



遺伝子発現解析入門

中岡慎治

目次

はじめに

遺伝子発現 (トランスクリプトーム) 解析とは

マイクロアレイ (MA) の原理と応用途

次世代シーケンサー (NGS) の原理と応用途

[補足] 次世代シーケンサーの活用事例 [metagenome/ChIP-seq] etc...

遺伝子発現解析の統計手法

正規化の必要性と手法 [MA/NGS]

発現変動解析 (Differential Expressed Genes: DEG) [MA/NGS]

Enrichment 解析 (GO, PPI, pathway)

可視化 (heatmap, クラスタリング etc)

補足

Further reading/ checking (基本的な統計手法、講習会など)

目次

はじめに

遺伝子発現 (トランスクリプトーム) 解析とは

マイクロアレイ (MA) の原理と応用途

次世代シーケンサー (NGS) の原理と応用途

[補足] 次世代シーケンサーの活用事例 [metagenome/ChIP-seq] etc...

遺伝子発現解析の統計手法

正規化の必要性と手法 [MA/NGS]

発現変動解析 (Differential Expressed Genes: DEG) [MA/NGS]

Enrichment 解析 (GO, PPI, pathway)

可視化 (heatmap, クラスタリング etc)

補足

Further reading/ checking (基本的な統計手法、講習会など)

レクチャーの指針

50分で詳細まで解説できないので、エッセンスを習得できるよう内容を構成。
必要な知識は各人補完することが望ましい。

キーワード 以下のキーワードは、理解が必須

共通 mRNA 相補的 DNS (cDNA) tRNA, 99% Quality check (RIN 値) GC 含量, デグる
正規化 DEG (Differentially Expressed Genes) GO (Gene Ontology) Gene set enrichment
階層クラスタリング, heatmap, 一般化線形モデル, 多重検定 (False Discovery Ratio)
R & Bioconductor NCBI/EMBL/DDBJ BLAST, GEO, SRA

マイクロアレイ (DNA chip) ハイブリダイゼーション, 蛍光 プローブ (遺伝子断片)
Affymetrix, Agilent, Illumina (ビーズ) CEL ファイル log-normal 分布

次世代シーケンサー short read 一分子 PCR 超並列 リード数 (depth), リード長
エマルジョン PCR, Roche FLX, Ion PGM bridge PCR, Illumina Hiseq (single/pair end),
アダプター配列 第三世代: PacBio (long-read), Oxford Nanopore PCR bias, single cell
mapping (モデル生物), bowtie2&tophat2 *de novo* シーケンシング (非モデル)
FASTA&FASTQ, アノテーション, BAM, count-data, RPKM (ファイル) 負の二項分布

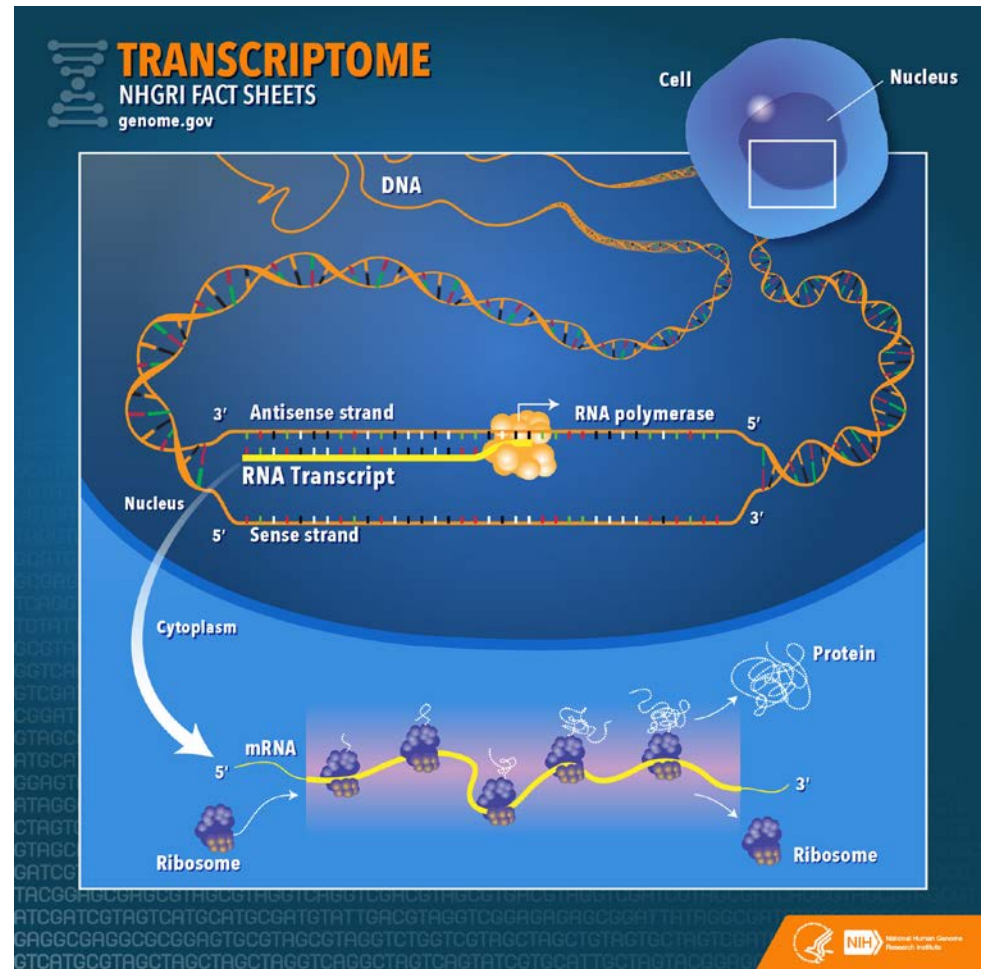
トランスクリプトーム解析

Gene+ome (全体) = genome

Transcript (転写物) を網羅的に取得し、遺伝子発現の状態を計測する方法 = transcriptome

遺伝子発現状態から、サンプルとして取得した細胞(群)の特徴を発現レベルで示ることができる。
(実際にタンパク質ができているかは、別途計測する必要がある。)

計測方法により、2種類の方法が存在 (microarray と NGS)



マイクロアレイの原理

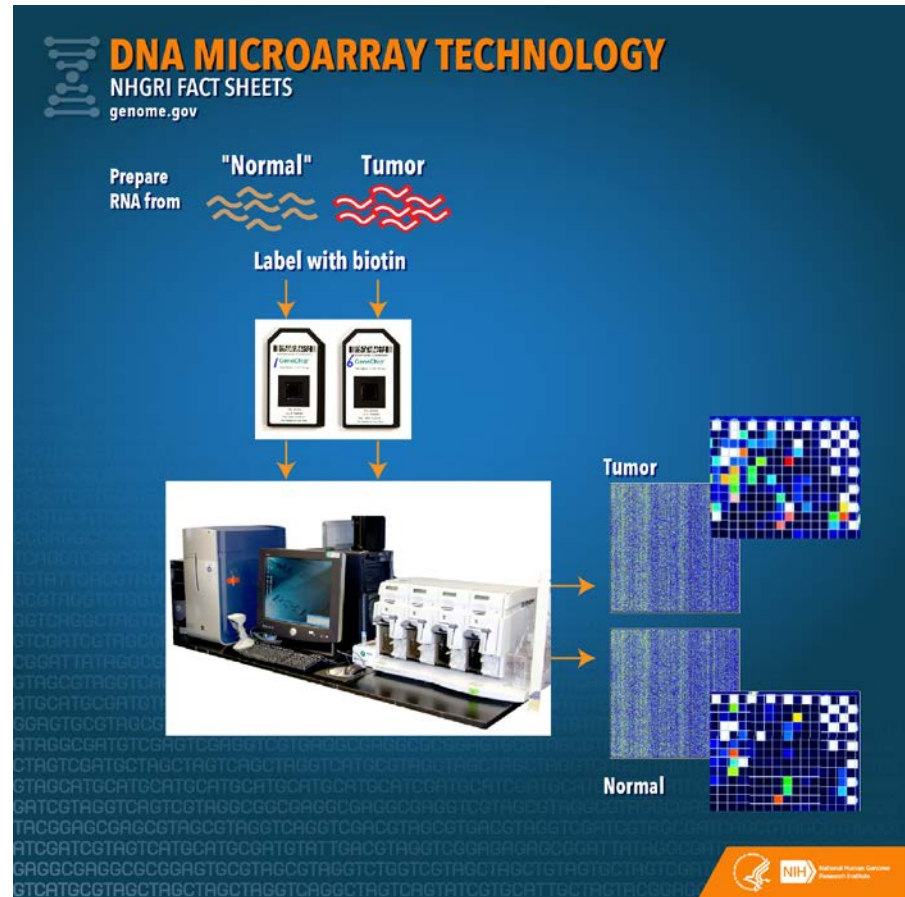
塩基配列の明らかな DNA 一本鎖を Chip のアレイ上に配置

検体の mRNA から逆転写酵素によって cDNA を作成

検体の DNA 配列は相補的なアレイに特異的に結合する際に結合位置を蛍光で検出することで、検体内に含まれる RNA を定量

蛍光強度の強さによって、遺伝子発現量を計測 (半定量)。

二群間 (コントロールと標的) の各遺伝子の発現量を比較することで、発現に差がある遺伝子を統計解析を用いて検出

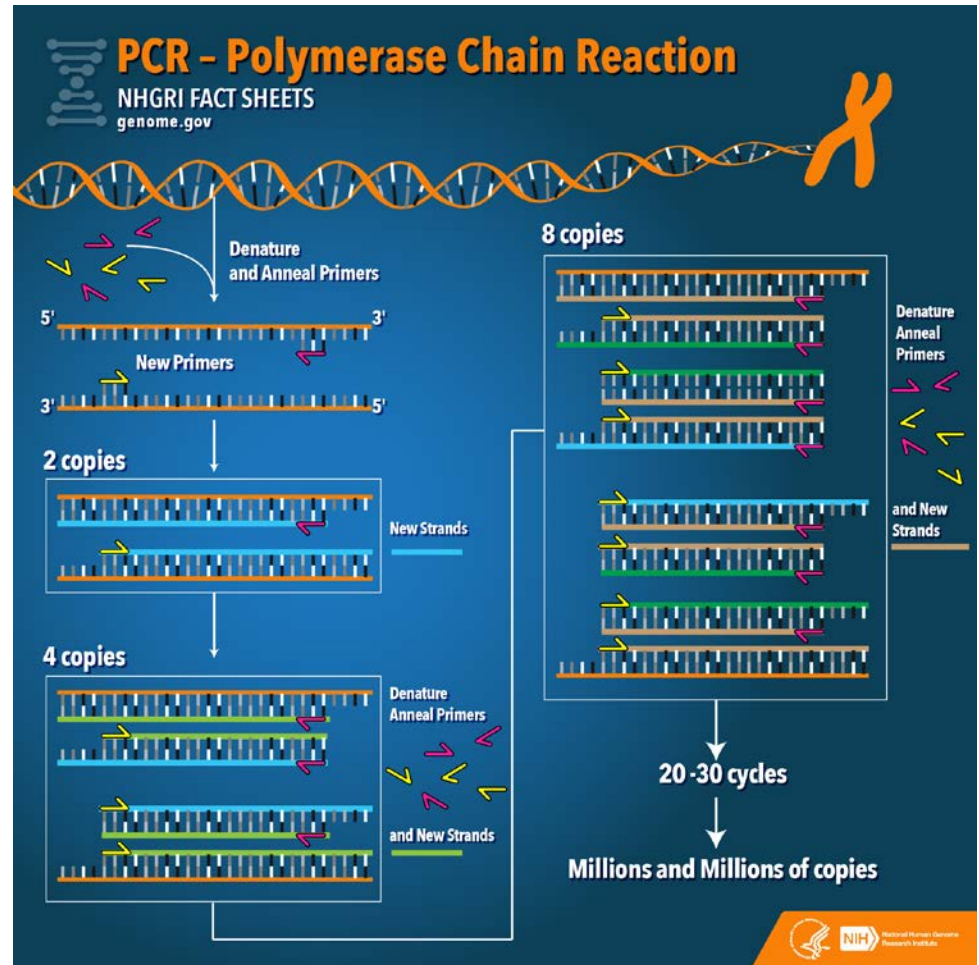


蛍光強度を利用するため、基盤間の系統的違いを補正 (正規化) 後、蛍光強度分布の統計的特徴を考慮した解析手法を適用する。

PCR の原理

PCR (Polymerase Chain Reaction)

増幅対象 (テンプレート) DNA と、DNA 合成酵素 (DNA ポリメラーゼ)、プライマーと呼ばれる短い DNA 断片 (オリゴヌクレオチド) を予め混合する。高温で二本鎖 DNA の変性を行い、その後低温にすることでプライマーが結合する。この状態で DNA ポリメラーゼが働くと、プライマーが結合した部分を起点として 1 本鎖と相補的な DNA が合成される。この一連の操作を繰り返すことで、DNA の合成を行って増幅する技術。



次世代シーケンサーの原理

cDNA を断片化し、短いリード長 (50-100bp等) を超並列で PCR する。

機器による違い (Roche と Illumina) 以下、Illumina (bridge PCR) を概説

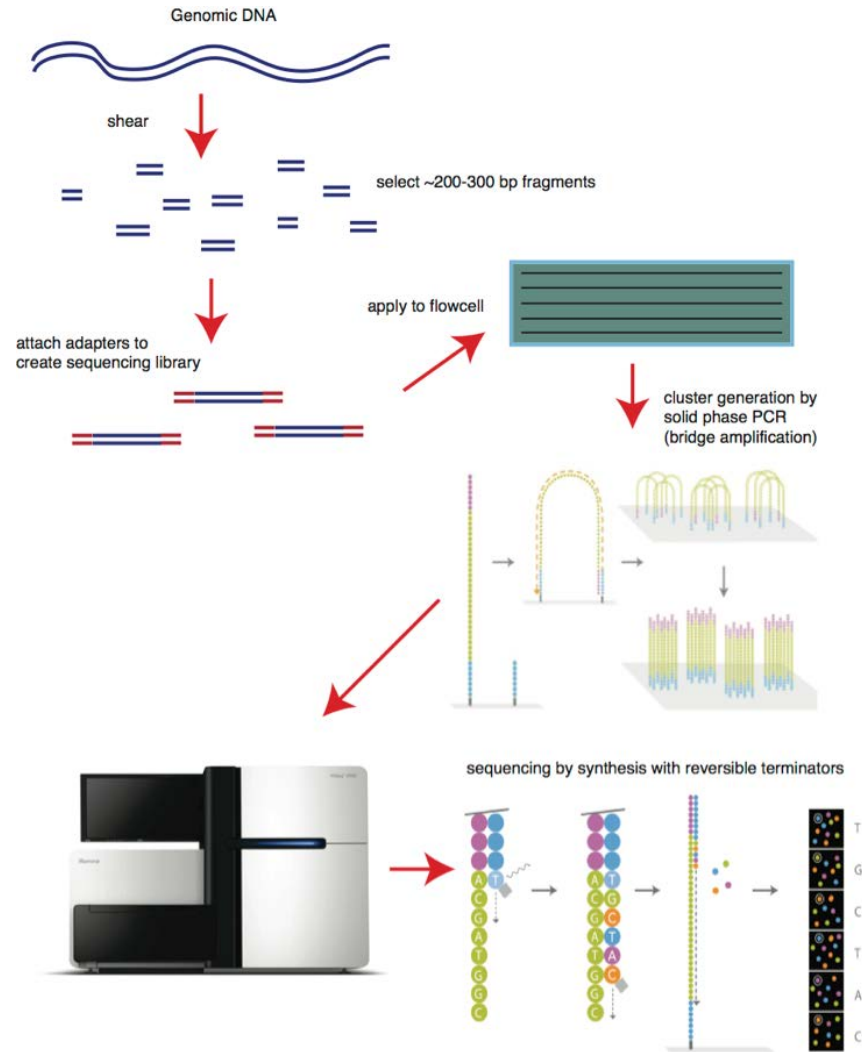
断片化 DNA の両端に、アダプター配列を付加 (ligate)。アダプターが基板上に結合。塩基と酵素を入れ、相補鎖 DNA を合成し、読取可能になるまで増幅 (クラスター形成)。

(bridge amplification)

DNA 合成を一塩基ずつストップさせながら合成し、蛍光を読取 (4色) することで、塩基配列を決定する。

(sequencing by synthesis)

Maxam-Gilbert 法、Sanger 法に続く方法として次世代と呼ばれている。Nanopore など一分子シーケンシングは、第三世代と呼ばれている。



DNA 配列解析

de novo シーケンシング

マイクロアレイは、基盤に DNA を配置するため、ゲノム配列が既知である必要があったが、次世代シーケンサーでは配列が未知のゲノムもシーケンスできる。これを *de novo* (新規) シーケンシングと呼ぶ。非モデル生物の新規ゲノム配列決定、リファレンスゲノムと比較して変異や SNP の検出 (variant call) を行う。ソフトウェア: Trinity, Velvet, BWA 等

Exome 解析

真核生物の exon (タンパク質がコードされている領域) のみに限定して配列解析を網羅的に行う。先天的遺伝的疾患の探索などに利用されている。重複するリードの除去 (Picard)、リアラインメント、SNV (Single Nucleotide Variation)/Indel 検出、アノテーション (snpEff) を実施して、疾患に関与が疑われる遺伝子候補を探索する。

免疫沈降法 (Immunoprecipitation) 活用

ChIP-seq

クロマチン沈降法 (Chromatin ImmunoPrecipitation) により、転写因子や DNA 結合タンパク質に特異的に結合する抗体を利用、沈降させた後にその配列を読むことで転写開始点やメチル化領域を特定できる。転写因子の場合、ある転写因子が制御している遺伝子群を同定可能になる。他、RNA と相互作用するタンパク質を検出する CLIP (Cross-Linking ImmunoPrecipitation)-seq もある。

Methylated DNA immunoprecipitation (MeDIP) seq

5-methylcytosine (5mC) に対する抗体を利用し、メチル化した DNA 領域を網羅的に探索する技術。

プロモーターから遠く離れた (distal) 転写開始点に結合する転写因子の探索には、染色体の立体構造が関与。染色体間の空間的近さを図る Chromosome Confirmation Capture (3C) の Hi-C データを用いた網羅的な測定も可能。これらエピゲノム関連の網羅的探索は、ENCODE project 等にまとめられている。

メタゲノム解析

メタ 16S rRNA (マイクロビオーム)

生物種で保存されているが種毎に異なる 16S rRNA 領域を対象にバーコードを設計して sequencing を行い、サンプル中に存在するバクテリア種を特定する方法。

Whole Genome Shotgun (WGS) sequence

ゲノム全体を物理的に断片化し、シーケンサーで配列を決定した後に、わずかな配列の重なりをつなぎあわせて alignment を行い、元の塩基配列を決定する方法。階層的ショットガン法は高精度、高コストだが WGS は低コストだが精度の問題がある。微生物の配列決定のみならず、de novo で非モデル生物の配列を決定する用途にも用いられる。WGS では断片 (fragment) をつなぎ合わせる作業 (assembly) 後、断片をつなぎあわせた contig (contiguous sequence) と、contig を隙間を含んでつなげたものを scaffold と呼ぶ。データベース登録のアノテーションされた配列と比較し、こういったタンパク質がコードされていそうかを予測することができる (機能解析)。

質量分析器等を用いたオミックスデータ

プロテオーム

タンパク質を質量分析器によって網羅的に計測する技術。リン酸化修飾による変化を検出するリン酸化プロテオームなどがある。

メタボローム

代謝物を質量分析器によって網羅的に計測する技術。脂質のみに注目した網羅的な探索 (リピドミクス) などがある。

その他オーム

マウスの表現型を集めた Mouse Phenome Database (MPD)

<http://phenome.jax.org/>

目次

はじめに

遺伝子発現 (トランスクリプトーム) 解析とは

マイクロアレイ (MA) の原理と応用途

次世代シーケンサー (NGS) の原理と応用途

[補足] 次世代シーケンサーの活用事例 [metagenome/ChIP-seq] etc...

遺伝子発現解析の統計手法

正規化の必要性と手法 [MA/NGS]

発現変動解析 (Differential Expressed Genes: DEG) [MA/NGS]

Enrichment 解析 (GO, PPI, pathway)

可視化 (heatmap, クラスタリング etc)

補足

Further reading/ checking (基本的な統計手法、講習会など)

実例

実際に発現変動解析、エンリッチメント解析、可視化を行ってみる。

利用するデータセットと論文

Isaac J, Erthal J, Gordon J, Duverger O et al. DLX3 regulates bone mass by targeting genes supporting osteoblast differentiation and mineral homeostasis in vivo. *Cell Death Differ* 2014 Sep;21(9):1365-76. PMID: 24948010

5週齢マウスの大腿骨から取得した骨幹と骨幹端の細胞。Dlx3 を conditional KO し、トランスクリプトームを実施。それぞれ 6 検体ずつ存在。

データの取得方法について

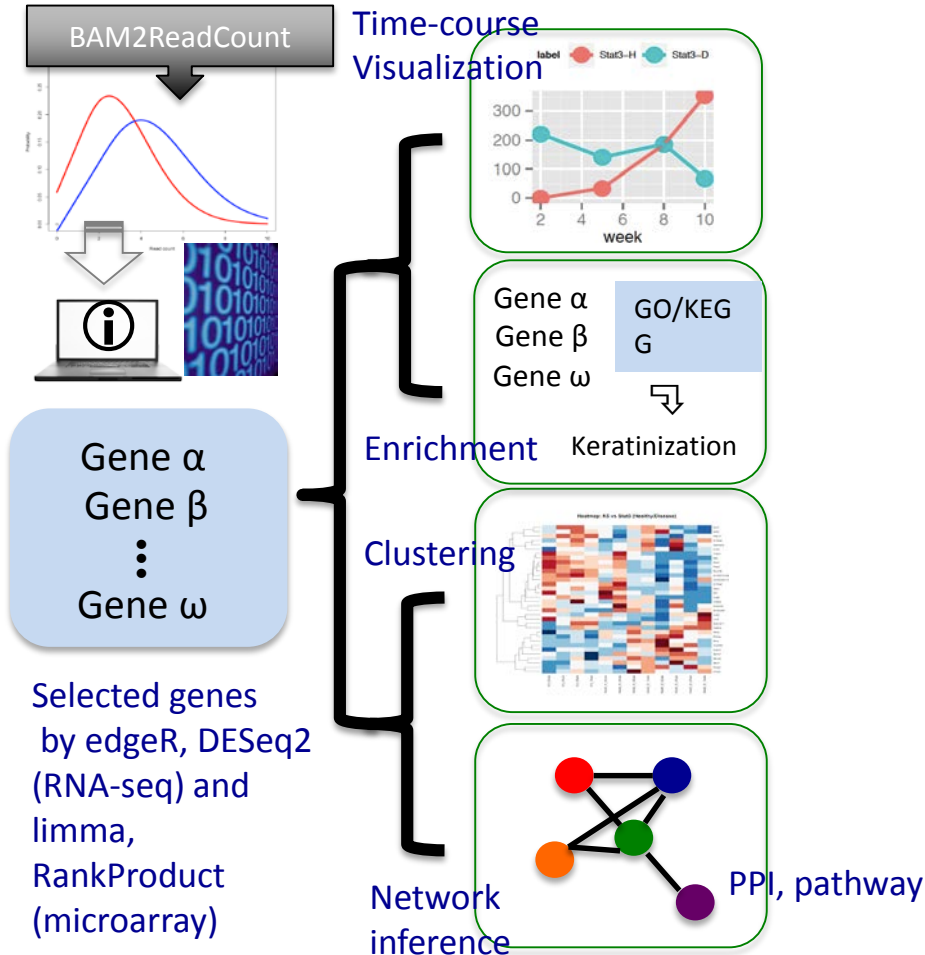
Accession number: GSE53105

配列情報は、公共データベース (NCBI/EMBL/DDBJ) に登録する必要がある。論文の投稿時点でデータを submit (access 不可選択可) して閲覧できるようにする必要がある。また、Accession number を記載するよう求められる (論文公開前など)。サンプル情報や説明、生データや処理後データ (発現量)、プラットフォーム (ここでは Illumina HiSeq 2000 single-end) などが記載されている。

以下、既に構築済みの解析パイプラインを適用した結果を紹介する。

RNA-seq 解析フロー

RNA-seq 解析パイプライン



リードカウントデータの正規化

発現変動解析

(RNA-seq: edgeR/DESeq2/voom)
(microarray: limma/RankProduct)

エンリッチメント解析

(GAGE: Bioconductor package)

ヒートマップ可視化

(階層クラスタリング)

タンパク質相互作用検索

(STRINGdb: Bioconductor package)

パスウェイ解析 (予定)

Pathview / ReactomePA

Tophat/Bowtie2 による reference への mapping、index 作成は別ツールをご利用下さい。

FASTQ (FASTA+quality 情報) 形式からリードカウントデータ抽出

1. 公共データ (NCBI) の場合のファイル取得

NCBI Sequence Read Archive (.sra) 形式から FASTQ 形式に変換 (fastq-dump) Biopython や R package SRADB、NCBI の prefetch を使えば、大量のファイルもスクリプト処理可能。

2. Quality check とトリミング

低クオリティの配列や、アダプター配列を除去する必要があることがある。FASTQC (Java) や Toolkit-X による quality-check、Trimomatic によるアダプター配列除去やトリミングを実施する。

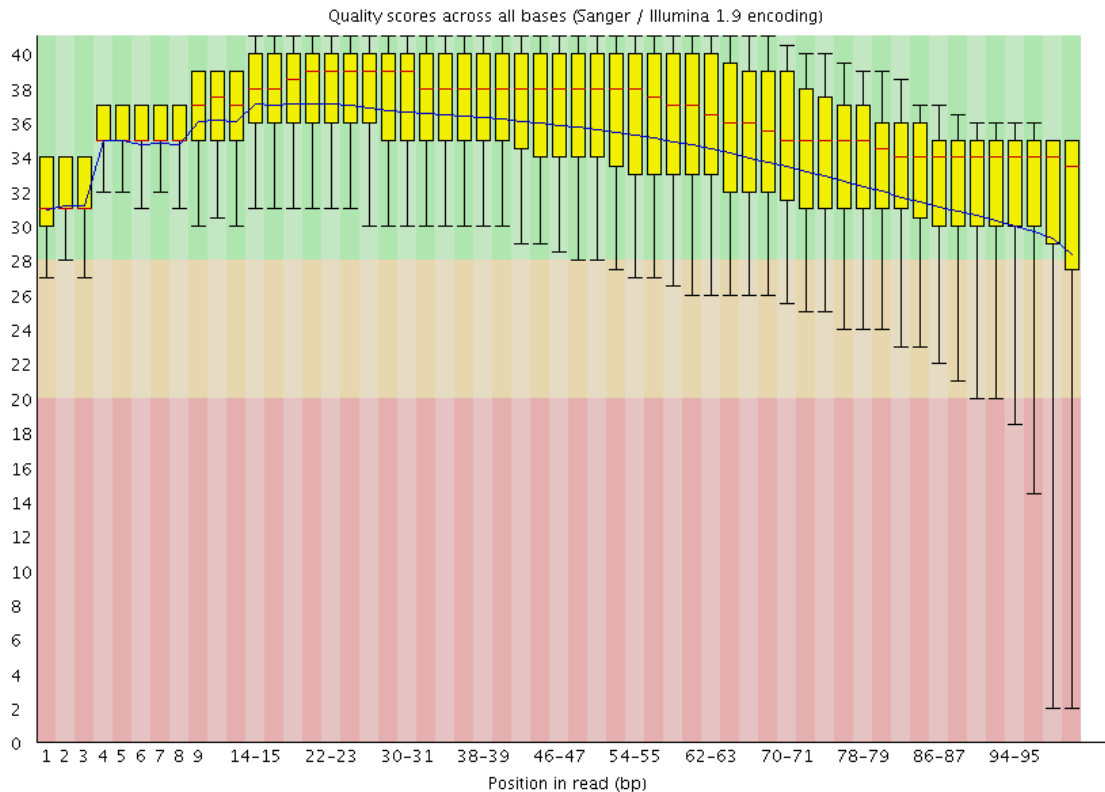
3. Mapping (ゲノム配列既知)、de novo assembly (非モデル生物)

[例] Ensembl/NCBI/UCSC からゲノム情報を取得。たとえば UCSC から mouse genome (mm10) 取得後、マッピング (bowtie2 & tophat2) と cDNA read による影響した後、bam ファイルから count data を抽出 (Rsubread) した結果を紹介。

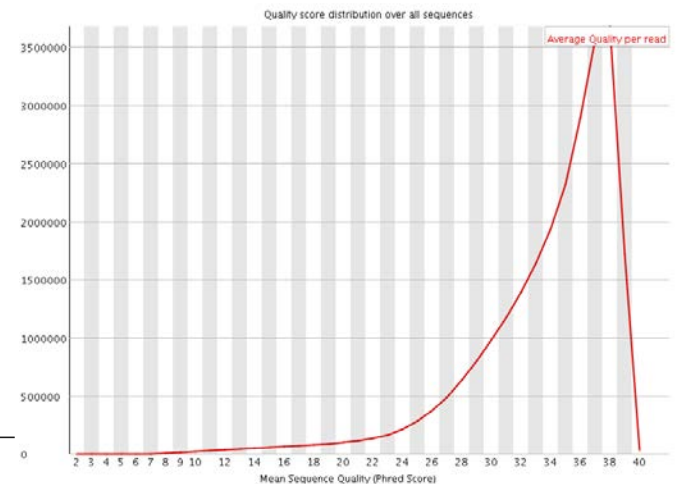
Quality Check

FASTQC によるクオリティーチェック

PCR の伸長反応時における不十分なリード (クオリティの低い) の除去、GC 含量の計算を、各 base 毎に表示してくれる。他 R パッケージ qrrc/ShortRead など様々なツールがある。



Read の終わりの方になると、sequence の quality が減少する傾向がある (左図)。Quality の分布が右より (max=40) が望ましい (下図)。



Triming

Low quality / アダプター配列の除去 (Illumina)

低クオリティーのリード除去、アダプター配列を除去して mapping 率をあげる作業。microRNA など、そもそも短い配列ではアダプター配列を除去しないと mapping されない。低クオリティーのリードを除去して信頼性を上げるのが目的であるが、リード数が減少する。

トリム前

Gene001 958
Gene002 7
Gene003 491
Gene004 1649
Gene005 1187
Gene006 12

トリム後

Gene001 492
Gene002 4
Gene003 246
Gene004 861
Gene005 620
Gene006 7

Trimmomatic (Java) によるトリミング (左)。今回のトリミングでは、おおむねリードが半分になっている。他にも、FASTX-Toolkit や cutadapt (python) などがある。Trimmomatic は Illumina pair-end read にも対応し、かつ TruSeq version それぞれに対応したトリミングを自動で実行してくれる。

(Spliced) mapping

Tophat / Bowtie2 / subread による (spliced) mapping

次世代シーケンサーで read した short read transcript を、ヒトやマウスといったモデル生物で既に解読されている reference genome へ mapping する。真核生物のトランスクリプトームの場合、逆転写酵素で mRNA を cDNA に逆転写してから PCR するが、エクソン領域はゲノム上の離れた位置に存在することがあるため、mapping 時に splicing が起きている場所 (splice junction) を特定する作業が必要になる。Bowtie2 は高速な mapping tool であり、Tophat は、splice junction を検出して bowtie に渡し、mapping するツールである。

Mapping 結果は、Sequence Alignment Map (sam) 形式もしくは Bed 形式に変換される。SAM はテキスト形式だが、BAM はバイナリー形式でファイル容量を圧縮するとともに、splice junction を検索しやすいようになっている。

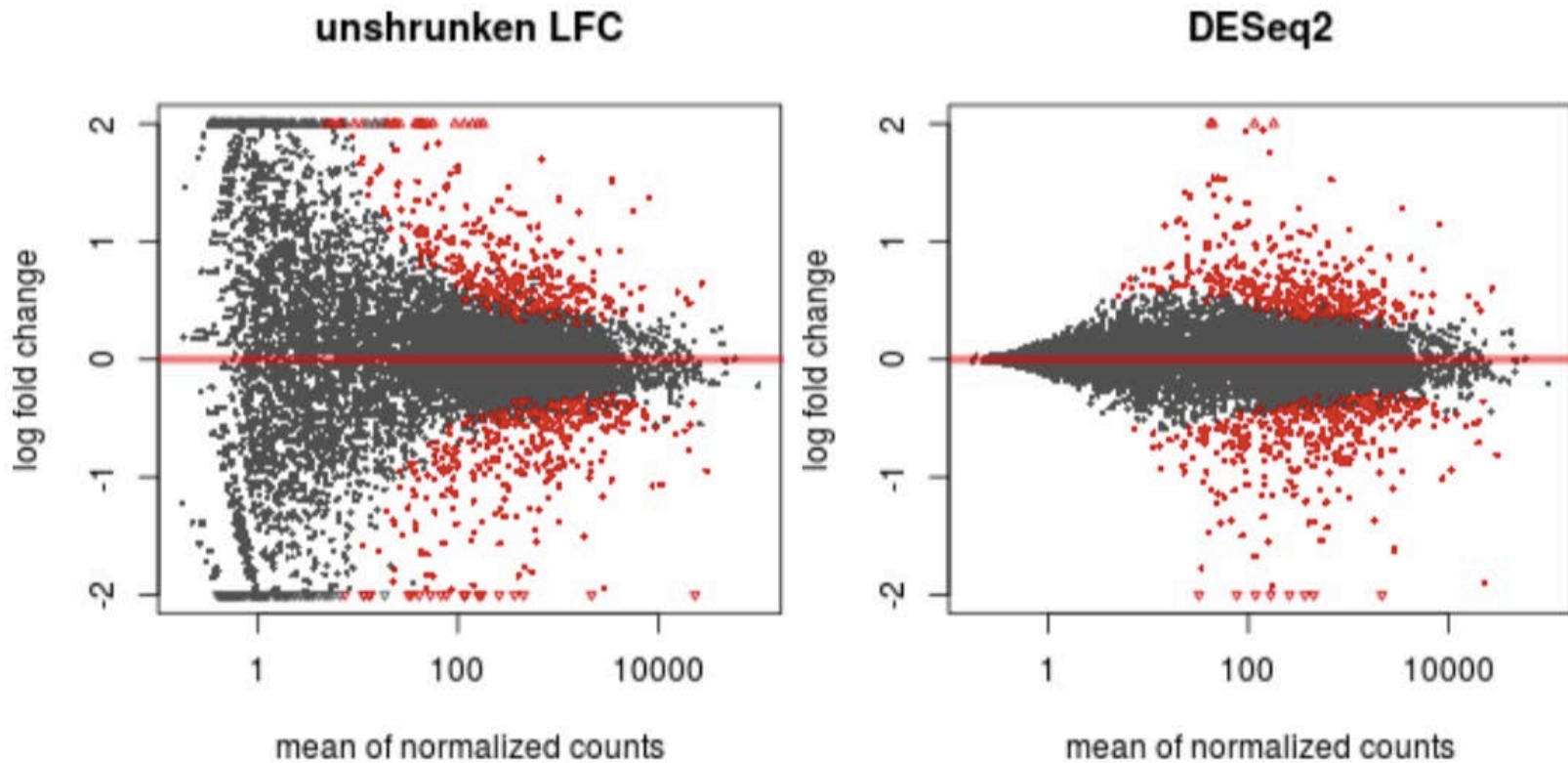
BAM ファイルには、ゲノムの各領域ごとの short read 数が記載されている。ここから、exon 領域の開始終了点等を記載したファイル (annotation ファイルと呼ぶ) を用いて、各遺伝子、もしくは splicing variant も考慮した transcript のリード数を抽出することで、続く統計解析に用いるデータ (read count data) が得られる。

モデル生物の一部では、Illumina iGenome に reference genome, Bowtie/BWA index や annotation ファイルが置かれている (UCUC /NCBI /EMBL 等、同じバージョンでも異なるファイルが存在)。マウスは mm9/mm10, ヒトでは hg19,18 がよく用いられる。なお、iGenome から DL できない場合は、reference genome から bowtie2-build を用いて Bowtie index を作成する必要がある。

正規化

正規化の必要性

正規化手法: DESeq2 適用前 (左) と適用後 (右) の MA-plot (M: 平均、A 差)



低発現遺伝子の発現量の比は大きくなる傾向。信頼性の問題がある。

正規化

マイクロアレイの場合

Affymetrix Gene Chip は 1 色。Gene Expression Omnibus に最も登録件数が多い。2 色の場合 (Agilent 等) は (Cyanin dyes Cy3: 緑 と Cy5: 赤) を用いるが、蛍光色素の違いによるズレが存在する。蛍光強度の強さに依存する分散の違いによるズレ、background noise による系統的なズレ (2 群比較の場合、差はゼロになるべき) が生じてくる。

正規化手法: Mas5 (Affy), RMA (Affy), GCRMA (Affy), LOWESS (Agilent), Quantile (all)

NGS の場合

リード数の違いによる系統的なズレ、short read を mapping する性質上、遺伝子毎に長さが異なるため各遺伝子によって transcript のカウント数が異なってくる。また、GC 含量 (多いと PCR の増幅が難しい) も影響する。

正規化手法: TMM (edgeR), DEGSeq2, RPKM, FPKM (Cufflinks), Median, Quantile etc...

正規化

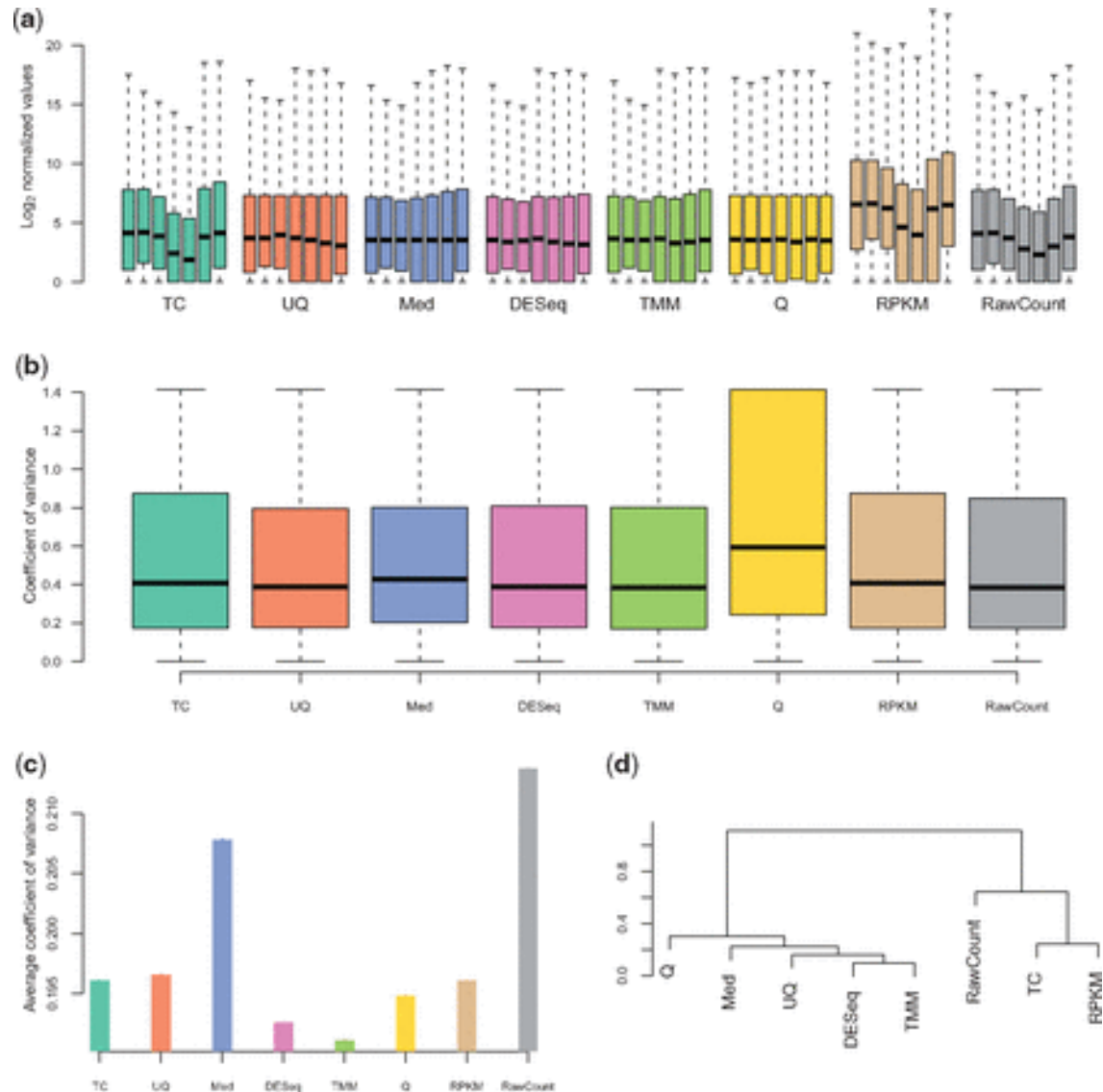
RNA-seq 正規化手法の比較

edgeR で実装されている TMM (Trimmed Mean of M-value) 正規化や DESeq 正規化がよいという結論

NCBI SRA 登録には、生データ (FASTQ を sra 形式に変換) と正規化データ (RPKM) 推奨

発現変動解析で用いる手法と正規化は揃える。

Count data では edgeR or DESeq2 or voom (limma) 付属の正規化, cuffdiff では RPKM 利用がよいと思われる。



発現変動解析

正規化後、2群間の同じ(遺伝子の発現量の差が有意に異なるかを決定するため、各群・各遺伝子毎のデータ (replicate が存在すること前提) から統計モデルによる検定を行う。ヒトの場合、遺伝子数が 23000 程度存在するため、多重検定の補正が必要となる。多くの場合、FDR (False Discovery Ratio) に基づく補正 (Benjamini and Hochberg) を行うことが多い。

マイクロアレイの場合

発現量は蛍光強度で、遺伝子発現 (プローブ) は、対数正規分布になることが知られている。

手法: limma (linear model of microarray), rank product

NGS の場合

Read count (short read を reference genome にマッピングした際に得られるカウント) もしくは RPKM を用いる。Read count は、負の二項分布 (分散が平均より大きい) ため、Poisson 分布では表現が難しい) になることが知られている。

手法: edgeR,, DESeq2, cuffdiff, voom (RPM 正規化による limma 適用) etc...

発現変動解析

今回のデータに適用した場合

手法: DEGSeq2 を利用。低発現データ (確率性による信頼性低) を補正

gene	logFC	log2Mean	FDR	pvalue
Grin2c	1.999288958	6.158469212	1.24E-18	6.58E-23
Cd300ld	-1.473932977	6.462205074	5.66E-12	6.01E-16
Muc5ac	1.560783109	5.003230377	1.29E-09	2.06E-13
Gfra1	0.905525699	9.524226676	3.88E-08	8.24E-12
Emilin3	1.398694317	7.720557867	1.05E-07	2.84E-11
Cadm1	1.067306983	11.94110544	1.05E-07	3.34E-11
Dlx4	1.369051748	6.388466871	3.23E-07	1.20E-10
Atp2b2	1.365038345	3.912357615	3.37E-07	1.43E-10
9130019P16Rik	1.157031297	6.355261965	3.79E-07	1.81E-10
Phlda1	0.92333889	9.321902413	2.19E-06	1.16E-09
Tmem200a	-1.245502124	6.088654822	4.37E-06	2.55E-09
Enpp1	1.05714678	10.7845773	9.01E-06	5.87E-09
Scn3a	1.233825942	6.634028899	9.01E-06	6.22E-09
Ltbp2	1.111328392	10.66160969	9.06E-06	6.73E-09
Dlx3	-1.205751605	8.852765911	9.25E-06	7.86E-09
Exoc3l4	0.807716105	9.14891912	9.25E-06	7.76E-09

Enrichment 解析

Enrichment (濃縮) 解析とは？

Gene Ontology とは、遺伝子毎に MF (Molecular Function), CC (Cellular Component), BP (Biological Process) という 3 つのカテゴリ毎に遺伝子機能が用語 (ontology) としてまとめられている。

STAT3 (転写因子) の GO terms

GO ID	Qualified GO term	Evidence	PubMed IDs
GO:0000981	RNA polymerase II transcription factor activity, sequence-specific DNA binding	IEA	
GO:0004871	signal transducer activity	IEA,TAS	7512451
GO:0005515	protein binding	IPI	8662591
GO:0008134	transcription factor binding	IPI	15664994
GO:0046983	protein dimerization activity	ISS	

GO ID	Qualified GO term	Evidence	PubMed IDs
GO:0005739	mitochondrion	IEA	
GO:0090575	RNA polymerase II transcription factor complex	IMP	16946298

Enrichment 解析

Enrichment (濃縮) 解析とは？

発現変動遺伝子 (DEG) に、免疫関連の遺伝子が多く出てきた場合を例に考察。

STAT3, JAK2, NFkB, IRF4, CRCX12, CCR5, IL1b etc...

このとき、GO:0019221 (cytokine-mediated signaling pathway) という GO term が数回出現することになる。もしランダムに遺伝子を選定した場合、GO:0019221 が 4 回現れるようなことは考えられないため、発現変動遺伝子の間では、GO:0019221 が濃縮されているため、頻繁に出てくると考えられる。

統計検定を行うとき、超幾何検定を行う。ここで超幾何分布とは、 N 個からなる母集団から n 個の要素を非復元抽出したとき、総数 K 個の白玉から k 個の白玉が含まれている確率を与える。ランダムに玉 (GO term) を取り出したときに比べて、DEG から玉 (GO term) を取り出すと、白玉が圧倒的に多い場合、濃縮しているかどうかを p 値で定量化できる。

Gene Ontology ではなく、DEG の遺伝子があるカテゴリー (同じシグナル伝達経路上など) に有意に多く含まれているかの検定も含めて、Gene Set Enrichment Analysis と呼ぶ。超幾何分布ではない統計モデルを用いる (parametric GSEA) もある。

Enrichment 解析

今回のデータに適用した場合 (GO enrichment)

DEGSeq2 適用で得られた発現変動遺伝子を対象に、Gene Ontology (MF/BP/CC)、KEGG pathway, Reactome pathway で濃縮が認められる ontology や pathway を計算

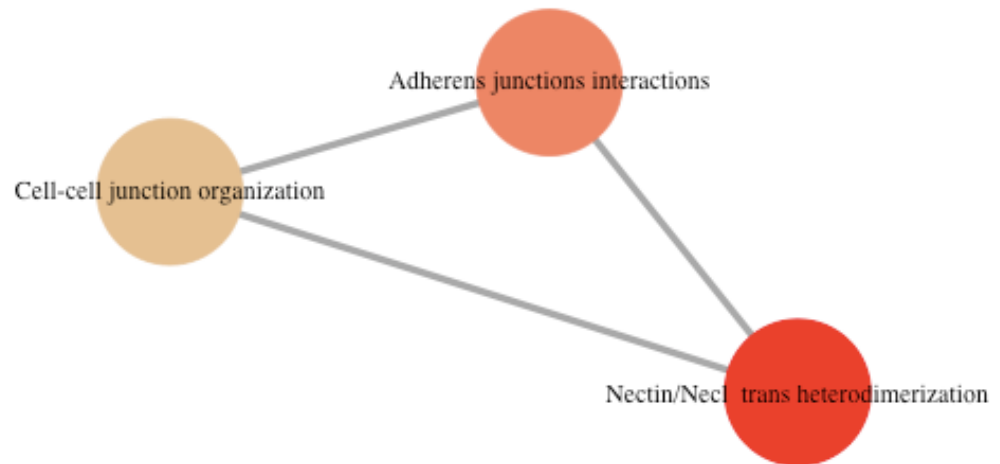
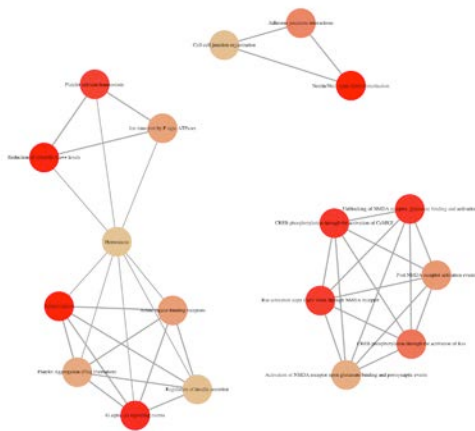
ID	Description	qvalue	geneID
GO:0050885	neuromuscular process controlling balance	0.009099227	Atp2b2/Grin2c/Ptprq
GO:0043206	extracellular fibril organization	0.009099227	Ltbp2/Muc5ac
GO:0097435	fibril organization	0.010858728	Ltbp2/Muc5ac
GO:0050910	detection of mechanical stimulus involved in sensory perception of sound	0.010858728	Atp2b2/Ptprq
GO:0050905	neuromuscular process	0.010858728	Atp2b2/Grin2c/Ptprq
GO:0044707	single-multicellular organism process	0.015240071	Adra2c/Atp2b2/Cryba4/Dlx3/Dlx4/Grin2c/Muc5ac/ Enpp1/Scn3a/Adamts18/Cd300ld/Ptprq/Cadm1
GO:0032501	multicellular organismal process	0.018146274	Adra2c/Atp2b2/Cryba4/Dlx3/Dlx4/Grin2c/Muc5ac/ Enpp1/Scn3a/Adamts18/Cd300ld/Ptprq/Cadm1
GO:0050974	detection of mechanical stimulus involved in sensory perception	0.025763125	Atp2b2/Ptprq
GO:0035315	hair cell differentiation	0.032256058	Atp2b2/Ptprq

Gene Ontology (Biological Process)

Enrichment 解析

今回のデータに適用した場合 (Reactome enrichment 1/4)

DEGSeq2 適用で得られた発現変動遺伝子を対象に、Gene Ontology (MF/BP/CC)、KEGG pathway, Reactome pathway で濃縮が認められる ontology や pathway を計算

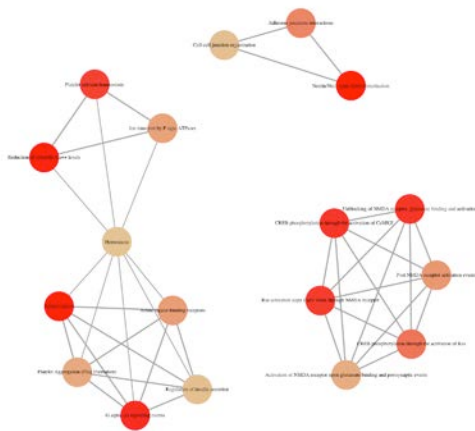


3つのクラスターを検出

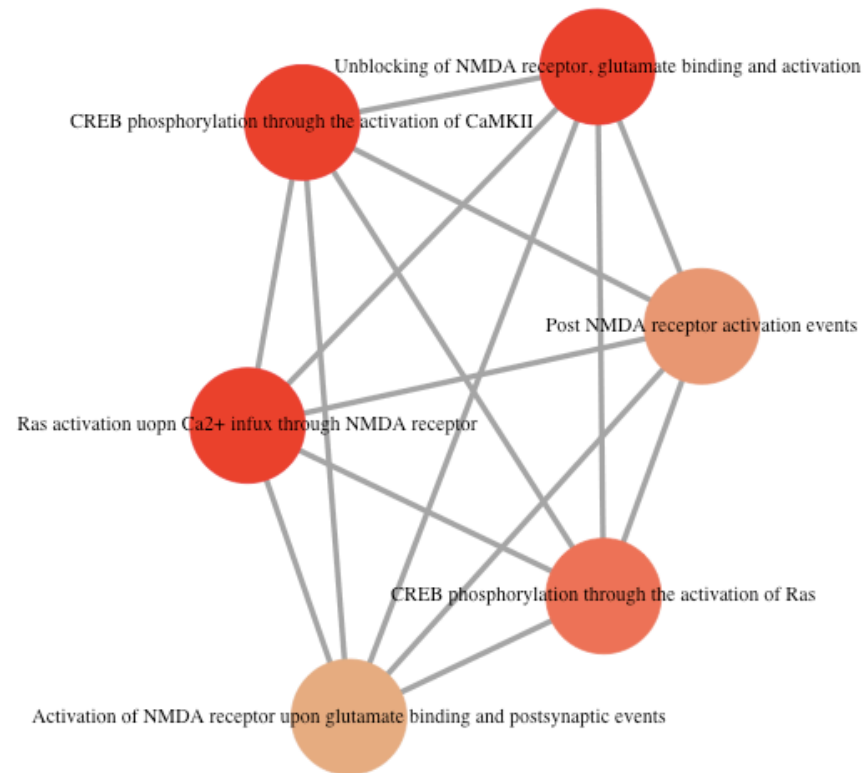
Enrichment 解析

今回のデータに適用した場合 (Reactome enrichment 2/4)

DEGSeq2 適用で得られた発現変動遺伝子を対象に、Gene Ontology (MF/BP/CC)、KEGG pathway, Reactome pathway で濃縮が認められる ontology や pathway を計算



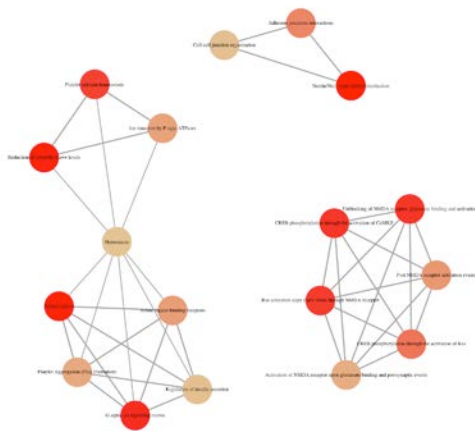
3つのクラスターを検出



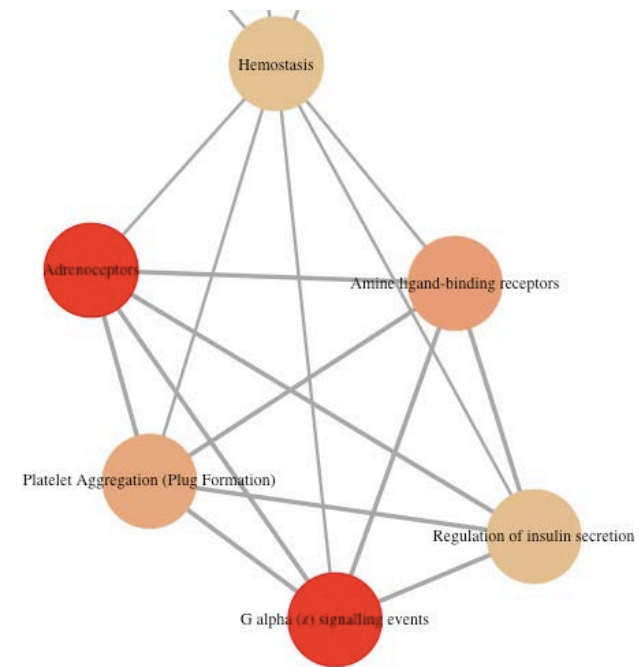
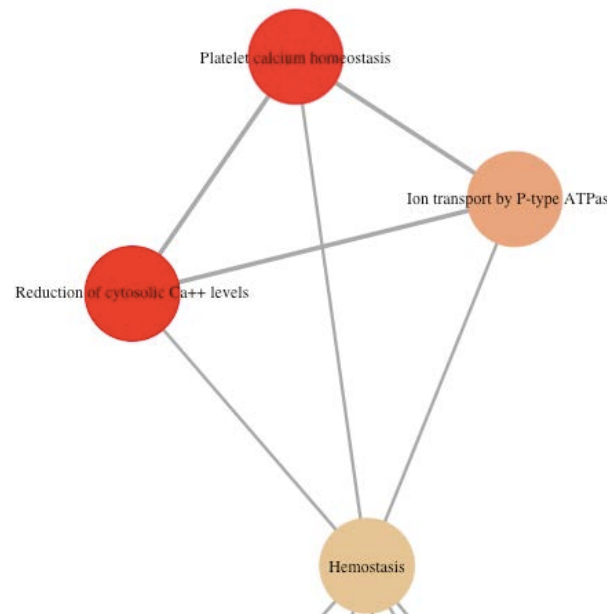
Enrichment 解析

今回のデータに適用した場合 (Reactome enrichment 3/4)

DEGSeq2 適用で得られた発現変動遺伝子を対象に、Gene Ontology (MF/BP/CC)、KEGG pathway, Reactome pathway で濃縮が認められる ontology や pathway を計算



3つのクラスターを検出

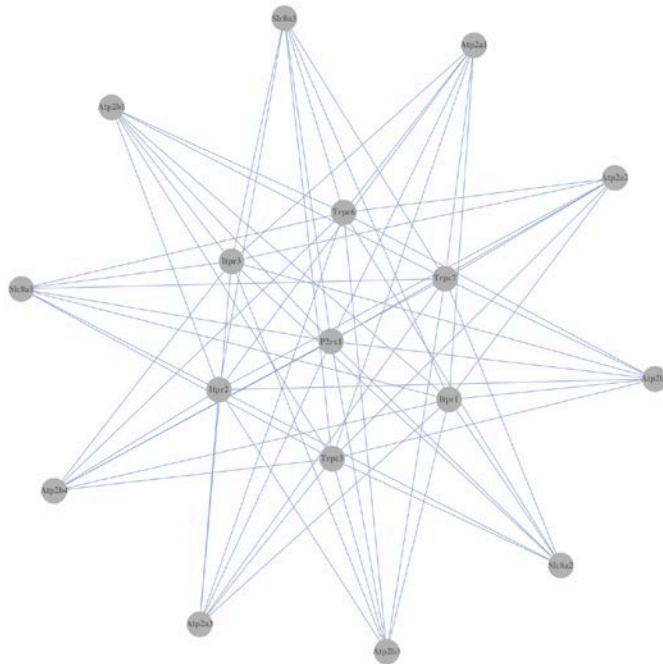


Enrichment 解析

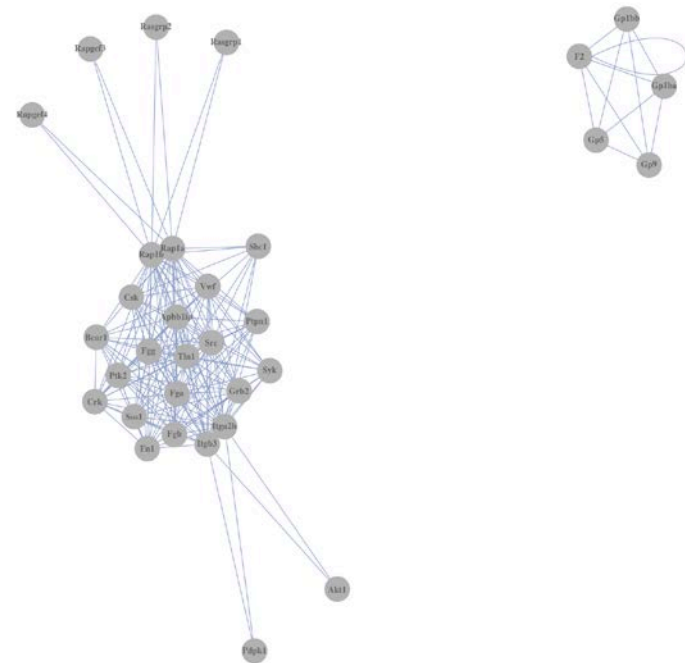
今回のデータに適用した場合 (Reactome enrichment 4/4)

ある Reactome pathway 上の発現変動遺伝子

Platelet calcium homeostasis



Platelet Aggregation Plug Formation

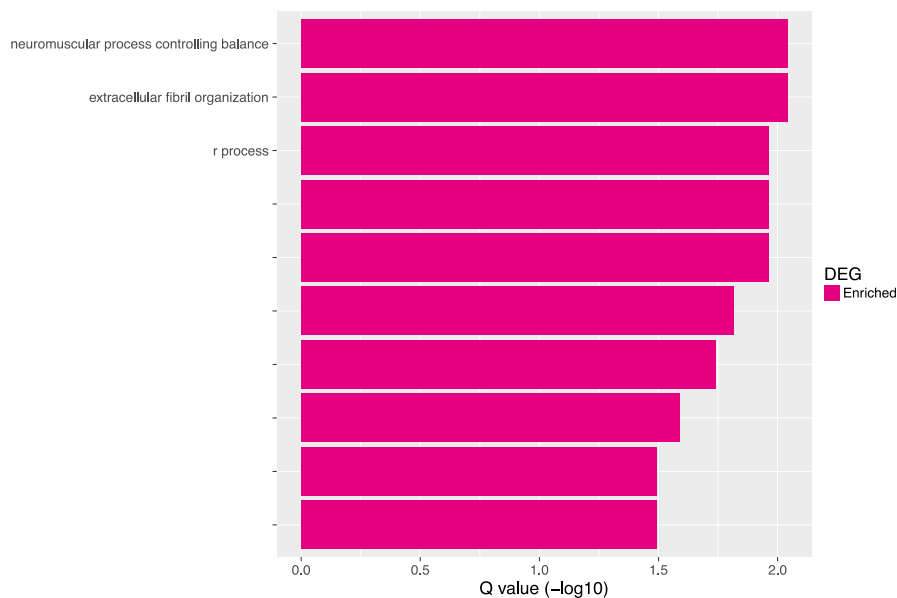


可視化

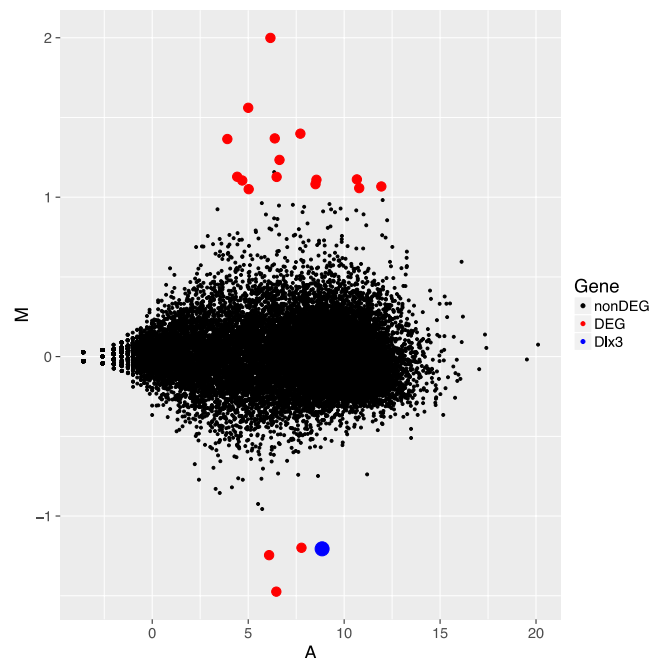
発現変動遺伝子の発現状態

発現変動遺伝子 (DEG) は、2群間で発現量に差がある (高いもしくは低い) ため、グループ分けして可視化するとわかりやすい。階層クラスタリングによる分類と、ヒートマップによる可視化と MA-plot、GO bar plot がよく用いられる。

GO-barplot



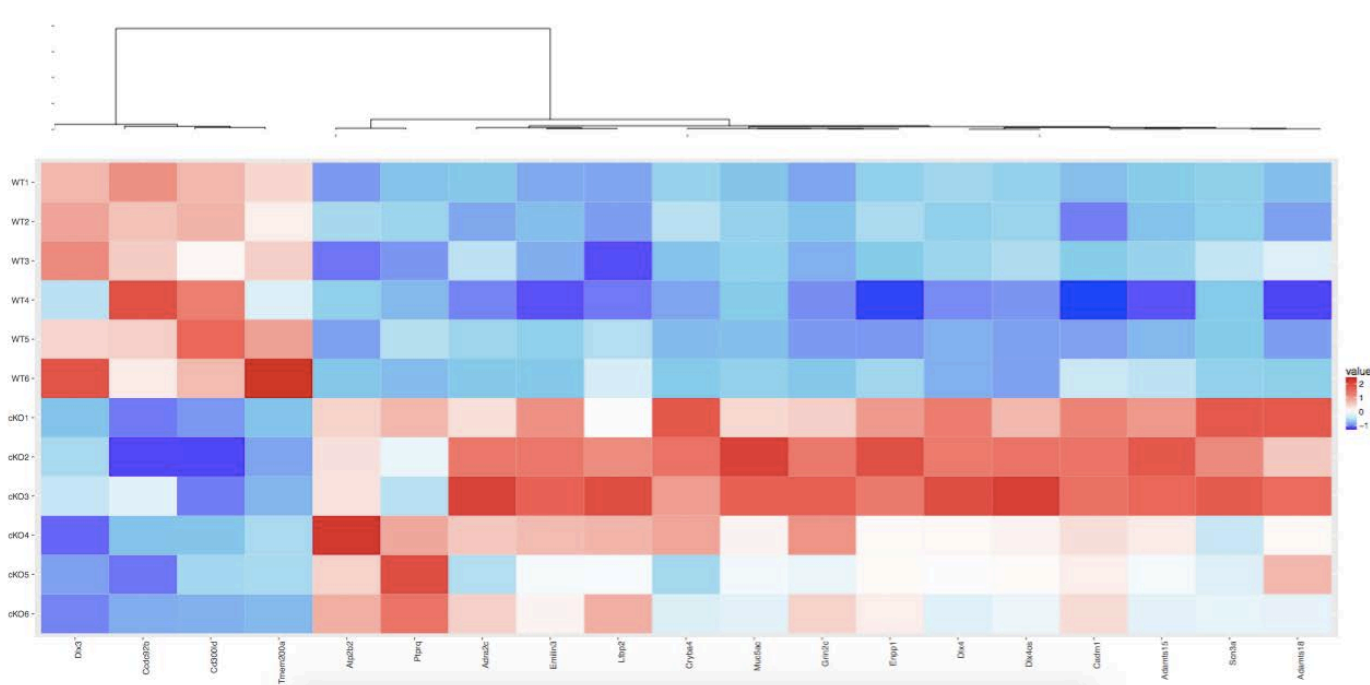
MA-plot



可視化

今回のデータに適用した場合 (heatmap)

ヒートマップによる可視化はパッケージ `qplot` でデータを z 変換した後、`heatmap.2` を用いて可視化する場合が多い。遺伝子数が多くなると (>500)、出力ファイル (eps) のサイズを変更し、`heatmap.2` の option も工夫して図を収める調整が必要 (これが大変!)。パッケージ `ggplot2` で `heatmap.2` 相当の図を作成する関数を作成して対応している。



習得が必要な基礎的な項目

- [生物] 生命科学の基礎、ゲノミクス
- [計算機] R and Bioconductor / command line / python
- [統計手法] 多重検定と一般化線形モデル、超幾何検定など

教科書と講習会

- [教科書] トランスクリプトーム解析 (門田先生、共立出版)
- [Web] (Rで)塩基配列解析) 門田先生
http://www.iu.a.u-tokyo.ac.jp/~kadota/r_seq.html
- [教科書] RNA-Seq実験ハンドブック (鈴木先生、実験医学別冊)
- [学会] 次世代シーケンサー現場の会 (次回は仙台)
- [講習会] 平成28年度NGSハンズオン講習会
<http://biosciencedbc.jp/human/human-resources/workshop/h28>

Memo