

課題名	ラット 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
課題管理者	須山 幹太 九州大学 生体防御医学研究所 附属生体多階層システム研究センター
実施期間	2015 年度
概要・実施体制	<p>ラットはがんや高血圧症などの研究における重要な疾患モデル動物です。そのリソース拠点である NBRP ラットは約 700 系統を保有しており、世界的にも高く評価されています。その中には免疫・アレルギー疾患や、がん・腫瘍形成などを呈する様々な疾患モデルラット系統が数多く維持されています。</p> <p>本課題は、NBRP ラットが保有する多様なラット系統から基準的な近交系から 4 系統、野生由来系統から 7 系統、選抜育種された疾患モデル系統から 9 系統の計 20 系統を選び、ターゲットキャプチャ法によるリシーケンシングを行います。ターゲットとする領域は、全エクソンに加え、脊椎動物のゲノム配列で高度に保存した領域としています。これにより、全ゲノム配列を読むよりも効率的に、遺伝子コード領域やエンハンサーなどの制御領域における変異を検出することが可能となります。</p> <p>本課題は、NBRP ラットの中核的拠点整備プログラムの代表機関である京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設およびかずさ DNA 研究所と共同で実施します。この解析から得られた多型情報を公開することで、研究コミュニティの研究推進に貢献します。</p> <div data-bbox="485 703 1262 1272" data-label="Image"> </div>
成果	<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 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、</p>

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 遺伝子の上流 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>