

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430196

研究課題名(和文)全ゲノムシーケンスデータ解析に基づく解析困難領域の同定と遺伝的多様性の解析

研究課題名(英文) Analysis of genetic variation in repetitive and non-reference genomic regions

研究代表者

藤本 明洋 (Fujimoto, Akihiro)

京都大学・医学研究科・特定准教授

研究者番号：30525853

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は、日本人の全ゲノムシーケンスデータを用いて、(1)第2世代シーケンサーでは解析が困難な領域の特徴を明らかにする。また、(2)それらの領域のゲノム配列を読み取り長の長い第3世代シーケンサーを用いて決定することにより、解析困難領域の遺伝的多様性を解明することを目的として研究を行った。申請者らは、既に日本人108人の全ゲノムシーケンスデータより、解析困難な領域を抽出した(解析困難な領域は、ヒト標準ゲノム配列に存在しない配列と多様性が極めて高い領域より選出した)。それらの配列を濃縮するためのアレイ(解析困難領域アレイ)を作成し、シーケンスを行うことで、解析困難領域の多様性を調査した。

研究成果の概要(英文)：Recent progress of DNA sequencing technology enables us to sequence whole genome. However, read length of the current DNA sequencers are short, and therefore repetitive regions and non-reference genomic regions can not be analyzed. To examine the polymorphism of repetitive regions and non-reference genomic regions, we collected unmapped reads from human whole genome sequence data, and designed capture probes to obtain DNA from these regions. We sequenced the collected DNA with a long read sequencing technology. We identified genetic variation in the repetitive and non-reference genomic regions.

研究分野：人類遺伝学

キーワード：次世代シーケンサー ヒトゲノム多様性

### 1. 研究開始当初の背景

近年の著しいシーケンス技術の発展により、個人ゲノムシーケンスが可能となった。超並列シーケンサーの発展は著しく、第2世代シーケンサー(いわゆる次世代シーケンサー)を用いると700 Gbp(ヒトゲノムの200倍以上)の塩基配列データを約2週間で得ることができる。

第2世代シーケンサーは、ここ数年間で試薬や機器の改良が進み、シーケンスエラー率が大幅に改善した。そのため、適切な解析手法を用いると、極めて高い精度で塩基配列の違いを検出することができる。しかしながら、第2世代シーケンサーには欠点もある。第一に、読み取り長が短いためリピート領域(繰り返し配列からなる領域)の解析が困難である。第二に、標準ゲノム配列に対するマッピング(位置決め)によってデータ解析を行うため、標準ゲノム配列に存在しない領域や、個人間の違いが非常に大きい領域の解析は極めて困難である。現在、世界的に全ゲノムシーケンスが多数進行中であるが、これらの解析困難領域の特徴は全く分かっていない。

### 2. 研究の目的

申請者は、日本人の全ゲノムシーケンスデータを用いて、(1)解析が困難な領域の特徴を明らかにする。また、(2)それらの領域のゲノム配列を読み取り長の長い第3世代シーケンサーを用いて決定することにより、解析困難領域の遺伝的多様性を解明することを目的として研究を行った。

### 3. 研究の方法

日本人108人の全ゲノムシーケンスデータより、解析困難な領域を抽出した(解析困難な領域は、ヒト標準ゲノム配列に存在しない配列と多様性が極めて高い領域より選出した)。それらの配列を濃縮するためのアレイ(解析困難領域アレイ)を作成した。また、日本人108人の解析困難領域を濃縮して長鎖シーケンサーであるPacBio RSを用いてシーケンスを行った。

### 4. 研究成果

本研究により、解析困難領域の日本人集団における遺伝的多様性の一端が明らかとなった(論文準備中)。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計11件)

1. Furuta M, Ueno M, Fujimoto A, Hayami S, Yasukawa S, Kojima F, Arihiro K, Kawakami Y, Wardell CP, Shiraishi Y, Tanaka H,

Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Tokunaga N, Boroevich KA, Abe T, Aikata H, Ohdan H, Goto K, Kubo M, Tsunoda T, Miyano S, Chayama K, Yamaue H, Nakagawa H. (2017) Whole genome sequencing discriminate hepatocellular carcinoma with intrahepatic metastasis from multicentric tumors. **J Hepatic.** 66:363-373

2. Alexandrov LB, Ju YS, Haase K, Van Loo P, Martincorena I, Nik-Zainal S, Totoki Y, Fujimoto A, Nakagawa H, Shibata T, Campbell PJ, Vineis P, Phillips DH, Stratton MR. (2016) Mutational signatures associated with tobacco smoking in human cancer. **Science** 354:618-622.

3. Fujimoto A, Okada Y, Boroevich KA, Tsunoda T and Taniguchi H, and Nakagawa H. (2016) Systematic analysis of mutation distribution in three dimensional protein structures identifies cancer driver genes. **Sci Rep** 6, Article number: 26483

4. Fujimoto A, Furuta M (equal contribution), Totoki Y (equal contribution), Tsunoda T (equal contribution), Kato M (equal contribution), Shiraishi Y, Tanaka H, Taniguchi H, Kawakami Y, Ueno M, Gotoh K, Ariizumi S, Wardell CP, Hayami S, Nakamura T, Aikata, Arihiro K, Boroevich KA, Abe T, Nagano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Oshawa A, Shibuya T, Nakamura H, Hama N, Hosoda F, Arai Y, Shashi S, Urushidate T, Nagae G, Yamamoto S, Ueda H, Tatsuno K, Ojima H, Hiraoka N, Okusakan T, Kubo M, Marubashi S, Yamada T, Hirano S, Yamamoto M, Ohdan H, Shimada K, Ishikawa O, Yamane H, Chayama K, Miyano S, Aburatani H, Shibata T, and Nakagawa H.

(2016) Whole genome mutational landscape and characterization of non-coding and structural mutations in liver cancer. **Nat Genet** 48: 500-509

5. Alioto TS, Buchhalter I, Derdak S, Hutter B, Eldridge MD, Hovig E, Heisler LE, Beck TA, Simpson JT, Tonon J, Sertier S, Patch AS, Jäger N, Ginsbach P, Drews R, Paramasivam N, Kabbe R, Chotewutmontri S, Diessl N, Previti C, Schmidt S, Brors B, Feuerbach L, Heinold, Gröbner S, Korshunov A, Tarpey PS, Butler AP, Hinton J, Jones D, Menzies A, Raine K, Shepherd R, Stebbings L, Teague JW, Ribeca P, Giner FC, Beltran S, Raineri E, Dabad M, Heath SC, Gut M, Denroche RE, Harding NJ, Yamaguchi TN, [Fujimoto A](#), Nakagawa H, Quesada V, Valdés-Mas R, Nakken S, Vodák D, Bower L, Lynch A, Anderson CL, Waddell N, Pearson JV, Grimmond SM, Peto M, Spellman P, He M, Kandoth C, Lee S, Zhang J, Létourneau L, Ma S, Seth S, Torrents D, Xi L, Wheeler DA, López-Otín C, Campo E, Campbell PJ, Boutros PC, Puente XS, Gerhard DS, Pfister SM, McPherson JD, Hudson TJ, Schlesner M, Lichter P, Eils P, Jones DTW, and Gut IG.

(2015) A comprehensive assessment of somatic mutation detection in cancer using whole genome sequencing. **Nature Comms** 6, Article number: 10001

6. Ono A, [Fujimoto A](#), Yamamoto Y, Akamatsu S, Nobuhiko H, Imamura M, Kawaoka T, Tsuge M, Abe H, Hayes CN, Miki D, Furuta M, Tsunoda T, Miyano S, Kubo M, Aikata H, Ochi H, Kawakami Y, Arihiro K, Ohdan H, Nakagawa H, Chayama K (2015) Circulating tumor DNA analysis for liver cancers and its usefulness as a liquid

biopsy. **Cellular and Molecular**

**Gastroenterology and Hepatology** 1:

516-534

7. Shigemizu D, Aiba T, Nakagawa H, Ozaki K, Miya F, Satake W, Toda T, Miyamoto Y, [Fujimoto A](#), Suzuki Y, Kubo M, Tsunoda T, Shimizu W, and Tanaka T (2015) Exome analyses of long QT syndrome reveal candidate pathogenic mutations in calmodulin-interacting gene. **PLoS**

**One** 10: e0130329

8. Nakagawa H, Wardell CP, Furuta M, Taniguchi H, [Fujimoto A](#) (2015) Cancer whole-genome sequencing: present and future. **Oncogene** 34:5943-5950

9. [Fujimoto A](#), Furuta M (equal contribution), Shiraishi Y, Nguyen H, Shigemizu D, Gotoh K, Kawakami Y, Nakamura T, Ueno M, Ariizumi S, Shibata T, Abe T, Boroevich KA, Nakano K, Sasaki A, Kitada R, Maejima K, Tanaka H, Shibuya T, Ojima H, Shimada K, Hayami S, Shigekawa Y, Aikata H, Arihiro K, Ohdan H, Marubashi S, Yamada T, Ishikawa O, Kubo M, Hirano S, Yamamoto M, Yamaue H, Chayama K, Miyano S, Tsunoda T, and Nakagawa H (2015) Whole-genome mutational landscape of liver cancers displaying biliary phenotype reveals hepatitis impact and molecular diversity. **Nat**

**Comms** 6, Article number: 6120

10. Shiraishi Y, [Fujimoto A](#), Furuta M, Tanaka H, Chiba K, Boroevich KA, Abe T, Kawakami Y, Ueno M, Gotoh K, Ariizumi S, Shibuya T, Nakano K, Sasaki A, Maejima K, Kitada R, Hayami S, Shigekawa Y, Marubashi S, Yamada T, Kubo M, Ishikawa O, Aikata H,

Arihiro K, Ohdan H, Yamamoto M, Yamaue H, Chayama K, Tsunoda T, Miyano S, and Nakagawa H (2014) Integrated analysis of whole genome and transcriptome sequencing reveals diverse transcriptomic aberrations driven by somatic genomic changes in liver cancers. **PLoS One** 9: e114263

11. Takezawa Y, Kato K, Oota H, Caulfield T, Fujimoto A, Honda S, Kamatani N, Kawamura S, Kawashima K, Kimura R, Matsumae H, Saito A, Savage PE, Seguchi N, Shimizu K, Terao S, Yamaguchi-Kabata Y, Yasukouchi A, Yoneda M, Tokunaga K (2014) Human genetic research, race, ethnicity and the labeling of populations: recommendations based on an interdisciplinary workshop in Japan. **BMC Med Ethics** 15: 33

〔学会発表〕(計22件)

1. ヒトのゲノム配列の解析と今後の課題, 口頭発表, 藤本明洋, 理研 AIP センター, 理研 AIP センター セミナー, 2017.4.22, 国内
2. ヒト肝臓のゲノム異常の包括的解析と今後の課題, 口頭発表, 藤本明洋, Kansai Liver Club, 2017.4.1, 国内
3. ヒトのゲノム配列を解析する ~ 大量データの解析で分かってきたこと、これからの課題~, 口頭発表, 藤本明洋, 京都大学 理学部 セミナー, 2017.2.9, 国内
4. ヒトのゲノム配列を解析する ~ 大量データの解析で分かってきたこと、これからの課題~, 口頭発表, 藤本明洋, 京都産業大学 総合生命科学部 生命科学セミナー, 2016.12.15, 国内

5. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer, 口頭発表, 藤本明洋, 第39回日本分子生物学会, 2016.11.30-12.2, 国内
6. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer, 口頭発表, 藤本明洋, National Cheng Kung University Taiwan International Conference 2016.11.12, 国外
7. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer, 口頭発表, 藤本明洋, 群馬大学 第三回未来先端研究機構国際シンポジウム, 2016.10.25, 国内
8. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer, 口頭発表, Fujimoto A et al. 66th Annual ASHG Meeting, 2016.11.18-22, 国外
9. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer, 口頭発表, 藤本明洋, 第75回日本癌学, 2016.10.6-8, 国内
10. Development of analysis method for whole genome sequencing and comprehensive analysis of liver cancer genomes 口頭発表 (受賞講演), 藤本明洋, 第75回日本癌学, 2016.10.6-8, 国内

11. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer. □頭発表, Fujimoto A et al. 66th Annual ASHG Meeting, 2016.11.18-22, 国外
12. Systematic analysis of mutation distribution in three dimensional protein structures identifies cancer driver genes. □頭発表, Fujimoto A et al. 65th Annual ASHG Meeting, 2015.10.6-11, 国外
13. Analysis of mutational landscape and genetic heterogeneity in liver cancer with whole genome sequencing. □頭発表, Fujimoto A et al. 64th Annual ASHG Meeting, 2014.10.18-22, 国外

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1)研究代表者

藤本 明洋 (FUJIMOTO, Akihiro)  
京都大学・大学院医学研究科・特定准教授  
研究者番号： 30525853

(2)研究分担者

(3)連携研究者

(4)研究協力者  
( )