

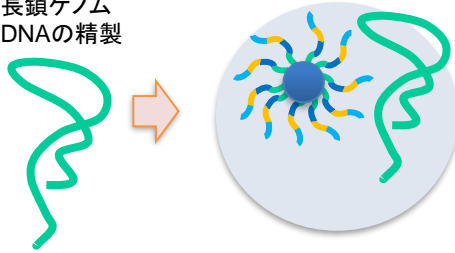
# ハプロタイプフェージング解析サービス



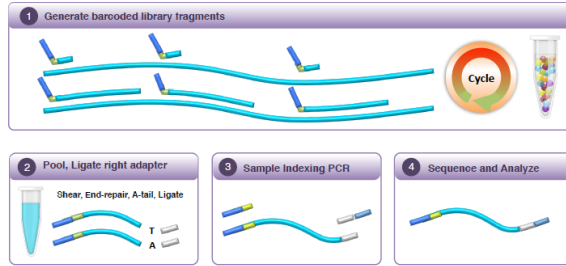
全ゲノムシーケンスやエクソームシーケンス結果から得られる「変異」は、相同染色体上の変異を区別することなく扱っています。ハプロタイプフェージング解析により、相同染色体別に変異を検出できるようになりました。より精密にゲノム変異を検出でき、これまで特定できなかった疾患関連遺伝子やコンパウンドヘテロ変異の検出に有効です。

Chromiumシステム (10X Genomics社) マイクロ流体技術・バーコーディングによりライブラリー作製

長鎖ゲノム DNAの精製



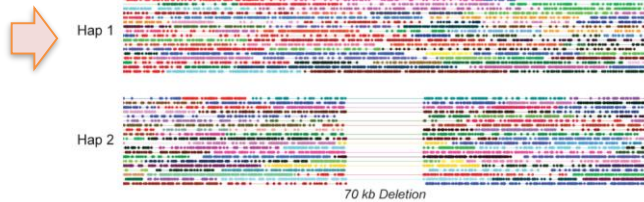
ユニークなバーコード配列が付加されたビーズと長鎖DNA分子を液滴内にトラップ



液滴内で伸長反応・バーコーディングを行い、DNAを数100 bpに断片化後、ライブラリー作製を行う。

シーケンス

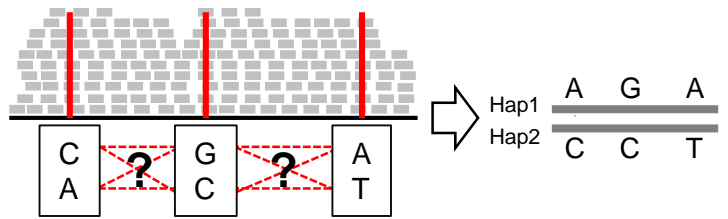
50 Mb Phase Block  
Chr 6



シーケンスデータを参照配列にマッピング  
バーコード情報より50~100 kbの擬似的ロングリードを作成し、ハプロタイプごとに変異を検出

## フェージング

ハプロタイプごとの変異 (SNPs, InDels) の検出



## SV検出

ハプロタイプごとの大規模な構造変化の検出

10X Genomics社資料より

## 納品物

- 作業報告書
- 解析結果
  - シーケンスデータ: FASTQ形式
  - アライメント結果: BAM形式
  - 変異検出結果: VCF形式、Excel形式
    - SNVs, Short InDels
    - Mid-Scale Deletion
    - SVs

Loupe読み込み用ファイル (10X Genomics社提供フリーソフトウェア)

## SNVs, Short InDels検出結果例 Excel

REF	ALT	judg	Gene	AF	AD	DP	GQ	GT	PS	PG
A	AT	AT	NADK	0.5	4,19	23	33	1 1	727237	26
C	A	A	NADK	1	2,67	69	99	1 1	727237	
TC	T	T	NADK	1	1,87	88	99	1 1	727237	
T	TGA	TGA	NADK	0.5	14,6	20	99	0 1	727237	40
T	A	A	NADK	0.5	2,40	42	99	0 1	727237	62
T	A	A	NADK	0.5	1,42	43	99	1 1	727237	37
T	A	A	NADK	0.5	1,43	44	99	1 1	727237	33
T	A	A	NADK	0.5	1,42	43	99	0 1	1705159	34
T	A	A	NADK	0.5	1,43	44	99	0 1	1705159	55

PS (Phase set): 同じIDを持つ変異は同じフェーズブロック上に存在すると考えられる。

GT (genotype): “|” はフェージングされていることを示す。

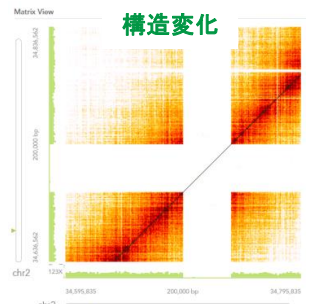
## ハプロタイプごとのリードマッピング結果



## ハプロタイプごとの変異検出結果



## 構造変化



# 全ゲノムシーケンス解析

HiSeq X(イルミナ社)の登場でヒトやマウスの全ゲノムシーケンスが手の届く解析となりました。タカラバイオ(株)では、HiSeq Xを用いたシーケンス結果を有効に利用するための各種情報解析手法を用意し、お客様のご要望に沿った提案をいたします。

- ◆ HiSeq Xを用いたシーケンスを行います。
- ◆ PCR-freeライブラリーでシーケンスバイアスの少ないデータをご提供します。
- ◆ SNV・InDel・SV・CNV検出、家系変異解析、体細胞変異解析、ドライバー遺伝子・パスウェイ解析などの情報解析が充実

※シーケンスは国内協力会社にて実施します。

## ● ヒト全ゲノムシーケンス解析 納品物例 ●

変異塩基情報					SNP情報				変異影響度(アミノ酸置換)				遺伝子情報等					
#CHROM	POS	REF	ALT	Change_Type	TakaraID	ID	Effect	Effect_impact	Functional_Class	Codon_Change	Distance	Amino_Acid_Change	Gene_Name	Transcript_Bio_Type	Transcript_ID	Exon_Rank	error/warning	Description
chr1	7797503	C	G	SNP	SAMPLE	Crs4127895	NON_SYNC	MODERATE	MISSENSE	aaC/aaG		N1177K	CAMTA1	protein_coding	NM_015215	15		calmodulin
chr1	171080080	G	A	SNP	SAMPLE	Crs1736557	NON_SYNC	MODERATE	MISSENSE	Gtg/Atg		V257M	FMO3	protein_coding	NM_001002	6		dimethylani
chr1	182554557	C	T	SNP	SAMPLE	Crs486907	NON_SYNC	MODERATE	MISSENSE	cGa/cAa		R462Q	RNASEL	protein_coding	NM_021133	2		2-5A-depe
chr1	213031948	G	C	SNP	SAMPLE	Crs1112004	NON_SYNC	MODERATE	MISSENSE	Gcc/Ccc		A52P	FLVCR1	protein_coding	NM_014053	1		feline leuk
chr1	196642233	G	A	SNP	SAMPLE	Crs800292	NON_SYNC	MODERATE	MISSENSE	Gta/Ata		V62I	CFH	protein_coding	NM_000186	2		complemer

人種別アレル頻度 臨床影響度 変異影響度(保存性) 各サンプルのジェノタイプ(アレル、リード数、アレル頻度、品質など)

HGVD_M AF	ExAC_M AF_ALL	ExAC_M AF_EAS	Clinvar_S IE	FATHMM_score	FATHMM_rank	FATHMM_pred	iev_link	Consensus	SAMPLE_0 1_a_01:G	SAMPLE_0 1_a_01:A	SAMPLE_0 1_a_01:A	SAMPLE_0 1_a_01:D	SAMPLE_0 1_a_01:G	SAMPLE_0 1_a_02:G	SAMPLE_0 1_a_02:A	SAMPLE_0 1_a_02:D	SAMPLE_0 1_a_02:G	
0.0943	0.1163	0.0768	3	218	0.18873	T	link	common	0/1	46,42,0	0.47727273	88	99	0/1	25,22,0	0.46808511	50	99
0.1628	0.0805	0.2004	5	0.58	0.54161	T	link	common	1/0	84,59,0	0.41258741	143	99	1/0	38,47,0	0.55294118	85	99
0.1943	0.3088	0.2291	255	2.07	0.20382	T	link	common	1/1	0,125,0	1	125	99	1/1	0,78,0	1	78	99
0.5685	0.3718	0.6319	3	-1.7	0.83085	D	link	common	1/1	0,46,0	1	48	99	1/1	0,47,0	1	48	99
0.4144	0.3203	0.419	255	-0.09	0.64105	T	link	common	1/0	60,64,0	0.51612903	124	99	1/0	52,42,0	0.44680851	94	99

### 付属するアノテーション情報

遺伝子情報  
既知変異情報

RefSeq : 変異が存在する、または変異近傍の遺伝子情報

dbSNP : SNPデータベース登録情報

HGVD : 健常日本人エクソームデータベースの頻度情報

ExAC : BROAD研究所エクソームデータベースの頻度情報

既知疾患情報

ClinVar : 医学的に重要な遺伝子変異と疾患(表現型)の関連情報

変異影響度

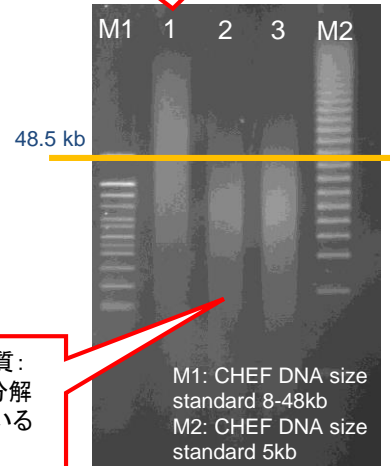
FATHMM : アミノ酸配列の保存度および既知重篤変異のスコア情報

## 受入サンプル

### ▼ゲノムDNA溶液

アプリケーション	送付サンプル			
	量	濃度	OD260/280	OD260/230
ハプロタイプフェージング解析	500 ng以上	10 ng/μl以上	1.6以上	1.6以上
全ゲノムシーケンス解析	4 μg以上	60 ng/μl以上	1.6以上	1.6以上

良好な品質:  
50 kb以上に明瞭にバンド  
が確認されている(No.1)



不良な品質:  
ゲノムの分解  
が進んでいる  
(No.2,3)

### サンプル調製・送付時の注意

ゲノムDNAは滅菌水もしくはReduced EDTA TE buffer(10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH8.0)に溶解してください。

【ハプロタイプフェージング解析の場合】 → 長鎖ゲノムDNAの取得が重要です。

- ゲノムDNAの調製は、フェノール・クロロホルム抽出または長鎖DNA抽出が可能な市販のキットを用いて実施してください。
- パルスフィールドゲル電気泳動(1%アガロースゲル)、または0.3%アガロースゲル電気泳動にて50 kb以上に明確なバンドが検出され、分解および低分子の混入がないことをご確認ください。
- 抽出後のサンプルは凍結せずに、できるだけ速やかに送付してください。

【全ゲノムシーケンスの場合】

- 1%アガロースゲル電気泳動にて10~20 kbに明確なバンドが検出され、分解および低分子の混入がないことをご確認ください。

### ▼細胞または組織 別途お問い合わせください。

注: ヒト臨床検体からの核酸抽出の場合、事前に検体バイオセーフティレベルまたは感染性についての情報提供用紙をご提出いただき、施設受入の可否をご連絡いたします。

※本チラシに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。 2016年11月作成G

## タカラバイオ株式会社

### ■ 受託サービスに関するお問い合わせ

滋賀県草津市野路東七丁目4番38号 〒525-0058

TEL 077-565-6999

Website <http://catalog.takara-bio.co.jp/jutaku/>

取扱店