

Hi-C解析 を知って・学んで・使う

前半・Hi-C解析を知る

2025年1月16日

東 光一

(Koichi Higashi)

国立遺伝学研究所

khigashi@nig.ac.jp

講義内容概要

前半：Hi-Cを中心に3C関連技術の解説

- Hi-Cとはなにか
- Hi-Cでわかること
- Hi-Cデータの応用
- Hi-Cの注意点

後半：Hi-Cデータ利用・可視化・情報解析

- Hi-C解析パイプライン
- Hi-Cデータ取得・可視化
- Hi-C関連ツール

想定する対象者

- エピジェネティクス研究に関わる学生・研究者の方々
- Hi-Cという言葉を聞いたことくらいはある
- どんなデータなのか興味がある・触ってみたい
- 自分の興味領域の構造を公共データで調べてみたい

本講義でじゅうぶんにカバーできていない需要

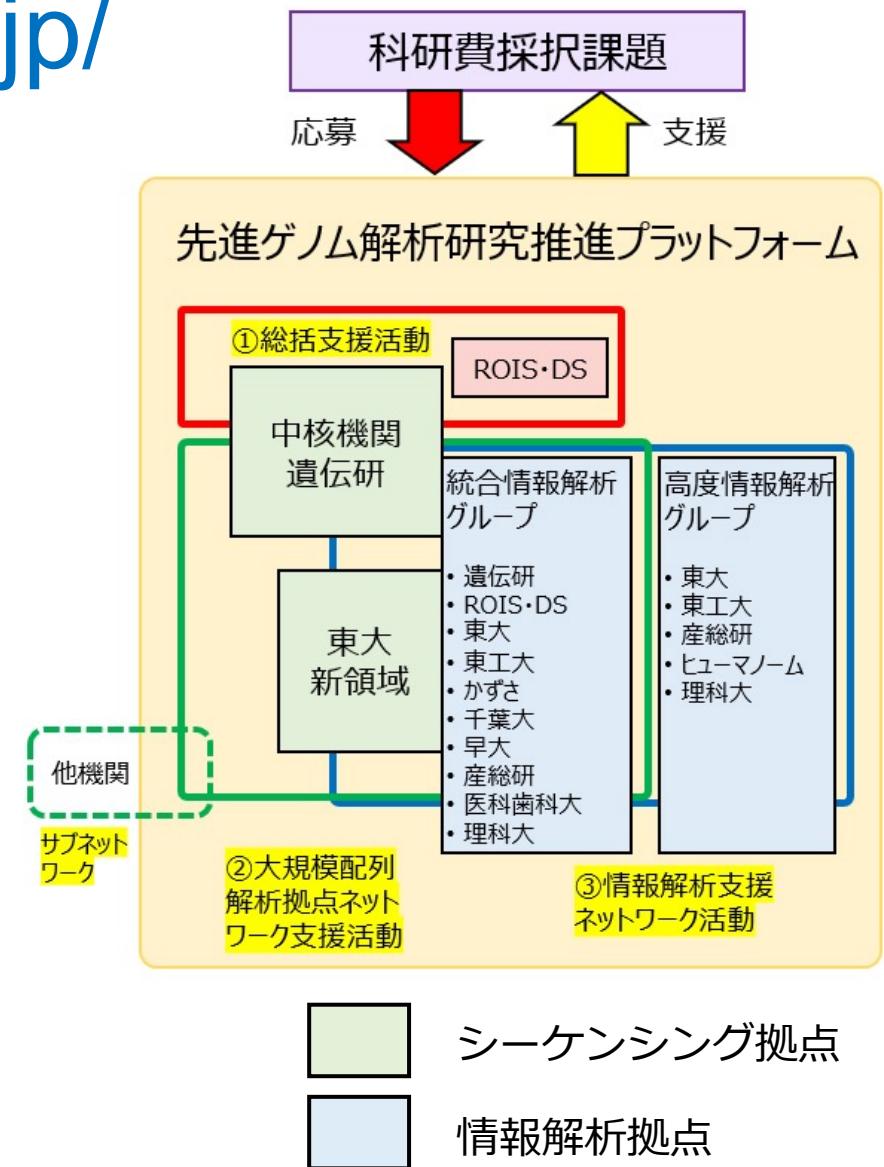
- (がっつりと解析したい・解析パイplineを最適化したい)
- (アルゴリズムの詳細を知りたい・ツールのパラメータ設定)
- (非モデル生物研究者・新規ゲノム決定にHi-Cデータを使いたい)
- (キットの選定、実験プロトコルの最適化)

事前のご質問：どのような研究機関と協力すれば実現できるか



<https://genome-sci.jp/>

The screenshot shows the homepage of the PAGS website. At the top, there is a banner with silhouettes of people and a mouse, and text about advanced genome support using the latest technology. Below the banner, there are four blue hexagonal icons: '技術開発拠点(国内)で解析' (Development hub (domestic) for analysis), '情報解析のみでも支援可能' (Support possible even if only information analysis), '最先端の解析技術を提供' (Provides state-of-the-art analysis technology), and '原則、シークанс・情報解析費用は自己負担なし' (Principle, sequencing and information analysis costs are not borne by the user). The main menu includes '最新情報' (Latest Information) with tabs for '全 体', 'プレスリリース', 'イベント', 'ニュース', and 'その他'. Below the menu, there are three news items: 1. 2023年11月28日 [班員による高度化論文公開] 遺伝子の転写開始点の検出法TSS-seq2を開発 - メッセンジャーRNAの5'末端を高い特異性で検出 - (プレスリリース) 2. 2023年11月28日 [先進ゲノム支援成果公開] 乳がんの再発を起こす原因細胞を解明 (プレスリリース) 3. 2023年11月28日 日本分子生物学会 ブース出展・バイテクセミナーのご案内 (12/6~8) (プレスリリース)



エピジェネティクス

ヒトゲノムの解読後に急速に発達した学問。

Epigenetics =

“the study of molecules and mechanisms
that can perpetuate alternative gene activity states
in the context of the same DNA sequence”

(Cavalli, Giacomo, and Edith Heard. "Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease." *Nature* 571.7766 (2019): 489-499.)

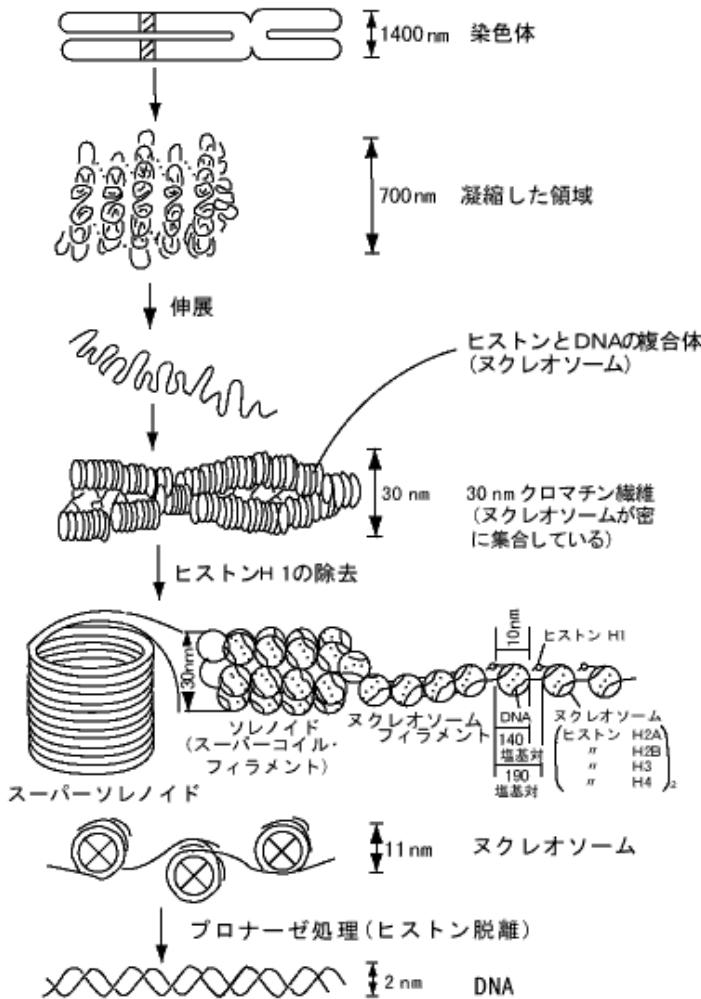
個体の（一部例外を除いて）すべての細胞は同一のゲノム配列を保持しているのになぜ、多様な細胞型としてさまざまな機能を果たせるのか。

「さまざまなタイプの細胞」は、
現在では「発現している遺伝子の組み合わせのパターン」として理解されている。

このようなパターンの確立と維持には、どのような分子やメカニズムが関与しているのか。

→DNAメチル化、ヒストン修飾、non-coding RNA、ゲノムの3次元構造

染色体の高次構造



“細胞が分裂するときは核内のDNAがタンパク質と結合して、凝縮して染色体という顕微鏡で観察できる構造物となる。分裂が終わると再び染色体はときほぐれて核内に拡がり、DNA分子までときほぐれてDNAの複製を行う。”

ときほぐれた状態？？？

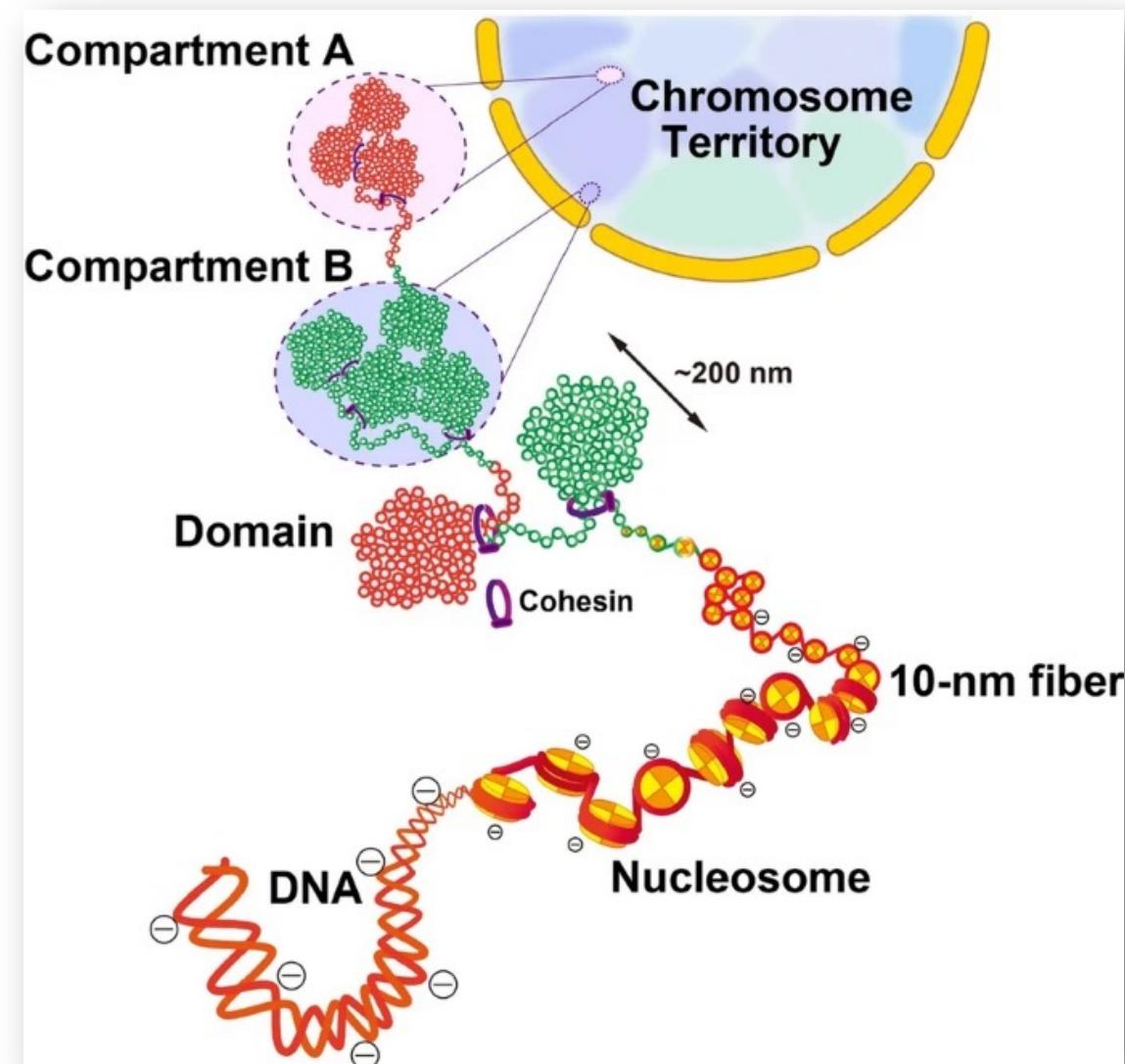
図1・8 染色体の構造とDNAの関係(堀田ら, 1989), (荒木ら, 1991)

染色体の中間スケールの構造

染色体は階層的に、
さまざまなスケールで特有の高次構造を形成
している。

これまで、「顕微鏡観察できるレベル」と
「ヌクレオソームレベル」の中間にある構造は、
ほとんどわかつていなかった。

それを明らかにしてきたのが、Hi-Cをはじめとした
Chromosome Conformation Captureベースの手法。



Hansen, Jeffrey C., Kazuhiro Maeshima, and Michael J. Hendzel.
"The solid and liquid states of chromatin."
Epigenetics & Chromatin 14.1 (2021): 50.

Hi-C解析とは

シーケンシングによって、
ゲノム（染色体）の3次元空間内の立体構造を明らかにする手法。

構造は機能と密接に関わっている。

（ex. エンハンサー・プロモーターループ、
インシュレータによるエンハンサー影響範囲の限定）

ゲノム配列そのものからはうかがい知れない染色体の立体構造を、
ゲノム配列のシーケンシングによって明らかにするのがHi-C解析。

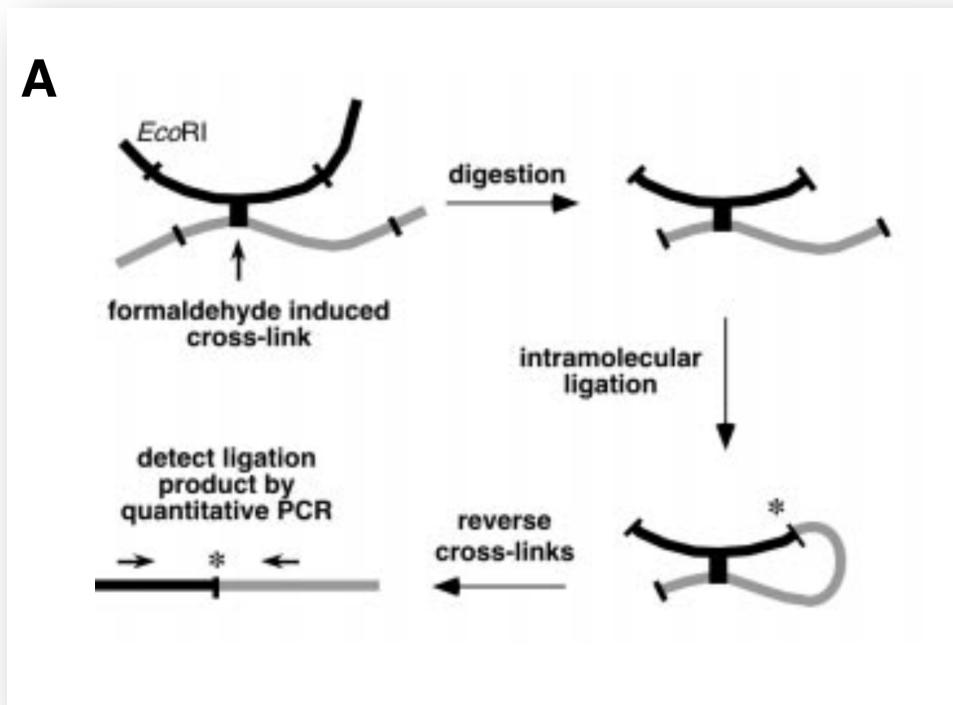
「シーケンシング」の応用

- DNA配列そのものを知りたい
 - 新規ゲノム決定
 - メタゲノム解析
 - 変異解析
- 読み取られたDNA配列データのパターンから間接的に、何か別のことを知りたい
 - RNA-seq
 - ChIP-seq
 - ATAC-seq
 - Hi-C

精度の高いリファレンスゲノムがあることが前提。

また、T2Tの完全ゲノムが完成したといっても、依然としてセントロメア領域の解析は難しい

Chromosome Conformation Capture (3C)



Dekker, Job, et al.
"Capturing chromosome conformation."
Science 295.5558 (2002): 1306-1311.

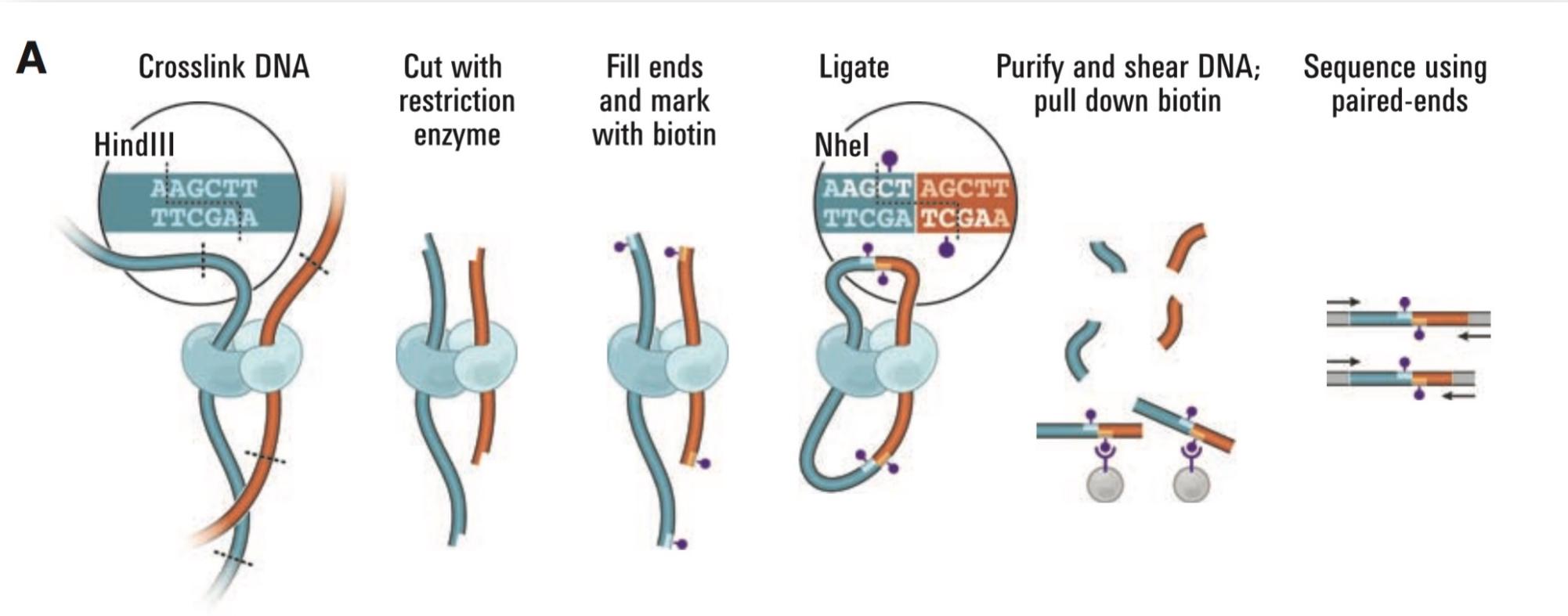
その後、次々に登場した3C-based methodすべての基礎となる手法。

鍵となるのは、

DNAの空間的な近接性は、制限消化された断片間でのライゲーションの生じやすさで測れる、
という考え方。

Hi-C解析

Lieberman-Aiden, Erez, et al.
"Comprehensive mapping of long-range interactions reveals
folding principles of the human genome." *Science* 326.5950 (2009): 289-293.



全領域 vs. 全領域の近接性をすべてシーケンシングで決定してしまう。
ビオチンプルダウンで、ライゲーションジャンクションが形成されている断片のみを濃縮。
ペアエンドでシーケンスしなければ意味がない。
Forward, Reverse のリードがリファレンスゲノムへマッピングされた位置を調べ、
それらのゲノム上の領域がもともと空間的に近接していた、と解釈。

3C派生技術（代表的なもののみ）

Hi-C解析：All vs. All のコンタクトを検出

dilution Hi-C (Lieberman-Aiden, et al. 2009)

- 6 base cutter
- 希釈条件でライゲーション

in situ Hi-C (Rao, et al. 2014)

- 4 base cutter
- 核内でライゲーション

DNase Hi-C (Ma, et al. 2014)

- DNaseで消化
- DNaseに基づく手法はDovetail genomicsから Omni-C の商品名でキット化されている

Micro-C (Hsieh, et al. 2015)

- MNaseで消化
- これもDovetailの商品が有名

Hi-C 3.0 (Lafontaine, et al. 2021)

- ホルムアルデヒド+追加の化学架橋剤 (DSG)
- 複数の制限酵素を使用

ターゲットエンリッチメント：Many vs. All

特定のDNA結合タンパク質にフォーカス

ChIA-PET (Fullwood, et al. 2009)

- 特定のDNA結合タンパク質で架橋される近接ライゲーションプロダクトをIP

HiChIP (Mumbach, et al. 2016)

- よりシンプルな実験プロトコル、より高いS/N比

特定のゲノム領域にフォーカス

Capture-C (Hughes, et al. 2014)

- ビオチン化オリゴのプローブでターゲット領域を濃縮

Capture Hi-C (CHi-C) (Mifsud, et al. 2015)

- Hi-C解析とプローブによるターゲット濃縮を融合

その他の拡張

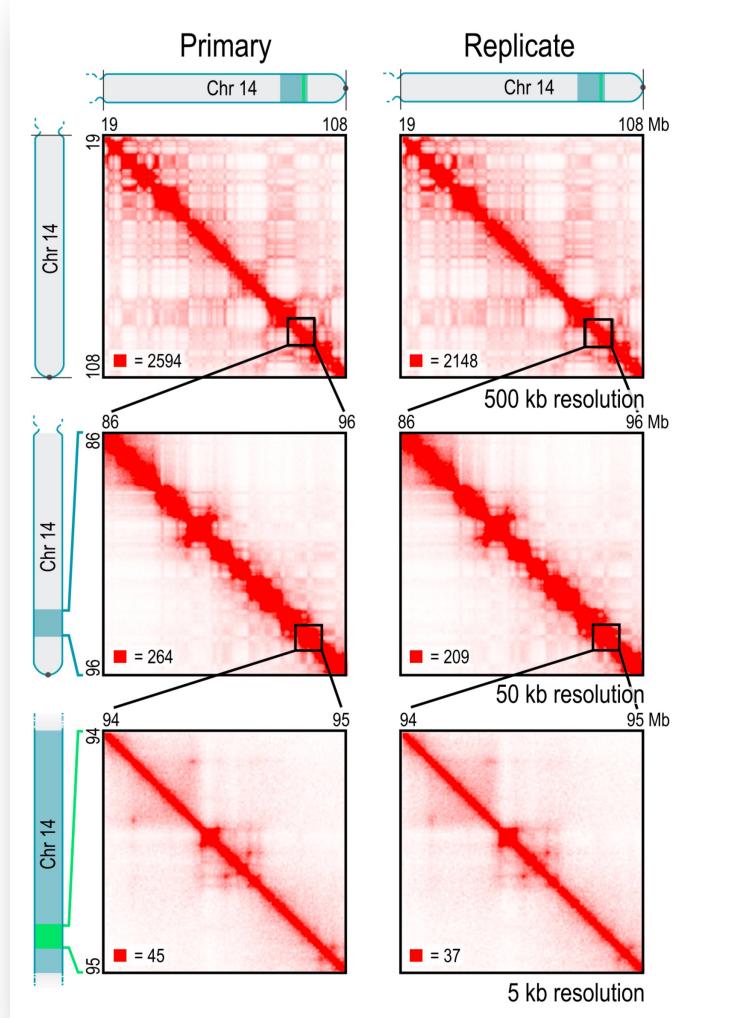
シングルセル Hi-C (scHi-C)

Nagano, et al. 2013以降のプロトコルの改良とハイスクローット化
Dip-C (Tan, et al. 2018)

シングルセルマルチオミクス

HiRES(Zhiyuan, et al. 2023), GAGE-seq(Zhou, et al. 2024)

Hi-C解析で生成される主要な結果＝コンタクトマップ

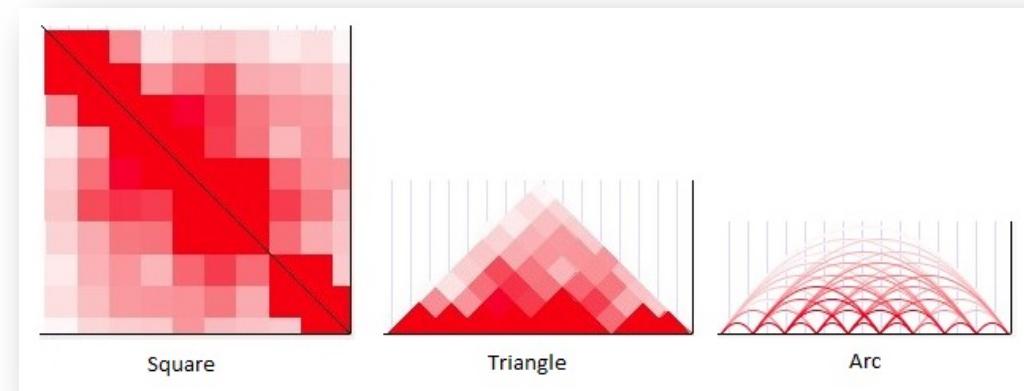


左図はコンタクトマップを、ヒートマップとして可視化した図。コンタクトマップは対称行列。

タテとヨコに同じゲノム配列を並べて、位置 i と位置 j にマップされるペアエンドリードがあったら、行列の(i, j) のカウントをひとつ増やす。

したがって、行列で値が大きい要素は、その領域間でマップされるペアがたくさん見つかる、すなわち接触確率が高い領域ペアであることを意味する。

対称行列なので、上三角だけ切り取って寝かせて描画することも多い。

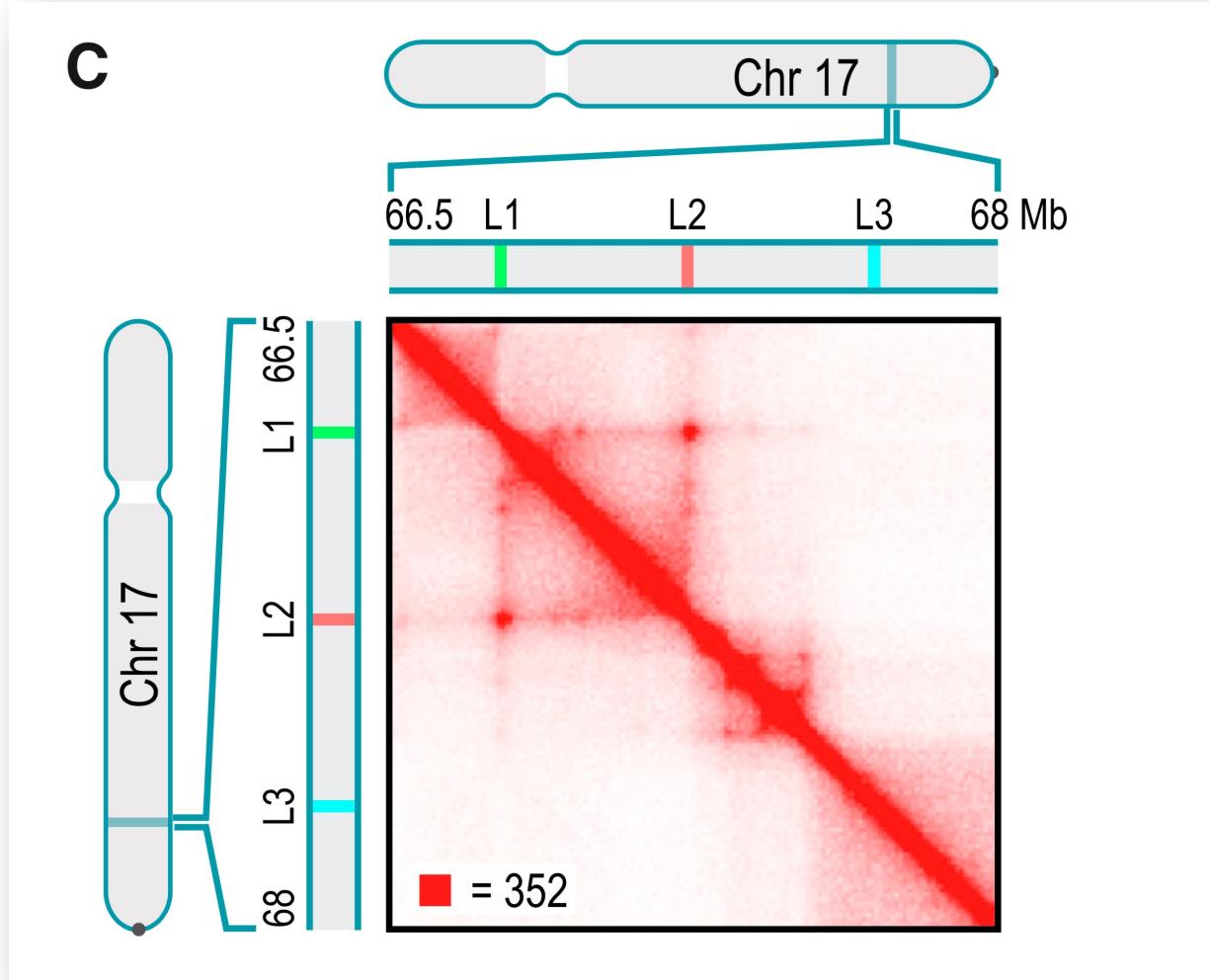


Rao, Suhas SP, et al.
"A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping"
Cell 159.7 (2014): 1665-1680.

<https://genome.ucsc.edu/goldenpath/help/hic.html>

コンタクトマップの見方

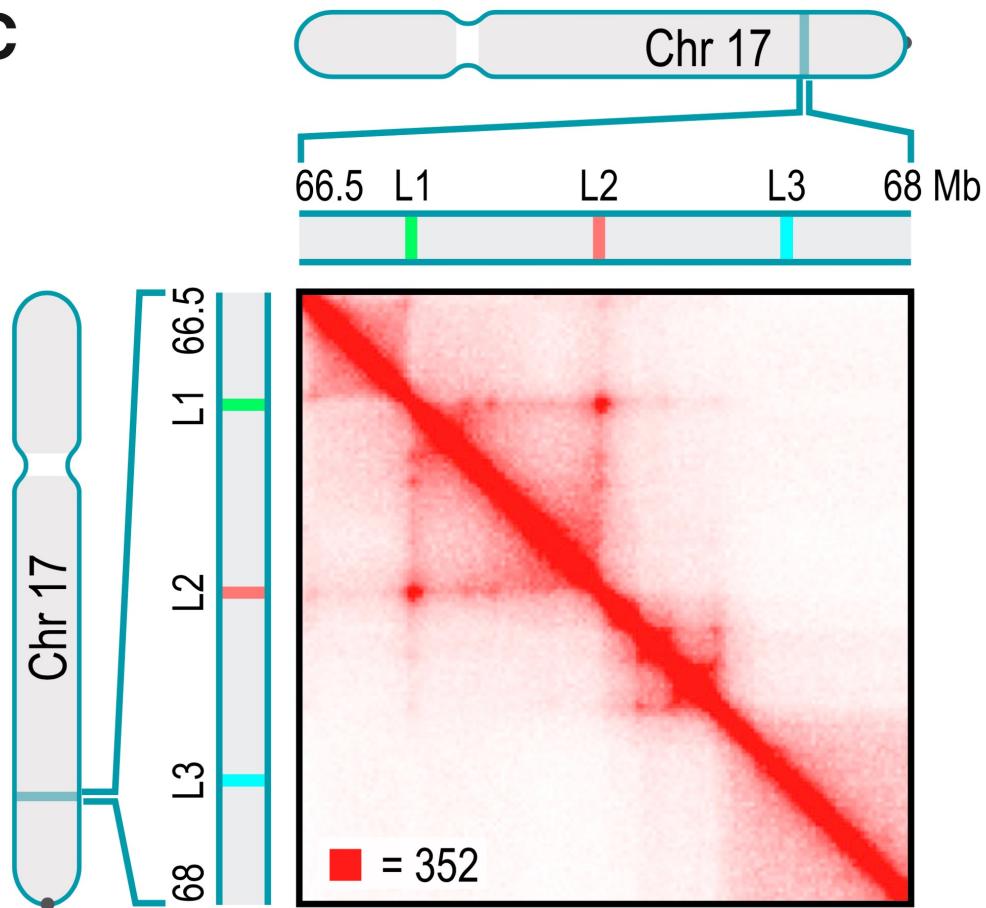
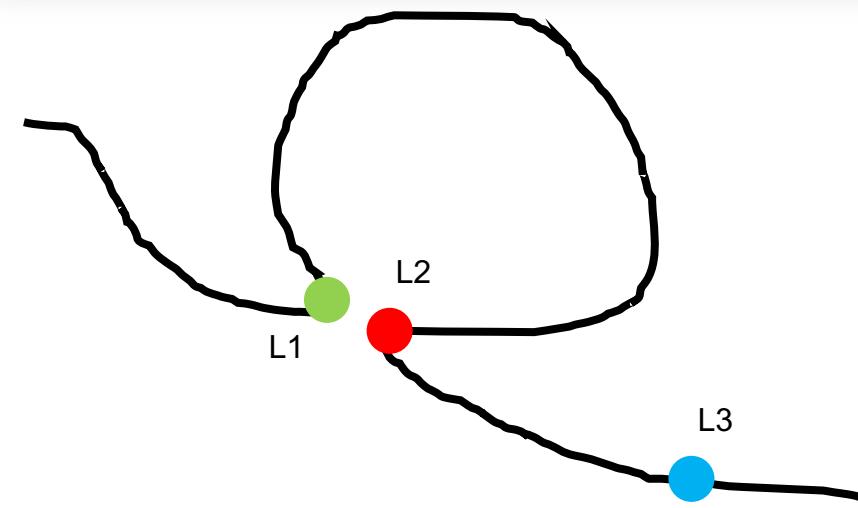
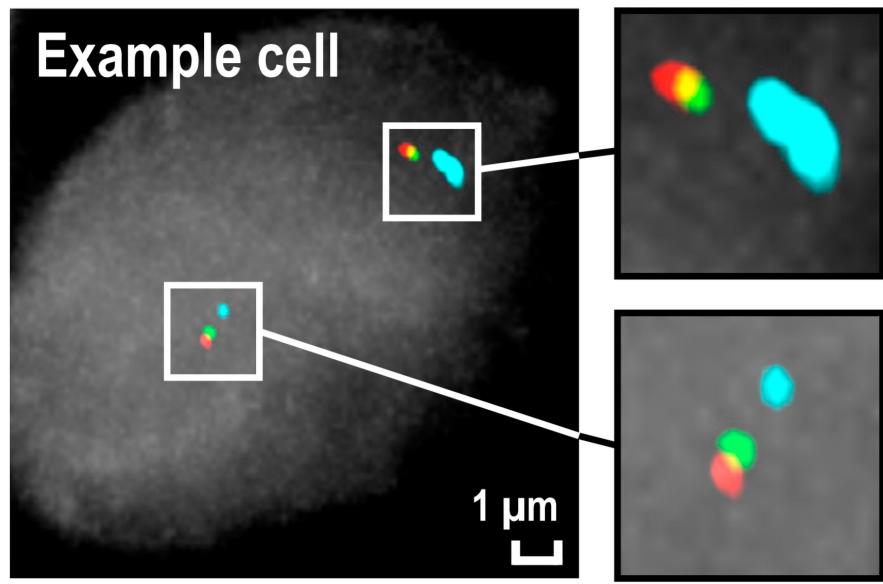
どのような3次元構造であったら、下図のようなコンタクトマップが得られるだろうか？



Rao, Suhas SP, et al.

"A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping"

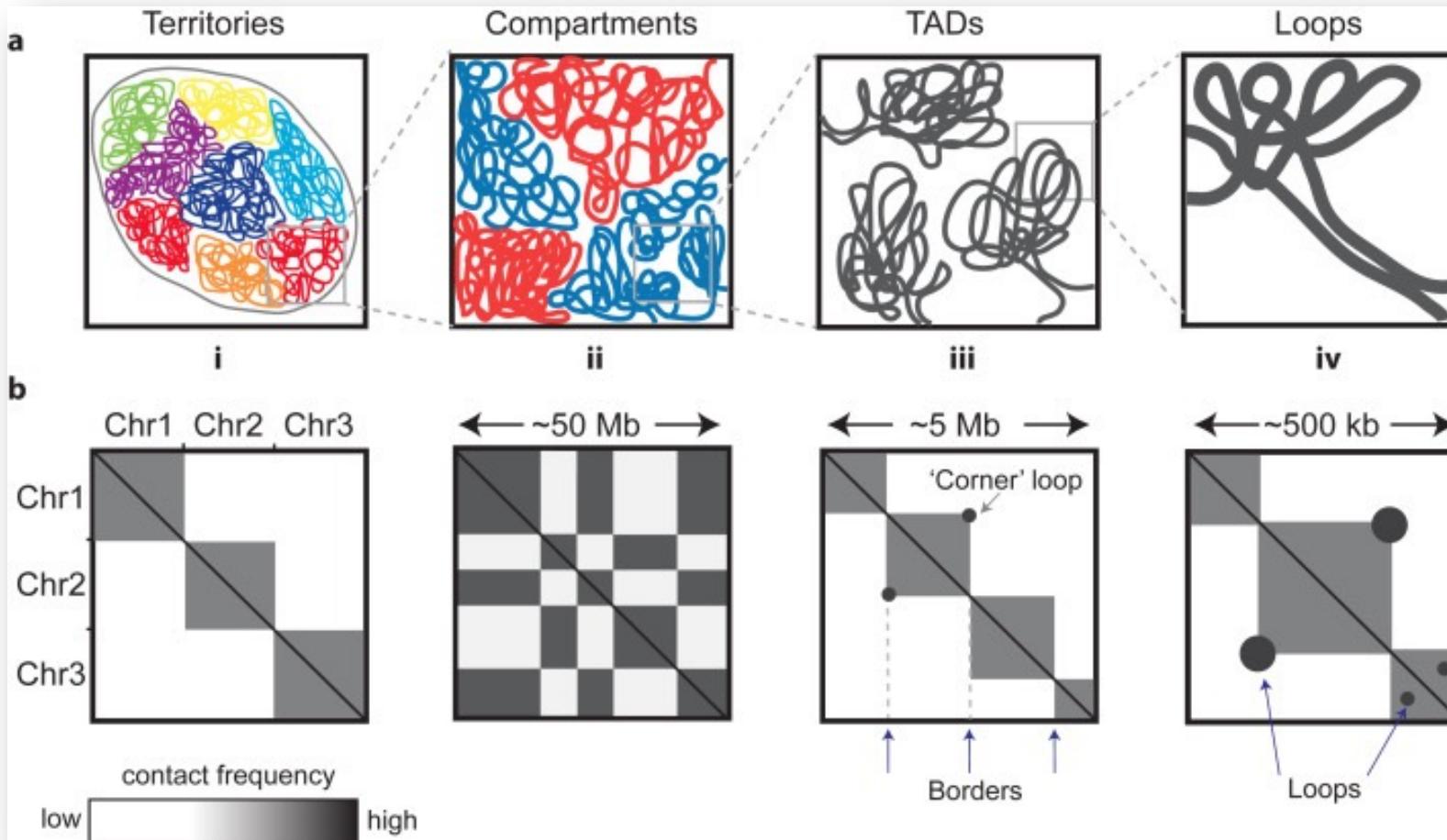
Cell 159.7 (2014): 1665-1680.

C**Example cell**

Rao, Suhas SP, et al.

"A 3D map of the human genome at kilobaseresolution reveals principles of chromatin looping"
Cell 159.7 (2014): 1665-1680.

コンタクトマップで見つかる構造「パターン」

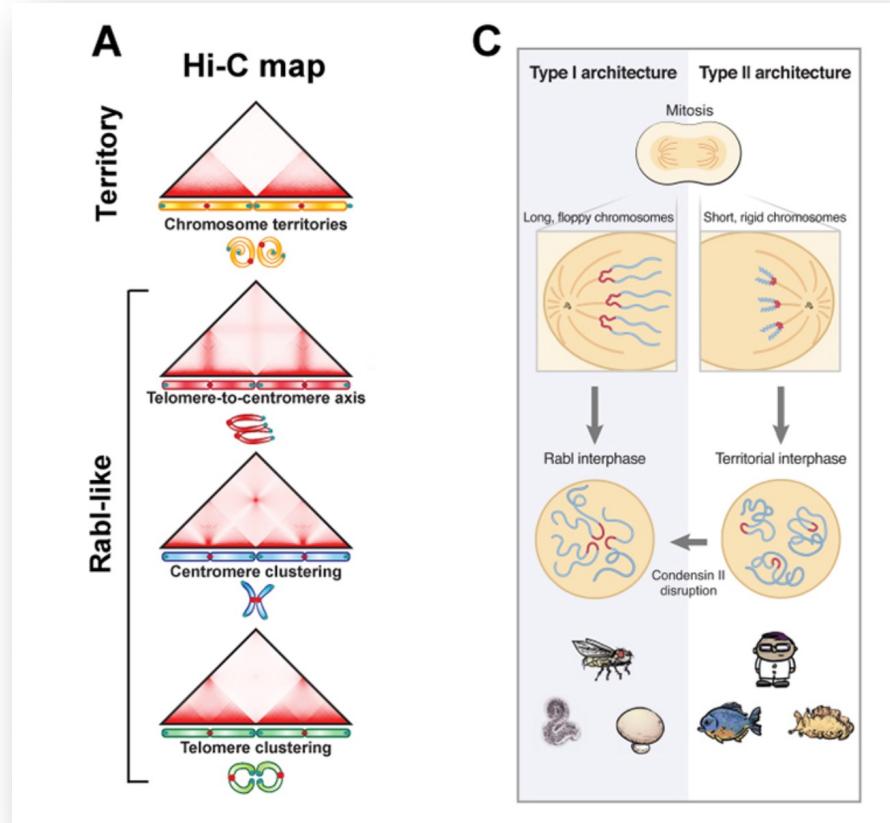


Sikorska, Natalia, and Tom Sexton.

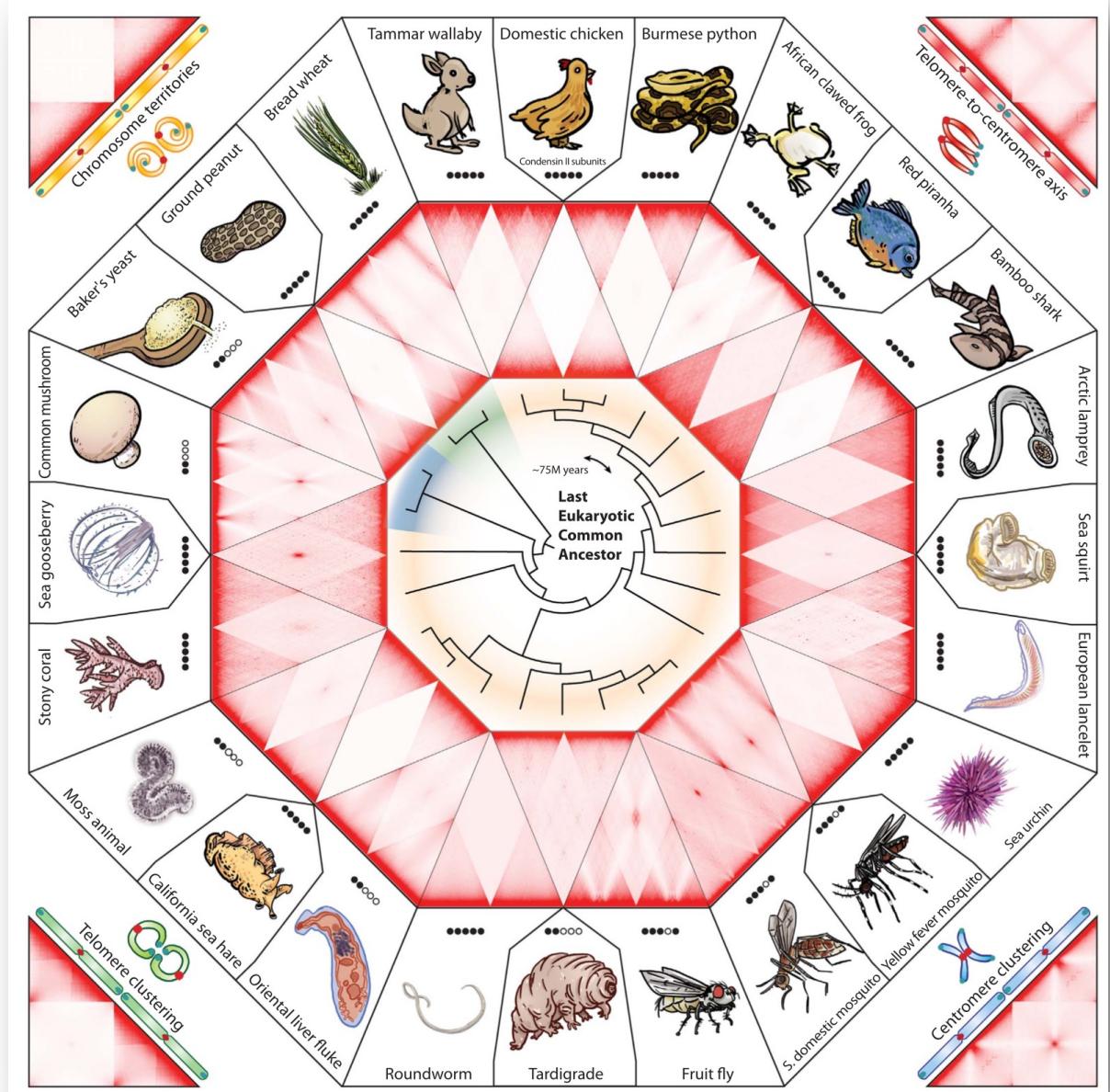
"Defining functionally relevant spatial chromatin domains: it is a TAD complicated."

Journal of molecular biology 432.3 (2020): 653-664.

メガスケール染色体構造の2つのパターン、「Rabl型」と「テリトリー型」

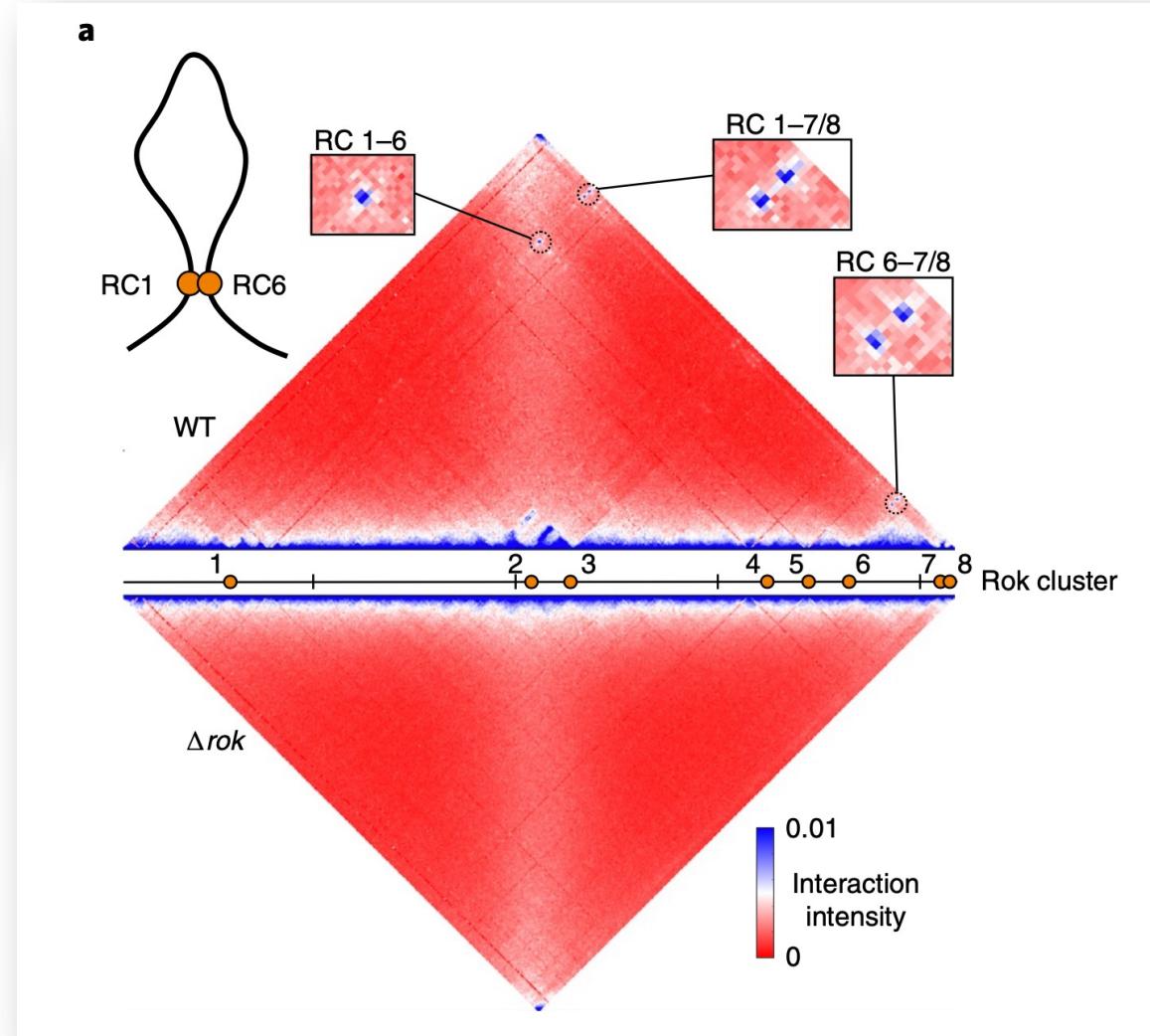
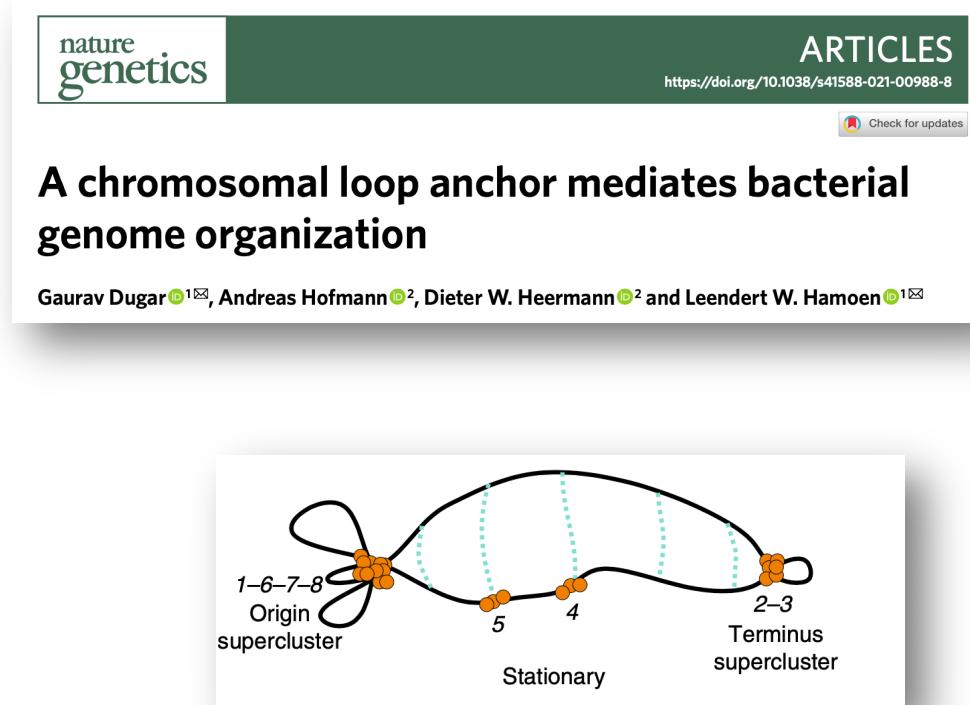


Hoencamp, Claire, et al.
 "3D genomics across the tree of life reveals condensin II
 as a determinant of architecture type."
 Science 372.6545 (2021): 984-989.



バクテリアの染色体も例外ではない

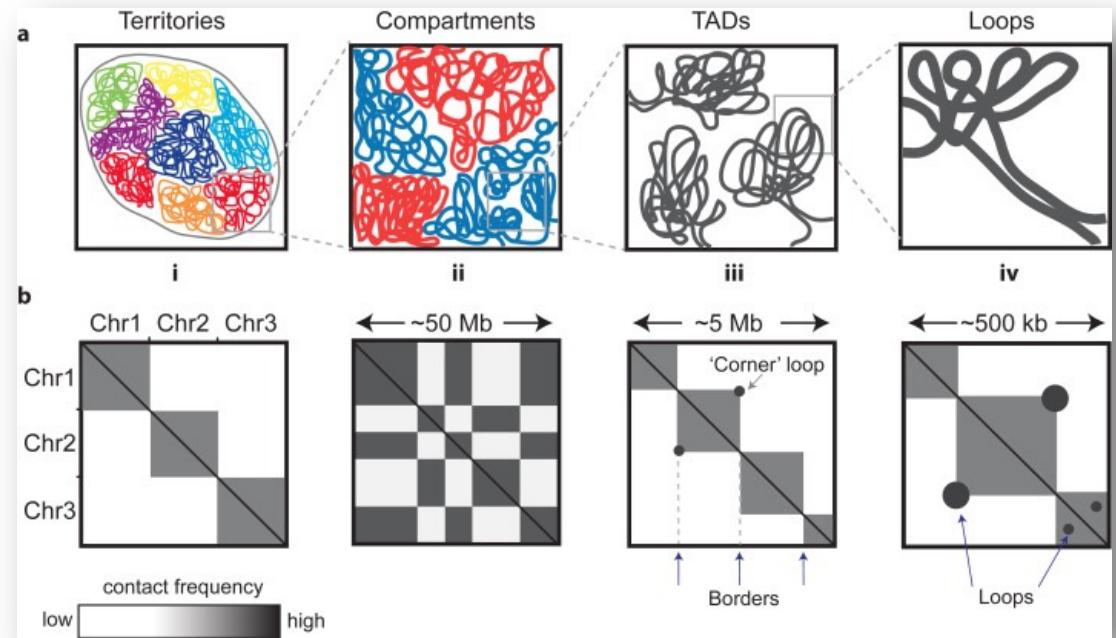
Dugar, Gaurav, et al. "A chromosomal loop anchor mediates bacterial genome organization." *Nature Genetics* (2022): 1-8.



コンタクトマップでとくに議論される染色体構造の 2つの「パターン」

1. Topologically associating domains (TADs)

2. Compartment domain



Sikorska, Natalia, and Tom Sexton.

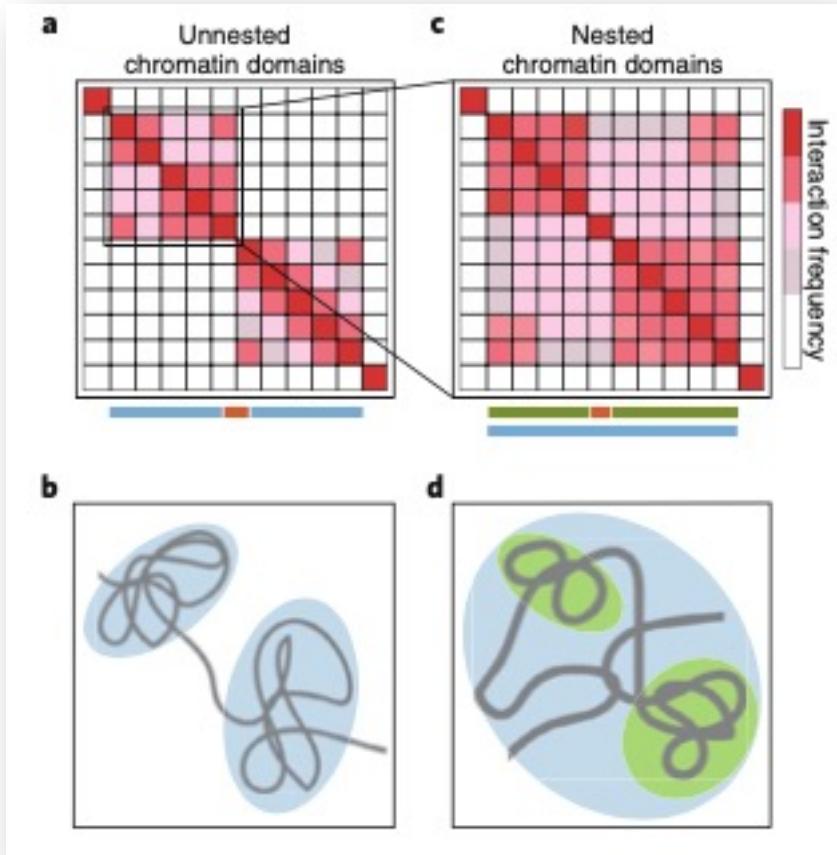
"Defining functionally relevant spatial chromatin domains: it is a TAD complicated."
Journal of molecular biology 432.3 (2020): 653-664.

ただし「分子レベルでもなく、顕微鏡観察レベルでもない、中間スケールにおける染色体の3次元構造」の研究分野はまだ若く、用語の定義と使用には多くの混乱が見られる。

TADも、“Topological domain”や“Loop domain”と呼ばれたり、あるいはそれらは別物として扱われたり、

TADとコンパートメントを合わせて“Contact domain”と呼ばれたり、さまざま。

Topologically Associating Domains (TADs)

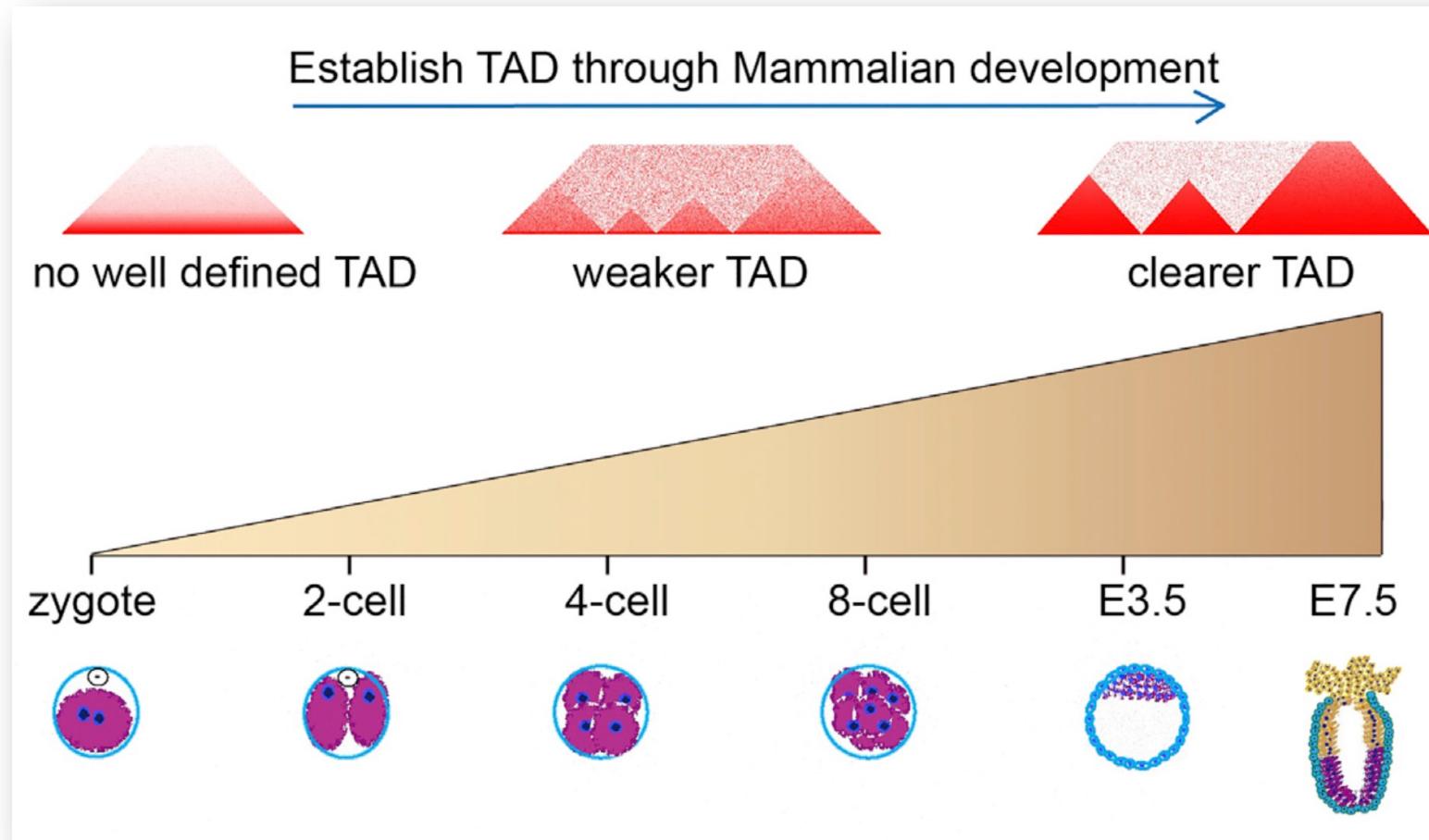


近接したDNAを「区画化」して「隔離」するためのまとめ。
それぞれのTADはだいたいメガベースのスケールで構成されている。
隣り合うTADが互いに相互作用しない場合もあれば、
段階的に（階層的に）TADとしてまとまっている場合もある。

エンハンサーの影響力をひとつのTADの内部に隔離するインシュレータとしての機能を持つ？

Beagan, Jonathan A., and Jennifer E. Phillips-Cremins. "On the existence and functionality of topologically associating domains." *Nature Genetics* (2020): 1-9.

Topologically Associating Domains (TADs)



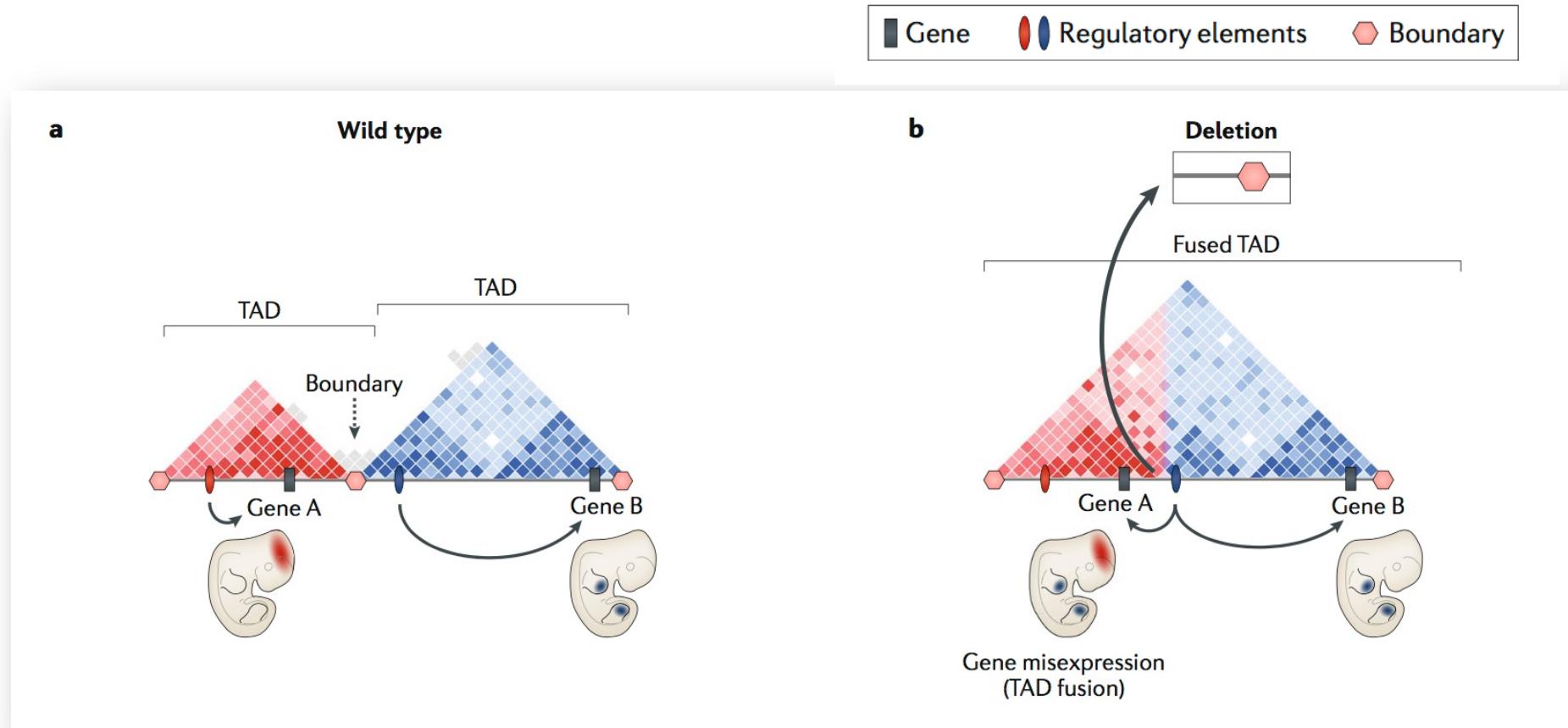
Ke, Yuwen, et al.

"3D chromatin structures of mature gametes and structural reprogramming during mammalian embryogenesis."

Cell 170.2 (2017): 367-381.

Topologically Associating Domains (TADs)

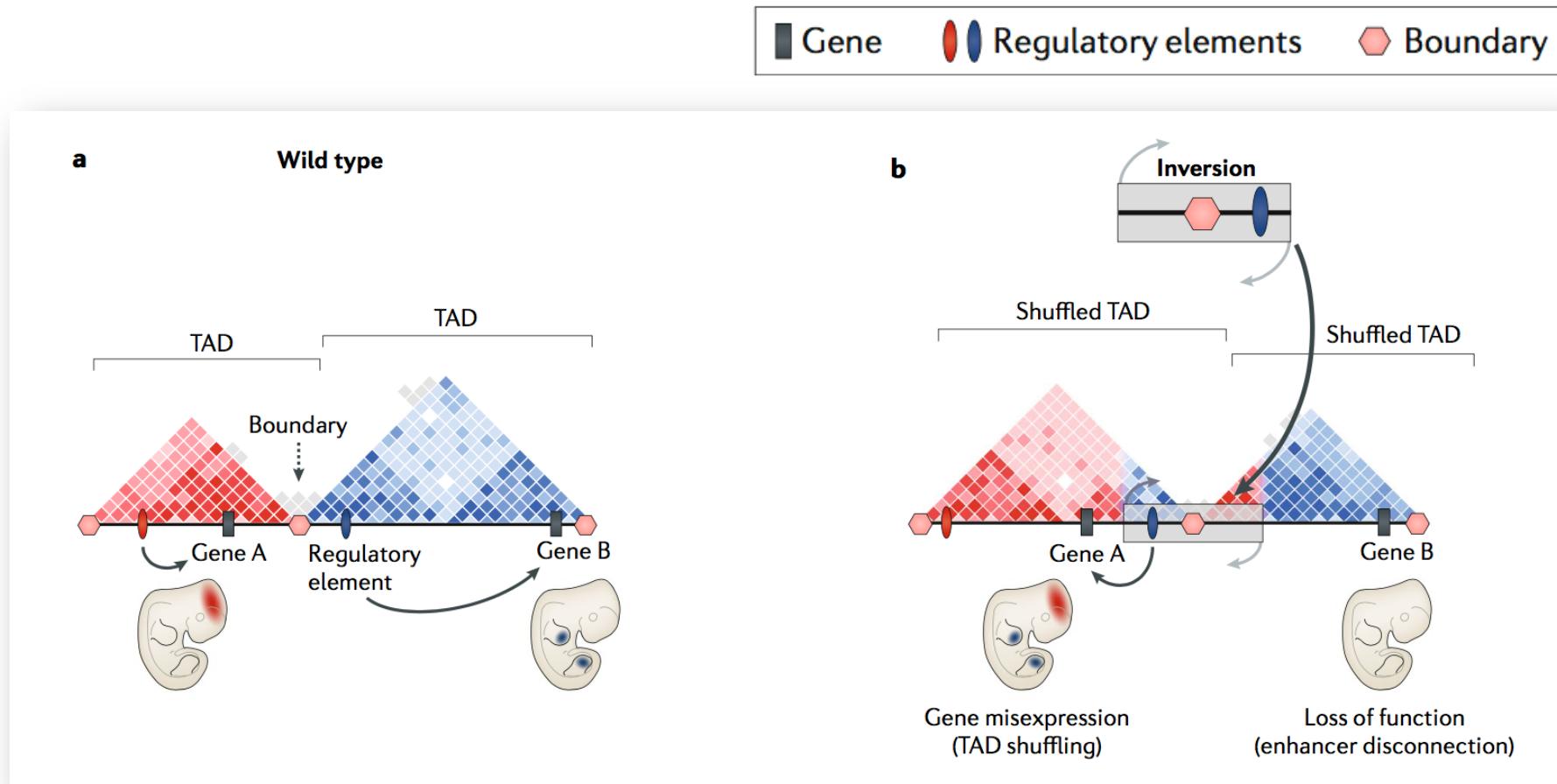
エンハンサーの影響力をひとつのTADの内部に隔離するインシュレータとしての機能を持つ？



Spielmann, Malte, et al. "Structural variation in the 3D genome." *Nature Reviews Genetics* (2018)

Topologically Associating Domains (TADs)

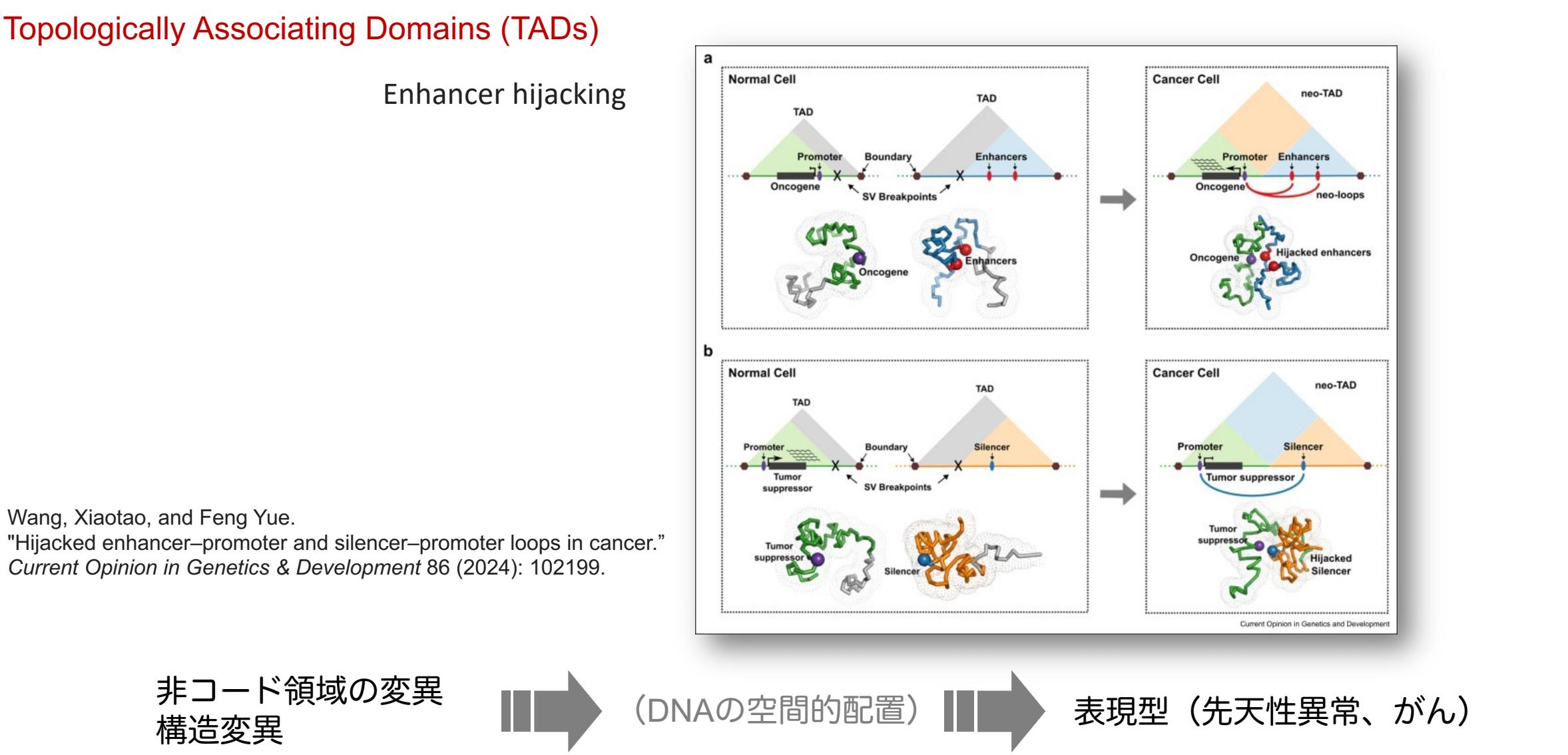
エンハンサーの影響力をひとつのTADの内部に隔離するインシュレータとしての機能を持つ？



Spielmann, Malte, et al. "Structural variation in the 3D genome." *Nature Reviews Genetics* (2018)

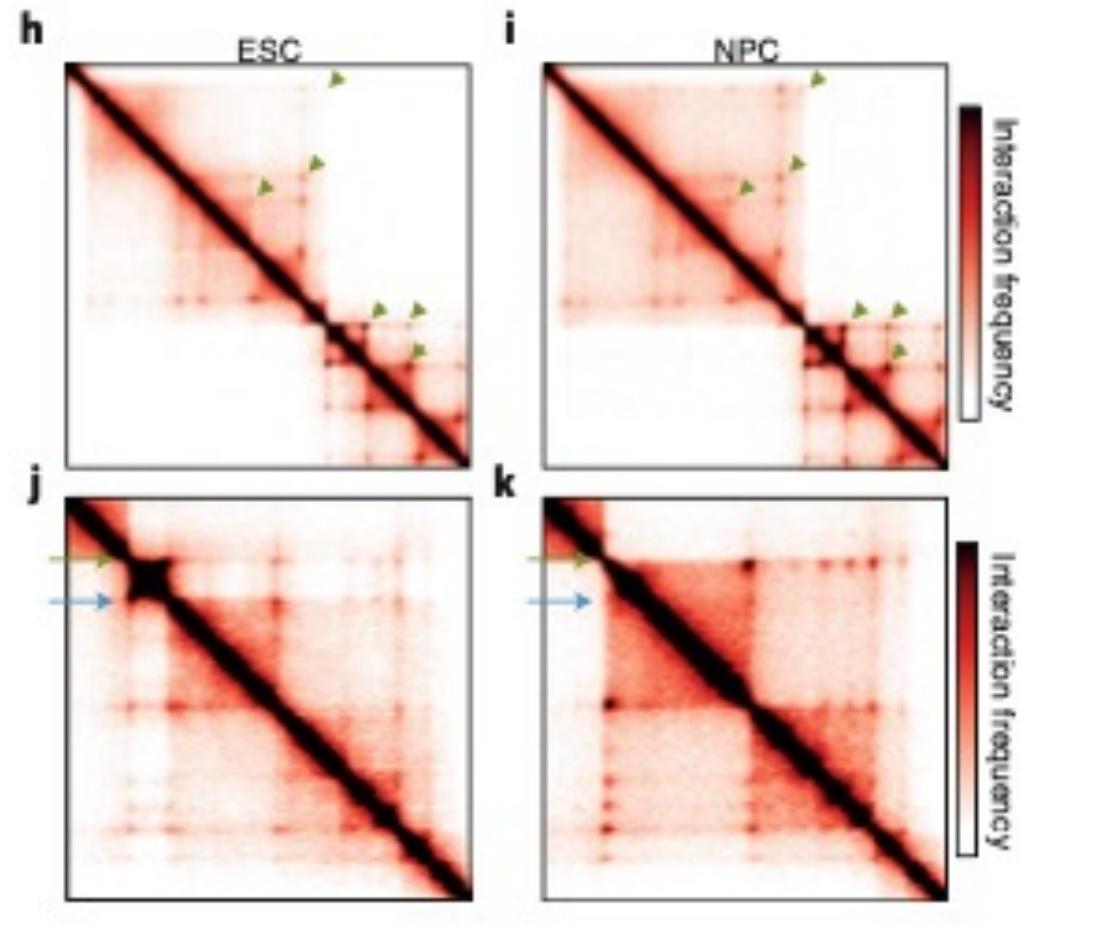
Topologically Associating Domains (TADs)

Enhancer hijacking



とはいえる、ここまでではっきりわかりやすい「つながり」が見えるのは一部

TADが形成されるメカニズム



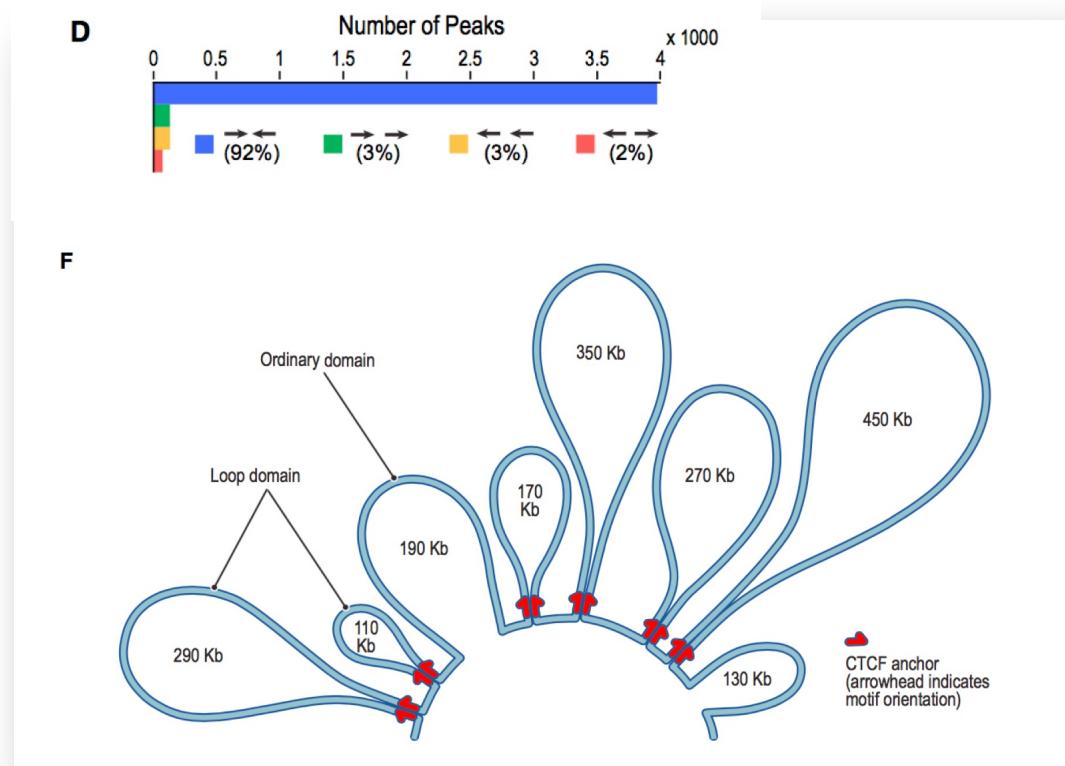
TADの大きな特徴：

コンタクトマップにおける正方形の「カド」のところに、
強い「ドット」が現れる

つまり、TADとしてまとまっている区画の両端のDNA領域
がきわめて強く相互作用している=近接している

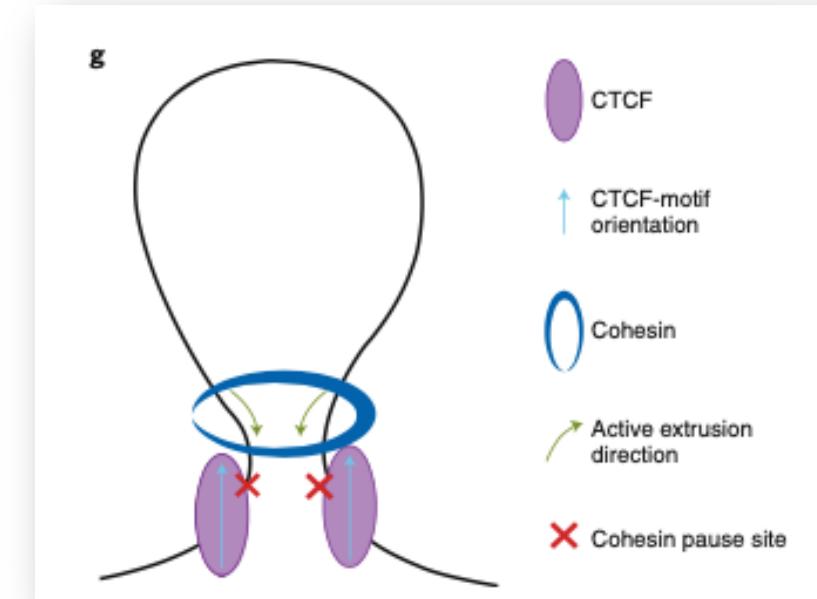
Beagan, Jonathan A., and Jennifer E. Phillips-Cremins.
"On the existence and functionality of topologically associating domains."
Nature Genetics (2020): 1-9.

TADが形成されるメカニズム



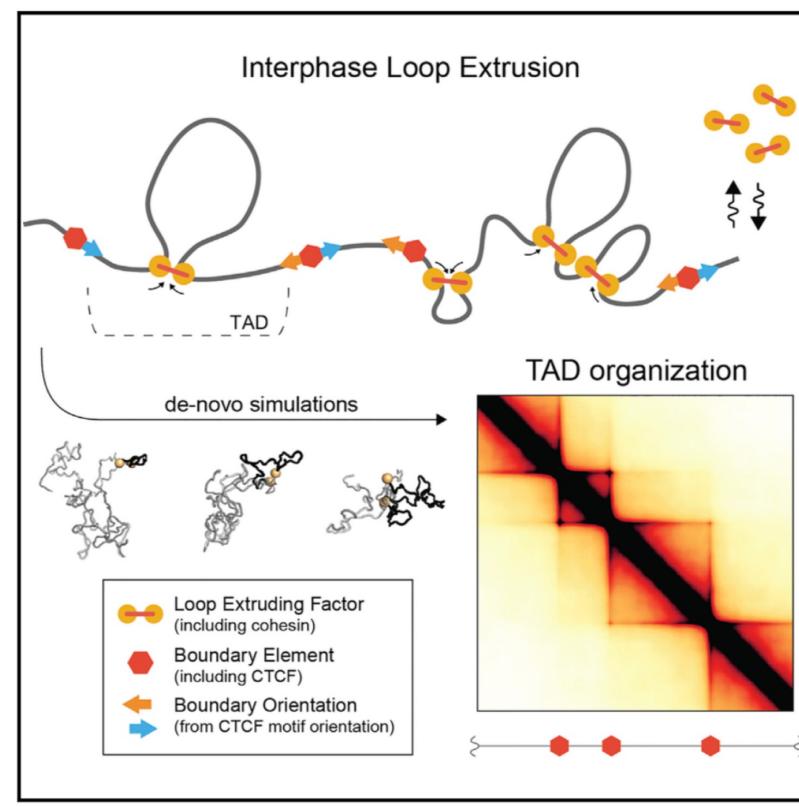
Rao, Suhas SP, et al.

"A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping"
Cell 159.7 (2014): 1665-1680.



Beagan, Jonathan A., and Jennifer E. Phillips-Cremins. "On the existence and functionality of topologically associating domains." *Nature Genetics* (2020): 1-9.

TADが形成されるメカニズム



Fudenberg, Geoffrey, et al. "Formation of chromosomal domains by loop extrusion." *Cell reports* 15.9 (2016): 2038-2049.

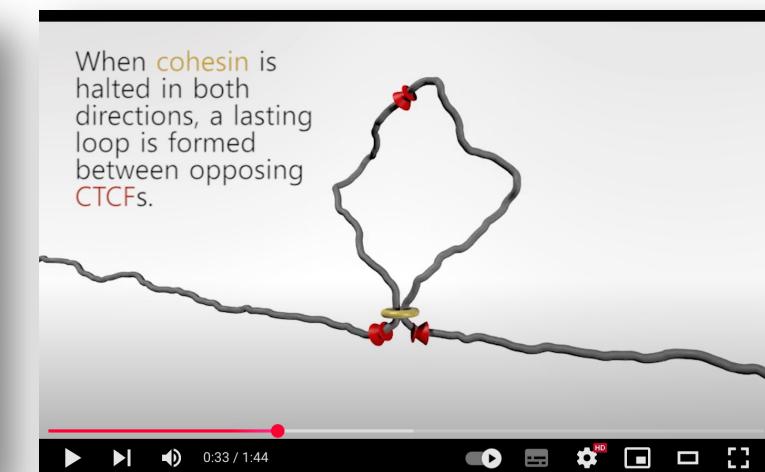
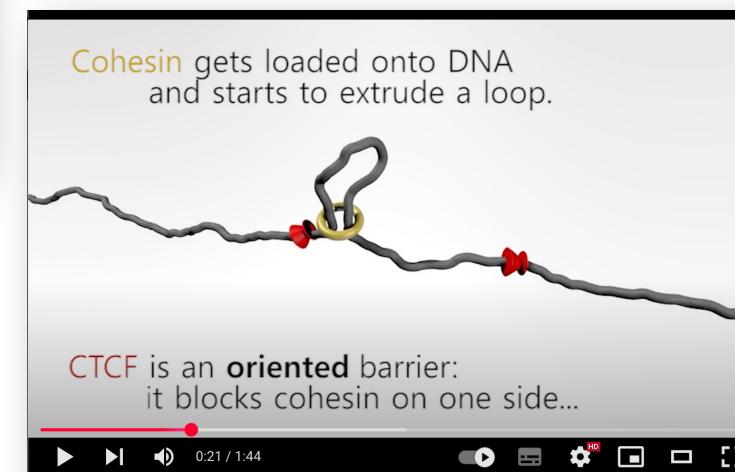
コヒーチンはDNAをまとめるためのただの受動的なリングではなく、分子モーター活性を持ち、積極的にループをまとめあげる、という仮説。
(**Loop extrusion model**)

のちの研究で、実際にATP依存的にコヒーチンがDNA上を移動することが実証された。

(Davidson, Iain F., et al. "DNA loop extrusion by human cohesin." *Science* 366.6471 (2019): 1338-1345.)

わかりやすい映像：

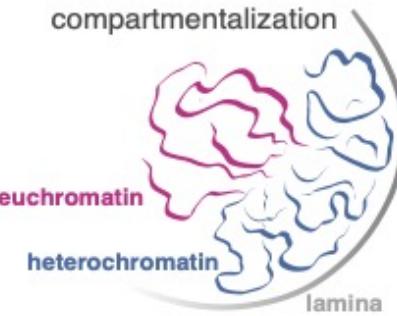
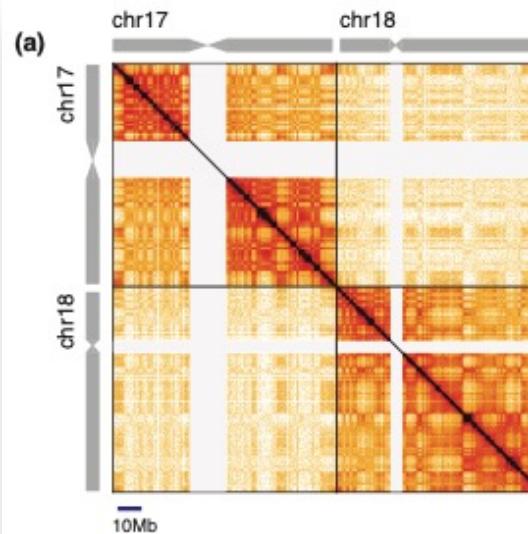
<https://www.youtube.com/watch?v=8FW6gOx5IPI>



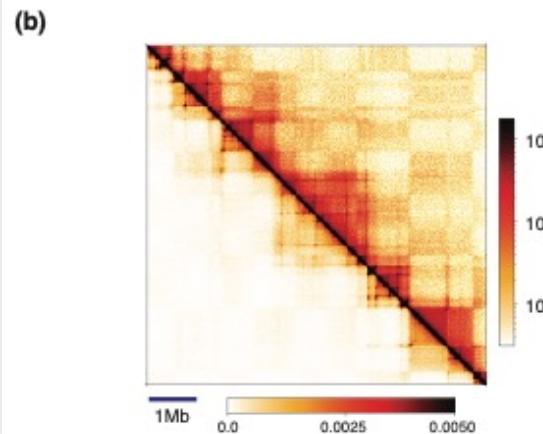
しかし、このシンプルなメカニズムすべてが説明できるわけではなく、「ループ押し出し」が本当に *in vivo* で生じているのかどうかも議論がある。

コンタクトマップでとくに議論される染色体構造の 2つの「パターン」

Compartment



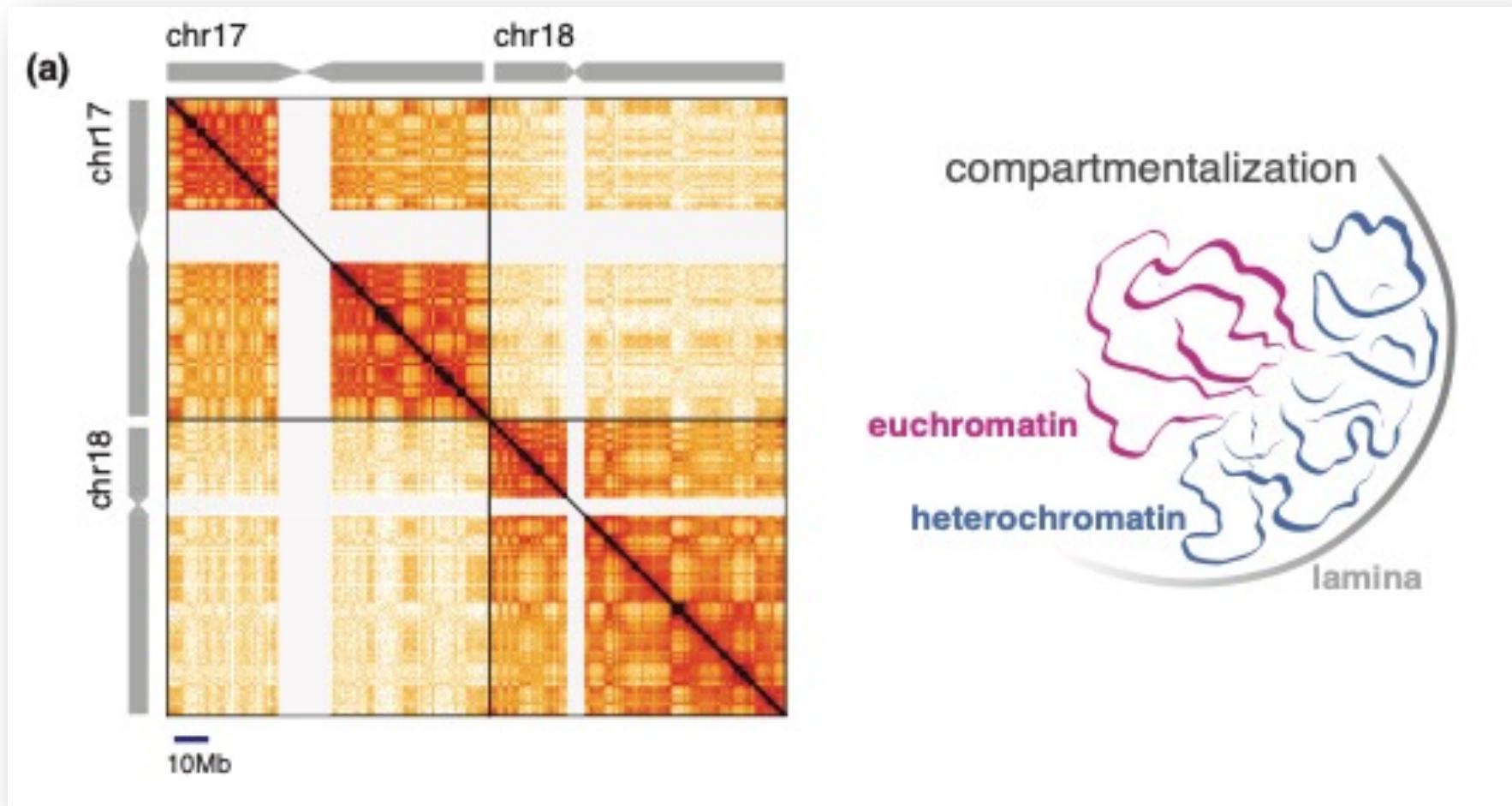
TAD



Mirny, Leonid A., Maxim Imakaev, and Nezar Abdennur. "Two major mechanisms of chromosome organization." *Current opinion in cell biology* 58 (2019): 142-152.

Compartment domains

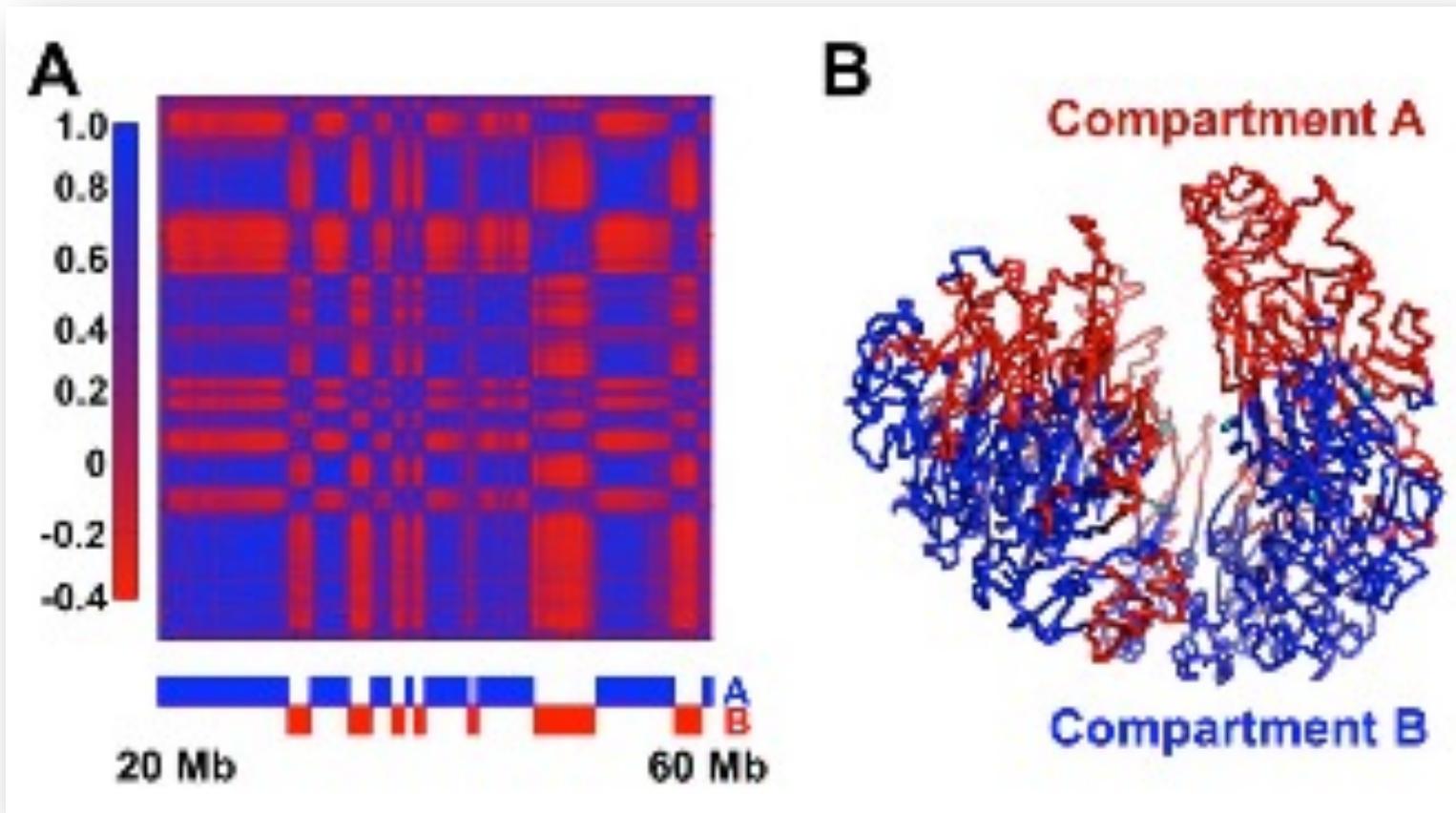
Mirny, Leonid A., Maxim Imakaev, and Nezar Abdennur. "Two major mechanisms of chromosome organization." *Current opinion in cell biology* 58 (2019): 142-152.



Hi-Cコンタクトマップに現れるもうひとつの重要なパターン、「格子模様」

これは単純に考えると不自然。なぜ対角線上の三角形だけでなく格子がマップ全体に出現するのか。

Compartment domains

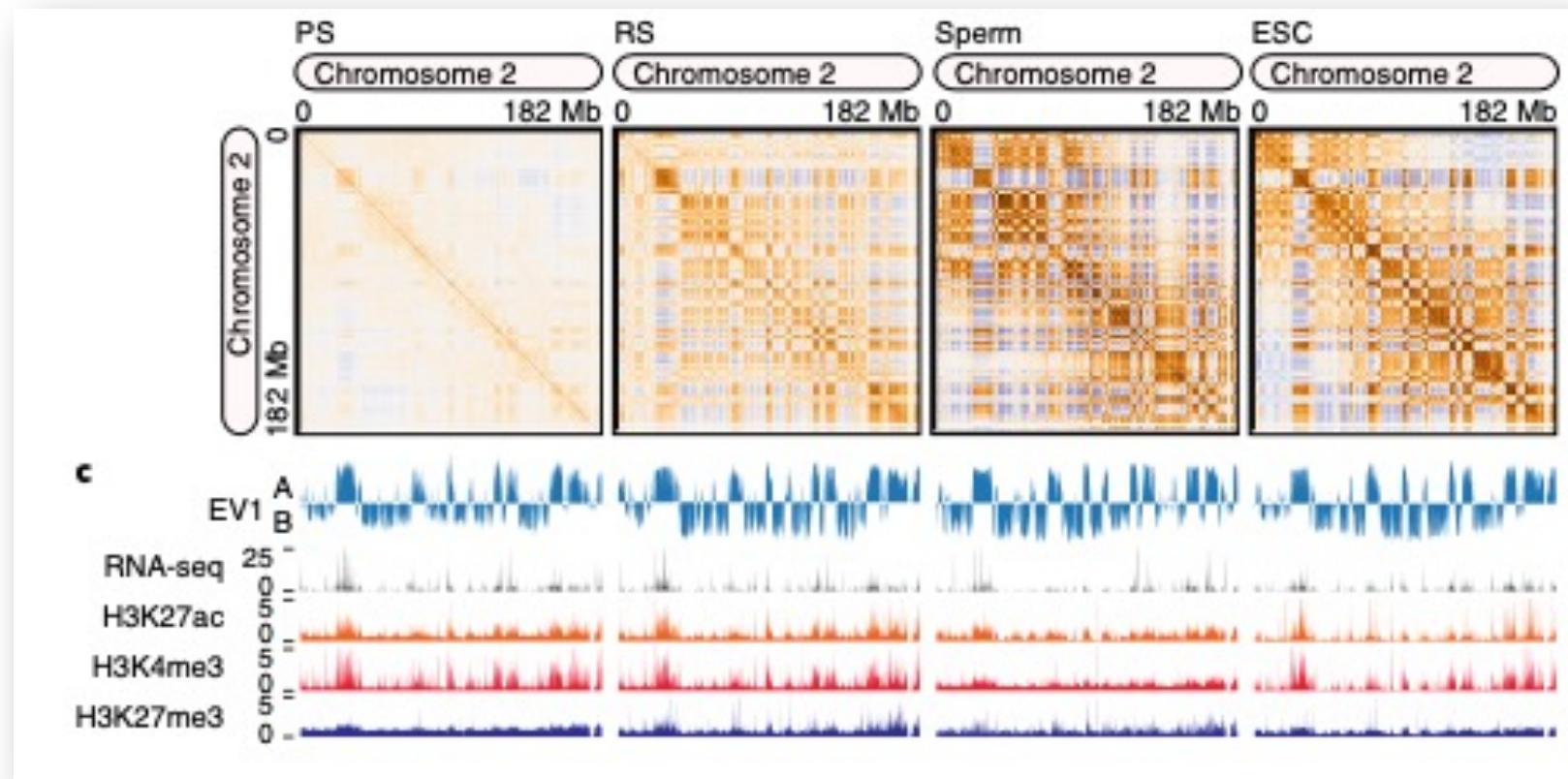


Xie, Wen Jun, et al. "Structural modeling of chromatin integrates genome features and reveals chromosome folding principle." *Scientific reports* 7.1 (2017): 1-11.

ゲノム全体にわたって、AはAのドメインと、BはBのドメインと近接し、
全体が空間的に2つの区画にわかれている。= Compartment

TADとは異なるメカニズムで形成されると考えられている

Compartment domains

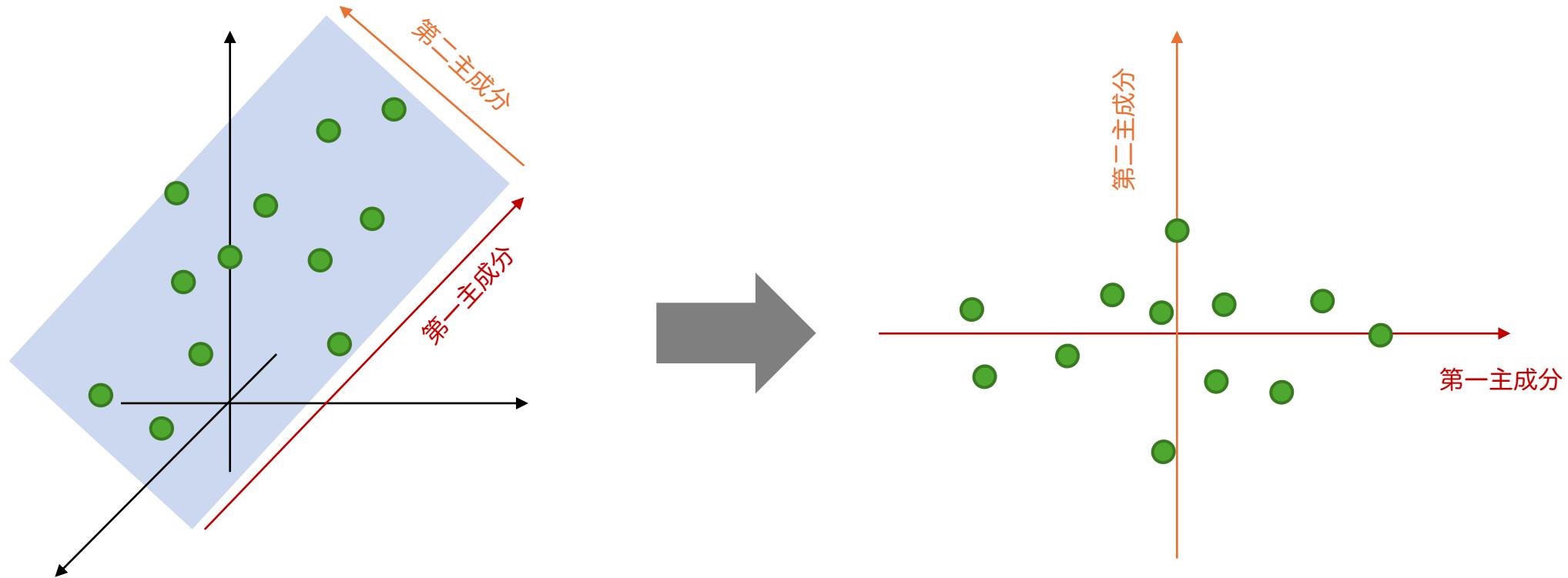


Alavattam, Kris G., et al. "Attenuated chromatin compartmentalization in meiosis and its maturation in sperm development." *Nature structural & molecular biology* 26.3 (2019): 175-184.

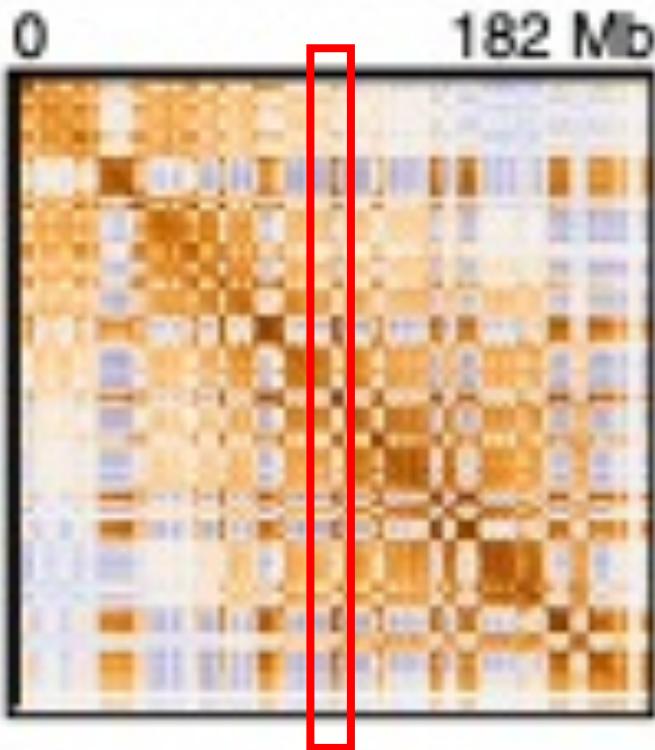
ゲノム全体が、
転写が活発でアクティブなヒストンマークがあるAコンパートメントと、
転写不活発で抑制的ヒストンマークがあるBコンパートメントに分離している

Compartment domainsの検出方法

コンタクトマップ（の距離補正をした行列、をさらにピアソン相関行列に変換したもの）について主成分分析を適用した次元削減結果を使って検出する。



Compartment domainsの検出方法



+

↑
第一主成分

↓

-

コンタクトマップの各列それが、
高次元空間上に浮かぶ「点」だと考える。

それらを主成分分析の手法により、一次元（数直線）に圧縮する。

高次元空間上で点の分布が2つのクラスタに分離していたとすると、
高次元空間上の座標（列の値のパターン）が似た点の一群は正の数値
に圧縮され、もう一群は負の数値に圧縮される。

正負どちらかがA compartmentとなる。
(GC含量や転写活性などとの相関を計算して決定する)

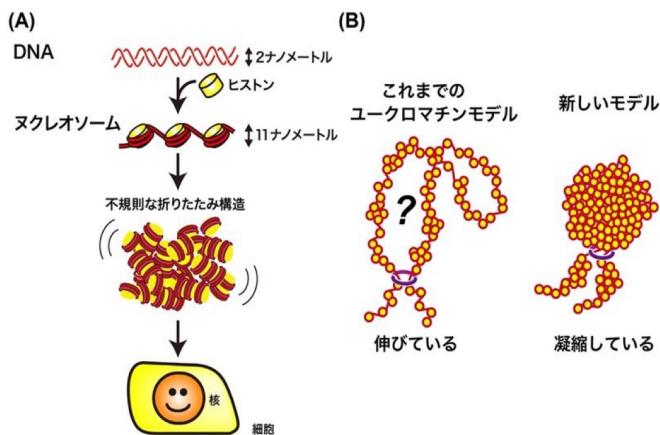
そもそも物理的実体はなんなのか、いまだ多くの謎がある

SCIENCE ADVANCES | RESEARCH ARTICLE

BIOPHYSICS

Condensed but liquid-like domain organization of active chromatin regions in living human cells

Tadasu Nozaki^{1†‡}, Soya Shinkai^{2†}, Satoru Ide^{1,3†}, Koichi Higashi^{3,4†}, Sachiko Tamura¹, Masa A. Shimazoe^{1,3}, Masaki Nakagawa⁵, Yutaka Suzuki⁶, Yasushi Okada⁷, Masaki Sasai^{8,9}, Shuichi Onami², Ken Kurokawa^{3,4}, Shiori Iida^{1,3}, Kazuhiro Maeshima^{1,3*}



Nozaki, T., Shinkai, S., Ide, S., Higashi, K., Tamura, S., Shimazoe, M. A., ... & Maeshima, K. (2023). Condensed but liquid-like domain organization of active chromatin regions in living human cells. *Science Advances*, 9(14), eadf1488.

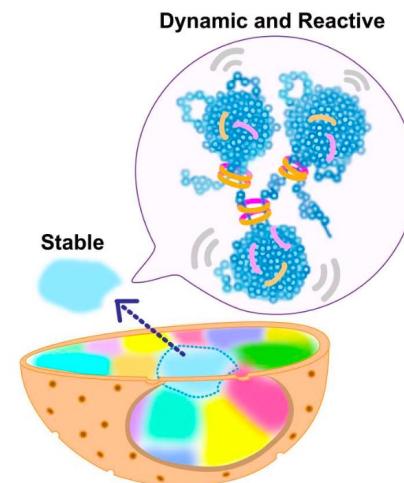


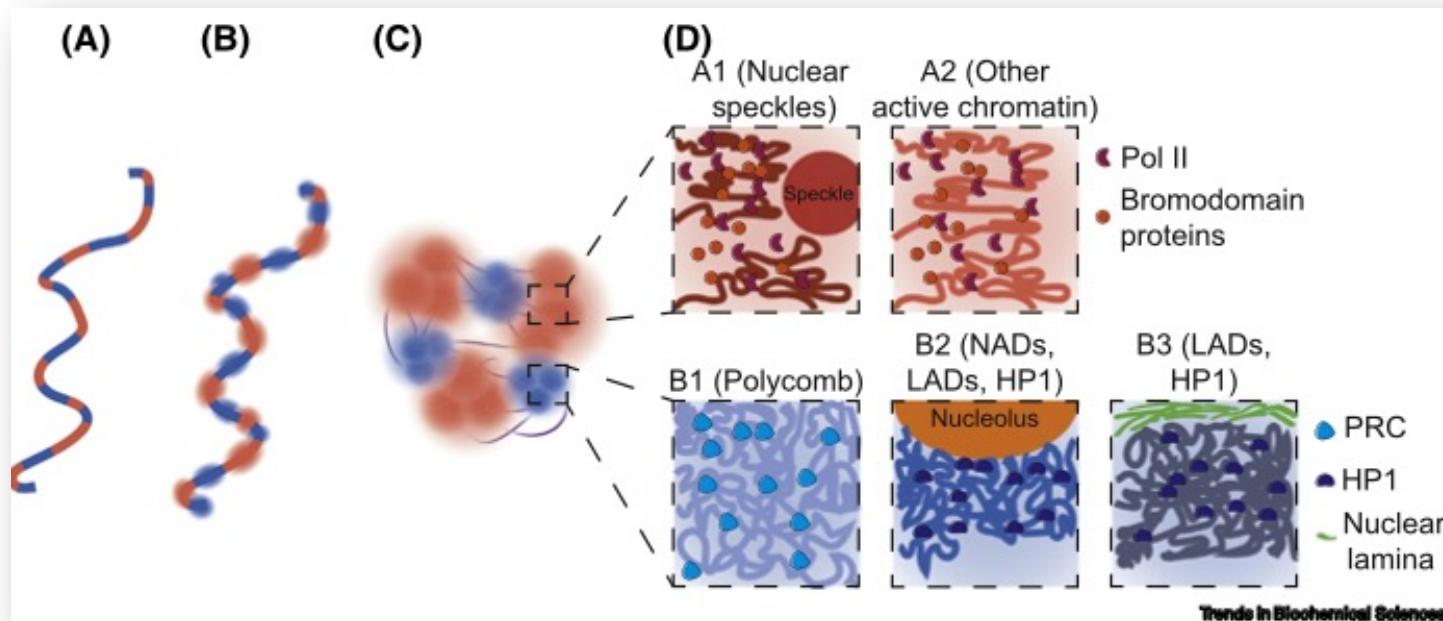
Fig. 8. Model of euchromatin organization in living cells. Nucleosomes in active chromatin regions form condensed domains with local nucleosome contacts and cohesin (rings), where nucleosomes fluctuate. A single interphase chromosome is stably occupied in a chromosome territory (highlighted as different colors).

Compartment domainsが形成されるメカニズム

よくわかっていない。

少なくとも、Compartmentの分離が転写活性化・抑制のパターンと綺麗に一致することは確実。機能が構造を規定するのか？構造が機能を規定するのか？

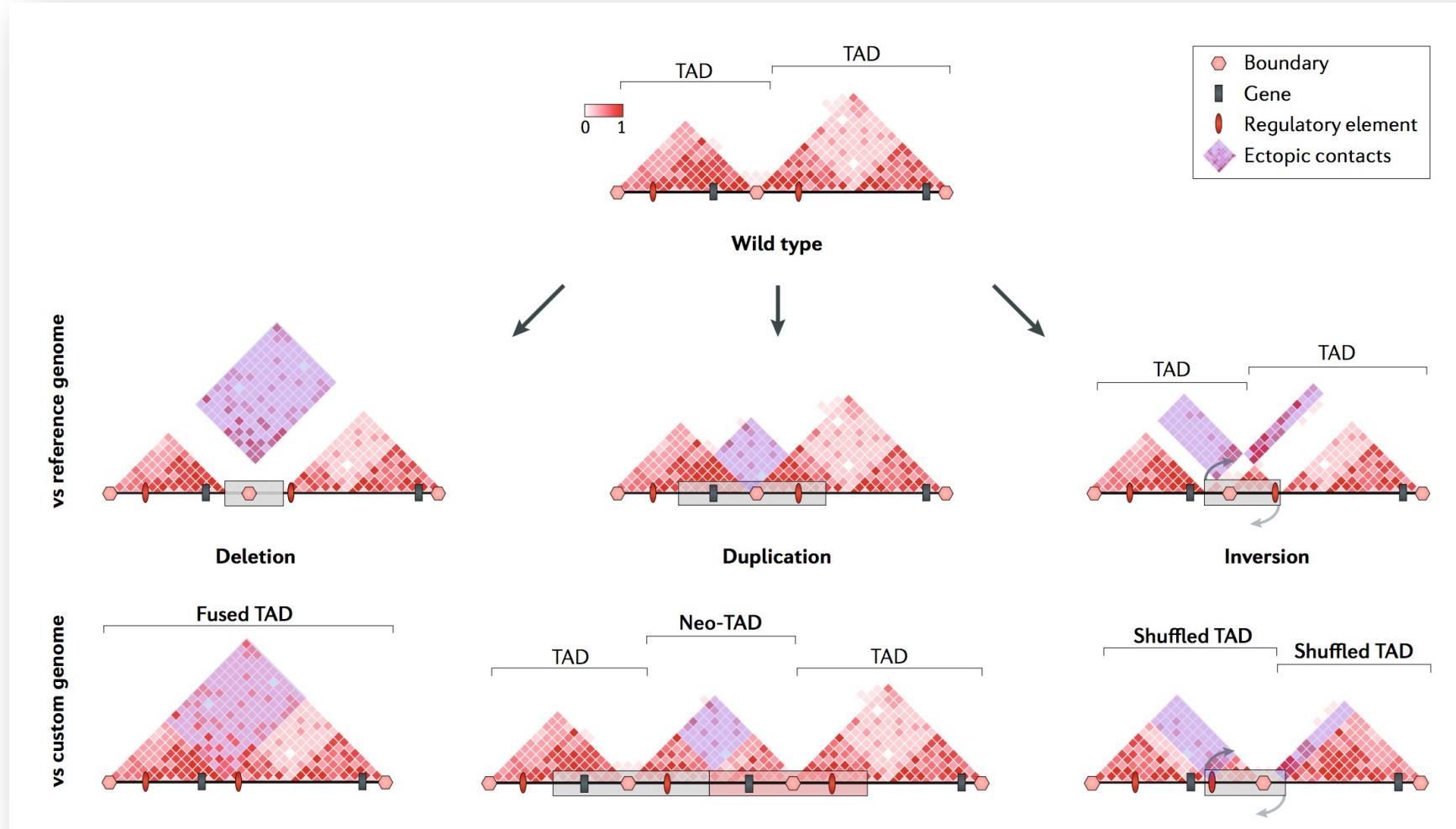
それぞれのCompartmentに結合しているクロマチン関連因子や転写因子の性質による「液-液相分離」（LLPS）が根本的な原因なのではないか、という仮説が提案されている。



Hildebrand, Erica M., and Job Dekker. "Mechanisms and functions of chromosome compartmentalization." *Trends in Biochemical Sciences* (2020).

Hi-Cデータの応用

1. 構造変異 (Structural variation) の検出



Spielmann, Malte, et al. "Structural variation in the 3D genome." *Nature Reviews Genetics* (2018)

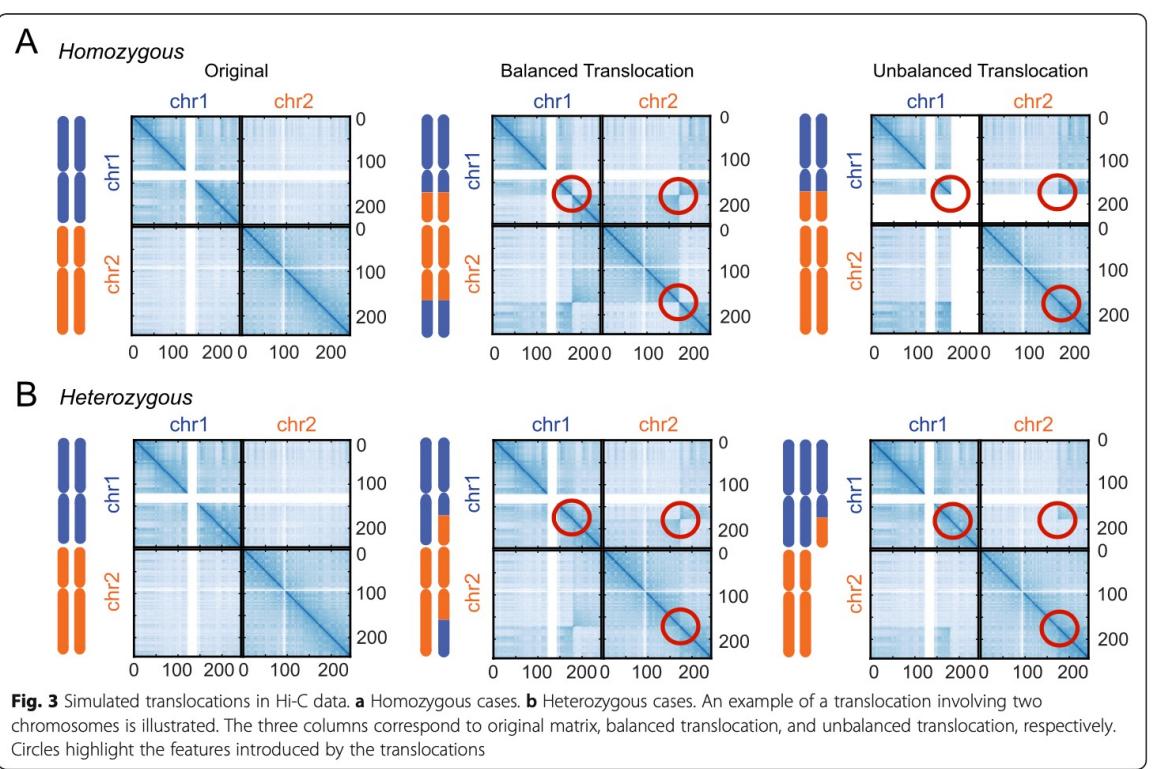
Hi-Cデータの応用

1. 構造変異 (Structural variation) の検出

HiNT

染色体転座のブレークポイント検出。

<https://github.com/parklab/HiNT>



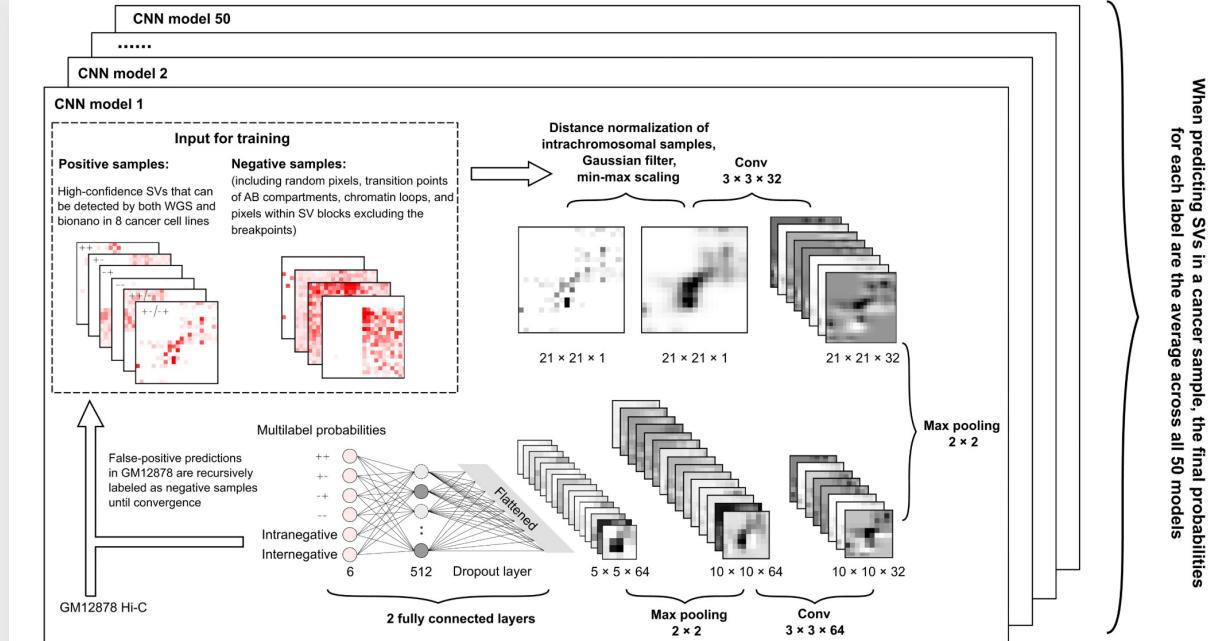
Wang, Su, et al. "HiNT: a computational method for detecting copy number variations and translocations from Hi-C data." *Genome biology* 21 (2020): 1-15.

EagleC

ディープラーニングベースの手法。画像分類タスクとしてトレーニング。

<https://github.com/XiaoTaoWang/EagleC>

Each model is randomly initialized with different set of training samples



Wang, Xiaotao, Yu Luan, and Feng Yue. "EagleC: A deep-learning framework for detecting a full range of structural variations from bulk and single-cell contact maps." *Science Advances* 8.24 (2022): eabn9215.

Hi-Cデータの応用

2. ゲノムアセンブリ、ハプロタイプフェイジング



Nurk, Sergey, et al.
Science 376.6588 (2022): 44-53.

SPECIAL SECTION COMPLETING THE HUMAN GENOME

RESEARCH ARTICLE

HUMAN GENOMICS

The complete sequence of a human genome

Sergey Nurk^{1†}, Sergey Koren^{1†}, Arang Rhee^{1†}, Mikko Rautiainen^{1†}, Andrey V. Bzikadze², Alla Mikheenko³, ...

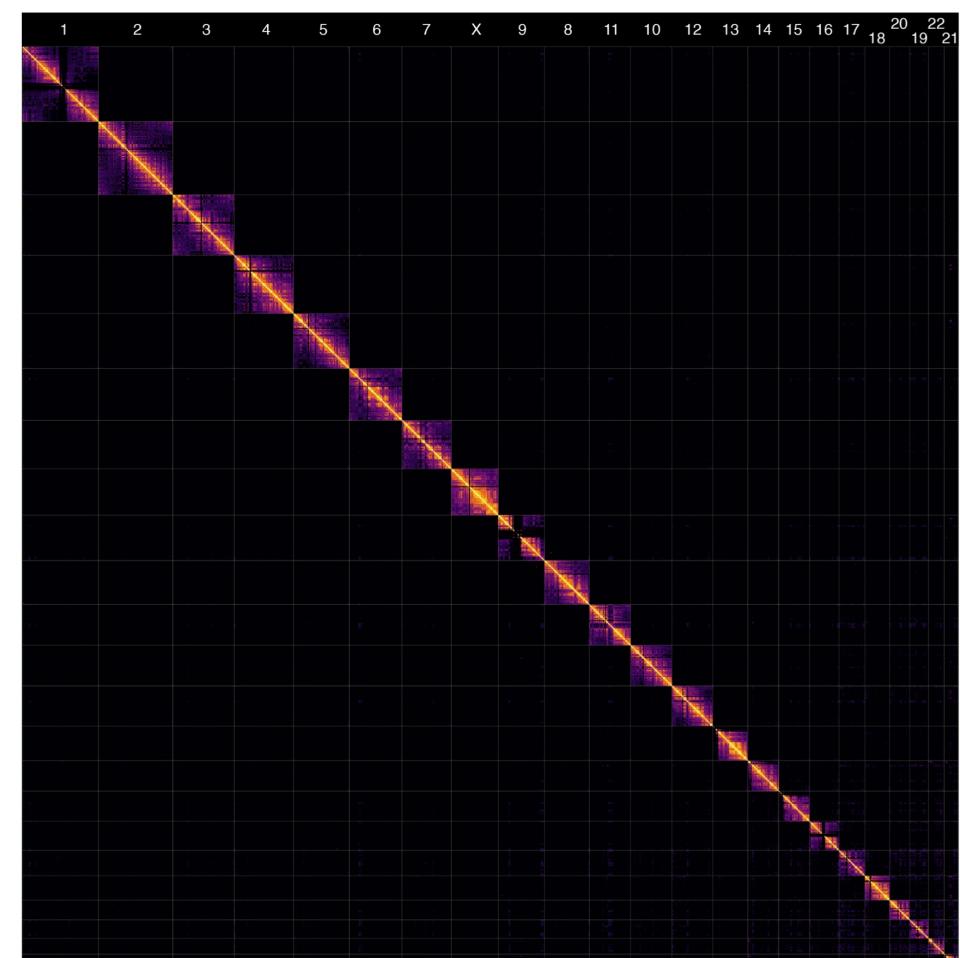
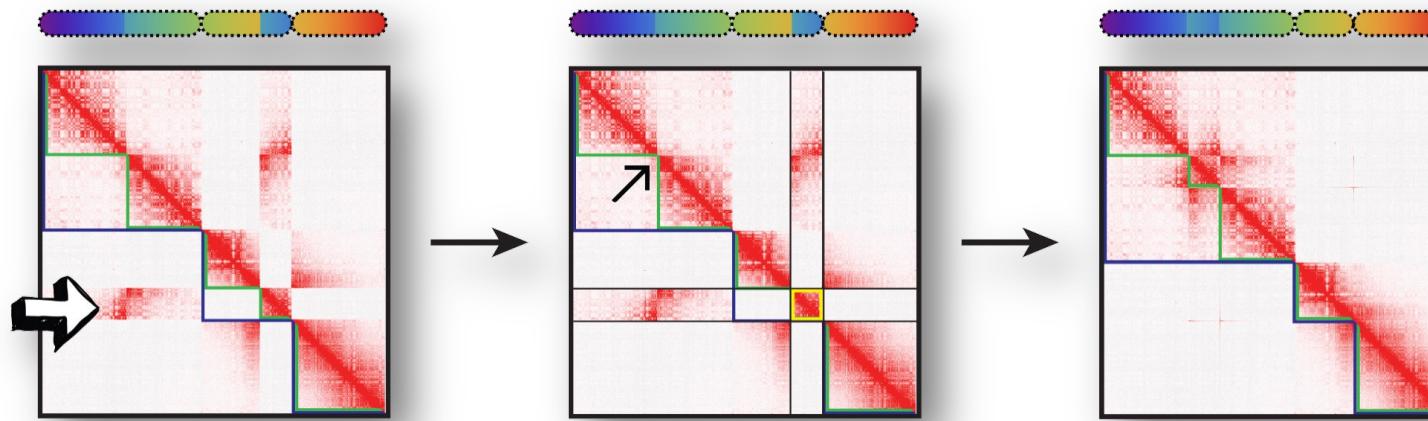


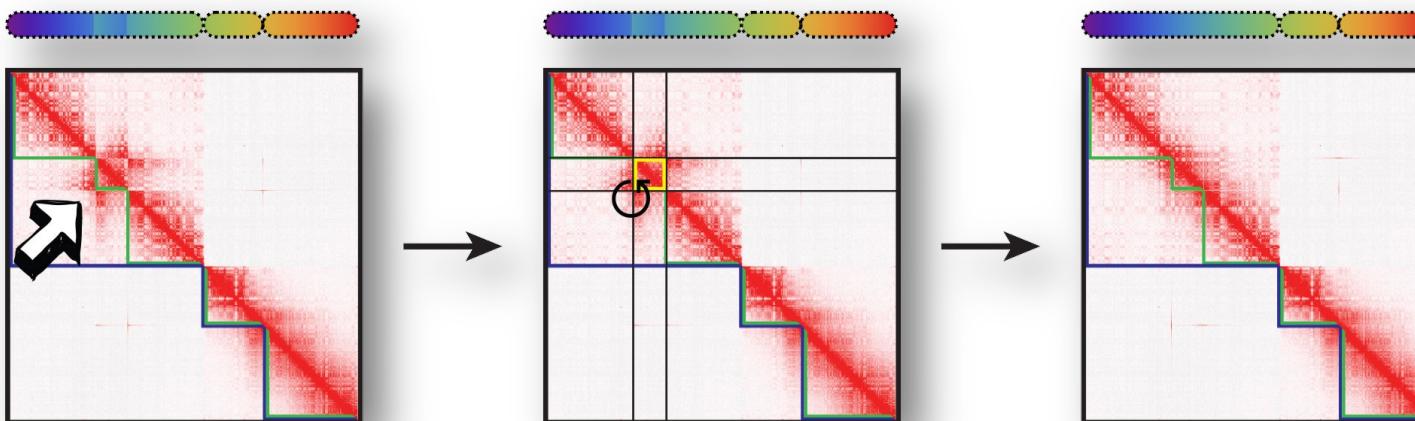
Fig. S15: CHM13 Hi-C interaction matrix visualized with PretextView (<https://github.com/wtsi-hgi/pretextview>)

Hi-Cデータの応用：ゲノムアセンブリ

Translocationの訂正

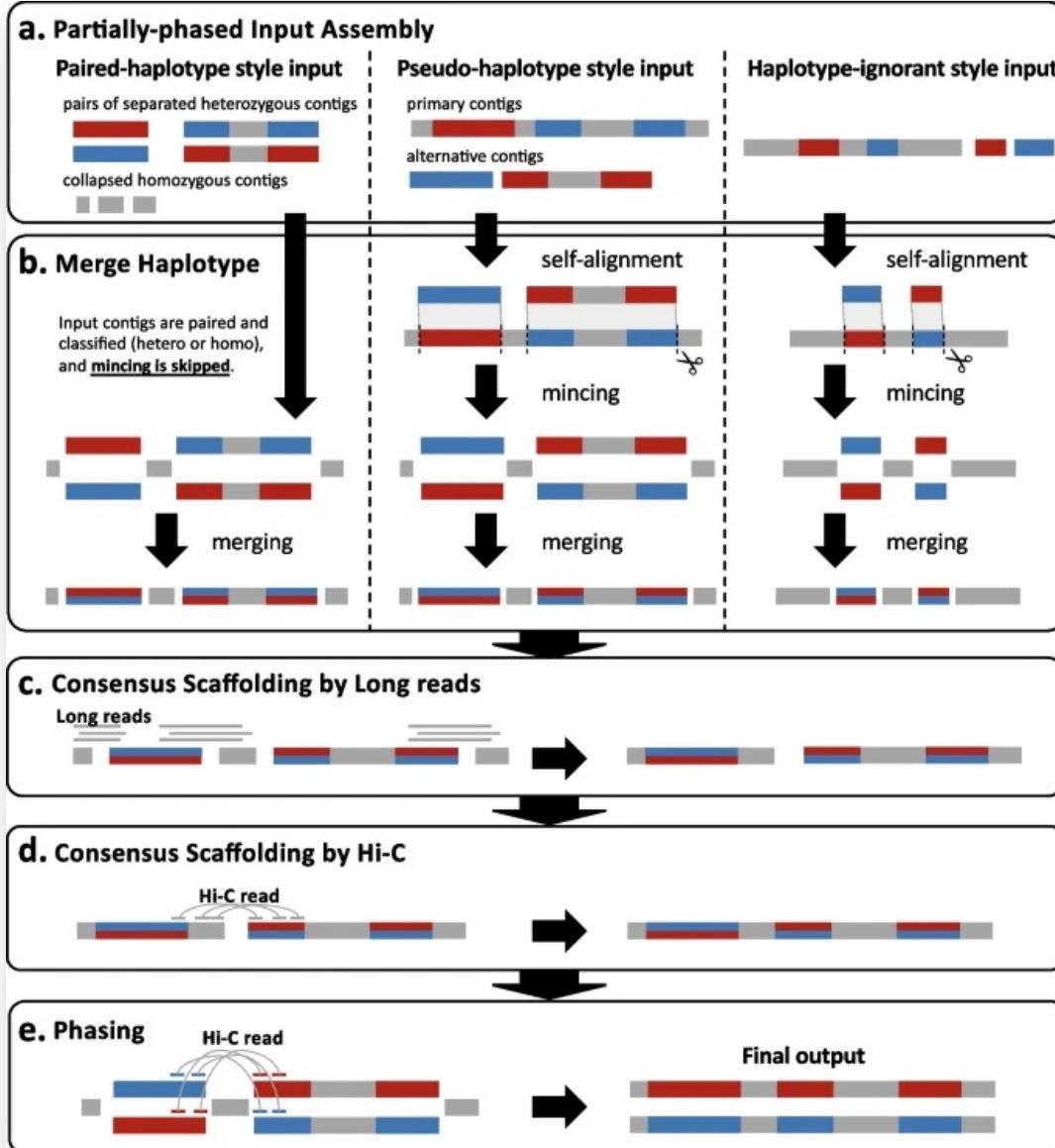


Inversionの訂正



コンタクトマップを確認しながら手作業でつながなくとも、コンテイグとHi-Cデータを入力して自動的につなぐツールもある。
SALSA
<https://github.com/marbl/SALSA>
YaHS
<https://github.com/c-zhou/yahs>

Hi-Cデータを利用したハプロタイプフェイジング



Ouchi et al. *Genome Biology* (2023) 24:162
<https://doi.org/10.1186/s13059-023-03006-8>

Genome Biology

METHOD Open Access

GreenHill: a de novo chromosome-level scaffolding and phasing tool using Hi-C

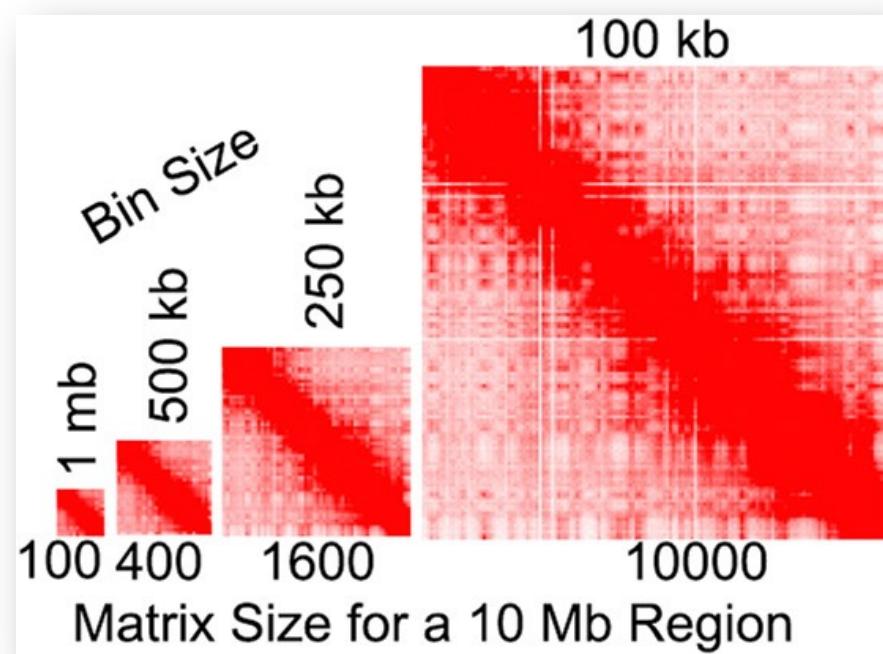
Shun Ouchi¹, Rei Kajitani¹ and Takehiko Itoh^{1*}



Ouchi, Shun, Rei Kajitani, and Takehiko Itoh.
"GreenHill: a de novo chromosome-level scaffolding and phasing tool using Hi-C."
Genome Biology 24.1 (2023): 162.

Hi-Cのデメリット①

- 高い解像度のコンタクトマップを得るためにには莫大な量のシーケンスが必要
 - コンタクトマップを構成する要素の数は、ゲノムを分割するBinのサイズ（解像度）に対して二乗で大きくなる。そのため10倍の解像度のコンタクトマップを得るためにには100倍のシーケンスが必要になる。



Kalluchi, Achyuth, et al.
"Considerations and caveats for analyzing
chromatin compartments."
Frontiers in Molecular Biosciences 10 (2023):
1168562.

Hi-Cのデメリット②

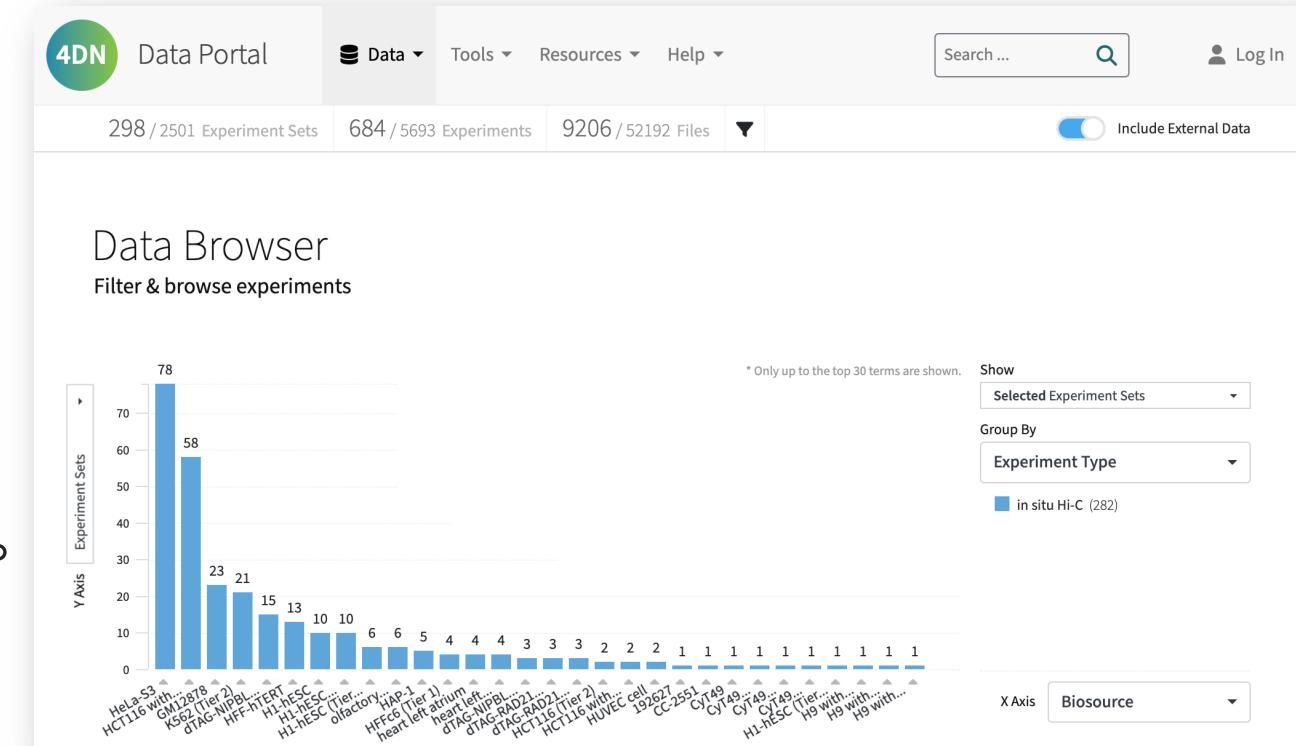
- 集団の平均的構造であること (excl. single cell Hi-C)

- 集団内の構造の多様性は3次元モデリングの際に「推論」するしかない

事前のご質問：
Hi-C解析が可能な組織の種類やサンプル量

実際のところ、バルクHi-C解析を使った研究の
多くはCell lineの解析。

大量の細胞 ($10^6\sim 7$ 個) が必要、
均質な核の調整が困難、
などの理由で組織サンプルはあまり解析されない。



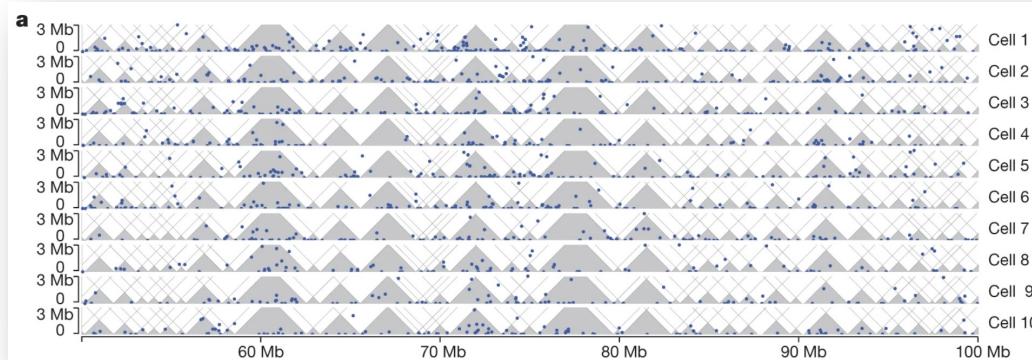
<https://data.4dnucleome.org/browse/>

シングルセルHi-C (scHi-C) の開発と実験プロトコルの改良

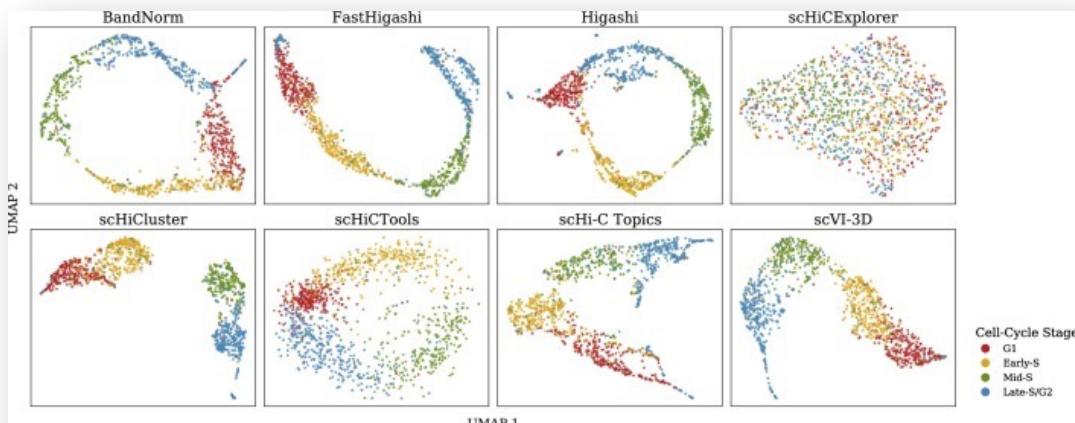
scRNA-seq : 解析対象がせいぜい数万個、それぞれ場合によっては数百コピーはある

scATAC-seq: 解析対象がせいぜい数万個、それぞれ数コピーしかない

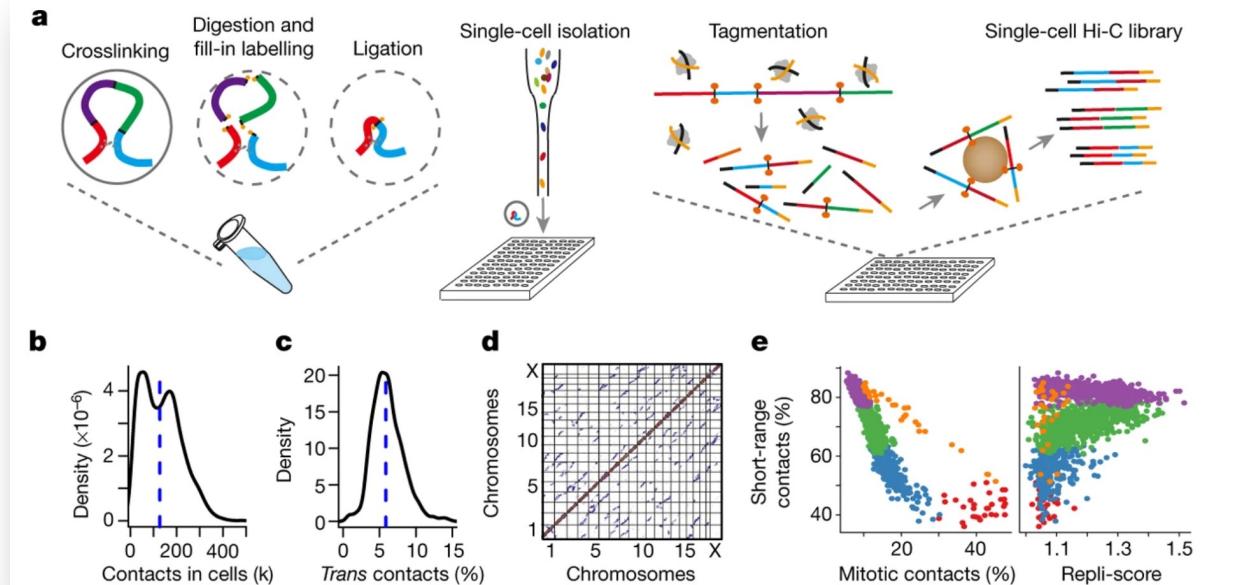
scHi-C: 解析対象は全ゲノム対全ゲノム、それぞれ数コピーしかない



Nagano, Takashi, et al. "Single-cell Hi-C reveals cell-to-cell variability in chromosome structure." *Nature* 502.7469 (2013): 59-64.



Ma, Rui, et al. "A mini-review of single-cell Hi-C embedding methods." *Computational and Structural Biotechnology Journal* (2024).

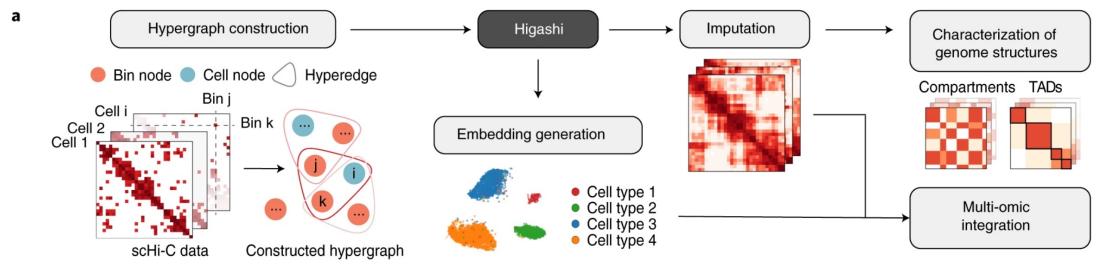


Nagano, Takashi, et al. "Cell-cycle dynamics of chromosomal organization at single-cell resolution." *Nature* 547.7661 (2017): 61-67.

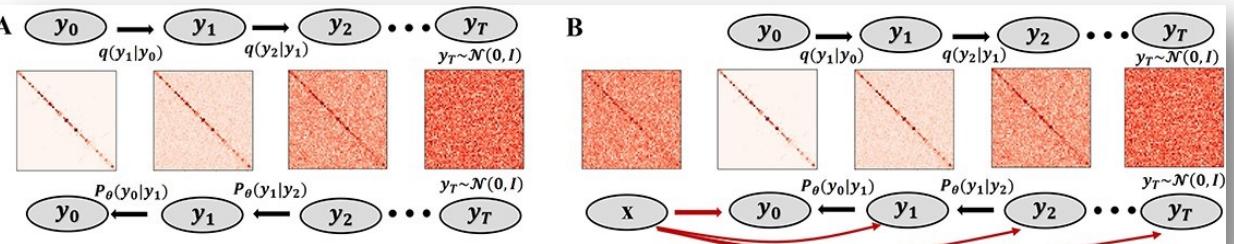
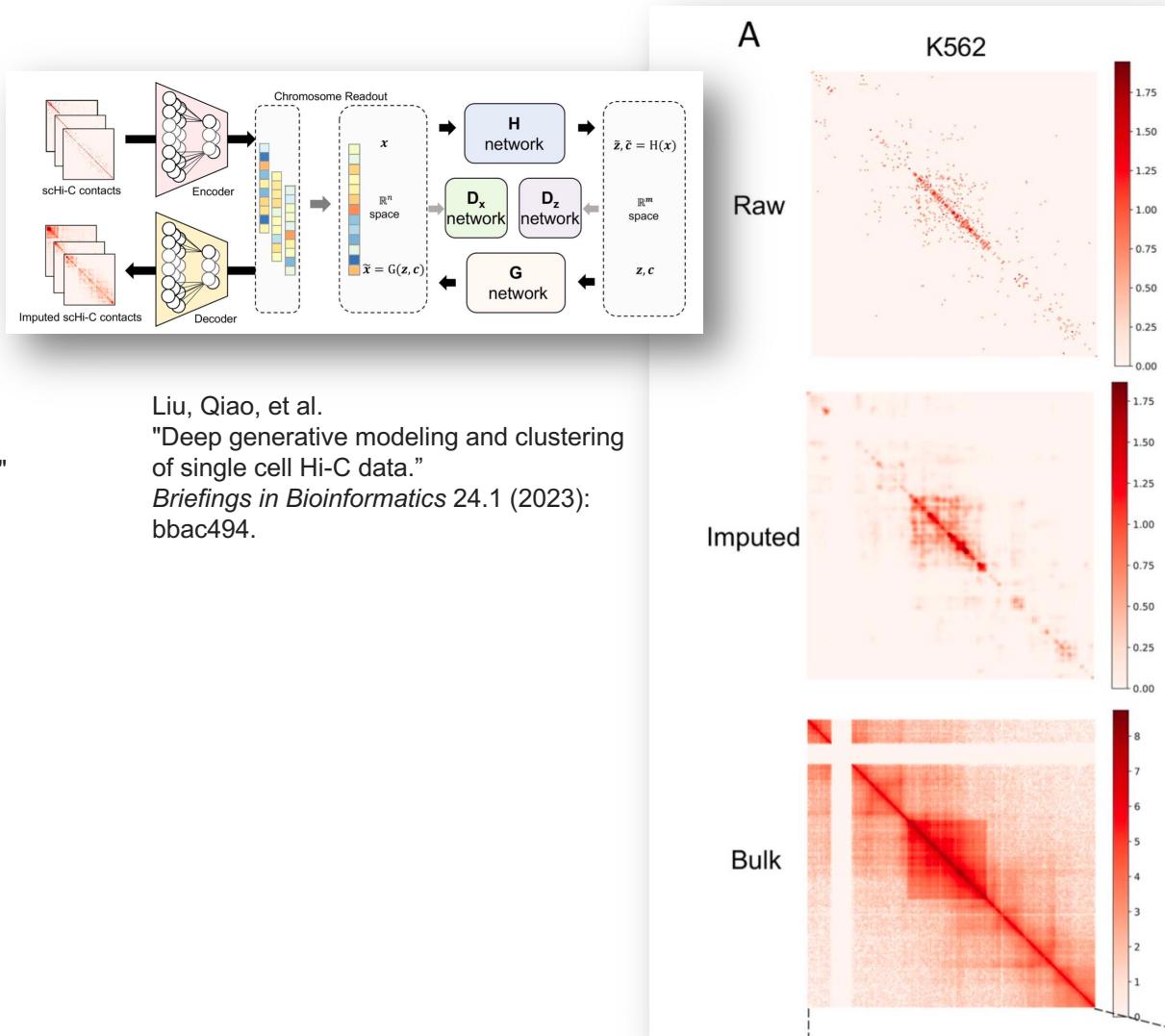
シングルセルHi-C (scHi-C) : 複雑な機械学習モデルによる補完やデノイジングが必要

Fig.1: Overview of the Higashi framework for scHi-C Analysis.

From: [Multiscale and integrative single-cell Hi-C analysis with Higashi](#)



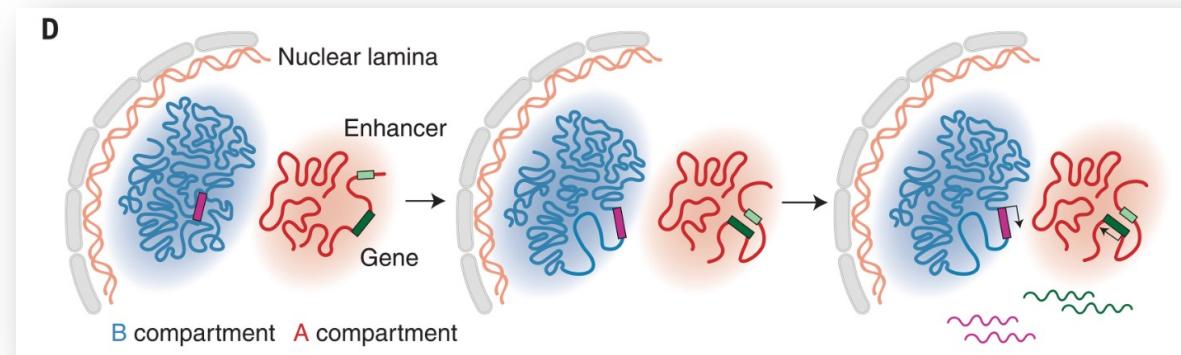
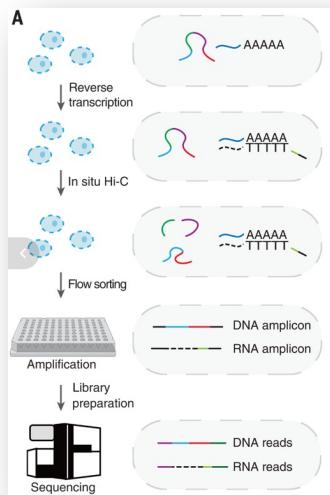
Zhang, Ruochi, Tianming Zhou, and Jian Ma. "Multiscale and integrative single-cell Hi-C analysis with Higashi." *Nature biotechnology* 40.2 (2022): 254-261.



Wang, Yanli, and Jianlin Cheng. "HiCDiff: single-cell Hi-C data denoising with diffusion models." *Briefings in Bioinformatics* 25.4 (2024).

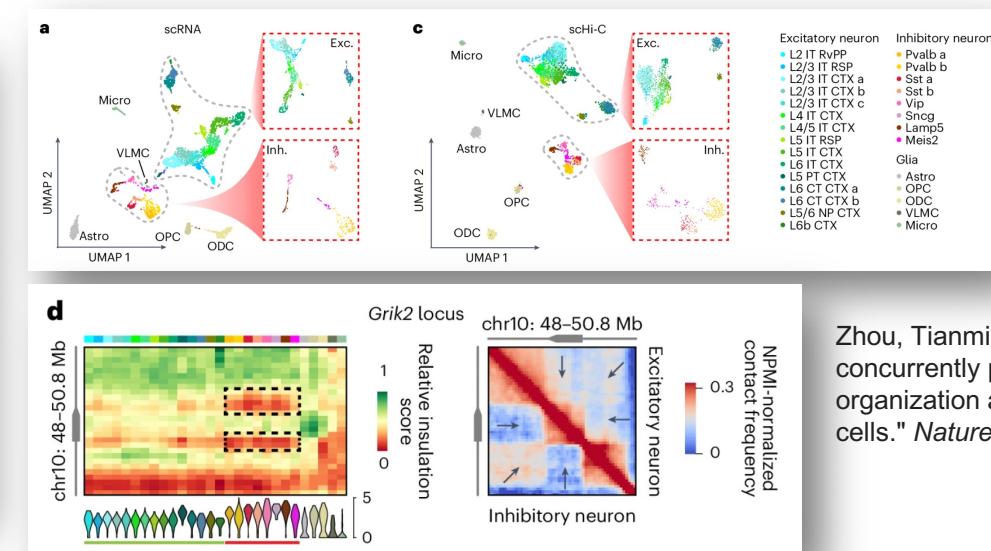
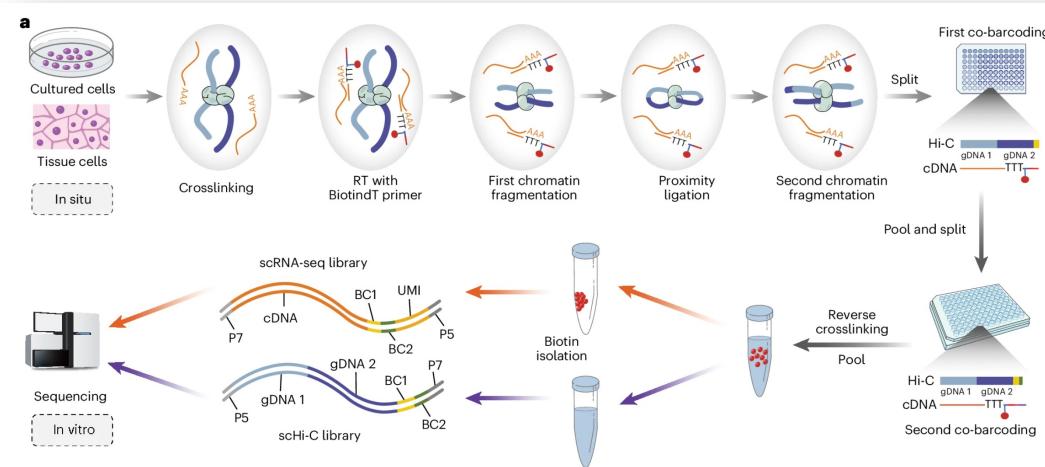
シングルセルマルチオミクス with scHi-C

HiRES: シングルセルHi-CとRNA-seqの同時計測



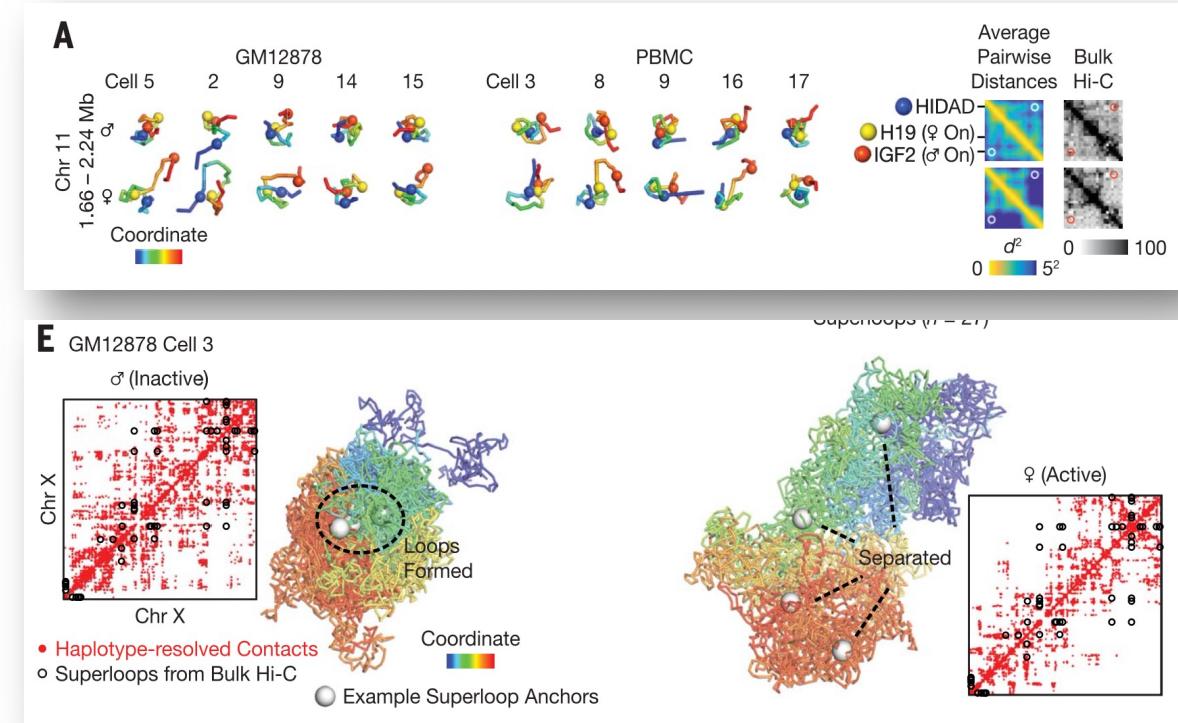
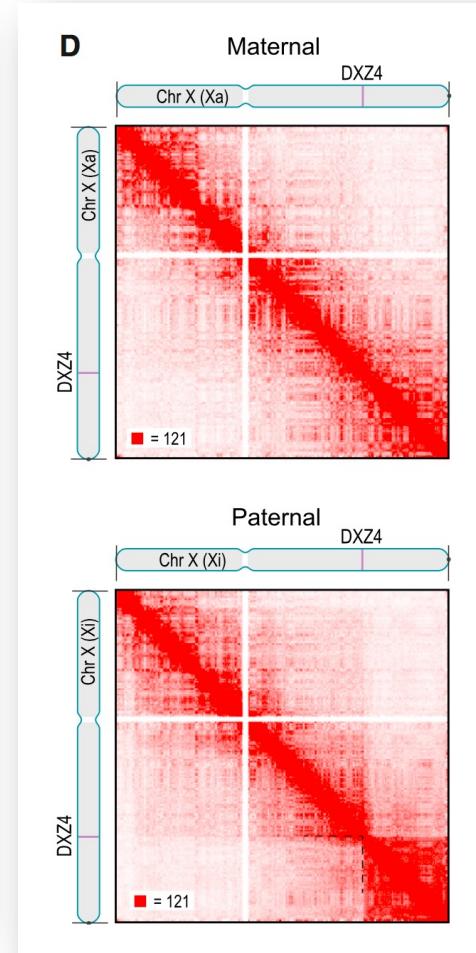
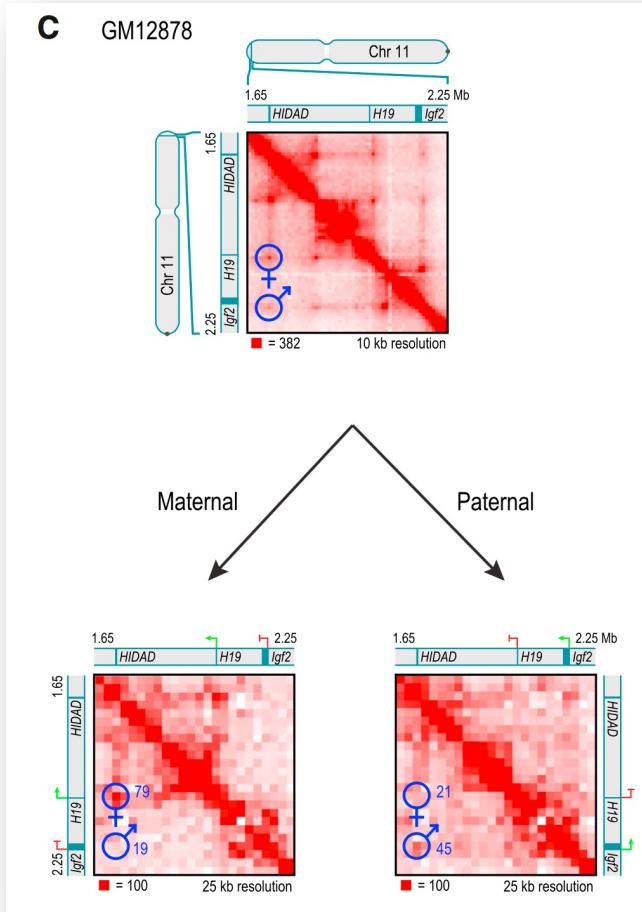
Liu, Zhiyuan, et al. "Linking genome structures to functions by simultaneous single-cell Hi-C and RNA-seq." *Science* 380.6649 (2023): 1070-1076.

GAGE-seq: シングルセルHi-CとRNA-seqの同時計測、さらなるハイスクレーブ化



Zhou, Tianming, et al. "GAGE-seq concurrently profiles multiscale 3D genome organization and gene expression in single cells." *Nature Genetics* (2024): 1-11.

しかし、構造の多様性は相同染色体間でさえ観察される（フェイジングデータが利用できればいいが…）



Tan, Longzhi, et al.
"Three-dimensional genome structures of single diploid human cells."
Science 361.6405 (2018): 924-928.

Dip-Cでは、heterozygous SNPの情報から各コンタクトの初期ハプロ割り当てを決定し、近接性/リンク関係から周囲のコンタクトのハプロを推定し、割り当てていく

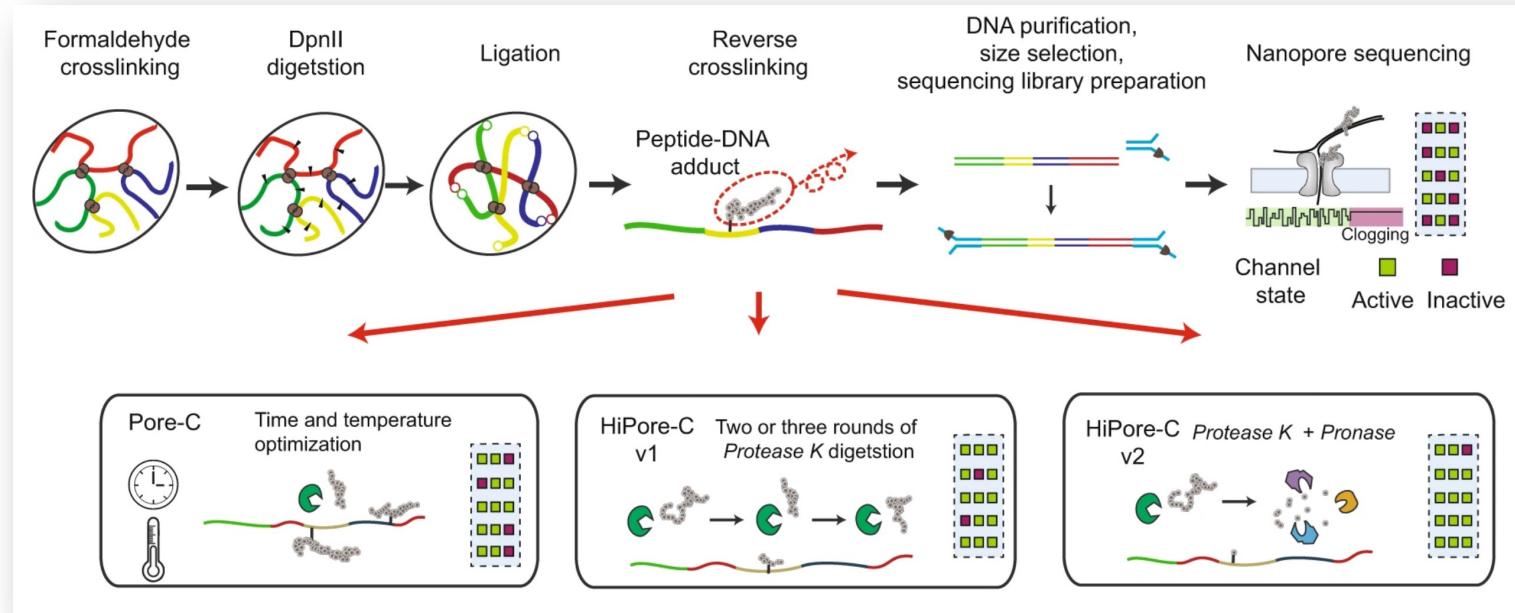
Rao, Suhas SP, et al.

"A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping"
Cell 159.7 (2014): 1665-1680.

Hi-Cのデメリット③

3Cの原理的に、1対1の領域ペアの接触しか観測できない

- 複数の領域の同時接触はデータから間接的にわかるだけ。
- Genome Architecture Mapping (GAM) , SPRITEなど3C非依存の手法を使う
- ONTを利用した方法 (Pore-C, HiPore-C) も開発されている



Zhong, Jia-Yong, et al. "High-throughput Pore-C reveals the single-allele topology and cell type-specificity of 3D genome folding." *Nature Communications* 14.1 (2023): 1250.