

ゲノムインフォマティクストレーニングコース

NGS解析入門

コース概要

基礎生物学研究所

情報管理解析室

内山 郁夫

ゲノムインフォマティクストレーニングコース

NGS解析入門 スケジュール

11月26日(木)

09:00-09:30	オンライン受付	
09:30-10:00	演習環境の構築	
10:00-10:45	コース概要	[内山]
10:45-12:00	UNIX基本コマンド(前編)	[西出]
12:00-13:00	(昼休憩)	
13:00-14:30	UNIX基本コマンド(後編)	[西出]
14:30-14:45	(休憩)	
14:45-17:15	R入門	[内山]
17:30-19:00	統計学入門	[佐藤]
19:00-	オンライン懇親会(参加自由)	

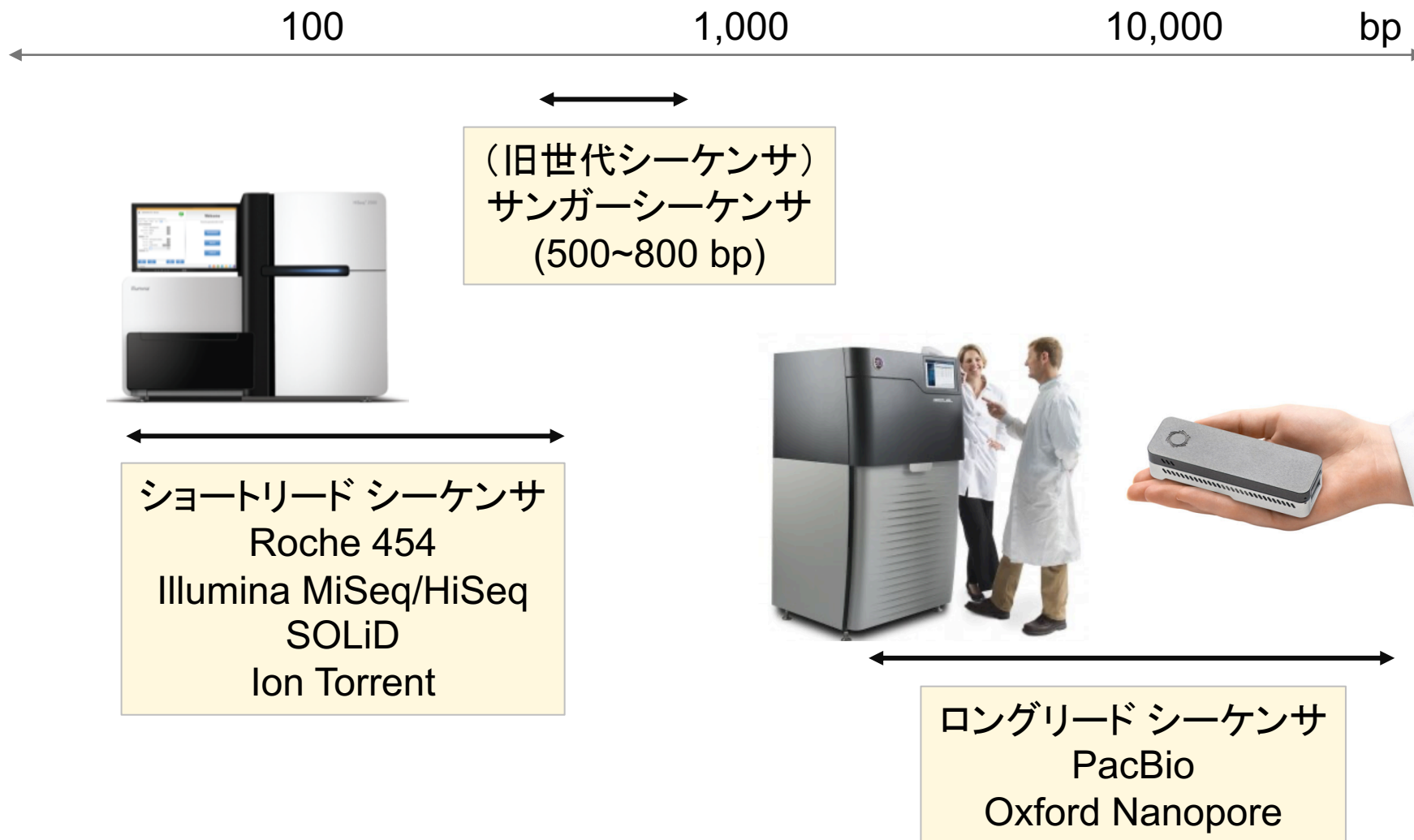
11月27日(金)

09:00-10:00	NGS基本データフォーマット	[杉浦]
10:00-10:30	クオリティコントロールとNGS基本ツール	[山口]
10:30-10:40	(休憩)	
10:40-12:00	クオリティコントロールとNGS基本ツール(続き)	[山口]
12:00-13:00	(昼休憩)	
13:00-14:00	エディタとスクリプト	[杉浦]
14:00-15:00	UNIXによるテキストファイル処理	[中村]
15:00-17:00	演習	

講師

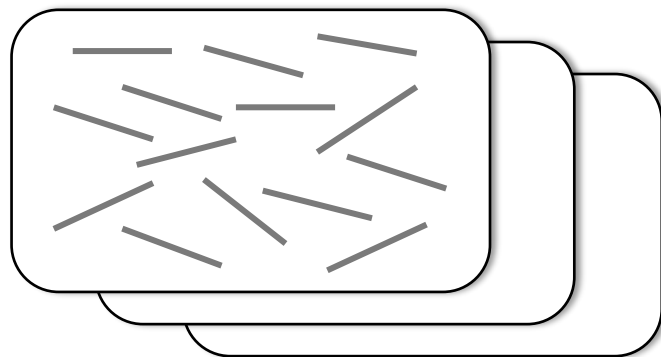
- **生物機能解析センター・情報管理解析室**
 - 内山郁夫 准教授(本コースオーガナイザー)
 - 西出浩世 技術職員
 - 中村貴宣 技術職員
 - 杉浦宏樹 技術職員
- **生物機能解析センター・生物機能情報分析室**
 - 重信秀治 教授(RNA-Seq入門オーガナイザー)
 - 山口勝司 技術職員
- **北海道大学大学院農学研究院**
 - 佐藤昌直 助教

次世代シーケンサ Next Generation Sequencer (NGS)



次世代シーケンサデータ処理の概要

サンプル(ゲノムDNA/RNA)



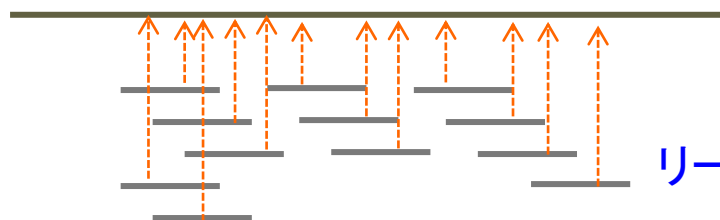
リファレンス配列あり

リファレンス配列なし

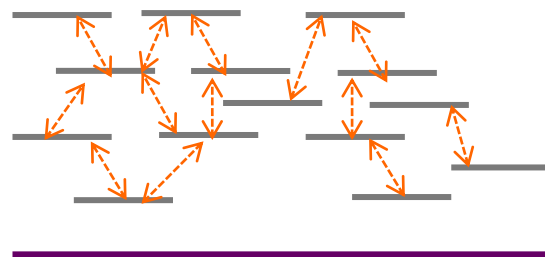
リファレンス配列へのマッピング

デノボ・アセンブル

リファレンス配列



リード配列



アセンブル配列

↓

SNP解析 RNA-Seq ChIP-Seq Methylome解析

ちょっとやってみよう

「ターミナル」を開いて、以下のコマンドを順にタイプしてみよう

```
$ cd data/0_intro
```

(ディレクトリの移動)

```
$ ls
```

(ファイルの表示)

```
$ bowtie2 -x ecoli_genome -U eco.fastq -S ecoli.sam
```

(NGSリード配列 (eco.fastq) をゲノム配列上にマッピング)

```
$ htseq-count ecoli.sam ecoli.gtf > ecoli.count
```

(マッピングした結果を使って遺伝子ごとにリード数をカウント)

```
$ head ecoli.count
```

(結果ファイル ecoli.count の先頭10行を表示)

データ処理の流れ

リファレンス配列
ecoli_genome.fasta

```
>chr
AGCTTTTCATCTCTGACTGCAACGGGCAATATGTCT
CTGTGTGGATTAAAAAAGAGTGTCTGATAGCAGC
TTCTGAACCTGGTTACCTGCGGTGAGTAAATAAAA
TTTTATTGACTTAGGTCACTAAATACTTTAACCAA
TATAGGCATAGCGCACAGACAGATAAAAAATTACAG
AGTACACAACATCCATGAACGCATTAGCACCACC
ATTACCACCACCATCACCATTACCACAGGTAACGG
```

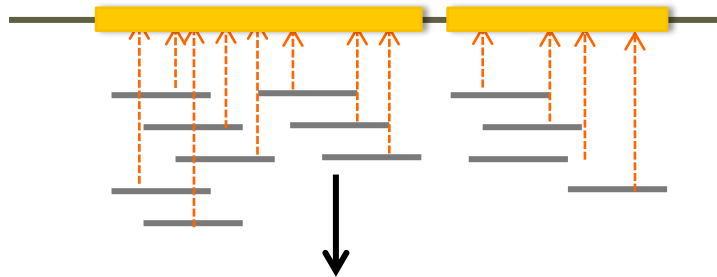
(インデックス: ecoli_genome)

リード配列 eco.fastq

```
@SRR1515276.1 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3625:88631 length=51
ATCCGGCTGGCGCACCGACCTATGTTCGGGCGAATACAAGCTGGGTGAAG
+SRR1515276.1 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3625:88631 length=51
@@@AD>DDFF7DC?FFEBF@DFII<DF@AAA6AEFBDBDCA?>A?B=>B::
@SRR1515276.2 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3871:88513 length=51
CACCGTGTAGTACCAGCATCCTGCGTACAATCAGCAATCCCAGTCCTCCCC
+SRR1515276.2 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3871:88513 length=51
CCCFDFDFHDFHIIIEGIHJJJJGFGHGGHGGIJDGIJHHGGGHIH
@SRR1515276.3 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3950:88530 length=51
CAGGACATCGCCTTTGATCGGTTTCAGACTTCGGACCAACCTGCATTTTCAG
+SRR1515276.3 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3950:88530 length=51
CCCFDFDFAFHFHIIJGHIJIIJIIJGHEHIIJGHIFEHIIA@FIFHGGIIGI
```

① bowtie2

リファレンス配列へのマッピング



マッピング結果 ecoli.sam

```
@HD VN:1.0 SO:unsorted
@SQ SN:chr LN:4639675
@PG ID:bowtie2 PN:bowtie2 VN:2.2.4 CL: "/bio/bin/bowtie2-align
SRR1515276.40 0 chr 4423609 42 51M * 0 0 GGAATTCCTCACTGCCA
SRR1515276.158 16 chr 501700 42 51M * 0 0 ACGCACCGAGTGCAAAG
SRR1515276.212 4 * 0 0 * * 0 0 GGCCGCTTTTCAGCGTGT
SRR1515276.319 0 chr 2922768 42 51M * 0 0 GCTTAAGTTGATTAAGG
SRR1515276.367 16 chr 2753873 42 51M * 0 0 GCGTGTCCGTCCGCAGC
SRR1515276.411 0 chr 3440721 42 51M * 0 0 ACGGCATAATTCTTGA
```

遺伝子アノテーション ecoli.gtf

chr	RefSeq	start_codon	190	192	1.000	+	.	gene_id	"b0001"; transcript
chr	RefSeq	CDS	190	252	1.000	+	0	gene_id	"b0001"; transcript
chr	RefSeq	stop_codon	253	255	1.000	+	.	gene_id	"b0001"; transcript
chr	RefSeq	exon	190	255	1.000	+	.	gene_id	"b0001"; transcript

② htseq-count

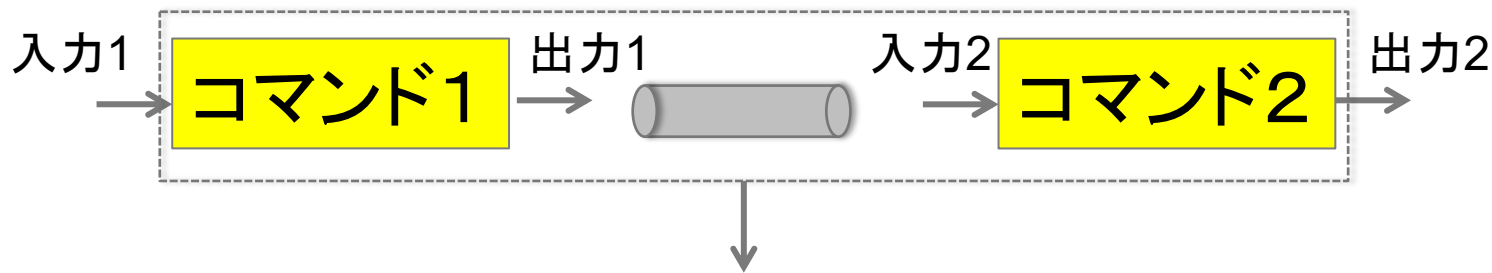
遺伝子ごとの集計

集計結果 ecoli.count

b0001	11
b0002	117
b0003	33
b0004	44

複数のコマンド(プログラム)を組み合わせた複雑な処理の実行

コマンドのパイプライン



スクリプト: コマンドS

コマンド1
コマンド2

スクリプトによる実行



テキストデータ

リファレンス配列 ecoli_genome.fasta

```
>chr
AGCTTTTTCATTCTGACTGCAACGGGCAATATGTCT
CTGTGTGGATTAAAAAAGAGTGTCTGATAGCAGC
TTCTGAACCTGGTTACCTGCCGTGAGTAAATAAAA
TTTTATTGACTTAGGTCATAAATACTTTAACCAA
TATAGGCATAGCGCACAGACAGATAAAAAATTACAG
AGTACACAACATCCATGAAACGCATTAGCACCACC
ATTACCACCACCATCACCATTACCACAGGTAACGG
```

リード配列 eco.fastq

```
@SRR1515276.1 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3625:88631 length=51
ATCCGGCTGGCGCACCGACCTATGTTCCGGGCGAATACAAGCTGGGTGAAG
+SRR1515276.1 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3625:88631 length=51
@@@AD>DDFF7DC?FFEBF@DFII<DF@AAA6AEFBDBDCA?>A?B=>B::
@SRR1515276.2 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3871:88513 length=51
CACCGTGTAGTACCAGCATCCTGCGTACAATCAGCAATCCCAGTCCTCCCC
+SRR1515276.2 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3871:88513 length=51
CCCFDFDFHDFHFIIEGIHJJJJGFHGGHGGHGGIJDGIJHHGGGHIH
@SRR1515276.3 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3950:88530 length=51
CAGGACATCGCCTTTGATCGGTTTCAGACTTCGGACCAACCTGCATTTTCAG
+SRR1515276.3 HWI-ST808:151:D2D13ACXX:2:1207:3950:88530 length=51
CCCFDFDFAFHFHJIJGHIJJIJJJHEHIIJGHIFEHIIA@FIFHGGIIGI
```

遺伝子アノテーション ecoli.gtf

chr	RefSeq	start_codon	190	192	1.000	+	.	gene_id "b0001"; transcript_id "b0001";
chr	RefSeq	CDS	190	252	1.000	+	0	gene_id "b0001"; transcript_id "b0001";
chr	RefSeq	stop_codon	253	255	1.000	+	.	gene_id "b0001"; transcript_id "b0001";
chr	RefSeq	exon	190	255	1.000	+	.	gene_id "b0001"; transcript_id "b0001";

マッピング結果 ecoli.sam

```
@HD VN:1.0 SO:unsorted
@SQ SN:chr LN:4639675
@PG ID:bowtie2 PN:bowtie2 VN:2.2.4 CL: "/bio/bin/bowtie2-align
SRR1515276.40 0 chr 4423609 42 51M * 0 0 GGAATTCCTCACTGCCA
SRR1515276.158 16 chr 501700 42 51M * 0 0 ACGCACCGAGTGCAAAG
SRR1515276.212 4 * 0 0 * * 0 0 GGCCGCTTTCAGCGTGT
SRR1515276.319 0 chr 2922768 42 51M * 0 0 GCTTAAGTTGATTAAGG
SRR1515276.367 16 chr 2753873 42 51M * 0 0 GCGTGTCCGTCCGCAGC
SRR1515276.411 0 chr 3440721 42 51M * 0 0 ACGGCATAATTTCTTGA
SRR1515276.434 0 chr 4198737 42 51M * 0 0 GCGCGGTACGCATCTGG
```

集計結果 ecoli.count

b0001	11
b0002	117
b0003	33
b0004	44

発現量データ(表形式のデータ)の解析

表データ

	条件1	条件2	条件3	条件4
遺伝子1	58.3	161.9	24.3	46.3
遺伝子2	1061.9	1073.9	106.9	222.9
遺伝子3	236.0	207.9	153.4	116.1
遺伝子4	16.2	38.3	0.0	0.0

条件1 (58.3, 1061.9, 236.0, 16.2, ...)

条件2 (161.9, 1073.9, 207.9, 38.3, ...)

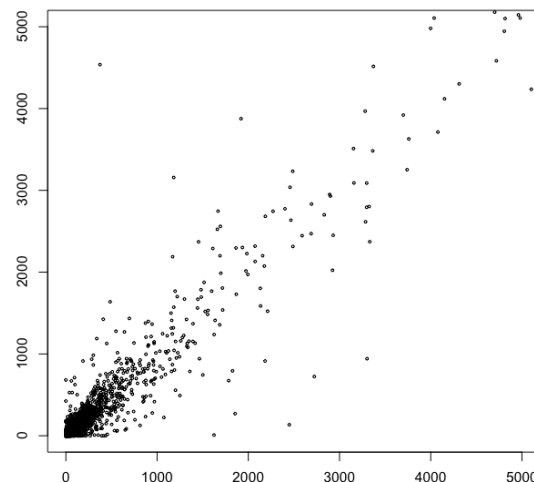
データ解析、統計解析

条件1と条件2の発現量比

$$\left(\frac{58.3}{161.9} \quad \frac{1061.9}{1073.9} \quad \frac{236.0}{207.9} \quad \frac{16.2}{38.3} \right)$$

散布図
(scatter plot)

データ可視化



ゲノムインフォマティクストレーニングコース

NGS解析入門 スケジュール

11月26日(木)

09:00-09:30	オンライン受付	
09:30-10:00	演習環境の構築	
10:00-10:45	コース概要	[内山]
10:45-12:00	UNIX基本コマンド(前編)	[西出]
12:00-13:00	(昼休憩)	
13:00-14:30	UNIX基本コマンド(後編)	[西出]
14:30-14:45	(休憩)	
14:45-17:15	R入門	[内山]
17:30-19:00	統計学入門	[佐藤]
19:00-	オンライン懇親会(参加自由)	

11月27日(金)

09:00-10:00	NGS基本データフォーマット	[杉浦]
10:00-10:30	クオリティコントロールとNGS基本ツール	[山口]
10:30-10:40	(休憩)	
10:40-12:00	クオリティコントロールとNGS基本ツール(続き)	[山口]
12:00-13:00	(昼休憩)	
13:00-14:00	エディタとスクリプト	[杉浦]
14:00-15:00	UNIXによるテキストファイル処理	[中村]
15:00-17:00	演習	

準備編を通しての目標

- インフォマティクスに対する心的障壁を取り除く
- ゲノムインフォマティクスの基礎的技術と考え方を身に付ける
 - UNIXコマンドラインの操作や環境に慣れる
 - タブ区切りテキストを処理する程度の簡単なプログラミングを学ぶきっかけをつかむ
- 独習するための基盤を身に付ける
 - 今後独習する為に必要な基礎的なスキル
 - 今後何を学べば良いかの指針を得る
- インフォマティクス専門家と対話できる程度の基礎知識を身に付ける

オススメ勉強法

- コマンドやプログラムは自分で試してみる。copy & pasteでなくタイピングすること。(熊楠メソッド)
- 気軽に質問する。講師はもちろん、隣や前後の受講生にも。その一方で、ヘルプやマニュアルドキュメントをうまく活用する。
- 自分の研究との接点を常に意識する。自分の研究に応用する。

コースページ

<https://github.com/nibb-unix/gitc202011-unix/wiki>

nibb-unix / gitc201905-unix

Watch 1Star 0Fork 0

<> Code

Issues 0

Pull requests 0

Projects 0

Wiki

Insights

Home

EditNew Page

Sugichang edited this page 22 days ago · 4 revisions

NIBB GIトレーニングコース 2019夏 準備編

基礎生物学研究所 ゲノムインフォマティクス・トレーニングコース 2019夏 準備編

「UNIX・R・NGSの基本」

公式HP@基生研

宿題

受講生の方は以下の宿題を終わらせてトレーニングコースにのぞんで下さい。

宿題

日程

program

UNIX 環境の構築に関する資料

PDF

- Mac UNIX環境構築ガイド
- Windows UNIX環境構築ガイド

Pages 3

Find a Page...

Home

homework

program

+ Add a custom sidebar

Clone this wiki locally

<https://github.com/nibb-unix>

それでは始めましょう