



GRADUATE SCHOOL OF
FRONTIER SCIENCES
THE UNIVERSITY OF TOKYO

2021.10.7
@Zoom

公益社団法人 全国競馬・畜産振興会 (JRL) 創立30周年記念講演会
「畜産ゲノム研究の過去から未来へ」

高精度和牛ゲノムデータベースの 構築と活用

東京大学 大学院新領域創成科学研究科
メディカル情報生命専攻
鈴木穰



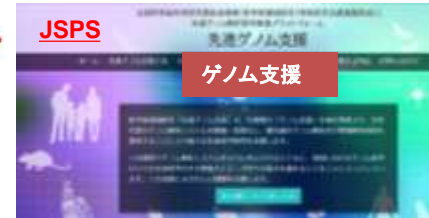
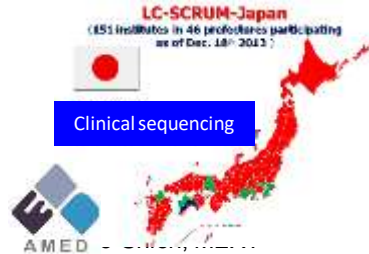
THE UNIVERSITY OF TOKYO

ゲノム技術中核拠点

東大・柏拠点



On-going contributions as a sequence center



Hiseq2500 x 6+ Hiseq3000 x 1
NovaSeq x 2->3



And serving as an Incubation center for new genome technologies



Single cell analyzer;
C1 (Fluidigm)



PIs: Yutaka Suzuki
Univ. Tokyo



Operators:
Technicians 10
Programmers 4



ysuzuki@hgc.jp

今年度、日本人標準ゲノム3500人分のシーケンスを実施中

独自にも進める技術開発

肺がんゲノムのLong read解析

構造多型は時として非常に複雑: 従来のシーケンサーでは検出困難

Research

Long-read sequencing for non-small-cell lung cancer genomes

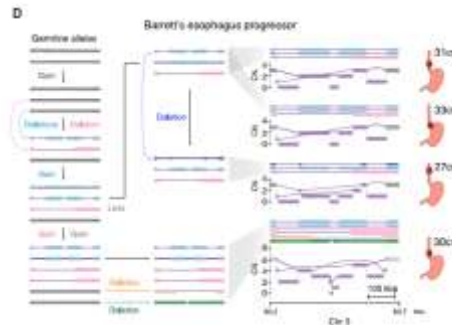
Yoshitaka Sakamoto,¹ Liu Xu,¹ Masahide Seki,¹ Toshiyuki T. Yokoyama,¹ Masahiro Kasahara,¹ Yukie Kashima,^{2,3} Akihiro Ohashi,³ Yoko Shimada,⁴ Noriko Motoi,⁵ Katsuya Tsuchihara,² Susumu S. Kobayashi,³ Takashi Kohno,⁴ Yuichi Shiraishi,⁶ Ayako Suzuki,^{1,2} and Yutaka Suzuki¹

¹Department of Computational Biology and Medical Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, Chiba 277-8562, Japan; ²Division of Translational Informatics, Exploratory Oncology Research and Clinical Trial Center, National Cancer Center, Chiba 277-8577, Japan; ³Division of Translational Genomics, Exploratory Oncology Research and Clinical Trial Center, National Cancer Center, Chiba 277-8577, Japan; ⁴Division of Genome Biology, National Cancer Center Research Institute, Tokyo 104-0045, Japan; ⁵Department of Pathology, National Cancer Center Hospital, Tokyo 104-0045, Japan; ⁶Division of Cellular Signaling, National Cancer Center Research Institute, Tokyo 104-0045, Japan

Genome Res. published online September 4, 2020
Access the most recent version at doi:10.1101/gr.261941.120



鈴木絢子准教授
(CBMS, 東大新領域)



Sakamoto et al Genome Res 2020

肺がん Transcriptome の Long read 解析

がんのスプライス異常がネオ抗原の母地になっている可能性

Oka et al Genome Biology 2021
https://doi.org/10.1186/s12859-020-02343-6

Genome Biology

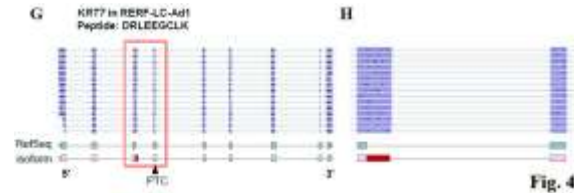
RESEARCH

Open Access

Aberrant splicing isoforms detected by full-length transcriptome sequencing as transcripts of potential neoantigens in non-small cell lung cancer

Miho Oka^{1,2}, Liu Xu¹, Toshihiro Suzuki^{1,4}, Toshiaki Yoshikawa⁴, Hiromi Sakamoto⁵, Hayato Demura⁶, Akiyasu C. Yoshinawa⁷, Yutaka Suzuki¹, Tetsuya Nakatsura⁸, Yasushi Ishihama⁹, Ayako Suzuki¹ and Masahide Seki^{1*}

NMDのおこらないガンが多い?



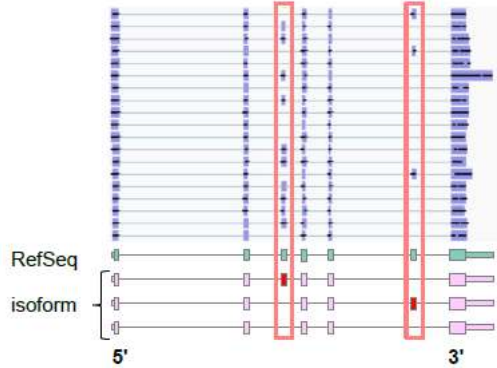
岡実穂 DSTEP博士課程学生
(小野薬品工業/CBMS, 東大新領域)

Oka et al Genome Biol 2021

がんで多く検出されるTranscriptのLong read解析

※これも肺腺がん
(NCCE中面先生/FIOC坂本先生との共同研究)

G PSMD7, SF3B1 K.D. in A549



GENCODE+GTexで

Oka et al Genome Biology (2021) 22:8
https://doi.org/10.1186/s12859-020-02243-8

Genome Biology

RESEARCH Open Access

Aberrant splicing isoforms detected by full-length transcriptome sequencing as transcripts of potential neoantigens in non-small cell lung cancer

Miho Oka^{1,2}, Liu Xu¹, Toshihiro Suzuki^{1*}, Toshiaki Yoshikawa⁴, Hiromi Sakamoto⁵, Hayato Uemura⁶, Akitsugu C. Yoshizawa⁶, Yutaka Suzuki^{1*}, Tetsuya Nakatsura⁴, Yasushi Ishihama⁶, Ayako Suzuki⁷ and Masahide Seki^{1*}

Oka et al Genome Biol 2021

Aberrant splicing in cancers as a possible source of NeoAntigens



NMDのおこらないガンで多い？

G KRT7 in RER-LC-Ad1 Peptide: DRLEEGCLK



H

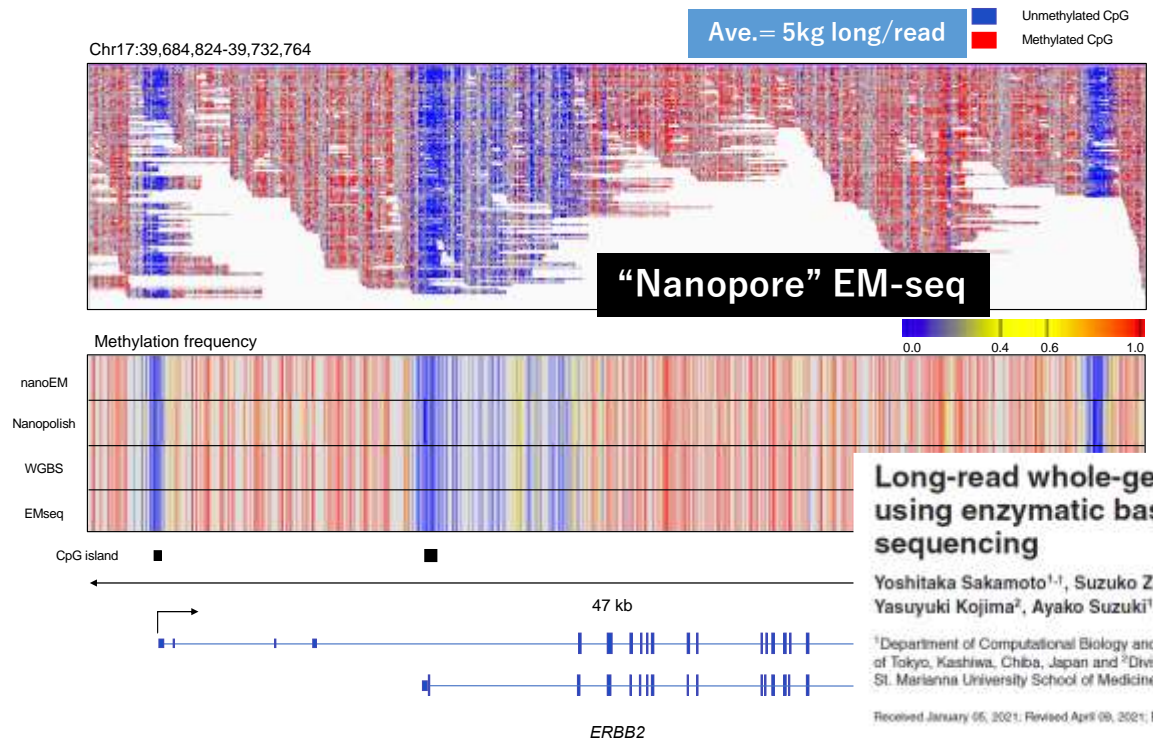


Fig. 4

➡ 実はいくつか患者TILでELISPOTを試したペプチドはあんまり抗原性高くなさそう・・・(残念・・・)

エピゲノム (DNAメチル化) の長鎖解析

Long read Methylation Analysis using nanoEM-seq

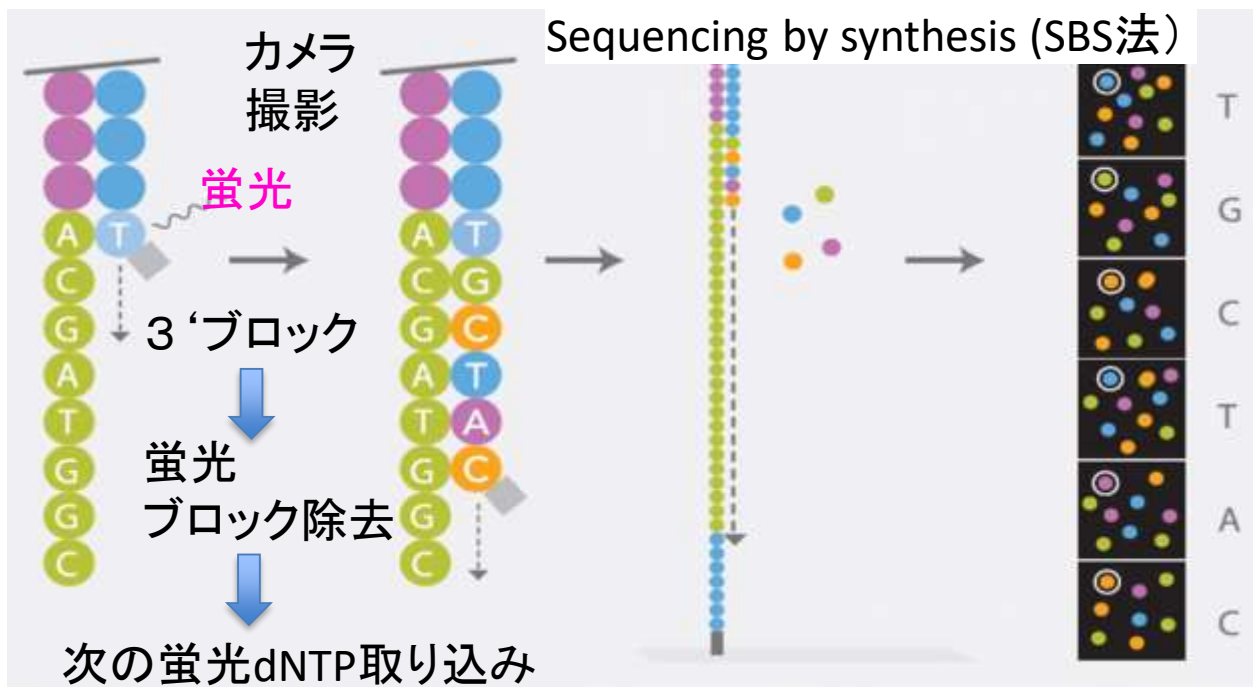
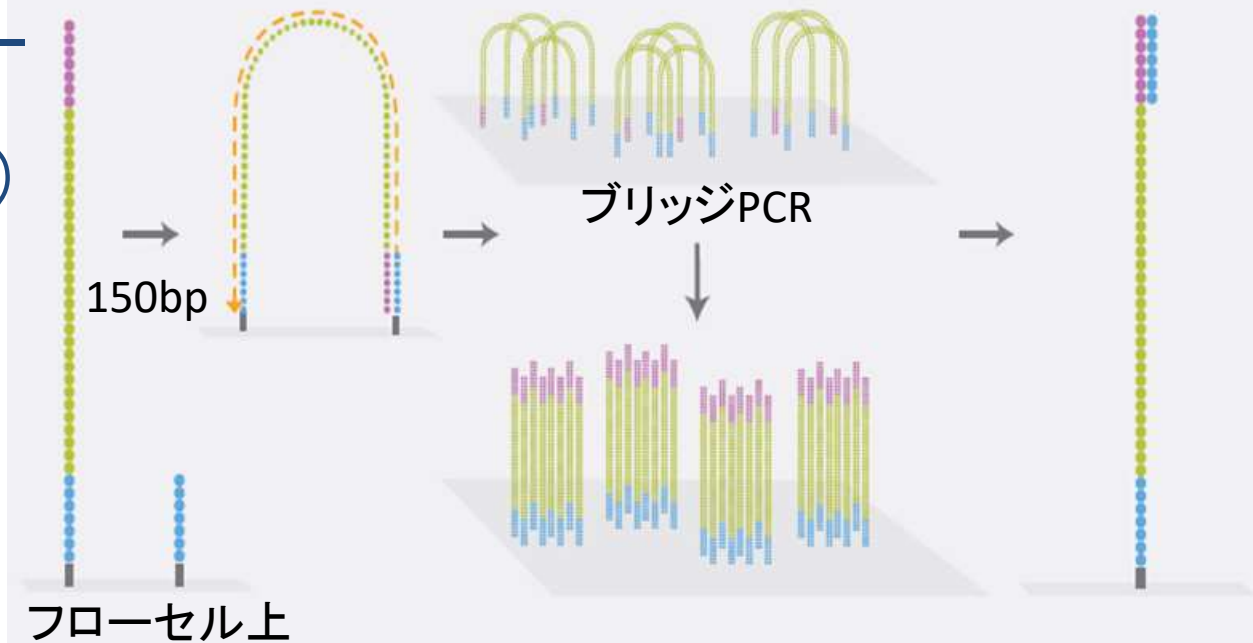


関真秀DSTEP特任准教授 (CBMS, 東大新領域)

Requiring amount of DNA: 10- 50 ng

Sakamoto et al. NAR 2021

次世代シーケンサー 原理(ショートリード)



How are partnerships forming across the globe?

Nature Japan / Nature ダイジェスト / Vol. 12 No. 2 / News / 「プラチナ」ゲノムで疾患に迫れ

IN FOCUS NEWS

「プラチナ」ゲノムで疾患に迫れ

GENOMICS

‘Platinum’ genome shapes up

Disease sites targeted in assembly of more-complete version of the human genome sequence.

Nature ダイジェスト Vol. 12 No. 2 | doi: 10.1038/ndigest.2015.

原文: Nature (2014-11-20) | doi: 10.1038/515323a | [Platinum genome shapes up](#)

BY EWEN CALLAWAY

Ewen Callaway

地域と“ToMMo”に



東北メディカル・メガバンク機構

お知らせ | 雨へ シークエンサーの進歩 | を公

ToMMoを知る

◎ ToMMoとは?

◎ ご挨拶

お知らせ

記事一覧 | 全て |

2016.08.25 | 成果

日本人の基準ゲノム配列 (JRG) を公開【プレスリリース】

東北大学東北メディカル・メガバンク機構（以下、ToMMo）は、コホート調査の参加者から提供されたDNAをもとに、長鎖読みとり型の次世代シーケンサーPacBio RS II（Pacific Biosciences社製）を用いて、ヒトゲノム全長の100倍に相当する3,000億塩基のシーケンシングを行い、全ゲノム解読しました。本シーケンシング解析の結果、国際ヒトゲノム参照配列に対して、日本人が保有しこれまで報告されてこなかった約

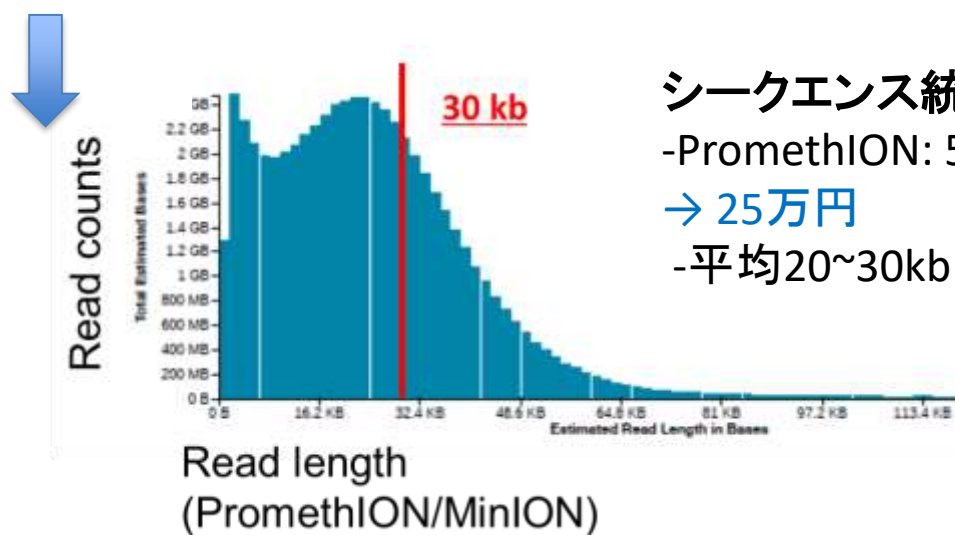
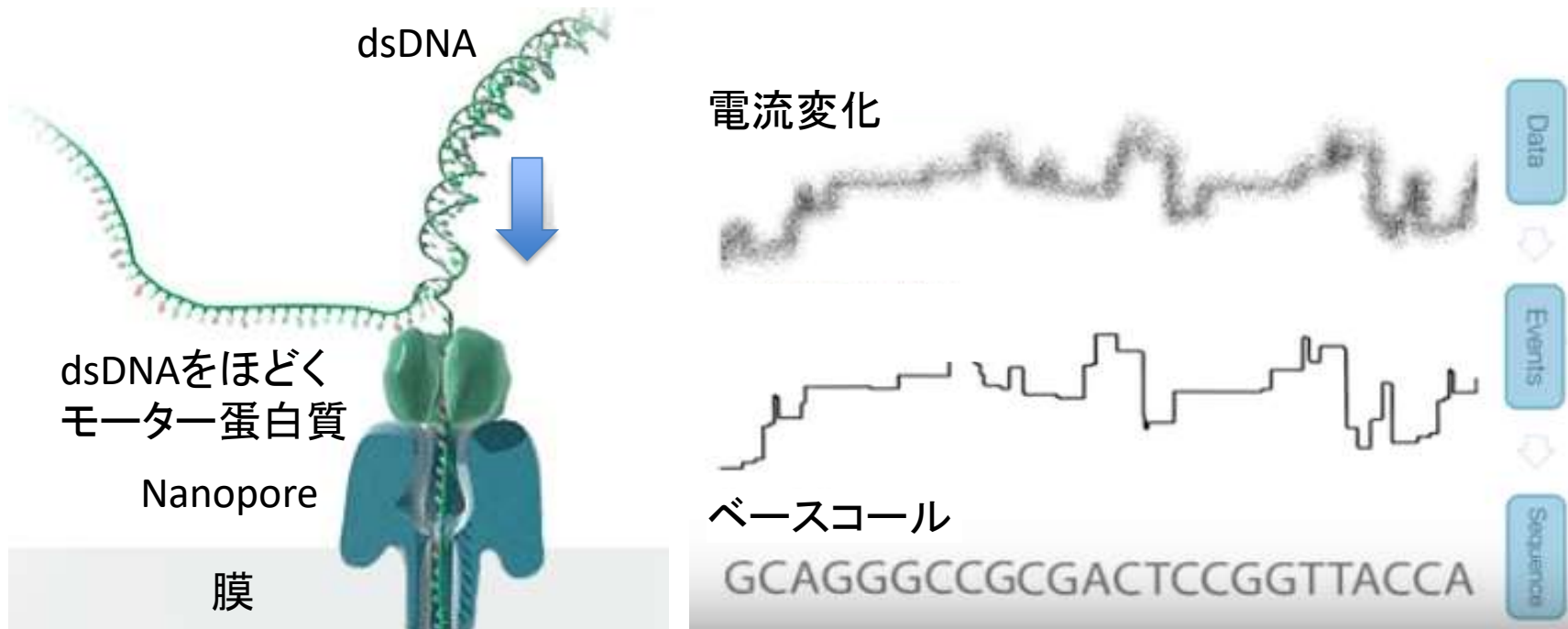
LETTER

OPEN

doi:10.1038/nature20098

De novo assembly and phasing of a Korean human genome

ヒトでもプラチナゲノムの作成が始まる



読み取り精度に劣るが.....

Range 1: 117 to 1405 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1860 bits(2062)	0.0	1222/1304(94%)	59/1304(4%)	Plus/Plus
Query 60	TCTGCTCCTCCTGTTTCGACAGTCAGCCGCATCTTCTTTTTGCGTCGCCAGCCGAGCCACA	119		
Sbjct 117	TCTGCTCCTCCTGTTTCGACAGTCAGCCGCATCTTCTTTTT-GCGTCGCCAGCCGAGCCACA	175		
Query 120	TCGCTCAGGACCCATGGG-AAGGTGAAGGTCGGAGTCAACGGATTTG-TCGTATTGGGC	1 Query 823	TCCCCACTGCCAACGTGTGACGGTGGACCTGACCTGCCGTCTAGAAAAACCTGCCAAA	882
Sbjct 176	TCGCTCAG-ACACCATGGGAAGGTGAAGGTCGGAGTCAACGGATTTGGTCGTATTGGGC	2 Sbjct 892	TCCCCACTGCCAACGTGTCA-GTGGTGGACCTGACCTGCCGTCTAGAAAAACCTGCCAAA	950
Query 178	GCCTGGTCACACAGGGCTGCTTTTAACTCTGGTAAAGTGCATATTGTTGCCATCACCGACC	3 Query 883	TATGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAGCAGGCGTCGGAGG---CCCTCAAGGGCATCCTG	939
Sbjct 235	GCCTGGTCACACAGGGCTGCTTTTAACTCTGGTAAAGTGCATATTGTTGCCATCAATGACC	4 Sbjct 951	TATGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAGCAGGCGTCGGAGGGCCCCCTCAAGGGCATCCTG	101
Query 238	CCTTCATTGACCTCAACTAC--GGTTTACATATGTTCCAATATGATTCCACCCATGGCAA	5 Query 940	GGCTACACTGGAGCACCAGGTGGTCTC--CTGAC-TCAACAGCGACACCCA-TCCTCCAC	995
Sbjct 295	CCTTCATTGACCTCAACTACATGGTTTACAT--GTTCCAATATGATTCCACCCATGGCAA	6 Sbjct 1011	GGCTACACT-GAGCACCAGGTGGTCTCCTCTGACTTCAACAGCGACACCCACTCTCCAC	106
Query 296	ATTCCATGGCACCCTCAAGGCTGAGAACGG-AAGCTTGCATCAATGGAATC--ATCAC	7 Query 996	CTTCGACGCTGGGGCTGGCATTGCCCTCAACGACCACCTTATCAAGCTCATTTCCTGGTA	105
Sbjct 353	ATTCCATGGCACCCTCAAGGCTGAGAACGGGAAGCTTGCATCAATGGAATCCATCAC	8 Sbjct 1070	CTTTGACGCTGGGGCTGGCATTGCCCTCAACGACCACCTTGTCAAGCTCATTTCCTGGTA	112
Query 353	CATCTTCCAGGAGCGAGATCCCTCCAAAA TCAGAGTGGGGCGATGCTGGCGCTGAGTACG	9 Query 1056	TGACAAC--AGTTGACTCTACACAGCAACAGGGTGGTGGACCTCATGGCCACATGGCCT	111
Sbjct 413	CATCTTCCAGGAGCGAGATCCCTCCAAAA TCA-AGTGGGGCGATGCTGGCGCTGAGTACG	10 Sbjct 1130	TGACAACGAATTGGCT----ACAGCAACAGGGTGGTGGACCTCATGGCCACATGGCCT	118
Query 413	TCGTGGAGTCCACTGGCGCTTTCACCACCATGGAGAAGGCTGGGGCTCATTTCAGGGGG	11 Query 1114	ATCAAGGAGTAA---CCCT-GACCACCAGCCCCAGTAAG-GCACAAGAGGAAGAGAGAGA	116
Sbjct 472	TCGTGGAGTCCACTGGCGCTTTCACCACCATGGAGAAGGCTGGGGCTCATTTCAGGGGG	12 Sbjct 1186	-CCAAGGAGTAAGACCCCTGGACCACCAGCCCCAGCAACAGCACAAGAGGA--AGAGAGA	124
Query 473	-AGCCAAA-GGGTCATCATCTCTGCC--TCTGCTGACGCC--ATGTTTCGTGGCGG-TG	13 Query 1169	GACCCCTACTGCT-GGGAGTCC-GCCCACTCAGTCCCCACCACACCGAATCT--CCT	122
Sbjct 532	GAGCCAAAAGGTCATCATCTCTGCCCTCTGCTGATGCCCCCATGTTTCGTGATGGGTG	14 Sbjct 1243	GACCCCTACTGCTGGGGAGTCCCTGCCCACTCAGTCCCCACCACACTGAATCTCCCT	130
Query 527	TGAACCATGAGAAGTATGACAACAGCCTCAAGATCATCAGCAATGCCTCCTGCACCACCA	15 Query 1224	CCTCACAGTTCCATGTAGACCCC-TGAAGAGGGGA--GGCCT-GGGA--TGCACCTTTG	127
Sbjct 592	TGAACCATGAGAAGTATGACAACAGCCTCAAGATCATCAGCAATGCCTCCTGCACCACCA	16 Sbjct 1303	CCTCACAGTTGCCATGTAGACCCCTGAAGAGGGGAGGGCTAGGGAGCCGCACC-TTG	136
Query 587	ACTGCTTAGCACCCCTGGCCAAGGTCATCCGCGACAACCTTTGGTATCGTGGAAAGGACTCA	17 Query 1278	TCATGTACCATCAATAAAGTACCCTGTGCTCAACCAG--AAAAA 1319	
Sbjct 652	ACTGCTTAGCACCCCTGGCCAAGGTCATCCATGACAACCTTTGGTATCGTGGAAAGGACTCA	18 Sbjct 1362	TCATGTACCATCAATAAAGTACCCTGTGCTCAACCAGTTAAAAA 1405	
Query 647	TGACCACAGTCCATGCCATCACTGCCACCCAGAAGACTGTGGATGGCCCCTCGGGAAAC	706		
Sbjct 712	TGACCACAGTCCATGCCATCACTGCCACCCAGAAGACTGTGGATGGCCCCTCGGGAAAC	771		
Query 707	TGTGGCGTGTGGCCG-TGGGCTCTCCAGAACATCATCCCTGCCTCTACTGGGCTGCCA	765		
Sbjct 772	TGTGGCGTGTGGCCGCGGGGCTCTCCAGAACATCATCCCTGCCTCTACTGGGCTGCCA	831		
Query 766	AGGCTGTGGCCAAGGTCAT-CCTGAGCTGAACGGG--GCTCACTGGCGCGGCTTCAGGTG	822		

1) 短鎖シーケンス (NovaSeq6000データ)

サンプル数: 64

- ・bwaでマッピング → GATKでvariation call
- ・その他、De novo assembleのpolishing等を使用

2) 長鎖シーケンス (PromethIONデータ)

サンプル数: 64

- ・minimap2でマッピングと集計
- ・NGMLRとSnifflesを用いてSV call

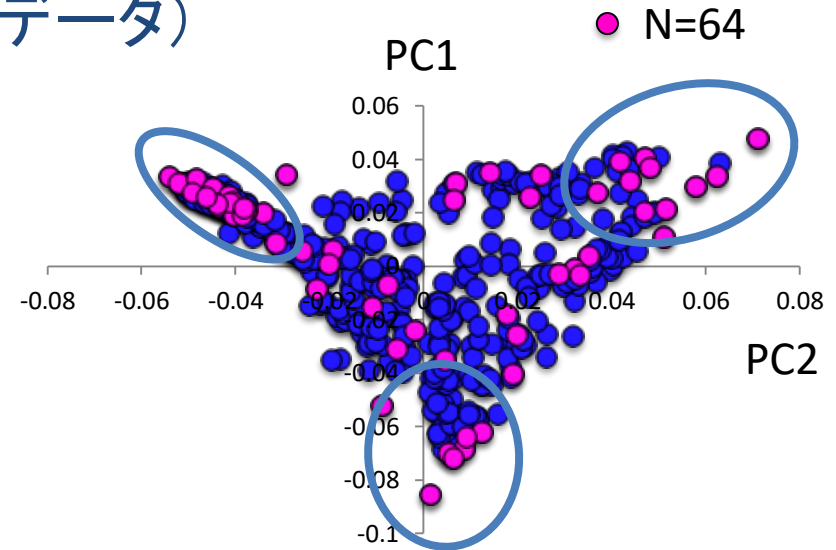
3) De novo assembly (和牛ゲノムを新規に作成)

1)、2)のデータを使用

4) RNA-seqデータ

edgeR、StringTieで処理

5) 統合ゲノムブラウザ



和牛のゲノム研究ネットワーク

東京大学大学院新領域創成科学科

鈴木研

シーケンスチーム

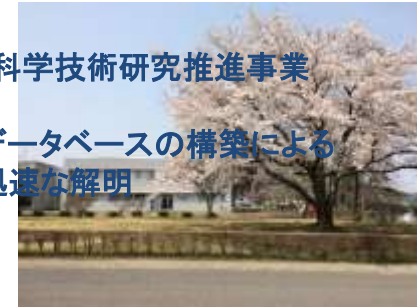


東大:国内におけるゲノム研究拠点

北海道 青森県 岩手県 宮城県
岐阜県 兵庫県 島根県 鳥取県
広島県 岡山県 大分県 熊本県
宮崎県 鹿児島県 沖縄県 事業団

岡山大 東農大 北里大
NOSAI岩手 NOSAI山形 民間牧場

農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業
(H27-H29)
和牛の遺伝子多様体データベースの構築による
子牛生産阻害因子の迅速な解明
(研究統括:杉本喜憲)



動物遺伝研究所

- ・研究統括、デザイン、管理
- ・シーケンス分析

全国育種施設の強力なバックアップ

- ・委託研究(鹿児島県)
- ・共同研究契約(動物遺伝研)

平成29年5月26日
於:鹿児島県肉用牛改良研究所



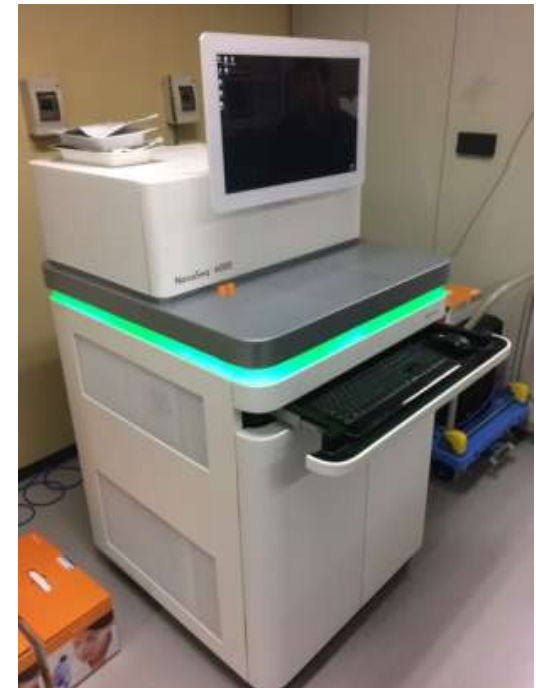
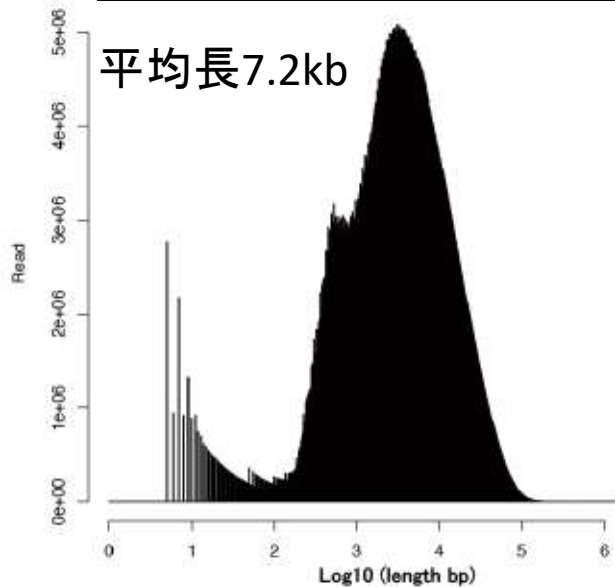
農研機構生研支援センター
「イノベーション創出強化研究推進事業」

JRA
「黒毛和種の強化ゲノム情報の改善・活用事業」

	PromethION (N=64)	Novaseq 6000 (N=64)
Number of reads	12,394,985	920,828,388
Max length (bp)	796,770	(150 x2)
Average length	7,212	(150 x2)
% mapped	78	97
Total read length	86,316,187,095	58,933,016,834
X Depth	32.84	52.90

PromethIONの読み取り長

平均長7.2kb



De novo assembling

(HGC スパコン 250GBメモリ/5CPU/2～3週間)

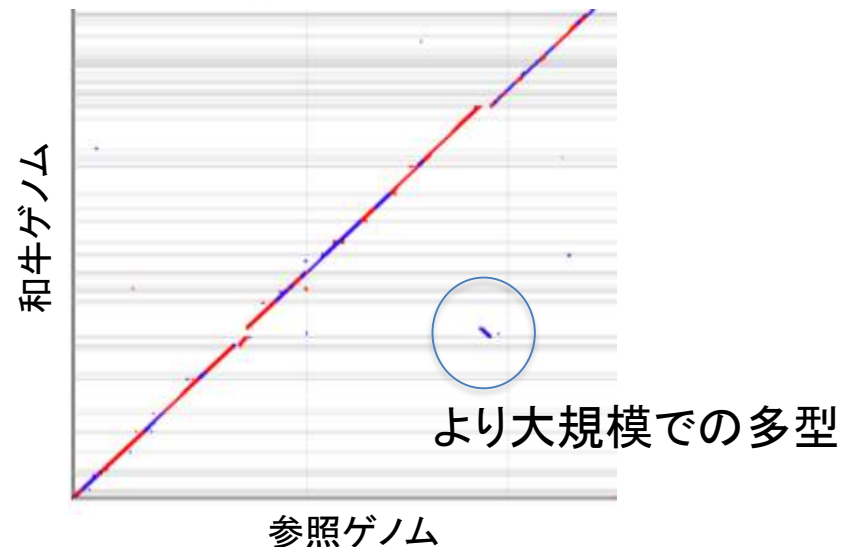
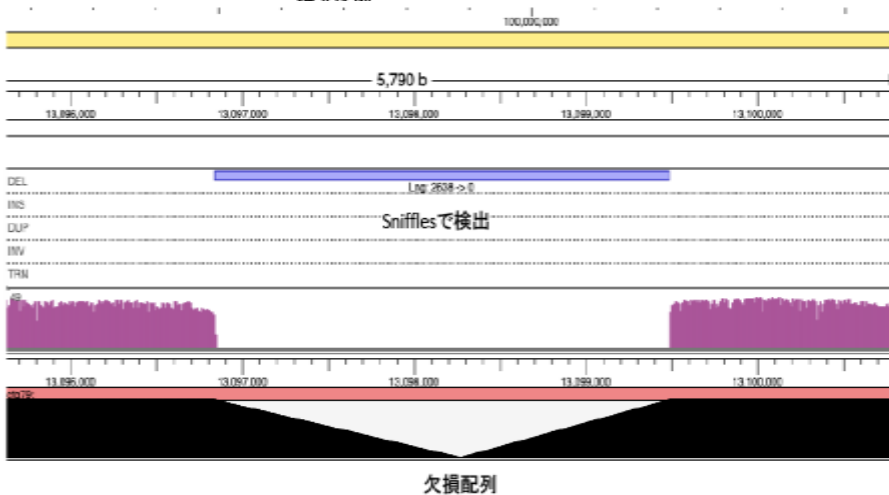
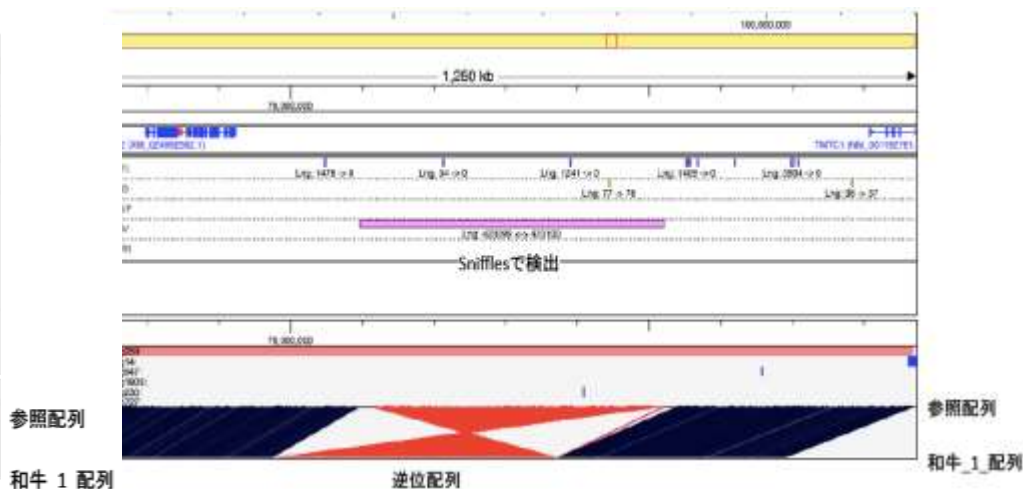
- ①. PromethION配列を使ってwtdbg2とwtpoa-cnsで1st contigを生成
- ②. PromethION配列を使ってminimap2で1st contigにマップポリッシュ。Wtpoa-cnsで2nd contigを生成
- ③. NovaSeq配列を使ってbwa mem のゆるいgap ペナルティーで2nd contigにマップポリッシュを行いwtpoa-cnsで3rd contigを生成
- ④. NovaSeq配列を使って bwa mem (default parameter)で3rd contigにマップポリッシュを行いwtpoa-cnsで4th contigを生成し、完成contig配列とした

和牛の新規ゲノムアセンブリ

	ARS-UCD1.2 (1 sample)	WGDB_de novo (64 sample)
Assembly	GCA_002263795.2	WG_1
Constructor	USDA ARS	University of Tokyo
Genome coverage	80.0x	85.74x (平均)
Total sequence length	2,715,853,792 (chr1-29, X: 2,628,411,261)	2,548,196,231
Total assembly gap length	28,162bp (30Kbp弱)	9.5Mbp (推定) (chr1~chr29)
Gaps between scaffolds	0	テロメア領域に加え、各染色体に平均1か所程度のギャップがある
Number of contigs	2,597	5,531
Contig N50	25,896,116	10,454,269
Contig L50	32	93
SNP (1塩基多型)	-	15,934,570
indel	-	12,916 ~ 19,910
Other SV (構造多型)	-	344 ~ 1,477

和牛ゲノム解析から見出された参照ゲノムとの相違(2)

	タイプ	平均個数/個体
INS	挿入	5161.9
DEL	欠損	7753.8
DUP	重複	123.47
INV	逆位	51.078
TL	転座	169



RNA解析用の黒毛和種サンプル(鹿児島県)

合計179サンプル

胎齢 出生後 日・月	性別	卵巣	卵管	子宮	視床下部	下垂体	乳腺	大脳皮質	小脳	心臓	肺	腎臓	脾臓	リンパ節	肝臓	第1胃	第4胃	小腸	大腸	骨格筋	血液	胸腺	副腎	血液	子宮小丘	尿膜	羊膜	臍帯	原始生殖腺	後腎	精巣	精巣上体	甲状腺	胎子	栄養膜	
胎齢19日齢	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
胎齢30日齢	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
胎齢60日齢	♀	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-	-	1	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	
胎齢91日齢	♂	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1	-	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-	-	-	1	-	-	1	-	1	-	-	-	
10日齢	♀	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
17日齢	♂	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	
23日齢	♀	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
159日齢	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	
168日齢	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
171日齢	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	
25.9月齢	♀	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
25.9月齢	♀	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60.7月齢	♀	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

胎子(胎齢19、30、60、91日)

子牛(10、17、23日)

去勢牛_精巣(159、168、171日)

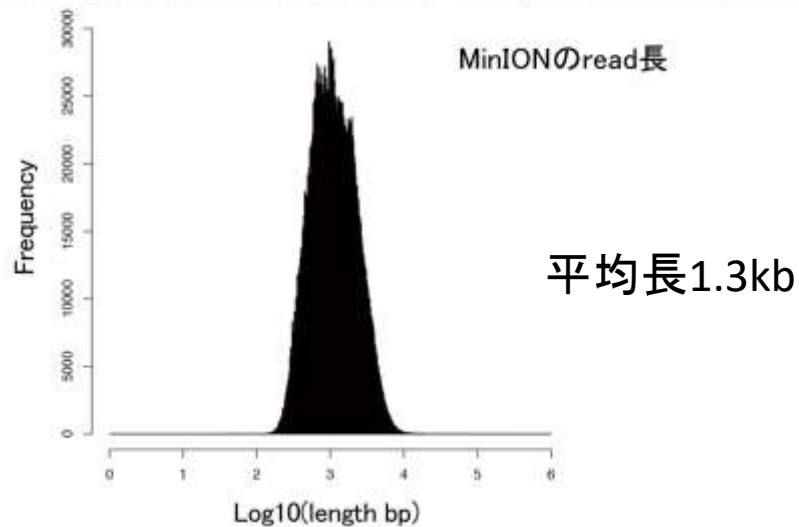
成牛(25.9、25.9、60月)

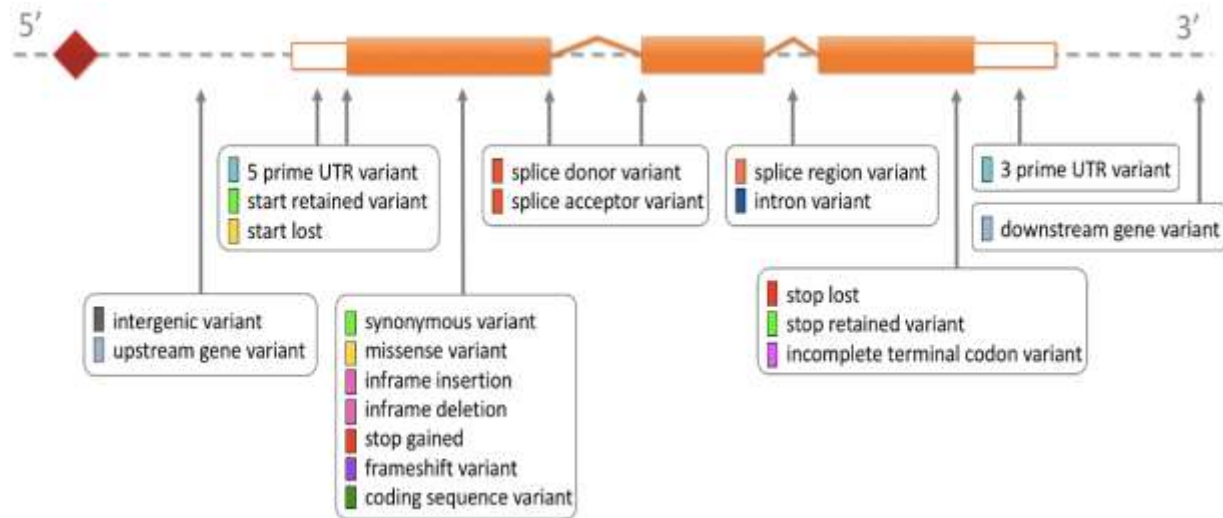
Novaseq6000

ARS-UCD1.2		備考
総read数	50,961,865	129サンプル
参照配列へのマッピング(%)	97%	129サンプルの平均
平均検出遺伝子数 (転写方向一致)	11,845	129サンプルの平均
検出遺伝子数 (転写方向一致)	27,874	129サンプル、ARS-UCD1.2(34,256遺伝子)

MinION

ARS-UCD1.2		備考
総read数	2,028,224	22サンプル
平均read長	1,397bp	22サンプルの平均
最大read長	3M bp	22サンプル
参照配列へのマッピング(%)	78%	22サンプルの平均
平均検出遺伝子数 (転写方向一致)	8,631	22サンプルの平均
検出遺伝子数 (転写方向一致)	18,176	22サンプル、ARS-UCD1.2(34,256遺伝子)



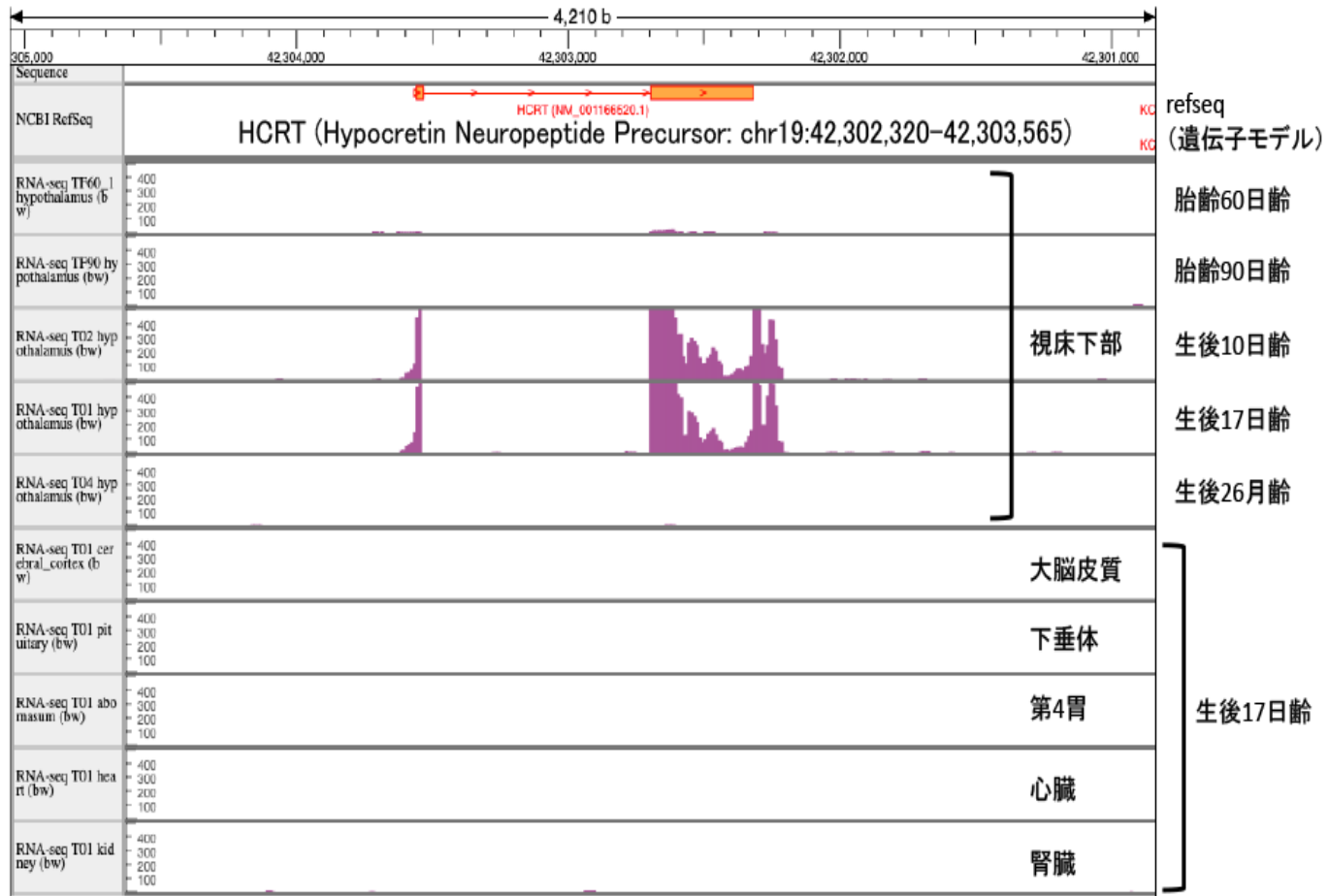


多型・変異タイプ	個数	coding
stop_gained	39,229	*
stop_lost	1,198	*
start_lost	1,898	*
missense_variant	698,961	*
stop_retained_variant	390	*
synonymous_variant	596,052	*
coding_sequence_variant	110	*
splice_acceptor_variant	8,985	
splice_donor_variant	6,331	
splice_region_variant	173,839	
mature_miRNA_variant	220	
5_prime_UTR_variant	437,651	
3_prime_UTR_variant	1,236,421	
non_coding_transcript_exon_variant	697,336	
intron_variant	98,430,471	
non_coding_transcript_variant	13,089,990	
upstream_gene_variant	9,470,836	
downstream_gene_variant	9,470,933	
intergenic_variant	17,383,561	

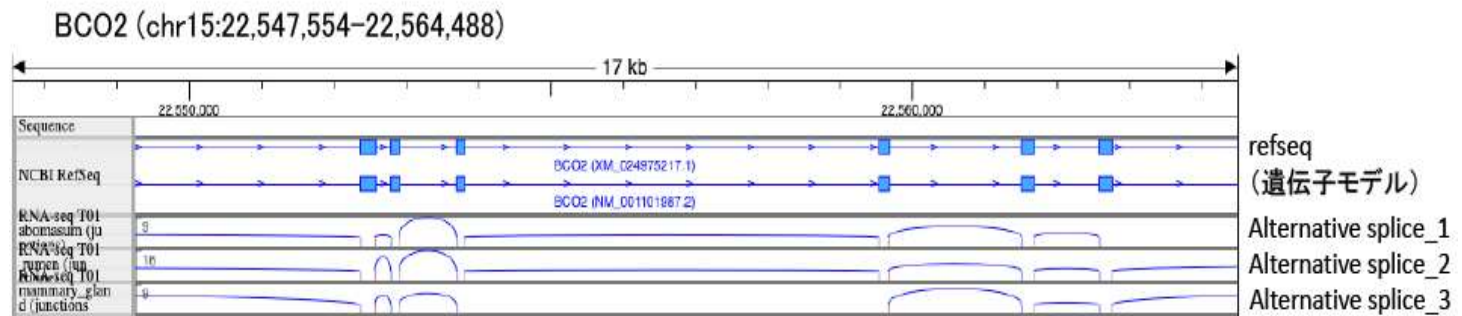
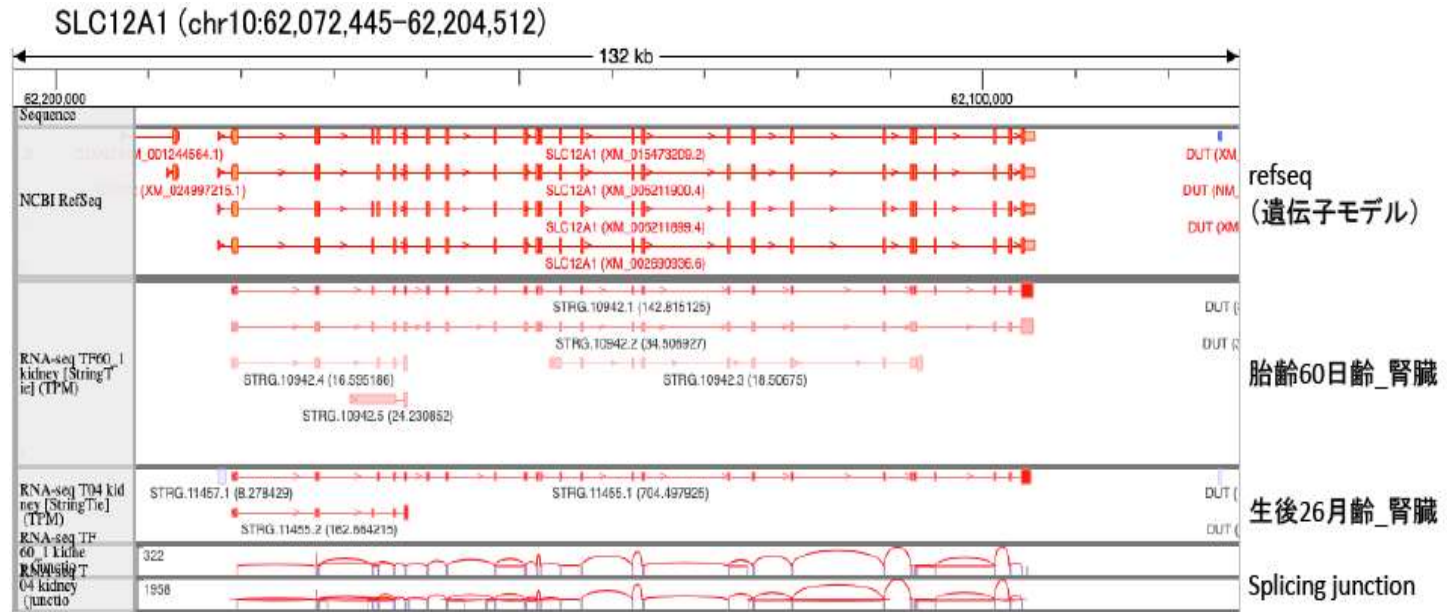
アミノ酸置換変異の有害度の予測 (SIFT)	個数
deleterious	124,675
tolerated	186,287

	タイプ	平均個数/個体
INS	挿入	5161.9
DEL	欠損	7753.8
DUP	重複	123.47
INV	逆位	51.078
TL	転座	169

組織特異的発現(タグカウント)

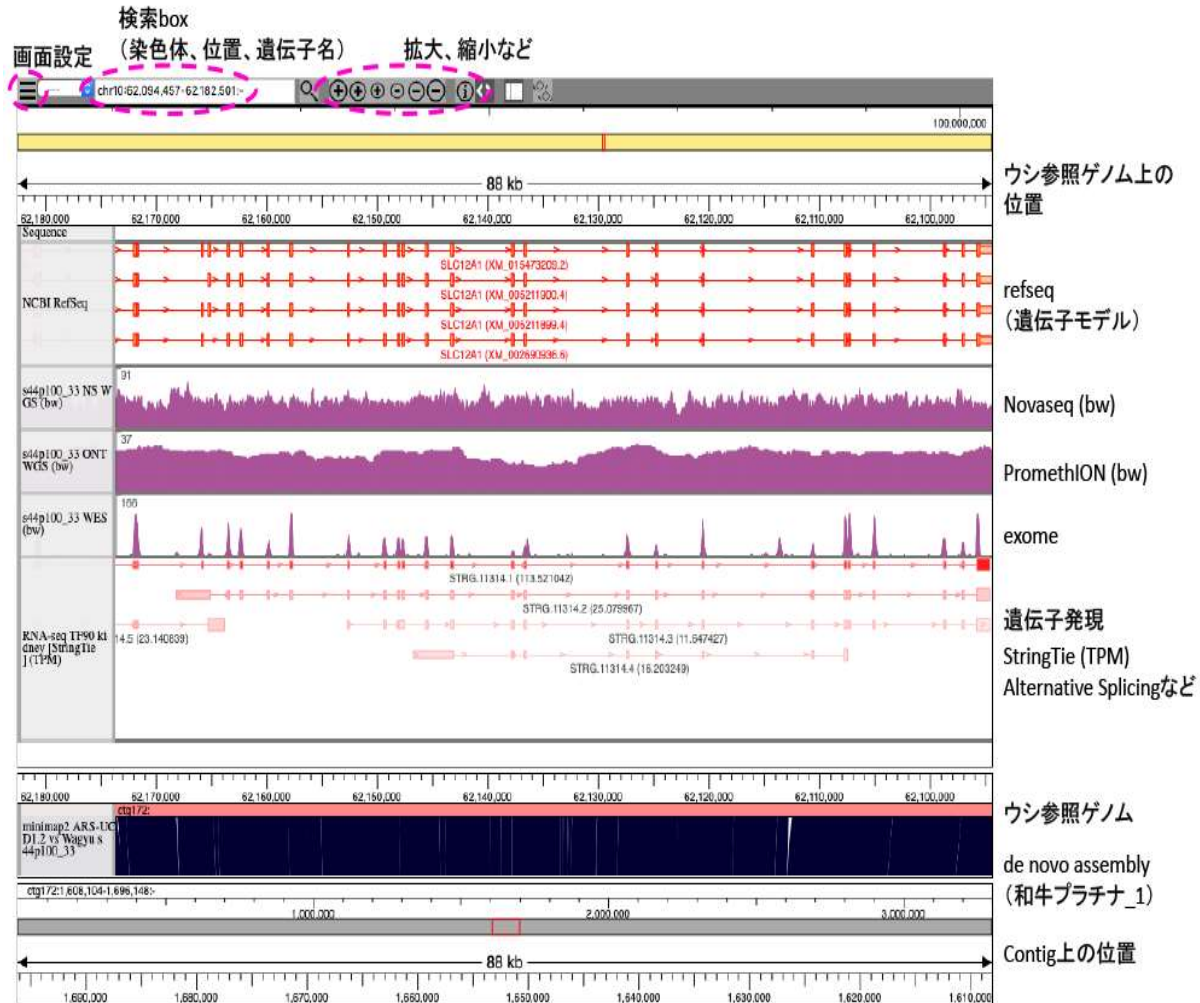


選択的スプライシング(全長)



データの統合とデータベース構築

データ区分	可視化データ
NovaSeq WGSデータ (short read: 150bp x2)	マッピング結果(bam, bigWig) Variationコール結果 (SNP, indel)
PromethION WGSデータ(long read)	マッピング結果(bam, bigWig) SnifflesによるSV(Structural variation) call結果
De novo assemble結果	参照ゲノムとの比較
Exomeデータ	マッピング結果(bam, bigWig) Variationコール結果 (SNP, indel)
RNAseq	StringTieのTPM値 RSEMのTPM値



可視化サンプルについて

1. Exomeデータ (short read: 100bp) : 518サンプル
 - 1-1. 参照ゲノム(ARS-UCD1.2)へのマッピング結果(bam, bigWig)
 - 1-2. Variationコール結果 (SNP, (short) indel)
 - 1-3. Beagleによるimputation & phasing結果(IBD/HBD, Phased SNPs)

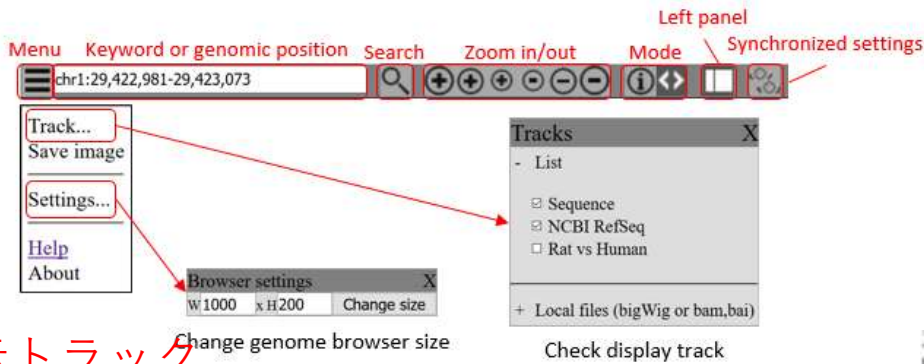
2. NovaSeq WGSデータ (short read: 150bp x2) : 64サンプル
 - 2-1. マッピング結果(bam, bigWig)
 - 2-2. Variationコール結果 (SNP, (short) indel)

3. PromethION WGSデータ(long read) : 64サンプル
 - 3-1. マッピング結果(bam, bigWig)
 - 3-2. SnifflesによるSV(Structural variation) call結果
 - 3-3. NovaSeqデータと共にredbeanでのde novo assemble結果
 - 3-4. NovaSeqデータと共にwhatshapでのphasing結果

-

4. RNA-seqデータの再処理 : edgeR、StringTieで処理した結果

ゲノムブラウザの使い方



トラック選択画面

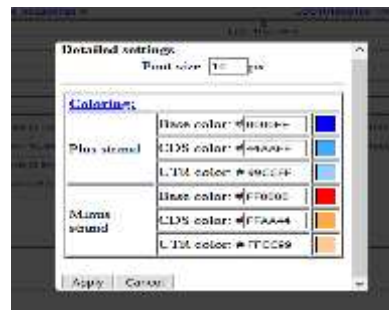
表示トラック



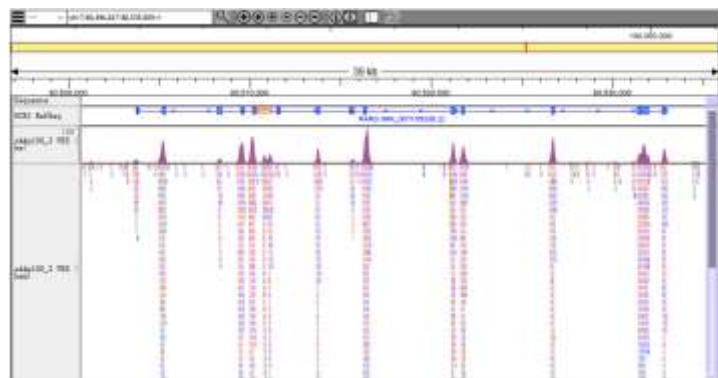
		Exome解析の統合	Short read	Long read	構造変異	De novo assemble
Strain	Exome(bam, bw)	Exome IBD/HBD	NovaSeq WGS(bam, bw)	PromethION WGS(bam, bw)	PromethION WhatsHap phasing	PromethION Scaffles SV
MS12			MS12 MS WGS (bam)	MS12 ONT WGS (bam)	MS12 ONT phased SV	MS12 Scaffles SV
MS100_1	MS100_1 Exome (bam)	MS100_1 Exome IBD	MS100_1 NovaSeq WGS (bam)	MS100_1 PromethION WGS (bam)	MS100_1 PromethION phased SV	MS100_1 Scaffles SV
MS100_6	MS100_6 Exome (bam)	MS100_6 Exome IBD	MS100_6 NovaSeq WGS (bam)	MS100_6 PromethION WGS (bam)	MS100_6 PromethION phased SV	MS100_6 Scaffles SV
MS100_8	MS100_8 Exome (bam)	MS100_8 Exome IBD	MS100_8 NovaSeq WGS (bam)	MS100_8 PromethION WGS (bam)	MS100_8 PromethION phased SV	MS100_8 Scaffles SV
MS100_5	MS100_5 Exome (bam)	MS100_5 Exome IBD	MS100_5 NovaSeq WGS (bam)	MS100_5 PromethION WGS (bam)	MS100_5 PromethION phased SV	MS100_5 Scaffles SV
MS100_11	MS100_11 Exome (bam)	MS100_11 Exome IBD	MS100_11 NovaSeq WGS (bam)	MS100_11 PromethION WGS (bam)	MS100_11 PromethION phased SV	MS100_11 Scaffles SV
MS100_12	MS100_12 Exome (bam)	MS100_12 Exome IBD	MS100_12 NovaSeq WGS (bam)	MS100_12 PromethION WGS (bam)	MS100_12 PromethION phased SV	MS100_12 Scaffles SV
MS100_14	MS100_14 Exome (bam)	MS100_14 Exome IBD	MS100_14 NovaSeq WGS (bam)	MS100_14 PromethION WGS (bam)	MS100_14 PromethION phased SV	MS100_14 Scaffles SV
MS100_15	MS100_15 Exome (bam)	MS100_15 Exome IBD	MS100_15 NovaSeq WGS (bam)	MS100_15 PromethION WGS (bam)	MS100_15 PromethION phased SV	MS100_15 Scaffles SV
MS100_16	MS100_16 Exome (bam)	MS100_16 Exome IBD	MS100_16 NovaSeq WGS (bam)	MS100_16 PromethION WGS (bam)	MS100_16 PromethION phased SV	MS100_16 Scaffles SV
MS100_17	MS100_17 Exome (bam)	MS100_17 Exome IBD	MS100_17 NovaSeq WGS (bam)	MS100_17 PromethION WGS (bam)	MS100_17 PromethION phased SV	MS100_17 Scaffles SV
MS100_18	MS100_18 Exome (bam)	MS100_18 Exome IBD	MS100_18 NovaSeq WGS (bam)	MS100_18 PromethION WGS (bam)	MS100_18 PromethION phased SV	MS100_18 Scaffles SV
MS100_19	MS100_19 Exome (bam)	MS100_19 Exome IBD	MS100_19 NovaSeq WGS (bam)	MS100_19 PromethION WGS (bam)	MS100_19 PromethION phased SV	MS100_19 Scaffles SV
MS100_22	MS100_22 Exome (bam)	MS100_22 Exome IBD	MS100_22 NovaSeq WGS (bam)	MS100_22 PromethION WGS (bam)	MS100_22 PromethION phased SV	MS100_22 Scaffles SV
MS100_21	MS100_21 Exome (bam)	MS100_21 Exome IBD	MS100_21 NovaSeq WGS (bam)	MS100_21 PromethION WGS (bam)	MS100_21 PromethION phased SV	MS100_21 Scaffles SV
MS100_10	MS100_10 Exome (bam)	MS100_10 Exome IBD	MS100_10 NovaSeq WGS (bam)	MS100_10 PromethION WGS (bam)	MS100_10 PromethION phased SV	MS100_10 Scaffles SV

ゲノムブラウザの使い方 (各トラック)

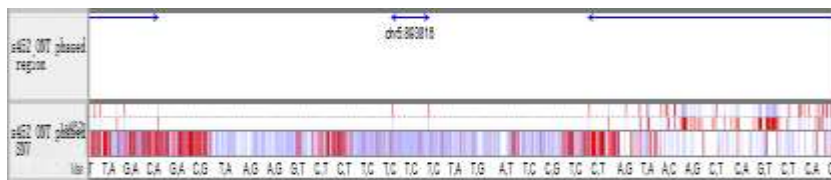
右クリックでトラックの設定ができます



Read depthとマッピング結果表示・拡大するとindel/塩基置換が確認できます



Phasing 領域と Phase パターン



構造変異(SV)と発現量、exon/intron junction
※SVについては別途ブラウザを開発中



SNPの可視化例

chr1:56,088,000-56,090,500 領域

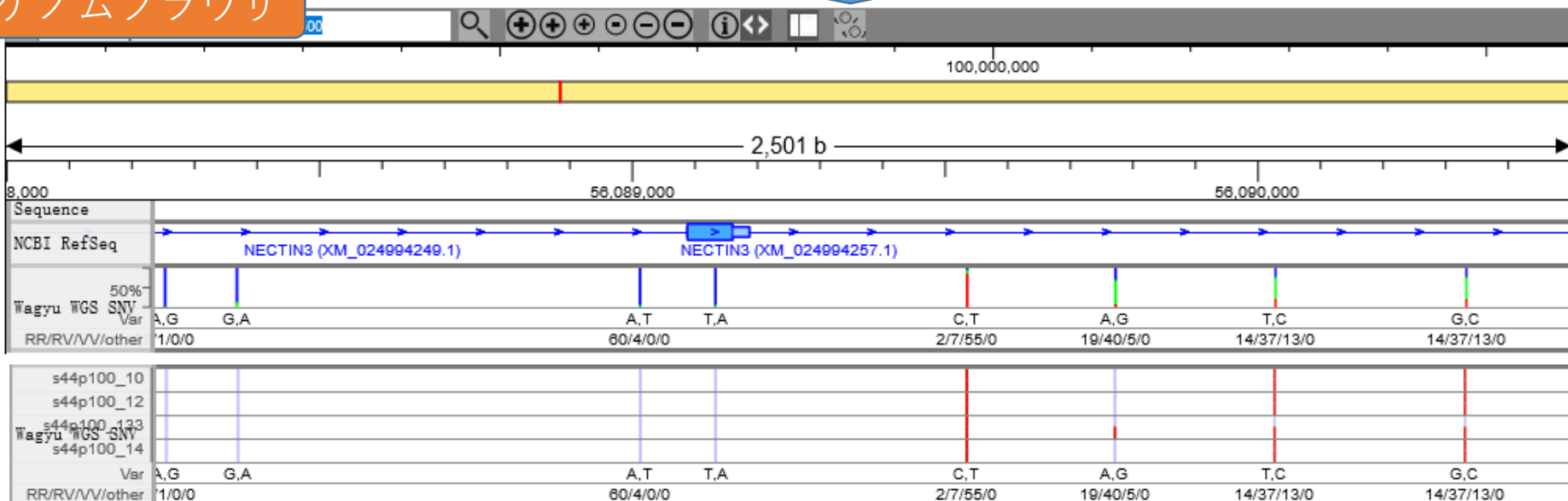
VCFファイル

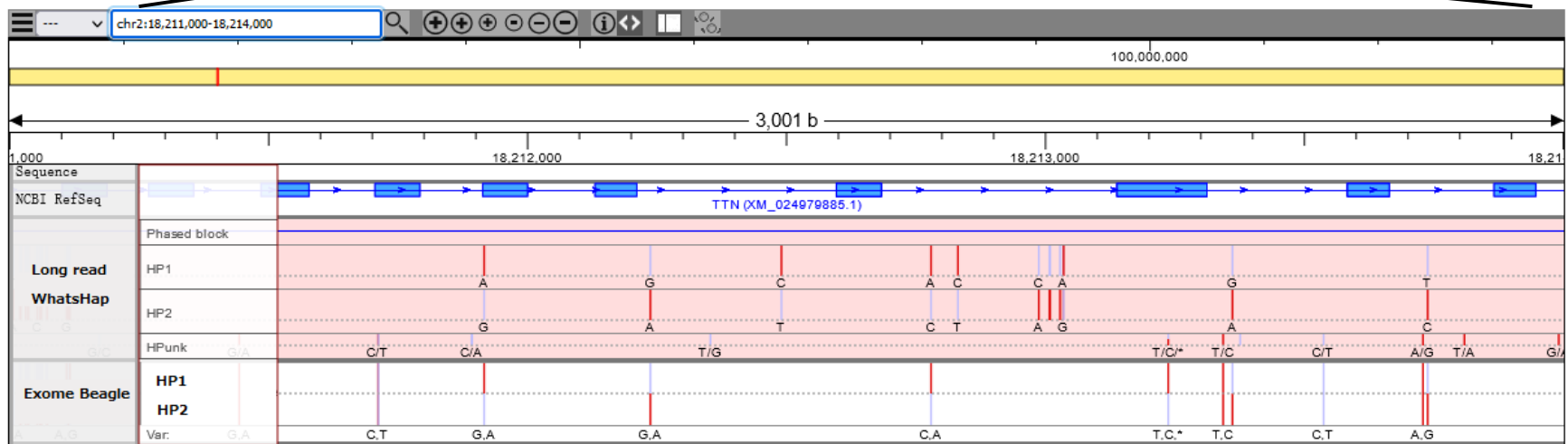
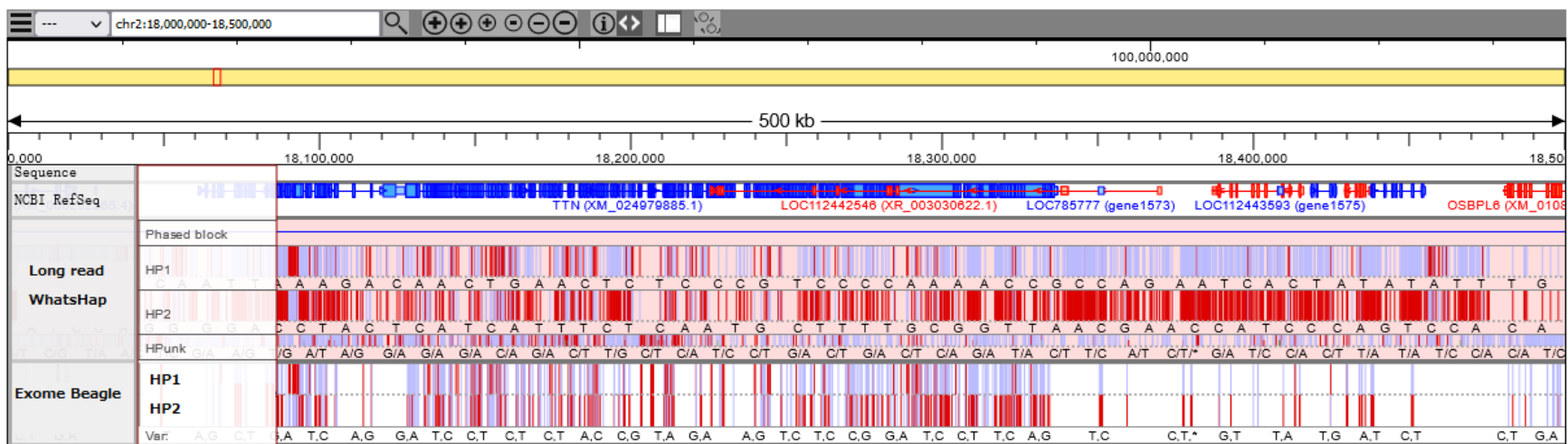
chr1:56088000-56090500

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	
1	#CHROM	POS	ID	REF	ALT	QUAL	FILTER	INFO	FORMAT	s44p100_10	s44p100_12	s44p100_133	s44p100_14
2	chr1	56088253	.	A	G	314.92	PASS	AC=1;AF=7.813e-03;AN=128;A	GT:AD:DP:GQ:PL	0/0:41,0:41:99:0,105,1639	0/0:25,0:25:60:0,60,987	0/0:30,0:30:87:0,87,1305	0/0:47,0:47:
3	chr1	56088368	.	G	A	5865.5	PASS	AC=9;AF=0.070;AN=128;AN	GT:AD:DP:GQ:PL	0/0:37,0:37:99:0,99,1450	0/0:31,0:31:90:0,90,1350	0/0:29,0:29:84:0,84,1260	0/0:47,0:47:
4	chr1	56089012	.	A	T	3216.5	PASS	AC=4;AF=0.031;AN=128;AN	GT:AD:DP:GQ:PL	0/0:39,0:39:99:0,105,1477	0/0:24,0:24:72:0,72,892	0/0:31,0:31:87:0,87,1305	0/0:47,0:47:
5	chr1	56089133	.	T	A	2266.1	PASS	AC=4;AF=0.031;AN=128;AN	GT:AD:DP:GQ:PL	0/0:38,0:38:99:0,99,1470	0/0:22,0:22:60:0,60,900	0/0:31,0:31:87:0,87,1305	0/0:47,0:47:
6	chr1	56089535	.	C	T	89048	PASS	AC=117;AF=0.914;AN=128;A	GT:AD:DP:GQ:PGT:PID:PL	1/1:0,45:45:99:...:1878,135,0	1/1:0,32:32:96:...:1292,96,0	1/1:0,36:36:99:...:1408,108,0	1/1:0,61:61:61:
7	chr1	56089772	.	A	G	28889	PASS	AC=50;AF=0.391;AN=128;A	GT:AD:DP:GQ:PGT:PID:PL	0/0:39,0:39:99:...:0,99,1557	0/0:31,0:31:90:...:0,90,1224	0/1:10,13:23:99:...:474,0,348	0/0:48,0:48:
8	chr1	56090028	.	T	C	42046	PASS	AC=63;AF=0.492;AN=128;A	GT:AD:DP:GQ:PL	1/1:0,47:47:99:1867,141,0	1/1:0,40:40:99:1670,120,0	0/1:25,9:34:99:274,0,941	1/1:0,53:53:
9	chr1	56090333	.	G	C	143592	PASS	AC=63;AF=0.492;AN=128;A	GT:AD:DP:GQ:PL	1/1:0,55:55:99:2297,166,0	1/1:0,33:33:99:1344,99,0	0/1:16,13:29:99:456,0,580	1/1:0,71:71:

可視化

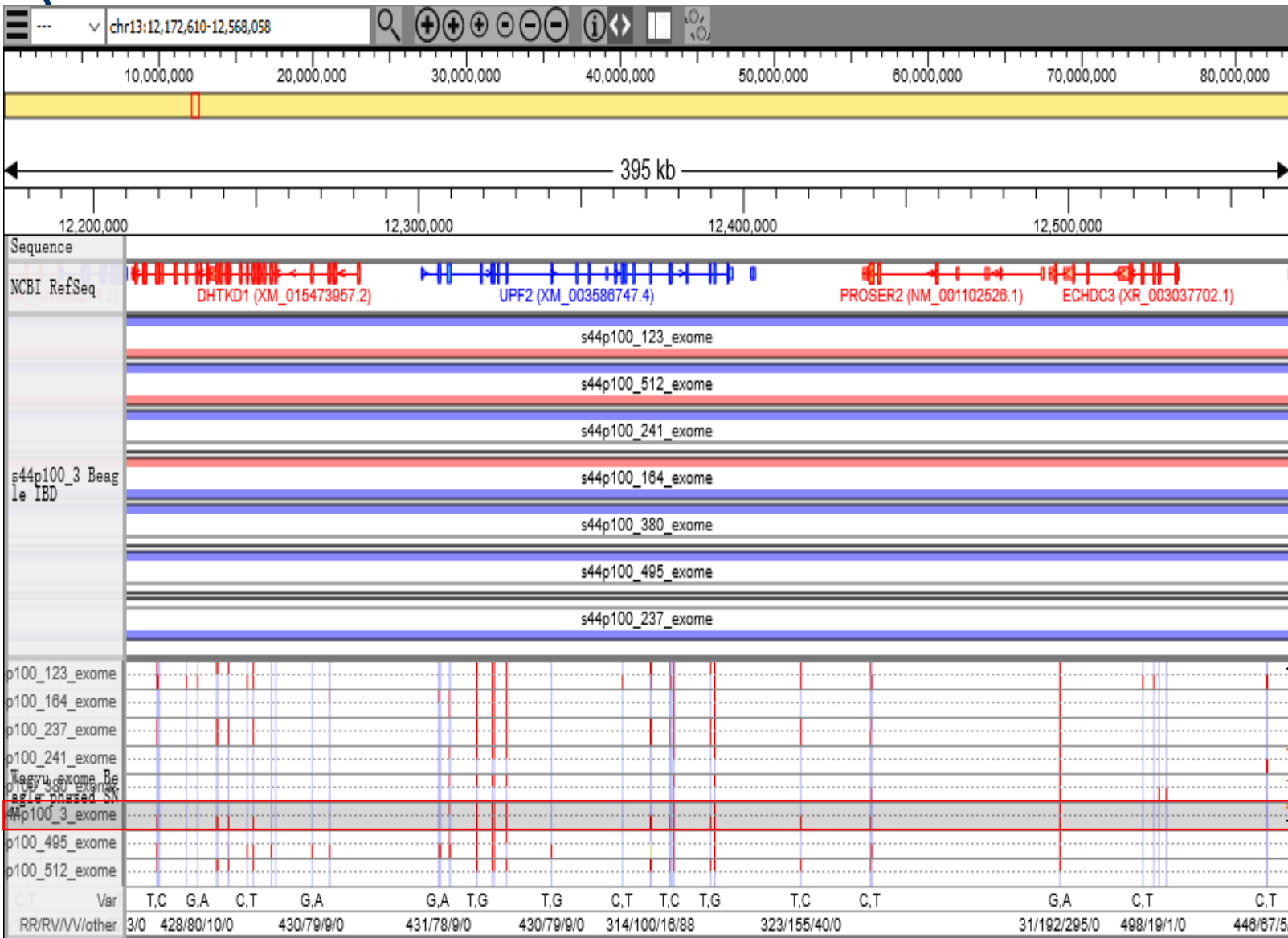
ゲノムブラウザ





ロングリードを用いたフェーシング

ゲノムブラウザの使い方(フェーズパターンとHBD; homozygosity-by-descent

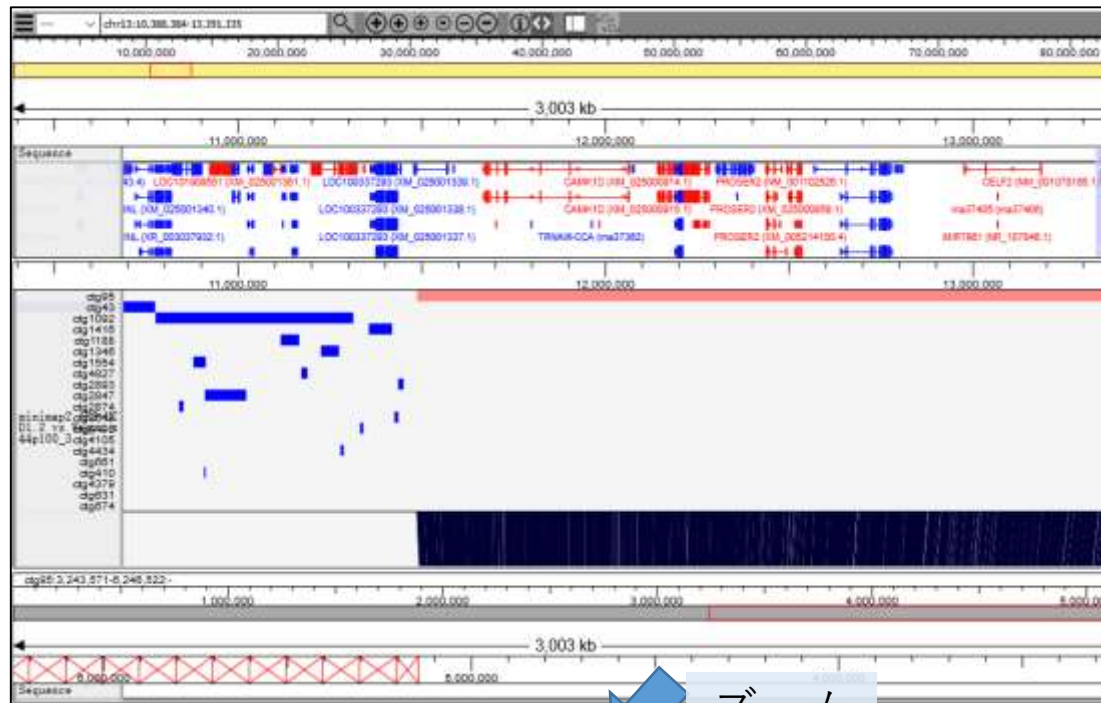


青が相手。
赤が自分。
この場合、
s44p100_3の下側の
フェーズパターン
と、s44p100_123の
上側のフェーズパ
ターンが一致

一番下の
s44p100_237は自分
相手ともに下側の
フェーズパター
ンが一致。(つまり赤
青が重なって青色
になっています)

ゲノムブラウザの使い方(西洋種ゲノムとの比較)

Reference chr13:10,388,384-13,391,335 vs s44p100_3 contigs:

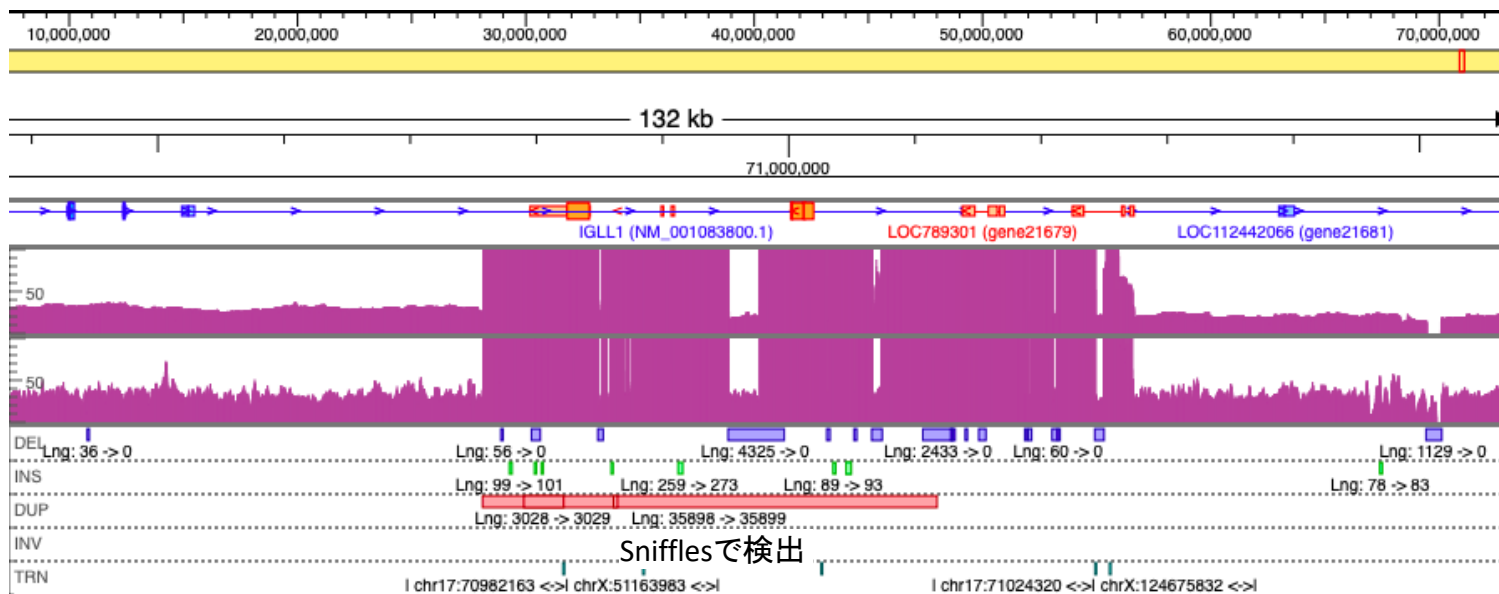


Referenceの表示領域にヒットする contig の位置。赤が alignment を表示している contig

Reference と contig の Alignment

align された contig の領域情報

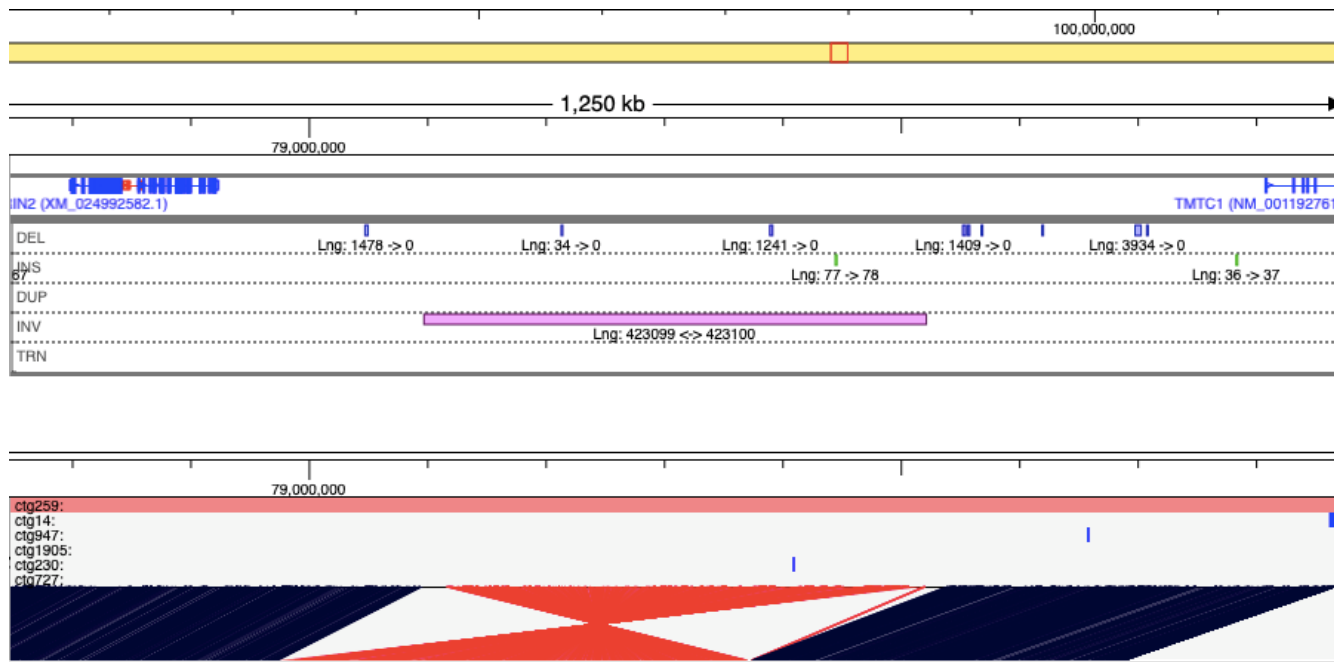
ズームすると reference genome と de novo contig の塩基レベルのライメントまで確認することができます。



重複

PromethION

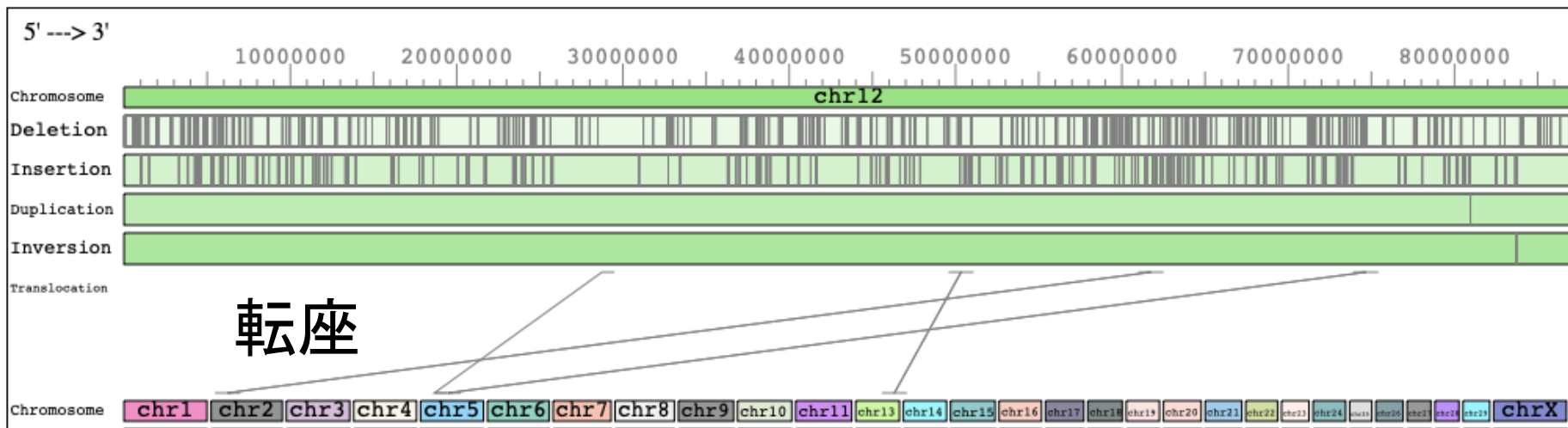
Novaseq



逆位

参照配列

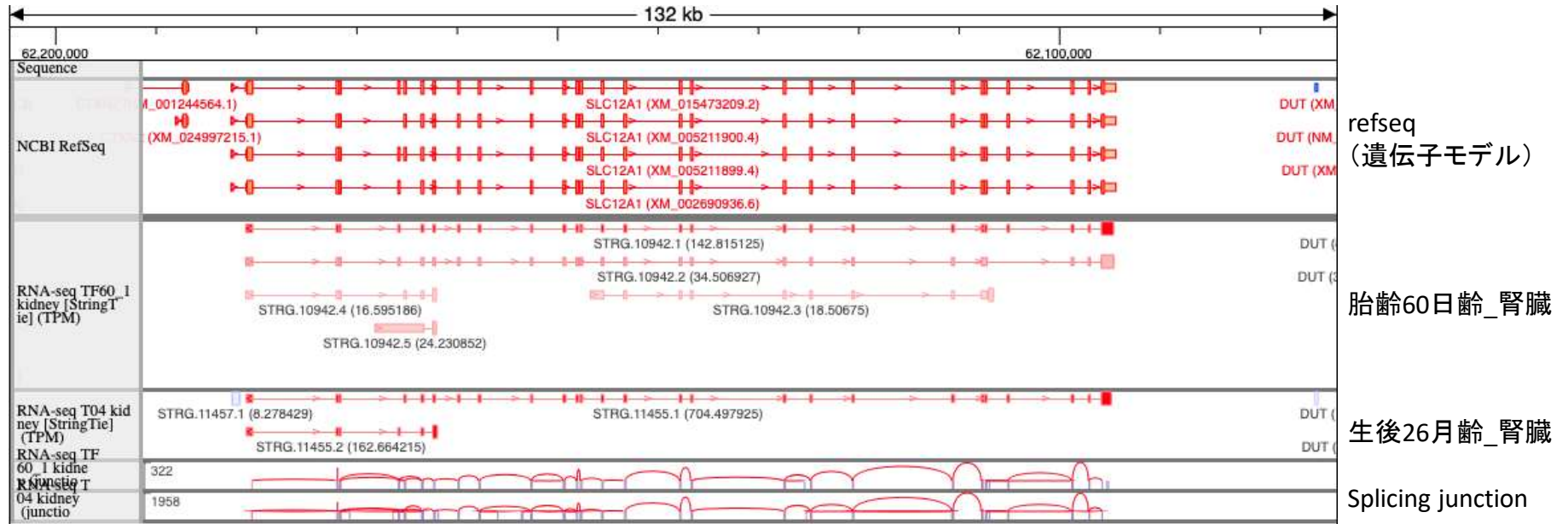
和牛_1_配列



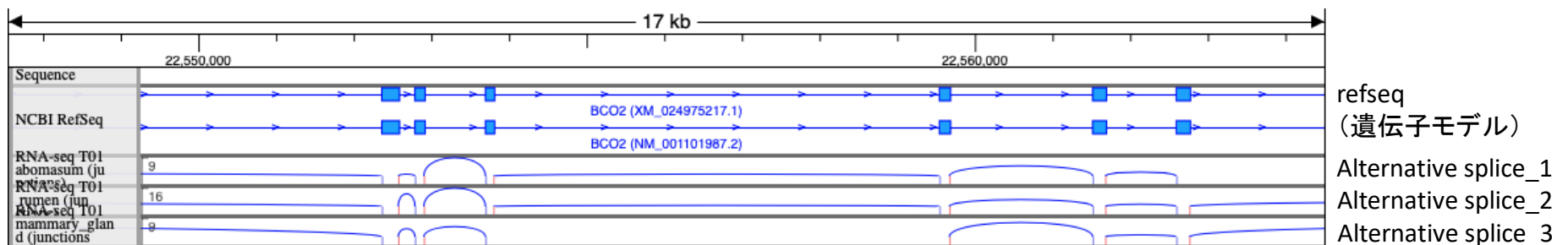
転座

和牛の遺伝子発現のカタログ化 (RNAseq)

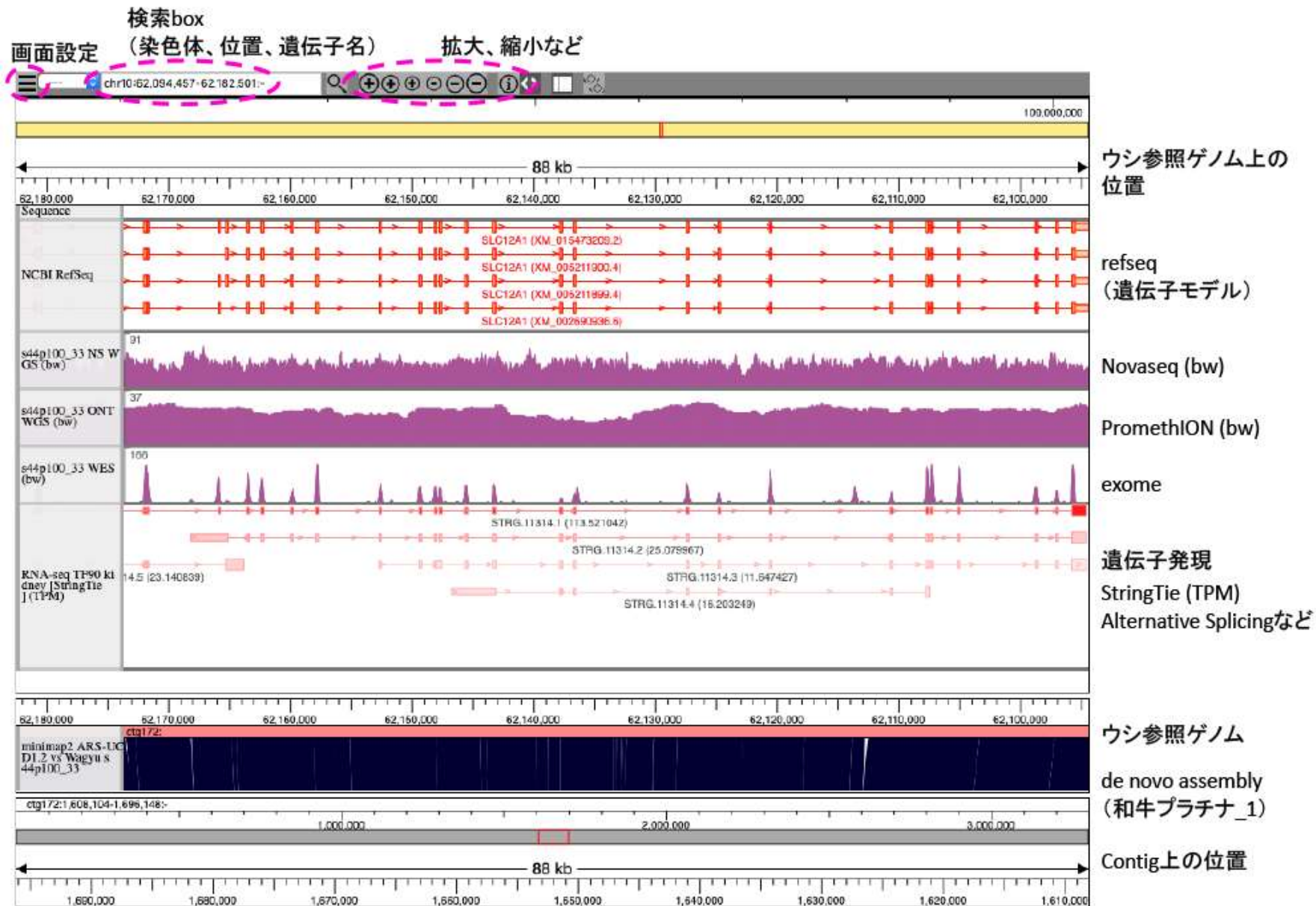
SLC12A1 (chr10:62,072,445–62,204,512)



BCO2 (chr15:22,547,554–22,564,488)



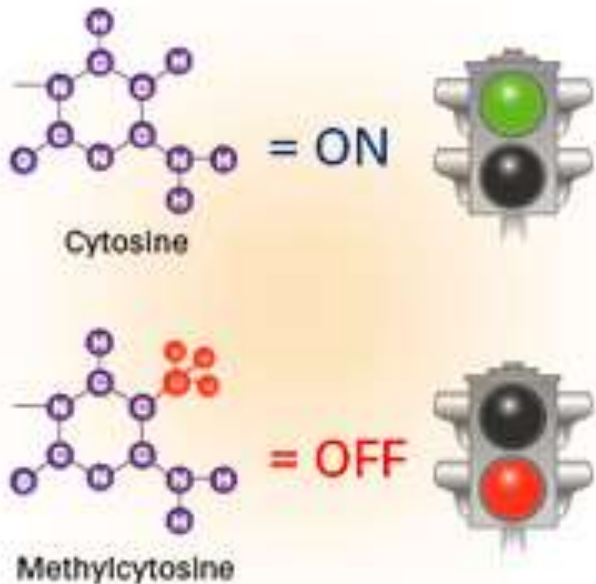
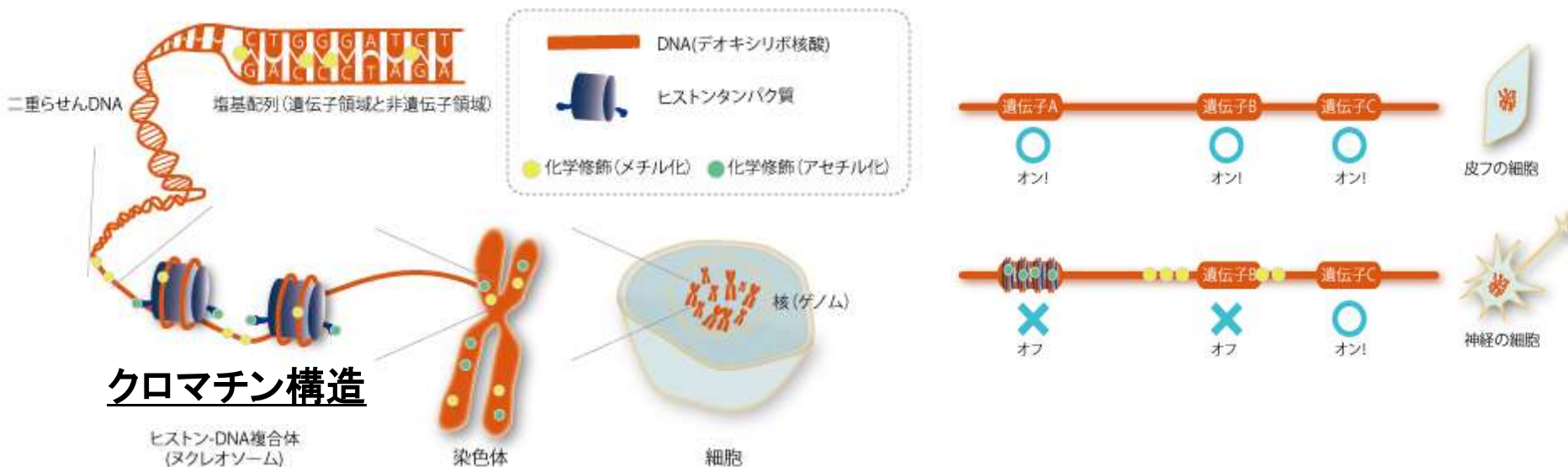
和牛のカスタムゲノムブラウザ



さらに30年後の畜産ゲノム研究へ

エピゲノム

ゲノム配列変異によらない表現型の変化



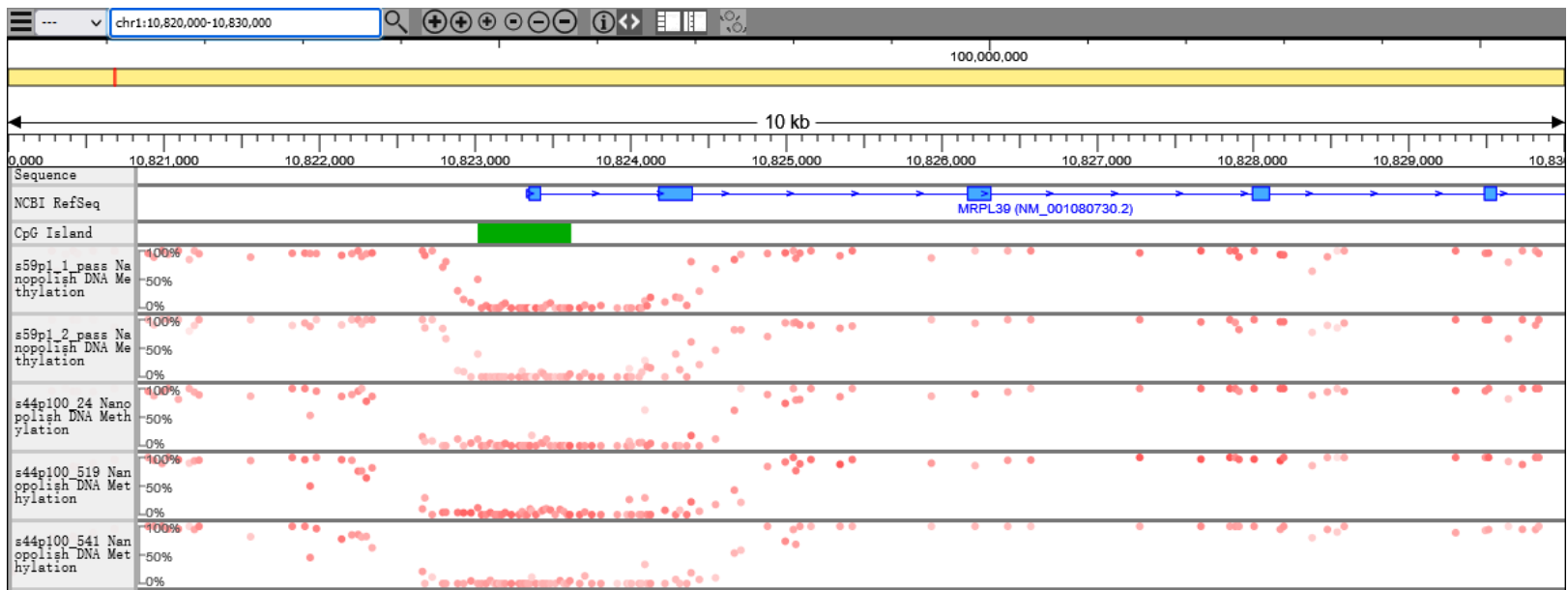
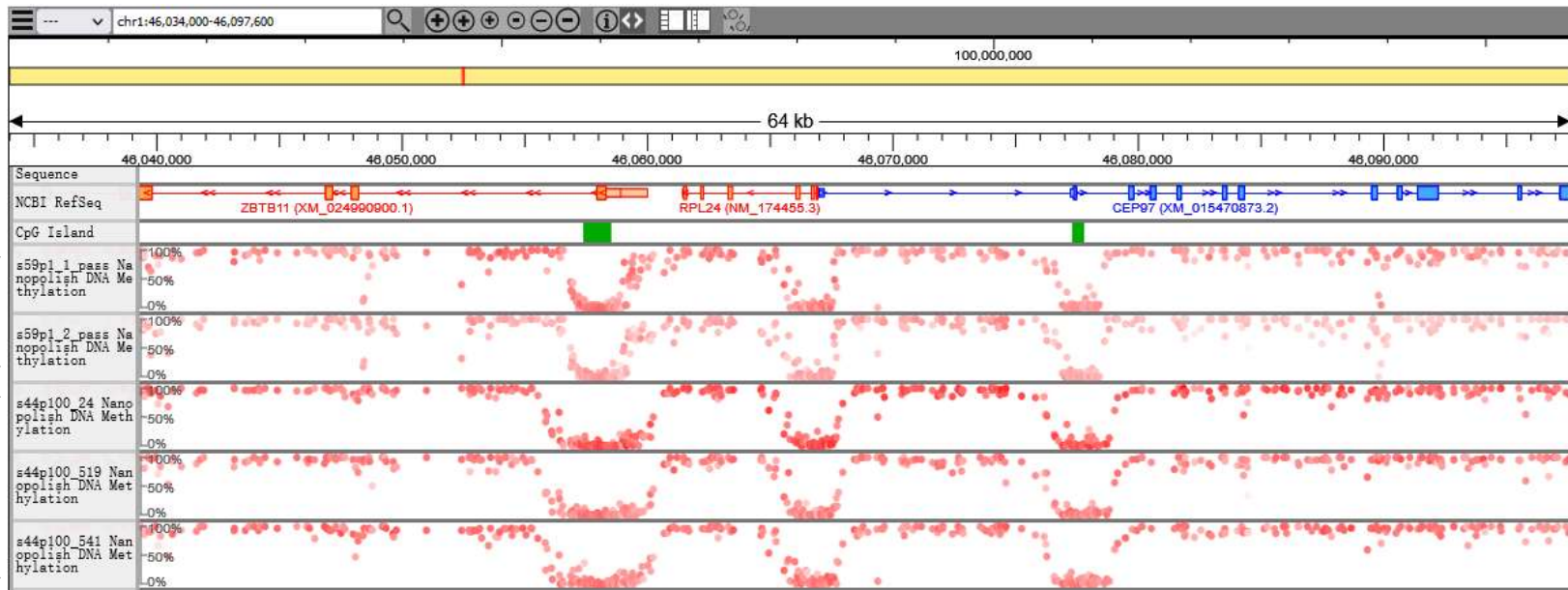
DNA修飾(メチル化) ~> クローズクロマチン

DNA methylation analysis of PromethION

◆.Direct Methylation Sequencing

- Distinguishing C \leftrightarrow mC, Judging from the electric signal





Technology

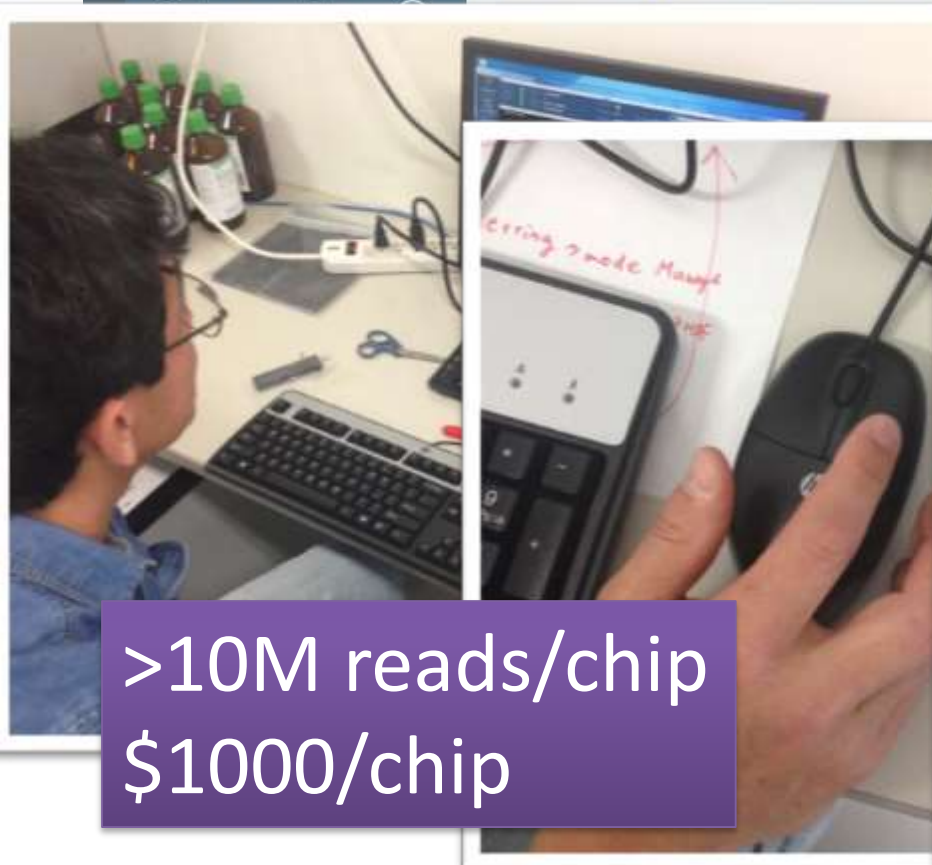
Introduction to nanopore sensing

The GridION™ system

MinION™ Access Programme

Status update 14th February 2014: Oxford Nanopore has started to issue invitations to a number of applicants to take part in the first part of the MinION Access Programme (MAP). Applicants should receive an email within the next few days, either inviting the applicant to review some information and register for the MAP, or notifying the applicant that we are unable to invite them into the first wave of participants.

ed and although we can not include every applicant in the first part of the programme, programme progresses. We understand if you wish to withdraw your application at any time. es than they applied for; this has been done so that we can maximise the number of s the broadest range of projects.



>10M reads/chip
\$1000/chip



No initial cost needed

”オンサイト“シーケンスへ

BIOTECHNOLOGY

Pint-sized DNA sequencer impresses first users



Portable device offers on-the-spot data to fight disease, catalogue species and more.

BY ERIKA CHECK HAYDEN

In April, Joshua Quick boarded a plane to Guinea with three genetic sequencers packed in his luggage. That fact alone is astonishing: most sequencing machines are much too heavy and delicate to travel as checked baggage in the hold of a commercial airliner. What came next was even more impressive. For 12 days, Quick used these sequencers — called MinIONs — to read the genomes of Ebola viruses from 14 patients in as little as 48 hours after samples were collected.

That turnaround has never been available to epidemiologists in the field before, and could help them to trace courses of infection as they

be used to sequence...
“This is dem...
says Quick, who...
Nicholas Loman...
at the University...
don't have to rely...
and costly equip...
Quick and L...
what excites bio...
palm-sized gene...
Oxford Nanopor...
portable and ch...
long stretches o...
increasingly in...
complex regions...
the USB port of...



NEWS News, features & press releases	MISSIONS Current, future, past missions & launch dates	MULTIMEDIA Images, videos, NASA TV & more	CONNECT Social media channels & NASA apps	ABOUT NASA Leadership, organization, budget, careers & more
--	--	---	---	---

• For Public | • For Educators | • For Students | • For Media

Space Station

- Research & Technology
- Crews & Expeditions
- International Cooperation
- Launches & Landings

International Space Station

Biomolecule Sequencer (Biomolecule Sequencer) - 11.02.16



インドネシア(メナド市)でのDNA解析



市中病院



郡部病院



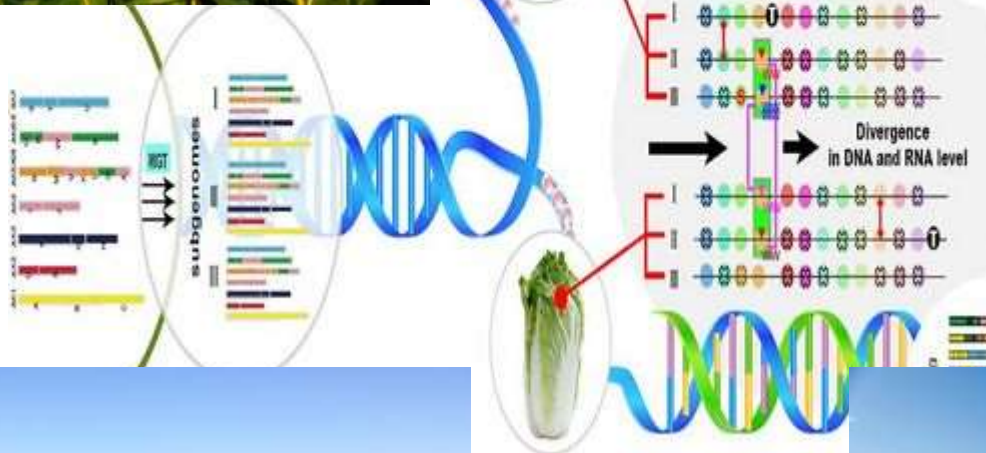
遺伝子検査する現地医師



必要な試薬

作物の品種改良、土壌改良

GMA -> Naturally-Occurring
"Better" Plant



**READ OUR
AGRICULTURE**



**Fertile and Barren
Soils**



Comparative Analysis Between Traditional Fertilizers & MicrobeBio®

Genome characterization of Soil-borne wheat mosaic virus variants

さらなる小型化、簡便化へ： ～国際連携/開発競争の開始



とまらない技術革新 (ロンドンでの学会にて)

血液、糞便、土壌、水・・・



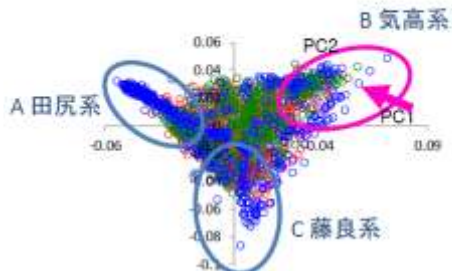
DNA



シーケンス

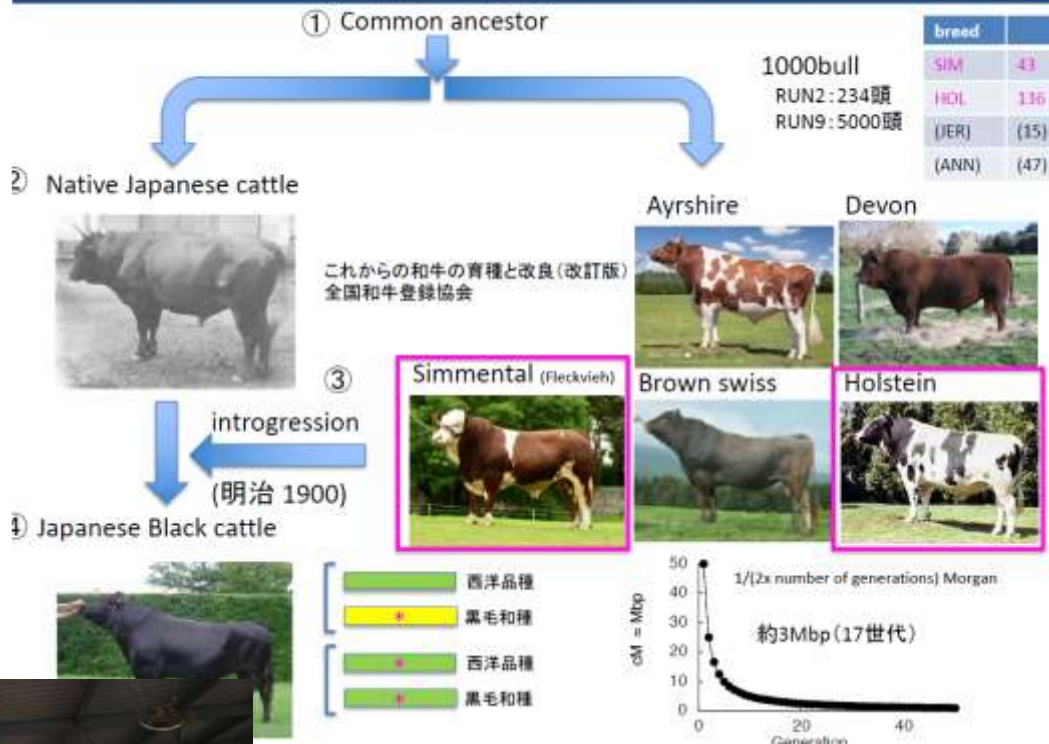
和牛ゲノムデータ基盤の完成

1) ゲノムアセンブリの改良



實際上、全ての個体の家系情報アリ

3) 公共データベースに登録された西洋品種ゲノム情報の活用等 11



飼育環境



さらに総合的な視点からの
品質向上へ

Acknowledgments

Department of Computational Biology and Medical Sciences,
the University of Tokyo

Kazumi Abe, Kiyomi Imamura

Sarun Sereewattanawoot

Yoshitaka Sakamoto, Terumi Horiuchi

Lucky Runtuwene, Ayako Suzuki

Division of Genome Translational Research
EPOC, National Cancer Center

Katsuya Tsuchihara

Center for Zoonosis Research, Hokkaido University

Junya Yamagishi

Faculty of Agriculture, Ryukyu University

Shinji Sasaki

農研機構生研支援センター

「イノベーション創出強化研究推進事業」

JRA畜産振興振興事業

ysuzuki@hgc.jp



Funding

CREST

Single Cell Analysis



PAGS (ゲノム支援)



ToGo Database

JSPS Asia-Africa Core-to-Core Project

公益社団法人 畜産技術協会

Thank you for your kind attention!