

## 仕様書

### 1. 件名

次世代シーケンサーを用いた細菌 16S-rRNA アンプリ コンシーケンス解析

### 2. 履行期限

令和 8 年 3 月 31 日

### 3. 概要

大豆湯煮廃水処理汚泥中の細菌叢解析

### 4. 解析内容

#### 1) 検体

- (1) 大豆湯煮廃水処理汚泥からの抽出 DNA を当方より冷蔵便で送付する。
- (2) 検体数 : 12
- (3) バイオセーフティーレベル (BSL) 非該当。遺伝子組み換えなし。
- (4) 10ng/μL 以上の gDNA を 50μL 程度送付可能 (260nm の吸光度ベースでの定量)。
- (5) 受領後、受託者が PCR 阻害物質の除去 (カラム精製) を行う。

#### 2) 1stPCR

- (1) 対象遺伝子領域 : 16S rRNA V3/V4
- (2) プライマー : 341' f\*-805r

\*341' f primer は、(Hugerth et al. 2014) で報告されている改変  
プライマー。検体と同時に当方より提供可能。

#### 3) シーケンス条件

- (1) illumina 社 NextSeq1000 または MiSeq を使用。
- (2) リード長およびデータ量は、300bp Paired End および 1 サンプルあたり 3 ~ 5 万  
リードペア程度とする。

#### 4) 解析

- (1) QIIME2 (DADA モデル) による系統推定 (データベース SILVA)。
- (2) 可能な限り属レベルまで。難しいものについては科レベルまででよい。

### 5. その他提出物

- 1) 委託業務完了報告書 : 紙媒体
- 2) シーケンスデータ (Fastq file) : 電子ファイル
- 3) 系統解析結果 (エクセルファイルと可視化データ) : 電子ファイル