

SNPs解析



近年、様々な分野で次世代シーケンサーを用いた解析が行われています。コストもどんどん下がり試しにやってみようと思解析を行ってみたい研究者様も多いことでしょう。ですが実際にシーケンスしてみると、そのデータ量や解析の困難さに気づくはずで。また出てきたデータからどのような結果が導き出されるかということが分からない場合もあるかと思。そのためSNPs解析を例に挙げながら、解析手順など我々の解析サービスの実例について説明していきます。

SNPs解析概要

SNPsとは・・・一言でいえば、一塩基多型のことです。ゲノムは個体同士が全く同じでなく、特定の塩基が他の塩基に置き換わることで、多様性を生み出しています。調べ

たい事象時特異的に存在するSNPsを検出することで、原因遺伝子を特定できる可能性があります。実際にはガン細胞と正常細胞を比較しガン発生にかかわってくるような遺伝子を特定したり、あるいは植物の収

量にかかわる遺伝子をwild型とmutant型とを比較して、特定したりするのに用いられています。他にも変異解析の仲間に挿入、欠失、転座等を解析する手法があり、これらは広く用いられています。

解析手法

まずお客様に次世代シーケンサーを使って、シーケンスをしていただきます。その時に出力される、FastQデータ※を用いて、その後の解析を我々が行います。まずリードのクオリティチェックから行います。生データの中にはクオリティが低くそのまま解析に用いると、ノイズとなってしまうリードが存在します。そのためまず、データをきれいにする必要があります。解析には様々なツールが存在しますが、お客さまからの要望がない場合は、主に、FastQC、FASTX-Toolkit、Cutadapt、Trimmomaticなどを使用しています。次にリファレンスに対してマッピングを行います。リファレンスとリードは分かりやすく言うと設計図と部品の関係で、リファレンスというあらかじめ決定されたホールゲノムやホールエクソン上にリードをマッピングしていきます。ホールゲノム情報はモデル生物であれば、おおよそ公開されており、また全く同じ種の情報が公開されていない場合でも、近縁種が公開されている場合は、その配列を用いて、マッピングを行うことができます。ツールは、LifeScope/BioScope、Bowtie/Bowtie2、BWA、Blast+などを用いていま

す。マッピングを終えたら、SNPs解析を行います。ゲノム上のどの位置にSNPsが存在するか、またそれが構造変異に影響を及ぼすかなどといった情報を出力し、それらを表にまとめます。そしてその中の調べたい事象に関係のありそうなアノテーションのついている遺伝子あるいは近辺の遺伝子のSNPsを抽出します。その後は、研究者様にSNPs位置などをサンガーシーケンスで確認し、ノックダウン変異体などで実験を行って、関係性を確認していくことで重要な遺伝子が特定されます。

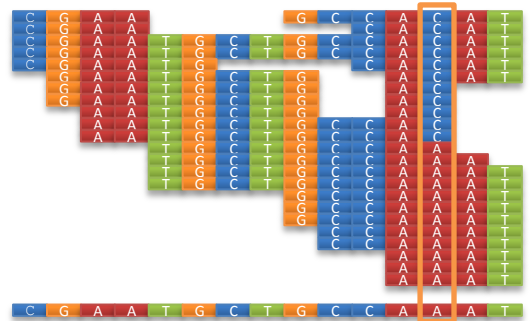


Fig 1. SNPs検出の例
各行はリード断片を示し、それらをリファレンスにマッピングした結果を示す。四角で囲われた列では、リファレンス配列がAなのに対し、サンプルのアレルにはAとCが存在し、ヘテロ結合であることを示している。

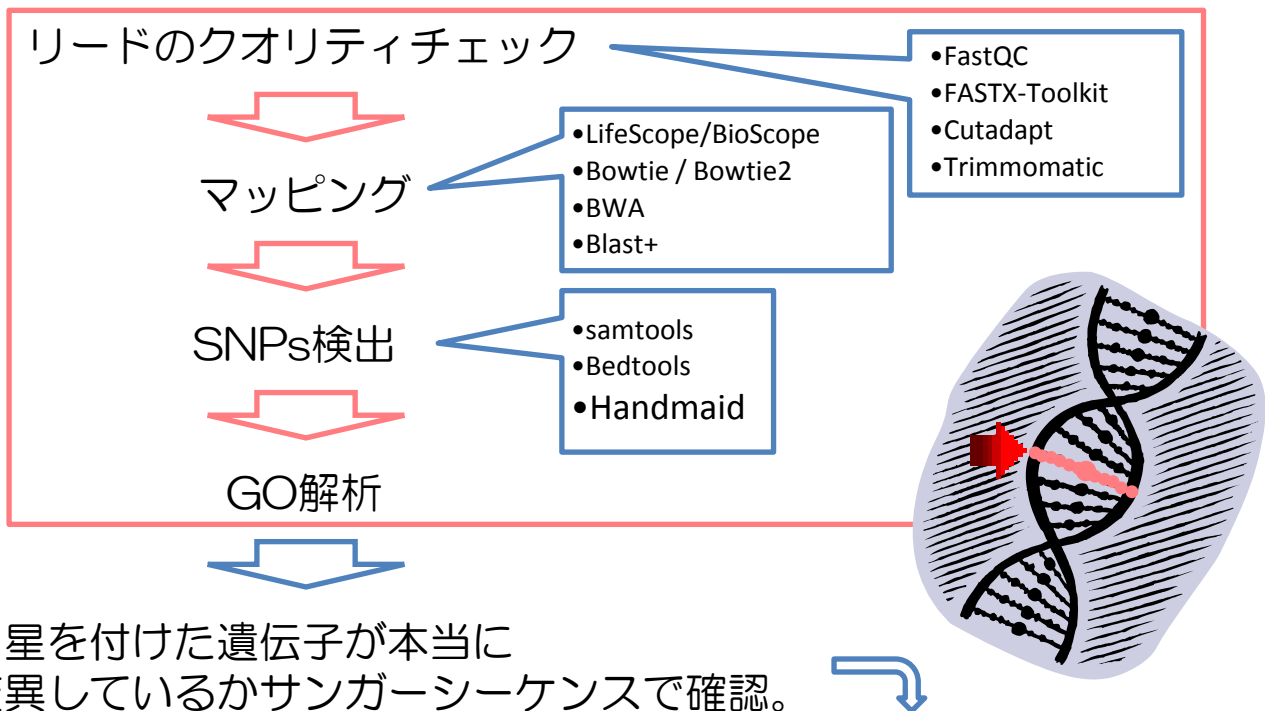


※シーケンサーによってはFastQファイル以外のデータが出力される場合もあります。

解析手順

サンプルの調整およびシーケンス

シーケンスのリードデータ



納品データ

例: mutantにwildの遺伝子を導入し、phenotypeが戻るかを確認

Table.1 各遺伝子におけるSNPsと考えられるPositionごとのプロフィール

gene ID	reference ID	position	reference	novel	type	homozygous	quality	coverage
gene1	1	24881	G	A	cSNP	hetero	44.8	357
gene2	1	25197	G	C	sSNP	homo	12.9	156
gene2	1	25201	A	T	sSNP	homo	29	120
gene3	1	25381	C	A	sSNP	homo	4.6	118
gene4	1	26324	G	A	sSNP	homo	40.6	46
gene5	1	26476	G	C	sSNP	homo	9.5	33
gene6	1	26925	A	G	cSNP	homo	118.9	112
gene6	1	27133	C	T	cSNP	homo	183.6	362
gene6	1	27168	A	G	cSNP	homo	10.4	352
gene7	1	27372	A	T	sSNP	homo	23.9	344

各遺伝子にannotationを付けることも可能！

アクシオヘリックス株式会社

本社：沖縄県那覇市西2-16-3 屋島組本社ビル2-A号室

TEL：098-988-4235 FAX：098-988-4238

東京支社：東京都千代田区神田和泉町1番地12の17 久保田ビル8階

TEL：03-5823-4714 FAX：03-5823-4715

HP：http://www.pictbio.com E-mail：pictbio@axiohelix.com