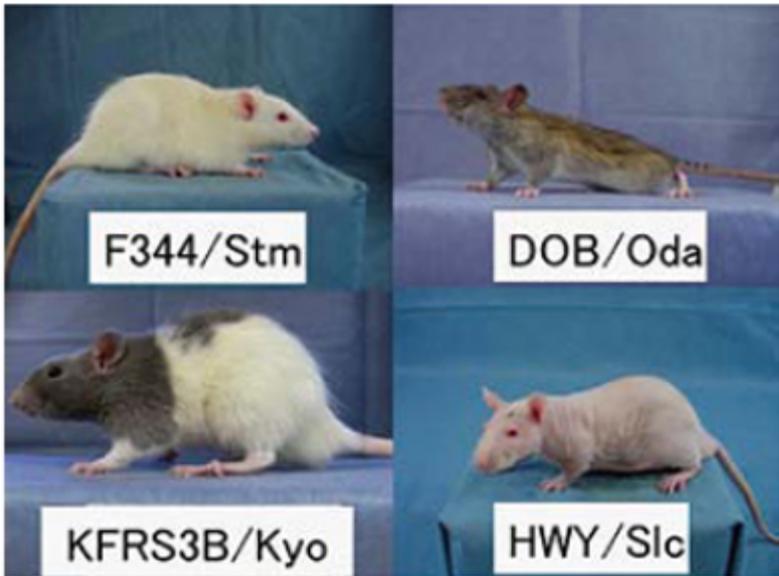


Focus	Targeted genome resequencing of 20 strains of the rats
PI	Mikita Suyama Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University
Period	FY2015
Overview	<p>Rats have been used as animal models of human diseases such as cancer and hypertension. NBRP-Rat is the largest repository for the rat strains, and currently about 700 strains are registered in the repository. Among those strains, there are many rat models of immune-mediated disorders and cancers.</p> <p>This project focuses on target capture resequencing of 20 strains of the rats, which include four strains of the representative inbred rats, seven strains of the inbred rats originated from the wild populations, and nine strains of disease models derived from selective breeding. The target regions used in the project cover highly conserved genomic regions among vertebrates as well as all the exonic regions. With this method, we can detect mutations not only in coding regions but also in regulatory regions such as those in enhancers in highly efficient manner. The project is conducted in the collaboration with The Institute of Laboratory Animals, Graduate School of Medicine, Kyoto University, which is the NBRP Center for rat strains, and Kazusa DNA Research Institute. Through the target capture sequencing of the rats, we collect and open the data of polymorphisms in these strains to the public to enhance the activities of the research community of rats.</p> 
Progress	<p>(written in Japanese)</p> <p>(1) ターゲットキャプチャキットのデザインとその検証 ラットのためのエクソームキャプチャキットが存在しないため、私たちはまずそのデザインを行った。その際、遺伝子コード領域だけでなく、エンハンサーやプロモーターなどの遺伝子発現制御領域での変異も検出可能にするため、エクソン以外にも脊椎動物で高度に保存しているゲノム領域 (conserved non-coding sequences; CNS) も対象にした。その結果、エクソン領域 50.8 Mb、CNS 領域 96.0 Mb の計 146.8 Mb をターゲットとするキャプチャキットを作成した。ベンチマークとしてこのターゲットキャプチャキットを WTC/Kyo, WTC-swh/Kyo, PVG/Seac, KFRS4/Kyo の4つの系統に適用し、変異の検出について評価した。その結果、それぞれの表現系について既知の変異を検出できることを確認した。その中にはエクソン以外の変異も含まれており、今回用いたターゲットキャプチャのデザインの有効性が示された。以上の成果を論文として発表した (論文1)。</p> <p>(2) 20系統のターゲットキャプチャによるゲノムリシーケンシングの実施 基準的な近交系4系統、野生由来系統7系統、疾患モデルラット系統9系統の合計20系統について、ターゲットキャプチャによるゲノムリシーケンシングを行った。得られた配列データは公共データベースに登録した (DDBJ: アクセッション番号 PRJDB4648)。系統あたり平均で 37 万個の SNP を同定した。複数の系統に見られる SNP の重複を除くと、20系統で同定されたユニークな SNP の総数は 170 万個であった。これにより、本プロジェクトの当初の目的を達成した。</p> <p>(3) 表現系の原因変異の同定</p>

KFRS4/Kyo 系統は頭部白斑の表現系を有する。これまで連鎖解析により、この表現系の原因座位が染色体 15 番の 84.6~91.2 Mb の領域に存在することが示されていた。その領域には Ednrb 遺伝子が存在し、他の動物種ではその遺伝子が白斑へ関与することが知られていることから、KFRS4/Kyo 系統においてもその関与が疑われたが、遺伝子本体に有意な変異は認められなかった。そこで今回開発したターゲットキャプチャにより同定された変異を精査したところ、Ednrb 遺伝子上流 50 kb のところに 50 kb の欠失が見つかった。データベースで公開されているエピゲノムデータとの比較から、この欠失の中に Ednrb 遺伝子の遠位エンハンサー候補を見つけ出すことに成功した。すなわち、KFRS4/Kyo 系統の頭部白斑は Ednrb 遺伝子本体の変異ではなく、そのエンハンサーの欠失によりもたらされた表現系であると推測された。

【論文発表】

1. Yoshihara M, Saito D, Sato T, Ohara O, Kuramoto T, Suyama M. Design and application of a target capture sequencing of exons and conserved non-coding sequences for the rat. BMC Genomics 17:593_1-11 (2016)

F344/DuCrIcrlj, F344/Stm, F344/NSlc, F344/Jcl, IS/Kyo, IS-Tlk/Kyo, LEC/Tj, NIG-III/Hok, LE/Stm, DOB/Oda, BN/SsNSlc, PVG/Seac, BUF/MNa, HTX/Kyo, BDIX.Cg-Tal/NemOda, BDIX/NemOda, KFRS3B/Kyo, HWY/Slc, ZFDM, ZF

BioProject ID=PRJDB4648

<http://trace.ddbj.nig.ac.jp/BPSearch/bioproject?acc=PRJDB4648>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=PRJDB4648>