

# 次世代シーケンス 解析スタンダード

NGSのポテンシャルを活かしきるWET&DRY

## 目次

◆ 序	二階堂 愛	3
-----	-------	---

## I 基礎編

1	NGSのアプリケーションと今後の展望	渡辺 亮, 野宮 唯, 北岡文美代, 中村正裕	10
2	NGSの試薬選択ガイド	渡辺 亮, 田中 梓, 北野優子, 桑原順子	18
3	現行機種 of 長所・短所とその選択	中村昇太	31
4	NGS解析の要		
	品質管理の重要性と方法	樽井 寛	39
5	NGSデータ解析に必要なコンピューティングの基礎	二階堂 愛	46

## II プロトコール メディカル・クリニカルシーケンス

1 メンデル遺伝性疾患の原因遺伝子を解明する <b>W D</b>	Exome-seq	鶴崎美德	50
2 遺伝子診断 <b>W D</b>	ターゲットキャプチャ	才津浩智	59

- 3 アンブリコンシークエンスのためのプライマーを自在に設計する **W D**  
..... 熊井広哉 ..... 67
- 4 がんゲノムから後天的変異を抽出する **W D**  
Genomon-exome における方法論 ..... 白石友一, 千葉健一, 宮野 悟 ..... 77
- 5 HLA 遺伝子の完全配列を決定する **W D** ..... 細道一善, 井ノ上逸朗 ..... 85
- 6 ヒトゲノム・オミックス情報をコホート研究に応用する **W D**  
..... 清水厚志, 八谷剛史, 田原康玄 ..... 95

## Ⅲ プロトコール エピゲノム

### A ChIP-seq

- 1 ヒストン修飾や転写因子の結合領域を同定するコツやポイント **W D**  
..... 門田満隆, 蓑田亜希子 ..... 105
- 2 RとBioconductorでChIP-seq データを解析する **W D** ..... 二階堂 愛 ..... 122
- 3 高精度で結合領域を決定する **W D**  
GeF-seq ..... 大島 拓, 石川 周, Chumsakul Onuma, 中村建介 ..... 131

### B DNA メチル化解析

- 1 バイサルファイト変換で全ゲノムDNAメチル化を定量する **W D**  
PBAT 法 ..... 三浦史仁, 伊藤隆司 ..... 143
- 2 メチル化結合タンパク質でDNAメチル化領域を濃縮する **W D**  
MBD-seq 法 ..... 團野宏樹, 笹川洋平, 二階堂 愛 ..... 156
- 3 メチル化感受性制限酵素を利用しメチル化領域を検出する① **W D**  
HELP アッセイの基本と微量DNAメチル化解析を可能とするサンプル調製法  
..... 池田理恵子, 阿部訓也 ..... 165
- 4 メチル化感受性制限酵素を利用しメチル化領域を検出する② **W D**  
NGS を用いた HELP-tagging の実際 ..... 鈴木雅子, 阿部訓也 ..... 173

## C クロマチンアクセシビリティ解析

### 1 クロマチン立体構造を評価する **WD**

3C, ChIA-PET ..... 井上 剛, 小林美佳, 和田洋一郎 ... 182  
A. 3C アッセイ B. ChIA-PET

### 2 オープンクロマチンを同定する **WD**

FAIRE-seq ..... 中村正裕, 脇 裕典 ... 195

## IV プロトコール トランスクリプトーム・転写制御

### 1 急速に普及する RNA-Seq で遺伝子発現をみる **WD**

..... 鈴木絢子, 鈴木 穰, 菅野純夫 ... 204

### 2 1細胞から遺伝子発現を網羅的にみる **WD**

Quartz-Seq ..... 笹川洋平, 二階堂 愛 ... 216

### 3 CAGE 法で転写制御領域を解析する **WD**

fastCAGE 調製法

..... 村田光義, 大宮寛子, 末木広美, 石山美樹, 長谷川 哲, Timo Lassmann, 伊藤昌可 ... 229

## V プロトコール 環境・進化・生物資源

### 1 難読領域を含む微生物ゲノム完全長配列を *de Novo* に決定する **WD**

PacBio RS II を用いたアセンブル ..... 寺林靖宣, 照屋邦子, 佐藤万仁 ... 246

### 2 細菌種や組成を調べる **WD**

メタ 16S とメタゲノム解析 ..... 須田 互, 大島健志朗, 服部正平 ... 258

A. 菌叢 DNA サンプル調製 B. メタ 16S 解析 C. メタゲノム解析

### 3 微生物コミュニティの遺伝子レパートリーを調べる **WD**

メタゲノムデータ解析 ..... 八谷剛史 ... 269

### 4 ゲノム情報のない生物種の新規ゲノム配列を決定する **WD**

..... 藤江 学, 山崎慎一 ... 277

A. PCR フリーショットガンライブラリ作製法 B. メイトペアライブラリ作製法

## 5 非モデル生物の遺伝子発現をみる **WD**

RNA-Seqと*de novo*ゲノム ..... 尾崎克久 ... 290

A. 十分な量のRNAを確保できる場合のRNA-Seq

B. RNAがごく微量である場合のRNA-Seq

C. *de novo*ゲノムシーケンス

## 6 非モデル生物のSNPを探索する **WD**

RAD-seq ..... 柿岡 諒 ... 303

## 7 育種へ応用する **WD**

MutMap ... 阿部 陽, 高木宏樹, 小杉俊一, 夏目 俊, 八重樫弘樹, 吉田健太郎, 寺内良平 ... 311

# VI プロトコール データ解析と環境構築

## 1 解析環境を導入する **WD**

スパコンの利用 ..... 小笠原 理 ... 323

## 2 LPMを用いて解析環境を構築する **WD** ..... 笠原雅弘 ... 332

## 3 Galaxyを用いてグラフィカルに解析する **WD**

解析パイプラインによるChIP-seqとCAGEデータの利用 ..... 下地 寿, 川路英哉 ... 342

## 4 DDBJ Read Annotation Pipeline **WD**

解析パイプラインによるRNA-Seq *de novo* assemblyとイネ多型解析

..... 長崎英樹, 望月孝子, 谷沢靖洋, 神沼英里, 中村保一 ... 352

## 5 変異を解析する **WD**

グラフィカルなインターフェイスを使って ..... 宮本真理 ... 361

## 6 ゲノムブラウザを用いて可視化する① **WD**

UTGB Toolkitによる可視化 ..... 斉藤太郎 ... 370

## 7 ゲノムブラウザを用いて可視化する② **WD**

GenomeJackによる可視化 ..... 石川元一, 野原祥夫, 谷嶋成樹 ... 377

## 8 NGSデータを公共データベースへ登録する **WD**

..... 児玉悠一, 真島 淳, 高木利久, 中村保一 ... 387

◆ 索引 ..... 396