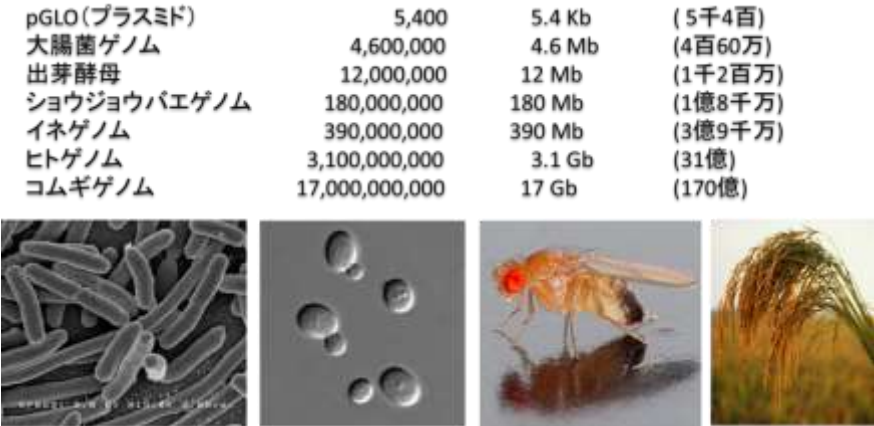


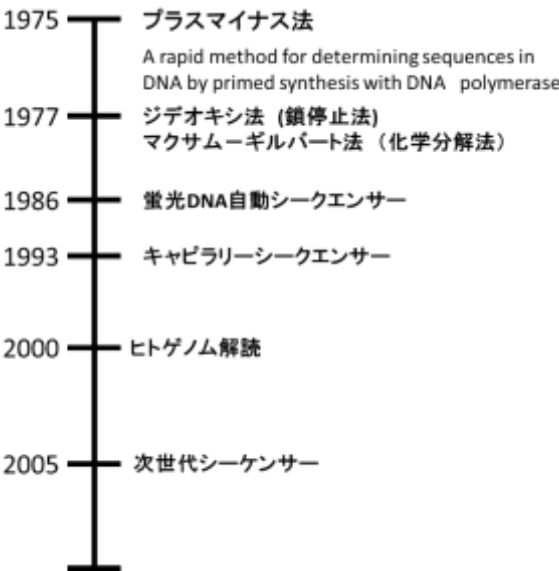
ヒトゲノム解析の国際競争がほぼ決着がついた 2003 年以降, 次世代シーケンサー(超並列型高速ゲノム DNA 塩基配列自動解析装置)が実用化され, ゲノム DNA データが日常的に爆発的に産生される時代となった. 次世代シーケンサーは, 数十から数千塩基長の DNA断片の配列データを大量に同時並行的に産生する. 一検体当たり, 数十万から数十億断片の配列データを, 数時間から数週間のスピードで解読する. これは総塩基長にして数十億塩基程度でありヒト一人分のゲノムサイズにも匹敵する. 次世代シーケンサーにはいろいろな種類や測定原理が存在し, 一度に解読できる塩基長や精度, データ産生スピード(スループット)が異なっている. 各メーカーからいろいろな製品が発売されており, その解析目的により使い分ける必要がある.

石井 一夫ら、日本統計学会誌、第 43 巻、99 頁 - 111 頁

ゲノムサイズの例



シーケンス技術に関する歴史



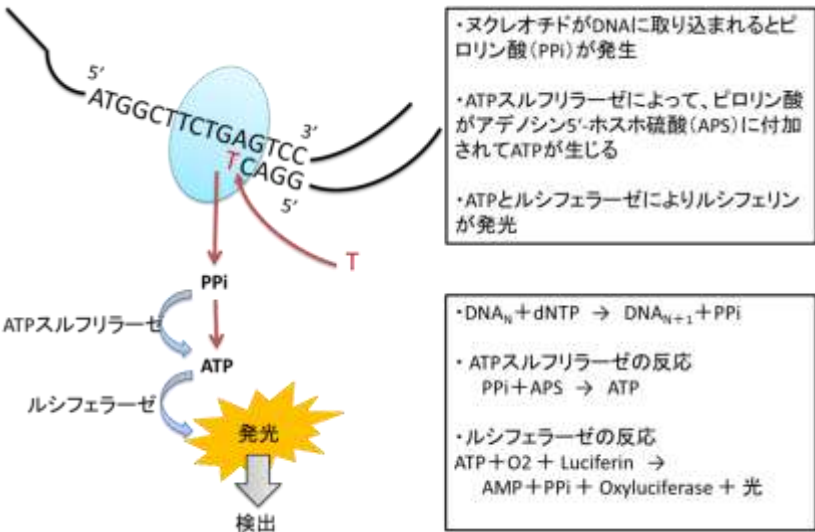
第2世代シーケンシング技術

第2世代シーケンシング技術
逐次DNA合成・光検出法を用いた超並列シーケンシング
DNAポリメラーゼやDNAリガーゼによるDNA合成法を用いて、蛍光・発光など光検出により、超並列的に塩基配列を決定する技術

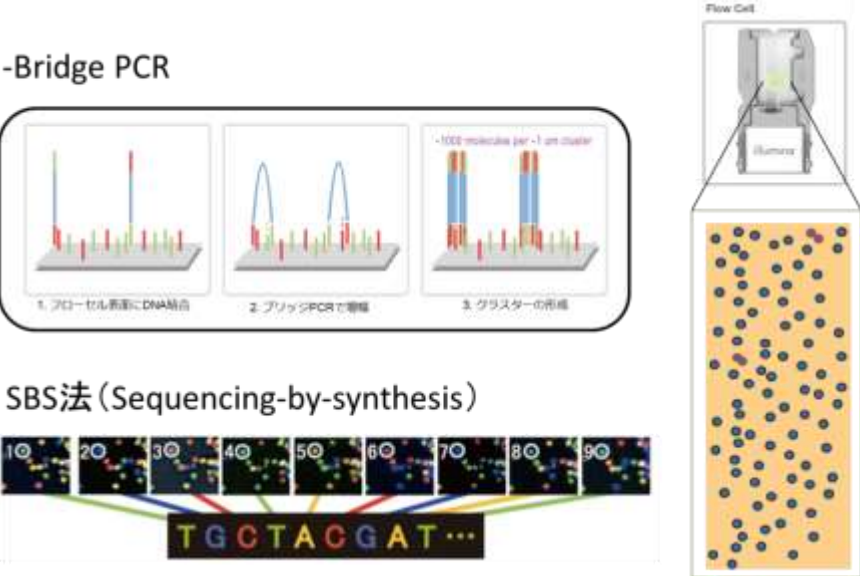
パーソナル型次世代シーケンサーの比較

	データ量	リード長	リード数	リード数	世代
GS junior	50 Mb	700 b	10万	13万円	第2世代
Ion PGM	2 Gb	400 b	500万	8万円	第3世代
MiSeq	15 Gb	300 b	5000万	21万円	第2世代

Pyrosequencing法



Sequencing by synthesis法



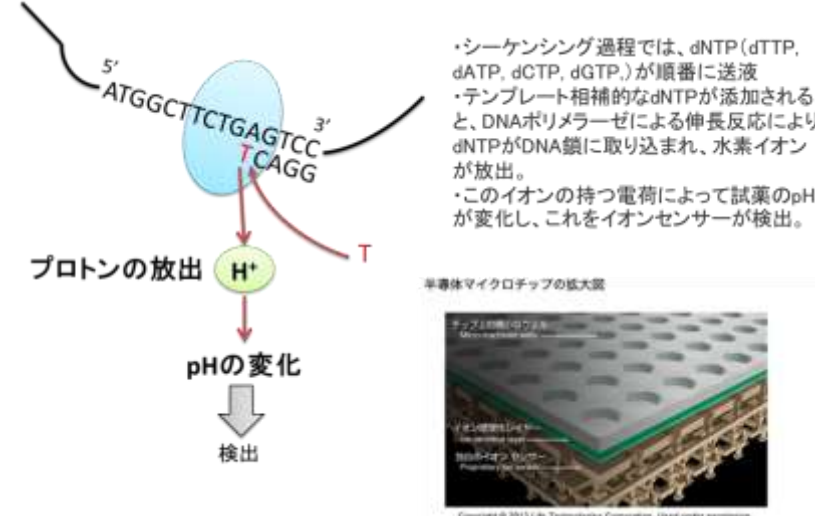
第3世代シーケンシング技術

1分子リアルタイム・シーケンシング
第3世代シーケンシング技術としては、まず DNA1分子を鋳型としてDNAポリメラーゼによりDNA合成を行い、1塩基ごとの反応を蛍光・発光などの光で検出することにより、リアルタイムで塩基配列を決定するシーケンシング技術が挙げられる。

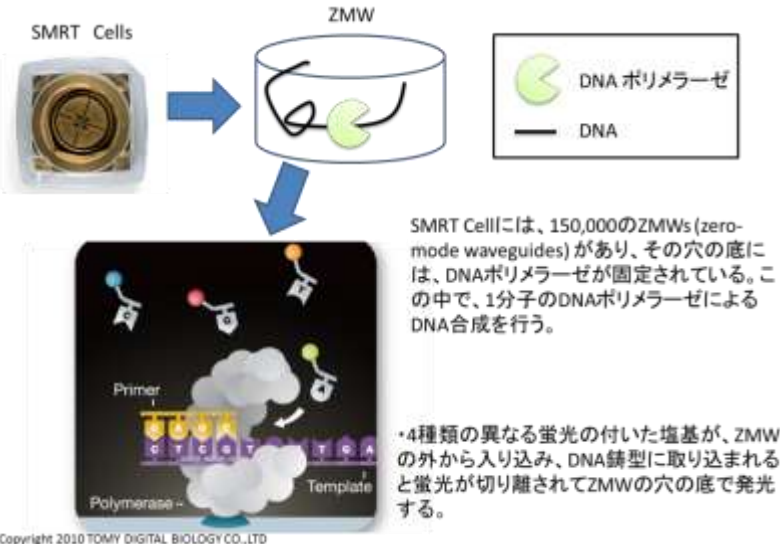
	データ量	リード長	リード数	価格
PACBIO RS II	375 Mb	10 kb	500万	5万円

1分子をリアルタイムで解析できる。また、リード長が10 kb程度と長いのが特徴

半導体チップによるプロトン測定法



SMRT (Single Molecule Real Time) 法



冬虫夏草とは

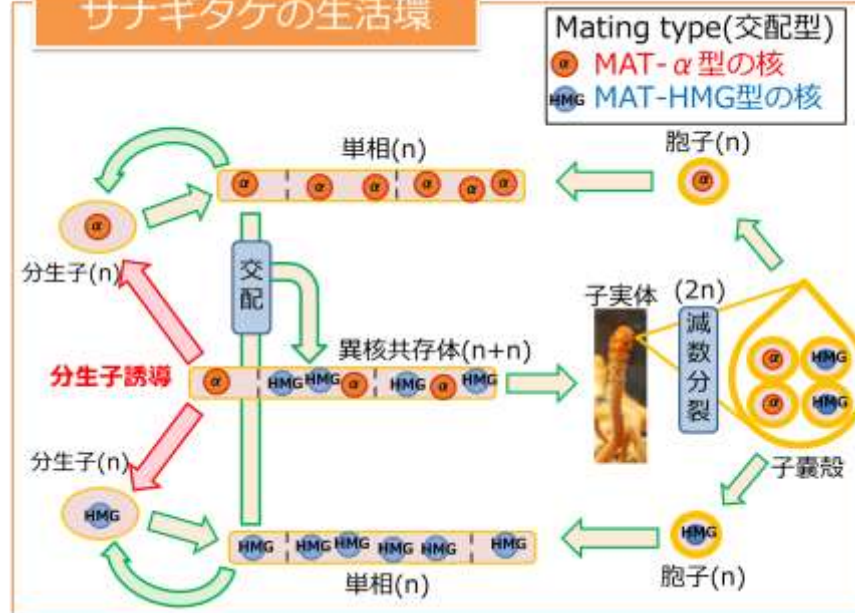
冬虫夏草は昆虫にとりつく菌(昆虫病原菌)の一種である。
中国で冬虫夏草と呼ばれるものは、*Cordyceps sinensis*ただ一種である。この菌はチベット高原やヒマラヤ地方の高山地帯で、草原の地中にトンネルを掘って暮らす大型のコウモリガ科の蛾である*Hepialus armoricanus* Oberthur(中国語: 蝙蝠蛾)の幼虫に寄生。中国ではその他の種は虫草と呼ばれる。

冬虫夏草は発生環境から地生型、気生型、朽ち木生型、菌生型に分類することができる。

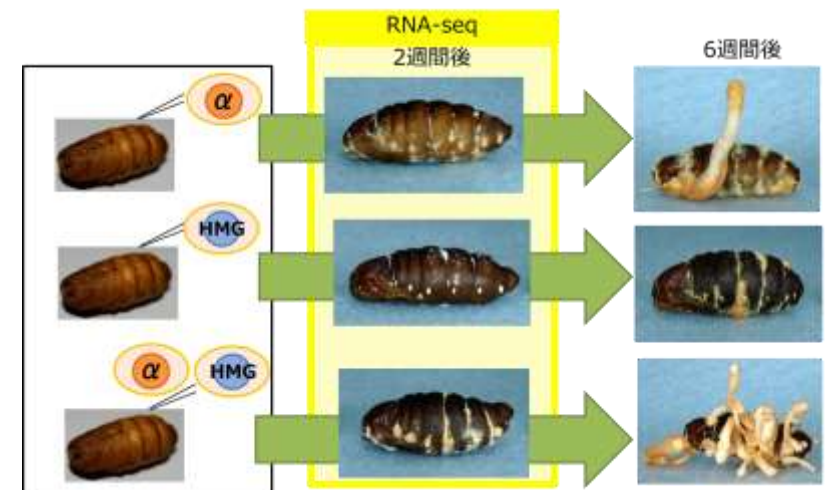
1. 地生型
地中に埋まった宿主から発生する
2. 気生型
は岩上や樹幹、葉裏などに着生する宿主から発生する
3. 朽ち木生型
朽木の中に潜む、主に甲虫の幼虫などの宿主から発生
4. 菌生型
発生パターンとしては地中型だが、宿主が昆虫やクモではなく、地下生菌のツチダンゴ類であることが特徴



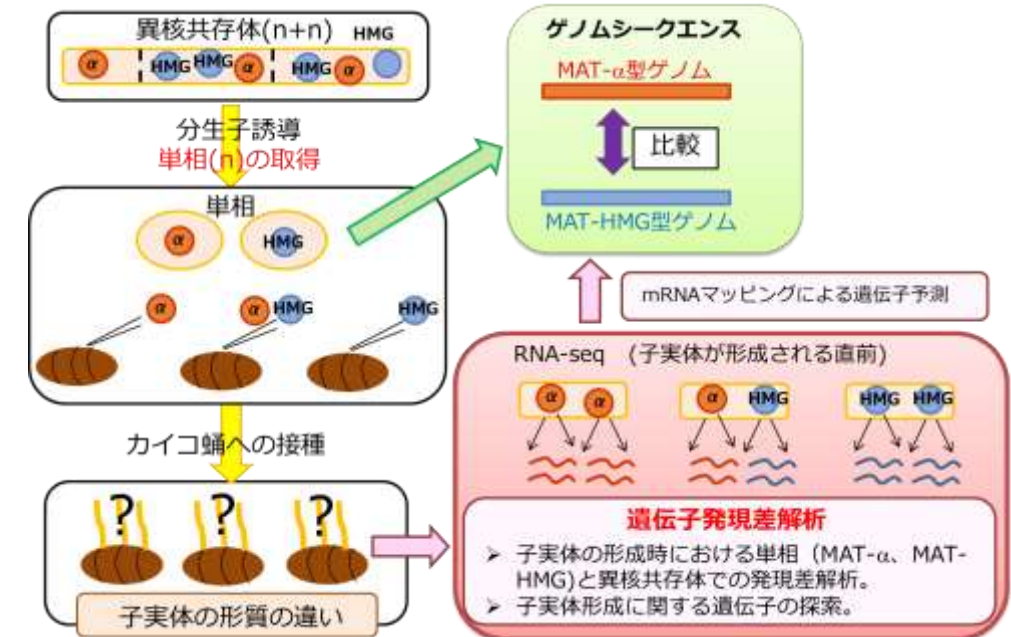
サナギタケの生活環



カイコ蛹への接種実験, 表現型の確認



実験概要



アノテーション(遺伝子注釈)

遺伝子注釈とも呼ばれる。塩基配列の持つ機能について解釈を加えること。全ゲノムの塩基配列を解読しただけではその生物が持つ塩基配列の機能を明らかにしたことにはならない。どの領域がどのような機能を持つタンパク質をコードする領域であるかなどの「注釈」がゲノム情報を利用するうえで大変重要となる。

BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)

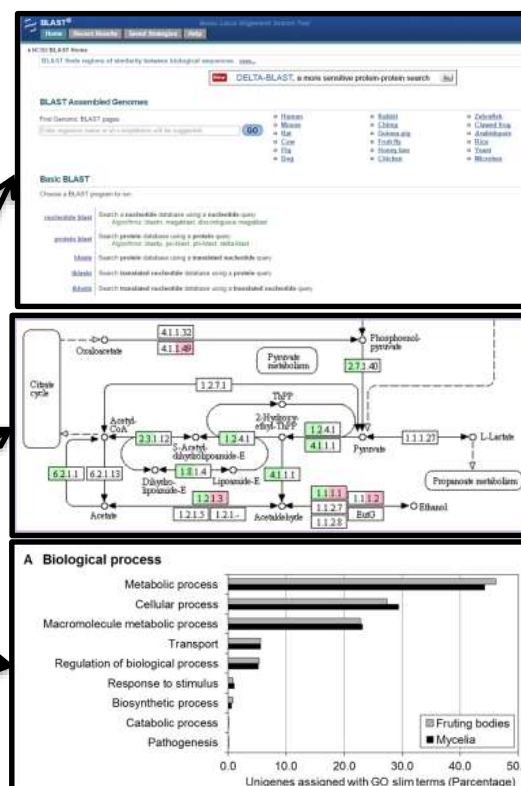
DNAの塩基配列またはタンパク質のアミノ酸配列を使用してシーケンスアライメントを行う。NCBI(GenBank)やDDBJなどに登録されている既知の塩基配列(およびアミノ酸配列)の公共シーケンスデータベースに対して同源性検索を行う。

KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)

遺伝子、タンパク質、代謝やシグナル伝達などの分子間ネットワークに関する情報を統合したデータベース。

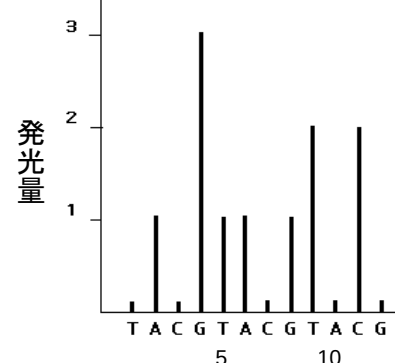
GO(Gene Ontology)

1990年代後半から様々な種の遺伝子関連情報がデータベース化されている。これらに蓄積された情報を有効に活用するために、統一された語彙を用いることで、異なる機関によって作成されたデータベース、更に異なる生物種のデータベース間で、データの結合や、横断比較を行うことが可能になる。



クイズ

Pyrosequencing法を用いて、ある1本鎖DNA断片の配列をシーケンスした結果、下記のような発光量のデータが得られた。この1本鎖DNA断片の配列を答えよ。



- ① 5'-AGGGTAGTTCC-3'
- ② 5'-AGTAGTC-3'
- ③ 5'-GGAACCTACCCT-3'
- ④ 5'-GACTACT-3'

参考図書



C-Bioセミナー

5月31日金曜日15:00～ ゲノミクス研究棟2F セミナー室
伏見 圭司先生(静岡大学理学部生物科学科)
「光スイッチの開発を目指したシアノバクテリアクロムの分子基盤」

レポート提出(合計800文字程度)
「次世代シーケンサーの機器およびその長所・短所について」
「あなたがゲノムを解読したい生物種とその理由について」
5/31 16時までにゲノミクス研究棟1F 管理室に提出

研究室見学・質問は 鈴木 智大まで
農学共通研究棟 細胞遺伝子実験室II
E-mail:suzukit@cc.utsunomiya-u.ac.jp