



黄瓜重组位点分析 和高密度基因组遗传图谱构建

小组：G01

组员：邓学斌 许梦楠 王晓波 周倩

报告人：周倩



报告提纲

- 高通量测序和重测序简介
- 课题背景
- 黄瓜重组位点分析思路
- 黄瓜基因组遗传图谱构建思路

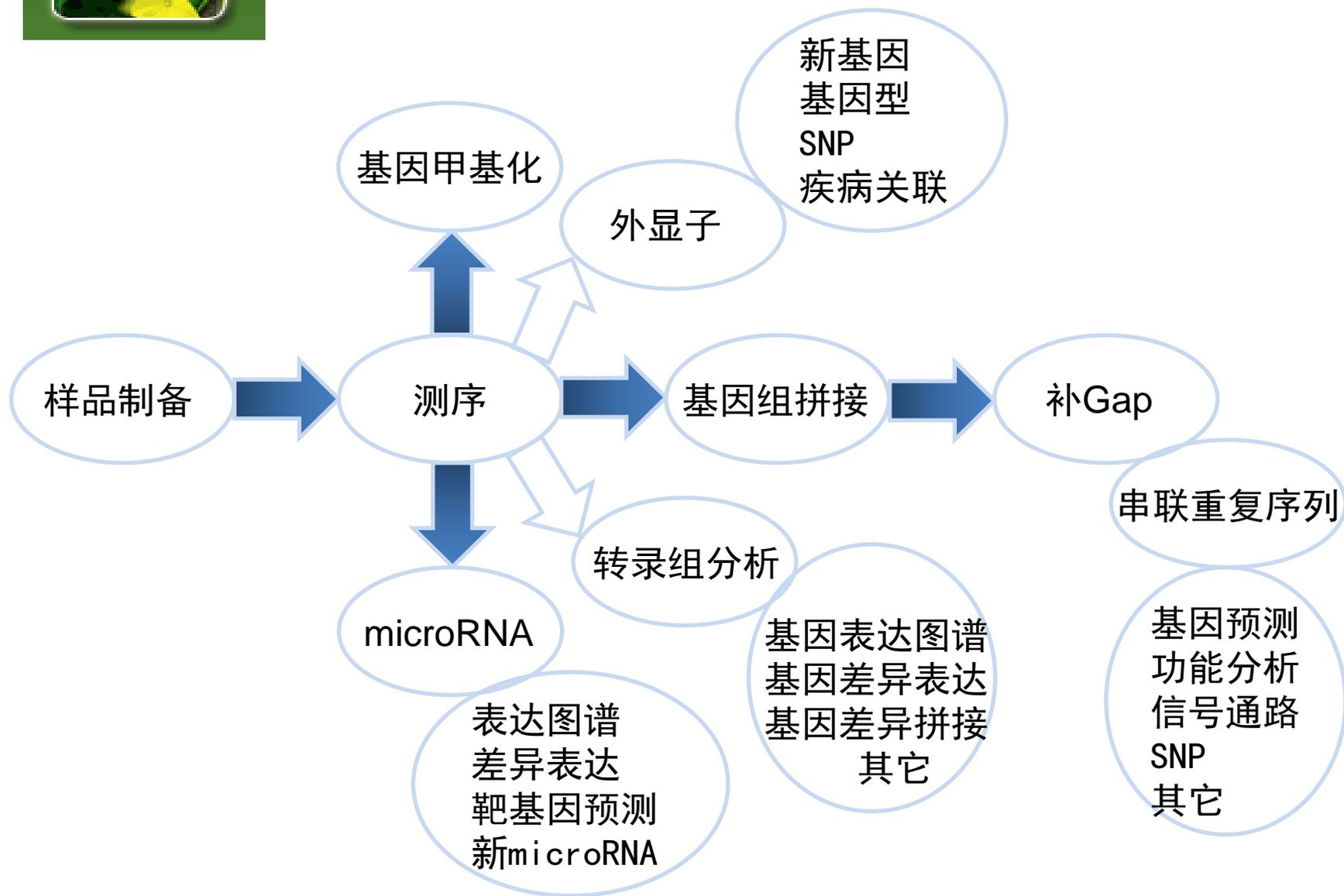


报告提纲

- 高通量测序和重测序简介
 - 、 课题背景
 - 、 黄瓜重组位点分析思路
 - 、 黄瓜基因组遗传图谱构建思路



高通量测序



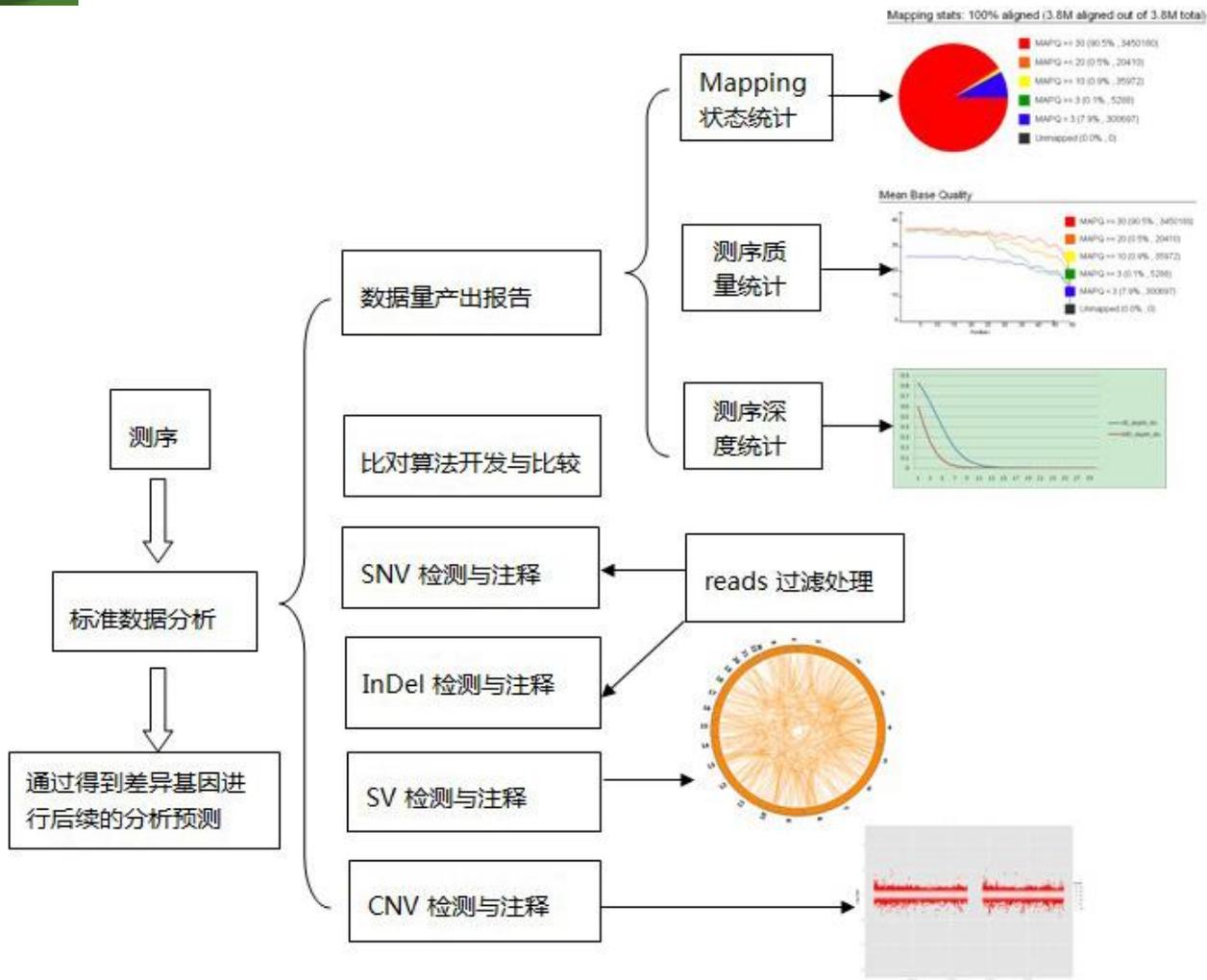


高通量测序(NGS)

- 全基因组测序 Whole Genome Sequencing
- 目标区域测序 Target Region Sequencing
- 外显子组测序 Exome Sequencing
- 细胞系的从头测序 De novo sequencing of cell line
- 简化的表观亚硫酸氢盐测序 Reduced Representation Bisulfite Sequencing (RRBS)
- DNA甲基化免疫沉淀测序 MeDIP Sequencing
- 染色质免疫沉淀测序 ChIP Sequencing



高通量测序数据分析流程





多种测序平台的比较

3730xl及Illumina, 454, Ion Torrent, SOLiD, PacBio RS等
运行时间、测序成本、读取长度和测序通量

Instrument	Run time ^a	Millions of reads/run	Bases/read ^b	Yield Mb/run	Reagent cost/run ^c	Reagent cost/Mb	Minimum unit cost (% run) ^d
3730xl (capillary)	2 h	0.000096	650	0.06	\$96	\$1500	\$6 (1%)
Ion Torrent – ‘314’ chip	2 h	0.10	100	>10	\$500	<\$50	~\$750 (100%)
454 GS Jr. Titanium	10 h	0.10	400	50	\$1100	\$22	\$1500 (100%)
Starlight*	†	~0.01	>1000	†	†	†	†
PacBio RS	0.5–2 h	0.01	860–1100	5–10	\$110–900	\$11–180	†
454 FLX Titanium	10 h	1	400	500	\$6200	\$12.4	\$2000 (10%)
454 FLX+ ^e	18–20 h	1	700	900	\$6200	\$7	\$2000 (10%)
Ion Torrent – ‘316’ chip*	2 h	1	>100	>100	\$750	<\$7.5	~\$1000 (100%)
Helicos ^f	N/A	800	35	28 000	N/A	NA	\$1100 (2%)
Ion Torrent – ‘318’ chip*	2 h	4–8	>100	>1000	~\$925	~\$0.93	~\$1200 (100%)
Illumina MiSeq*	26 h	3.4	150 + 150	1020	\$750	\$0.74	~\$1000 (100%)
Illumina iScanSQ	8 days	250	100 + 100	50 000	\$10 220	\$0.20	\$3000 (14%)
Illumina GAIIx	14 days	320	150 + 150	96 000	\$11 524	\$0.12	\$3200 (14%)
SOLiD – 4	12 days	>840 ^g	50 + 35	71 400	\$8128	<\$0.11	\$2500 (12%)
Illumina HiSeq 1000	8 days	500	100 + 100	100 000	\$10 220	\$0.10	\$3000 (12%)
Illumina HiSeq 2000	8 days	1000	100 + 100	200 000	\$20 120 ^h	\$0.10	\$3000 (6%)
SOLiD – 5500 (PI)*	8 days	>700 ^g	75 + 35	77 000	\$6101	<\$0.08	\$2000 (12%)
SOLiD – 5500xl (4hq)*	8 days	>1410 ^g	75 + 35	155 100	\$10 503 ^h	<\$0.07	\$2000 (12%)
Illumina HiSeq 2000 – v3 ⁱ *	10 days	≤3000	100 + 100	≤600 000	\$23 470 ^h	≥\$0.04	~\$3500 (6%)

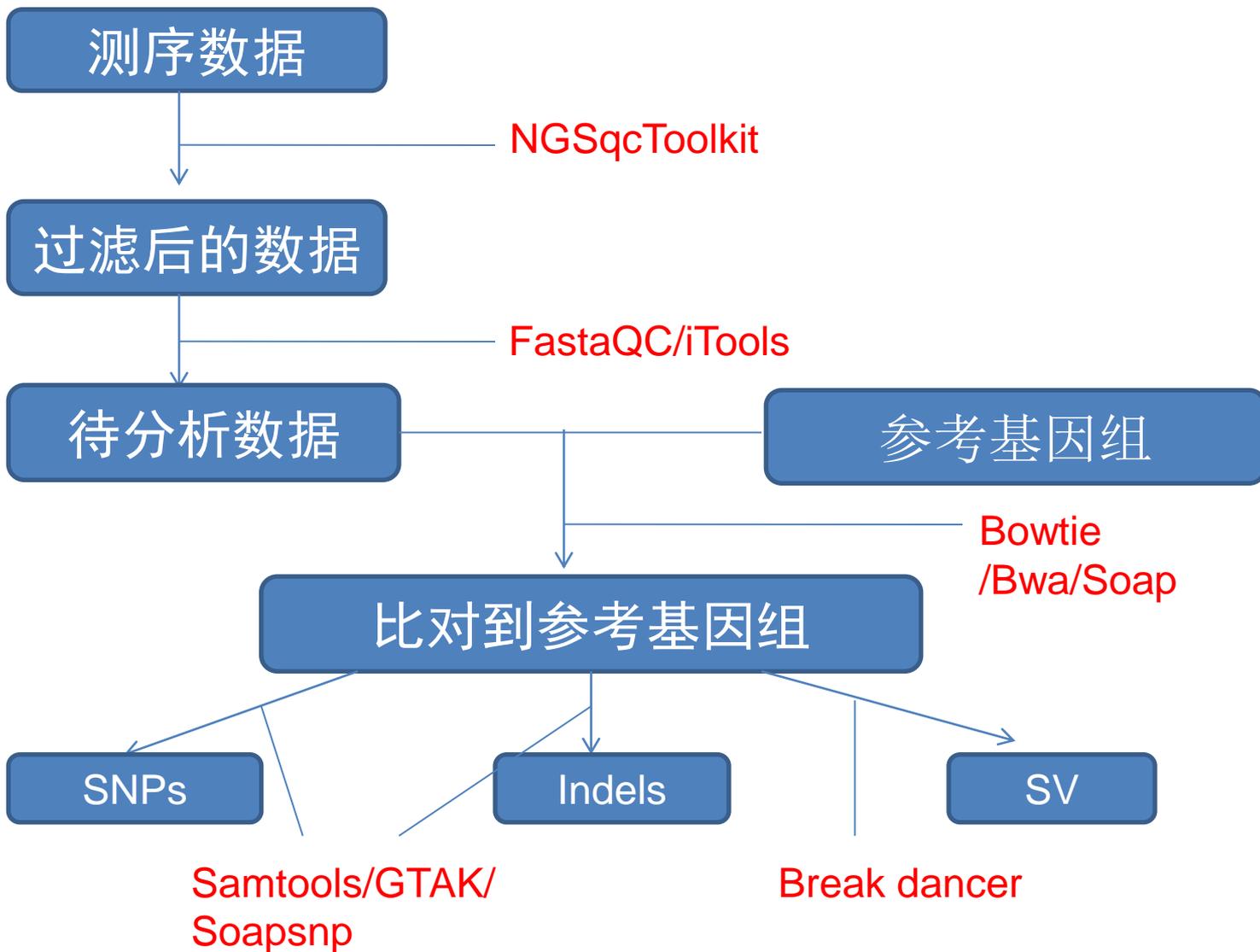


基因组重测序(re-sequencing)

- 基因组重测序是在已知物种基因组一致序列的情况下，对不同个体的基因组进行测序，并在此基础上对个体或群体进行差异性分析。
- 千人基因组重测序
- 肿瘤基因组重测序
- 拟楠芥基因组重测序
- 水稻
- 玉米



重测序工作流程





报告提纲

- 、高通量测序和重测序简介
- **课题背景**
- 、黄瓜重组位点分析思路
- 、黄瓜基因组遗传图谱构建思路



课题背景

- 重要概念：
- 重组：减数分裂期间同源染色体片段之间发生的交叉重组
- 遗传图谱：某一物种的染色体图谱，显示基因或者标记的线性相对位置。
- 重组率与遗传图谱：重组率越高，则共同遗传的概率越小，可判断基因间的相对距离越大。



课题背景

- 黄瓜是非常重要的蔬菜作物
- 已经完成了多个材料基因组测序
- 现有遗传图谱精度和密度较低，基因/QTL定位少或不精确
- 通过重测序挖掘SNP数据，构建高精度和高密度图谱，精确定位基因已经在人、水稻中应用。
- 确定重组位点速度快、精确度高、成本低





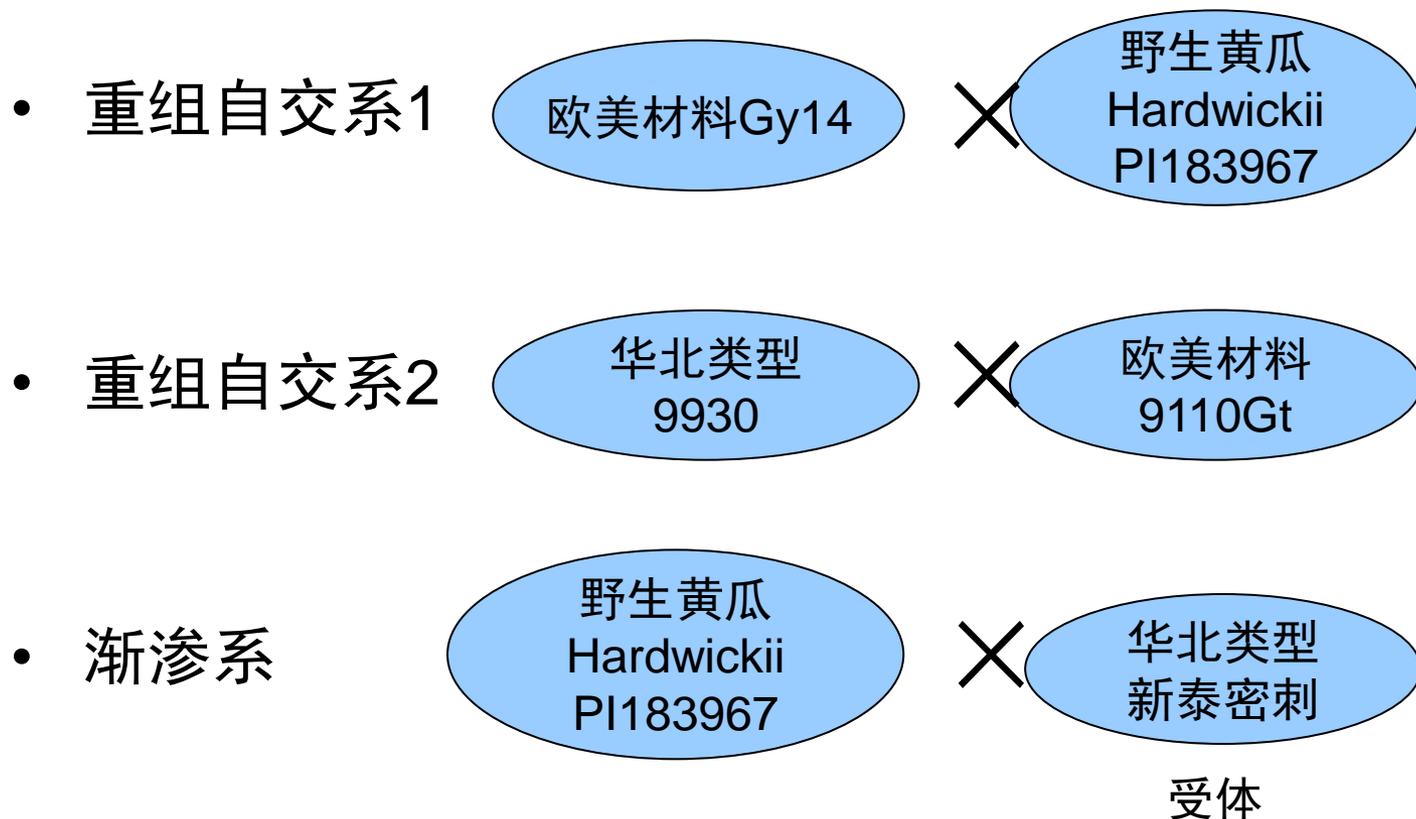
报告提纲

- 、高通量测序和重测序简介
- 、课题背景
- **黄瓜重组位点分析思路**
- 、黄瓜基因组遗传图谱构建思路



黄瓜重组位点分析思路

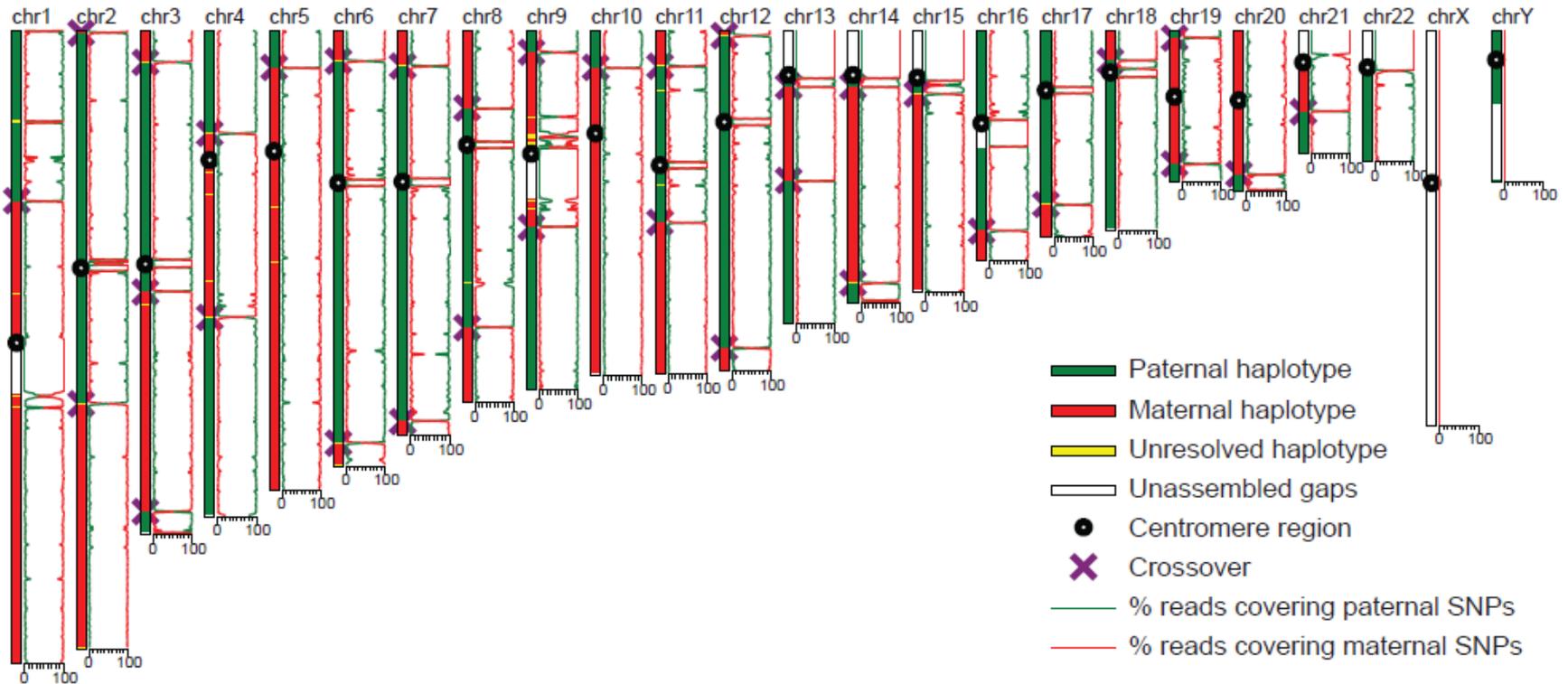
- 研究材料：三个永久群体





黄瓜重组位点分析思路

- 单个精子全基因组测序

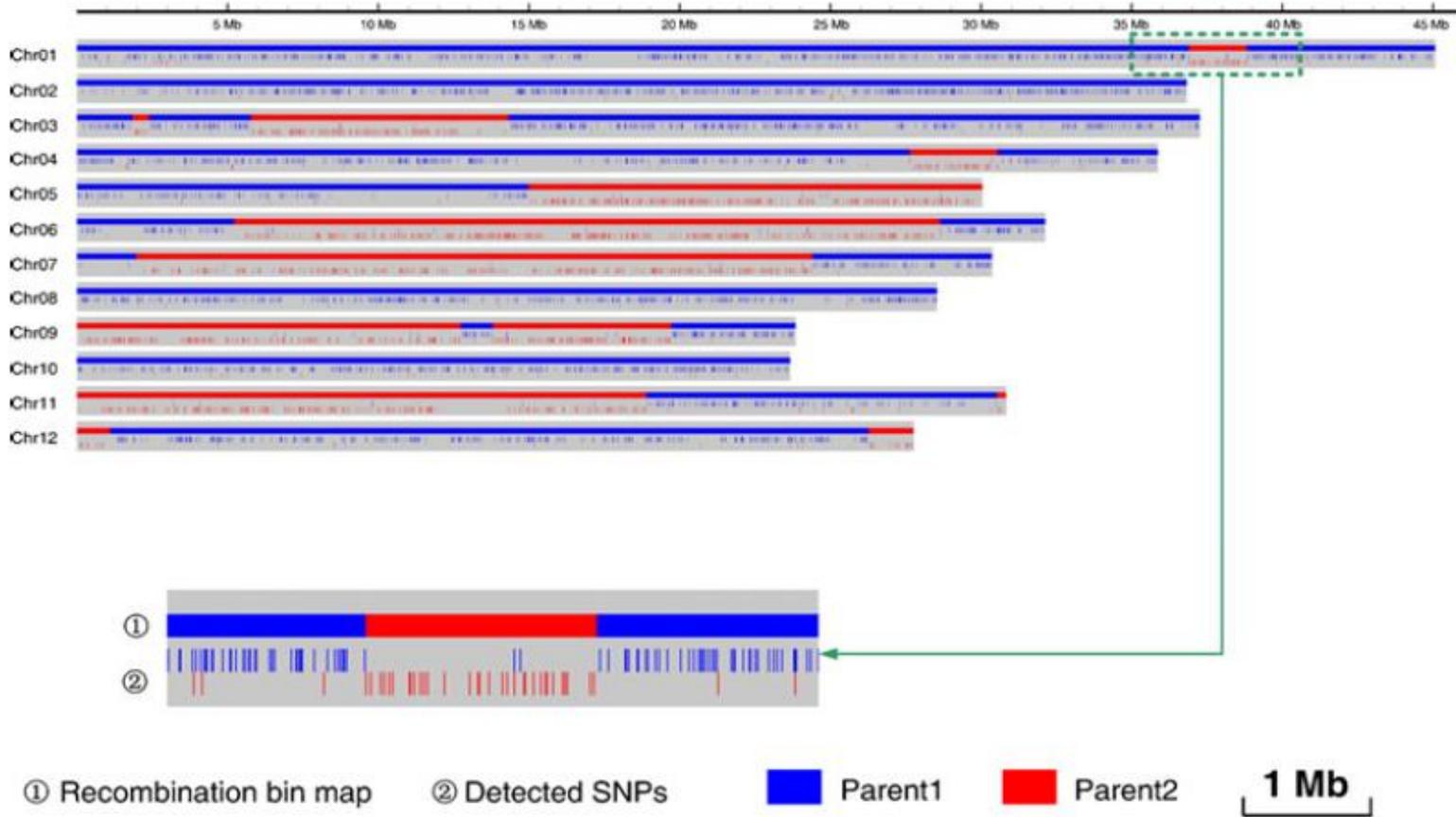


Probing Meiotic Recombination and Aneuploidy of Single Sperm Cells by Whole-Genome Sequencing. Sijia Lu et al; Science 338, 1627 (2012);



黄瓜重组位点分析思路

- 水稻重组自交系全基因组测序



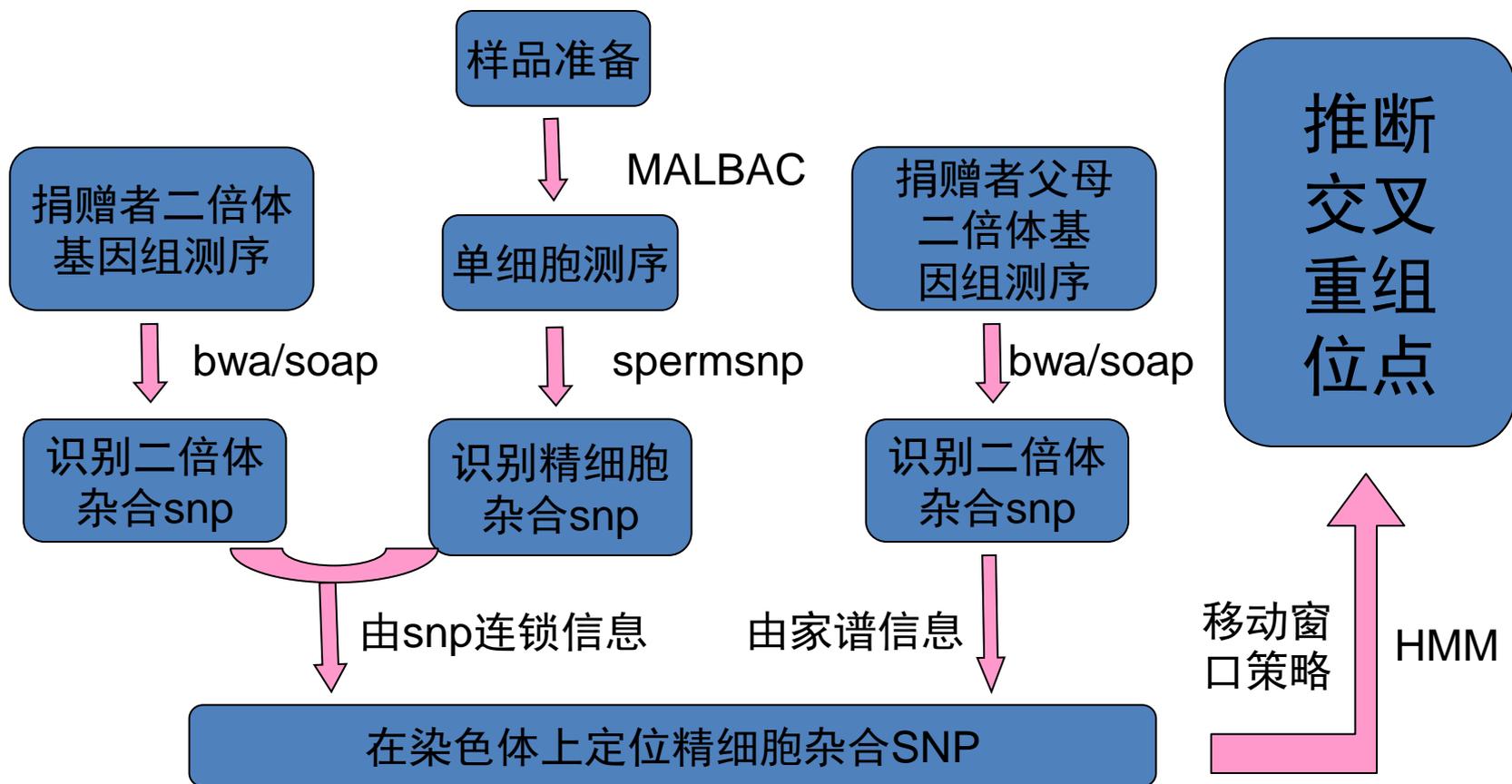
SEG-Map: A Novel Software for Genotype Calling and Genetic Map Construction from Next-generation Sequencing. Rice (2010) 3:98 - 102



黄瓜重组位点分析思路

---通过SNP确定重组位点位置

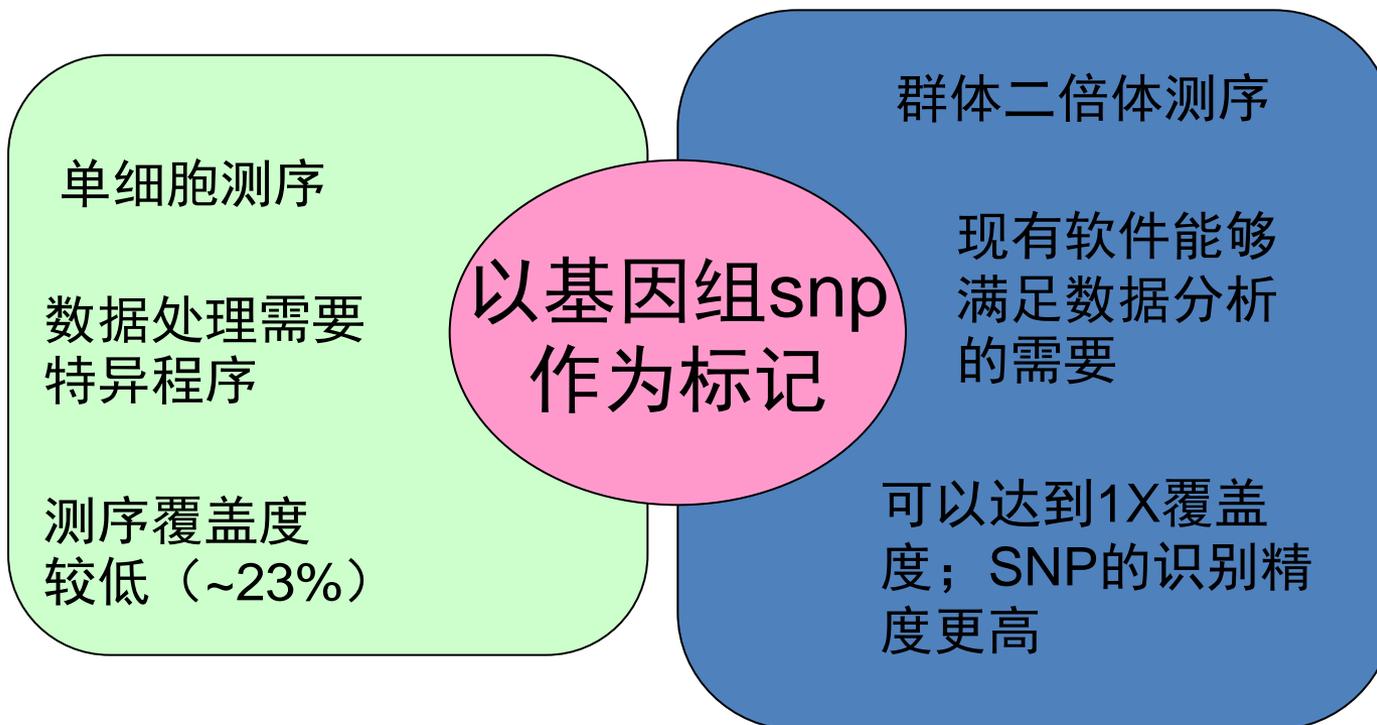
- 以单个精子全基因组测序的文章为例





黄瓜重组位点分析思路

- 与单个精细胞测序的比较





报告提纲

- 、高通量测序和重测序简介
- 、课题背景
- 、黄瓜重组位点分析思路
- **黄瓜基因组遗传图谱构建思路**



黄瓜基因组遗传图谱构建思路

- 每个重组区域都被视为一个Bin，每一个Bin作为一个分子标记，构建群体的基因组遗传图谱。

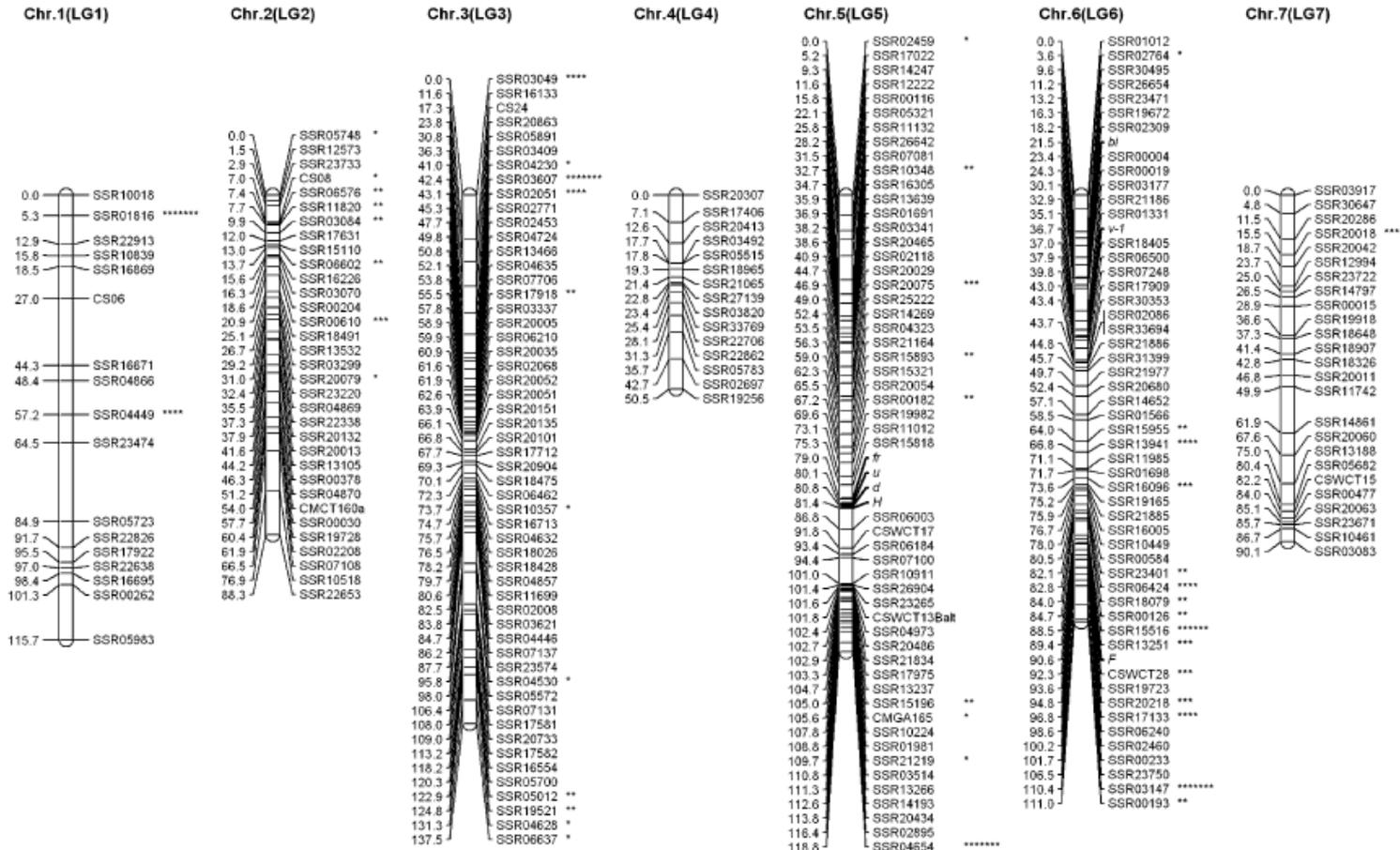
Bin即连锁
遗传的块

marker	genome build	chromosome	bp	cM
rs3720634	34	4	154399957	100.83
UT_4_154.123844	34	4	154502948	100.83
rs3693087	34	4	154614111	101.48
rs6279100	34	4	154676140	101.68
CEL-5_3149134	34	5	3149134	0
rs13478092	34	5	3601413	0.3
rs13478093	34	5	3974781	0.4
rs13478094	34	5	4310158	0.5
rs3664617	34	5	4474206	0.64
CEL-5_4604586	34	5	4603873	0.71
rs3666313	34	5	4811401	0.79
rs6190354	34	5	4864919	0.79
rs6402980	34	5	5438084	1.64
rs13478097	34	5	5688755	2.15
CEL-5_5867251	34	5	5866538	2.21
anf05.003.512	34	5	6588690	2.21



黄瓜基因组遗传图谱构建思路

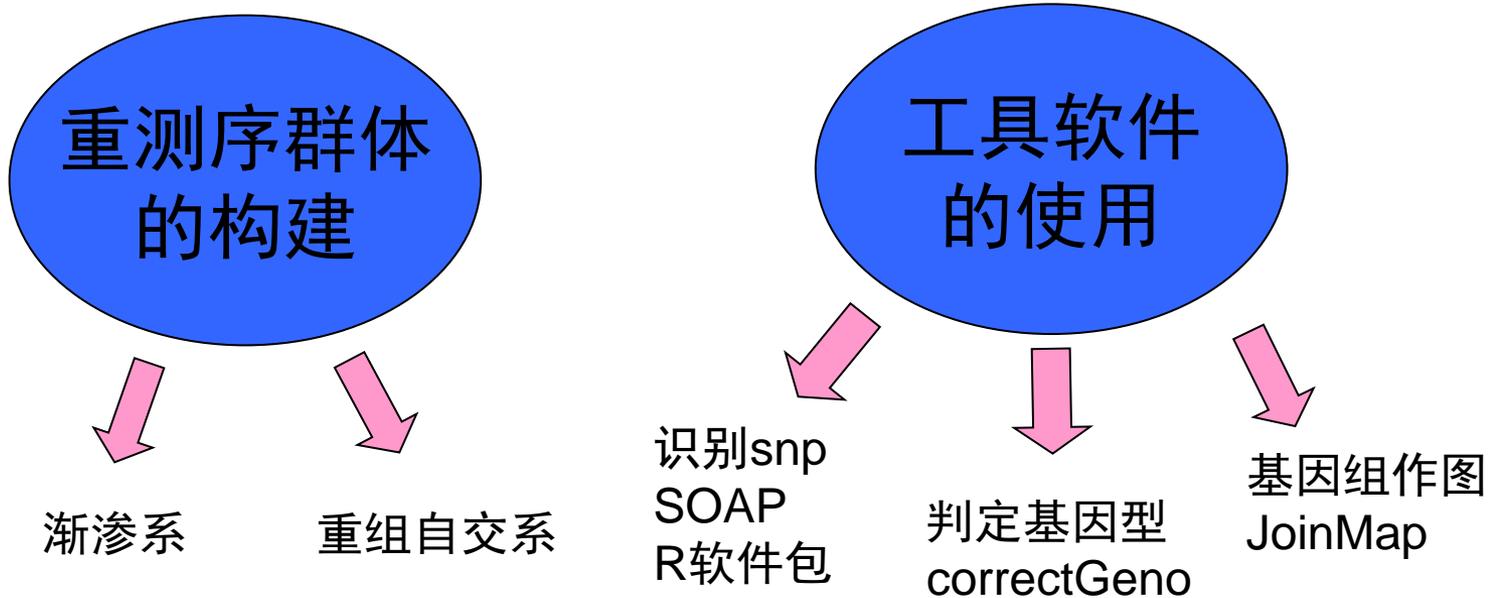
栽培黄瓜的一个连锁图谱



A linkage map of cultivated cucumber (*Cucumis sativus* L.) with 248 microsatellite marker loci and seven genes for horticulturally important traits. Han Miao, et al. *Euphytica*, 2011.

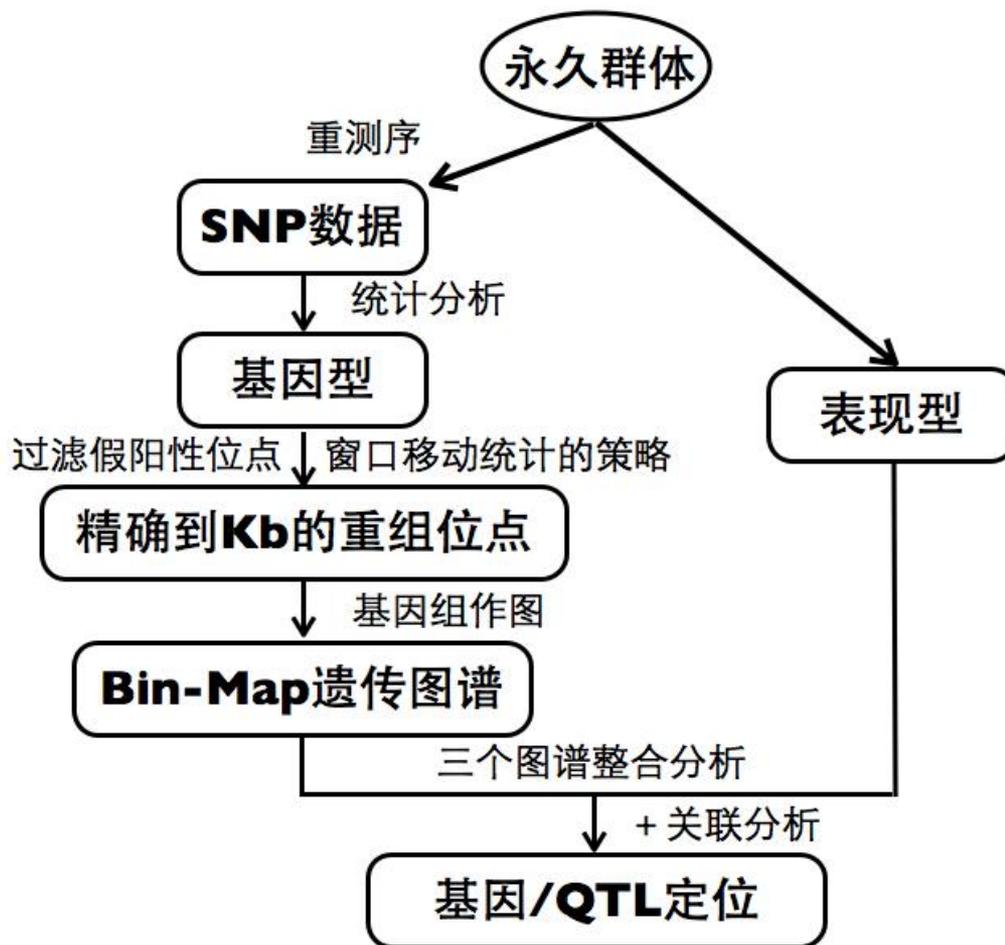


开展课题需要学习的内容





本课题思路小结





感谢罗老师一学期的教授

谢谢大家！



黄瓜重组位点分析思路



华北型9930



Hardwickii



新泰密刺



比较所有精细胞的snp连锁信息，确定染色体单倍型

A Unphased personal genome

A/T C/G A/T C/G A/C

Single Sperms:

SP1	A	C	A		C
⋮	A		A	G	
⋮		C		G	C
SP4	A	T	A	G	
SP5	A	C	A	x C	A
⋮	T		T	C	A
⋮	T		T	C	
SP8	T	G	T		A

Phased genome

A C A G C
T G T C A