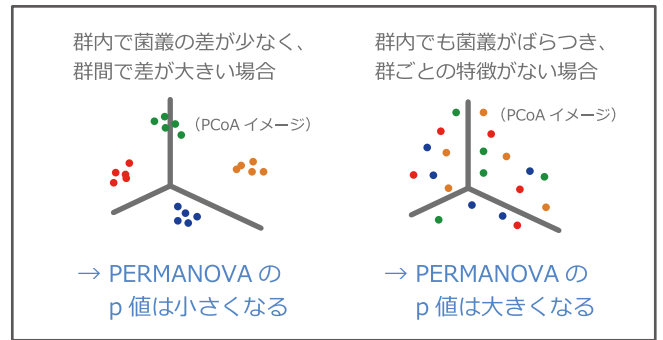
■ 標準データ解析②

PCoA プロット作成



サンプル間の菌叢の類似度に基づき主座標分析を行います。PCoA プロットでは菌叢の似たサンプルが近くに集まり、群ごとのまとまりを視覚的に表すことができます。

有意差検定 (PERMANOVA)



PERMANOVA では、サンプルを指定の群に分けた時に群間で菌叢に有意な差があるかを調べることができます。PCoA プロットとセットで利用されることが多い解析です。

群間で菌叢に差があるかどうか調べたい (β多様性)

図として視覚化

PCoA プロット作成

統計解析による評価

有意差検定 (PERMANOVA)

群間で占有率が異なる菌を検出したい

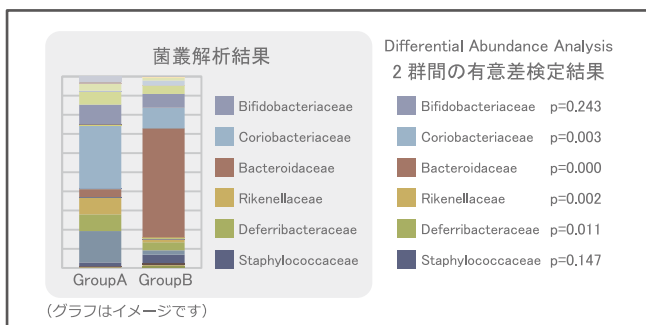
統計解析にもとづく検出

<オプション>

有意差検定 (Differential Abundance Analysis)

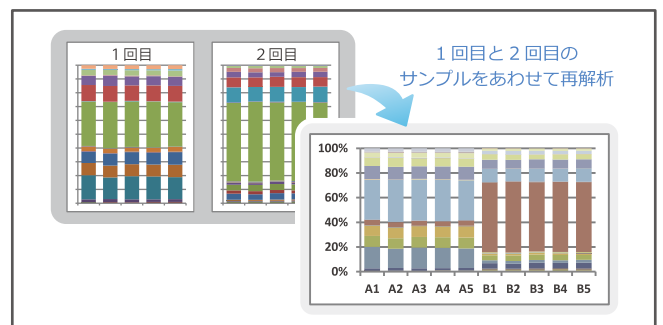
■ オプションデータ解析

有意差検定 (Differential Abundance Analysis)



群間における各菌の占有率の違いについて有意差検定を行います。p 値が低い菌は群間で有意に変動していると言えます。

複数データセットの統合



複数回実施された群集解析について、比較対象のサンプルのデータを統合して再解析(表面:標準データ解析①)を行います。

代理店

北海道システム・サイエンス株式会社

〒001-0932 札幌市北区新川西2条1丁目2-1

☎ 0120-613-190

TEL : 011-768-5901 FAX : 011-768-5951

E-mail : hss-ngs@hssnet.co.jp

URL : <https://www.hssnet.co.jp>

※ 本サービスの仕様は、予告なく変更する場合がございます。