

課題名	ショウジョウバエ・ゲノム編集システムの配列情報整備
課題管理者	齋藤 都暁 国立遺伝学研究所 遺伝メカニズム研究系
実施期間	2018 年度
概要・実施体制	ゲノム編集の標的となる野生型系統のリシークエンス解析を行う。更に SNPs、Indel 解析を行い、リファレンスゲノムとの相違を明らかにする。
成果	<p>CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集では、ゲノムの特定領域を切断し、変異の誘導や外来遺伝子の挿入を行う。ショウジョウバエ研究では目的に応じて様々な野生型系統が使用されており、NBRP ではそれらのゲノム編集を行うためのツールキットを提供している。これらの野生型系統は、リファレンス系統のゲノム配列と比較すると 1kb あたり数塩基の差異が存在するが、全ゲノム配列は未決定であり、CRISPR/Cas9 の guideRNA 配列を設計したり、ゲノム編集前後の配列を比較したりする上での障害となっている。そこで、ゲノム編集の標的となる以下の野生型系統、(1)y1w1118; attP40{nos.Cas9}/CyO(2)y1w1118; attP'2{nos.Cas9}/TM6B(3) y1w1118; FRT40A; attP2{nos.Cas9}/TM6B(4) y1w1118; FRT42D; attP'2{nos.Cas9}/TM6B(5) y1w1118; attP40{nos.Cas9}/CyO; FRT80B(6) y1w1118; attP40{nos.Cas9}/CyO; FRT82B(7)y1w1118 FRT19A; attP40{nos.Cas9}/CyO(8)w*; FRTG13(9)w*; FRT2A の 9 系統をリシークエンス解析した。それぞれの系統の雌個体の頭部からゲノム DNA を抽出し、ゲノムシークエンスが可能な品質の DNA をそれぞれ約 3μg 得た。ゲノム解析用のライブラリーを作製し、NovaSeq6000 を用いた 150 塩基長ペアエンドシークエンスによりデータを得た。得られた塩基数は、1 サンプルあたり 13Gb から 21Gb で、あったためショウジョウバエゲノムのカバレッジは 50x 以上となった。得られたリードをリファレンスゲノム配列にマッピングし、SNPs と insertion/deletion 候補を抽出した。抽出した SNPs と insertion/deletion 候補の一部について、マニュアルで配列解析を行い確認することができた。さらに、国際的なショウジョウバエデータベース FlyBase との連携も視野にしてデータ公開に向けた準備を進めた。</p>