

平成 27 年度ナショナルバイオリソースプロジェクト 成果報告書（公開）

補助事業 代表機関管理者 (所属機関・氏名)	国立研究開発法人理化学研究所 バイオリソースセンター チームリーダー 権藤 洋一
補助事業課題名	1 分子長鎖再解読に基づく標準マウスゲノム配列および構造決定と公開

1. 補助事業の目的

ヒトゲノムが 1 分子長鎖 DNA 解読法によって再解読され、完全に近いと想定されていたヒトゲノム参照配列の問題点が明らかとなった。そこで、ヒト疾患モデルをはじめ実験動物として汎用されているマウスゲノムでも同様の見直しが喫緊の課題となり、ヒトゲノム参照配列と同様の見直しを行い、マウスのバイオリソースとしての付加価値を飛躍的に高めることを目的とする。成果は DDBJ などを通して広く世界に公開する。

2. 補助事業の概要

HiSEQ2500 を用いて解読した 500× をこえる超カバレッジショートリードデータに基づき、マウスゲノム塩基配列の高精度見直しを行う。加えて 1 分子で平均 10kb の長鎖再解読を少なくとも 10×カバレッジ行うための、ゲノム DNA 調製法、ライブラリー作製法、シーケンシング法まで諸条件を詳細に検討する。この条件検討結果に基づいて、実際に 1 分子長鎖解読を実施し、最終的に、ショートリードおよび 1 分子長鎖リードの両ビッグデータを統合して、高精度な塩基配列情報、未解読領域の解消、大きなゲノム構造の是正など、得られた全情報を総合的にアッセムブリーしてオリジナルデータとともに公開する。

3. 補助事業の成果（平成 27 年度）

(1) ショートリードビッグデータに基づく高精度塩基配列決定

公開されている C57BL/6J マウスゲノム由来の標準参照配列 GRCm38p4 (mm10) と比較検討した結果、本邦で広く利用されている C57BL/6JJc1 標準近交系マウスのゲノム配列では、少なくとも 4601 箇所の塩基配列が異なっていることを確認した。また、この解析の過程で、広く遺伝的解析などに用いられる公開マウス dbSNP 情報のうち少なくとも 1 万個の SNP 情報は間違っていることを強く示す解析結果を得た。

(2) 1 分子長鎖リードのための諸条件の検討

さまざまな臓器から抽出したゲノム DNA をパルスフィールド電気泳動法を用いて比較検討し、超高分子ゲノム DNA の調製には、肺ゲノムが最も適することを確認した。また、平均 10kb 長で 10×カバレッジの解読するためには、PacBioRSII の 6 時間モードが最も適していると総合的に判断し、そのためのライブラリー作製およびシーケンシングを行った。

(3) マウスゲノムの 1 分子長鎖解読

最終的に 7,519,270 の総リード数を得た。解読塩基数はのべ 96,522,590,619bp と約 30×カバレッジのビッグデータを得ることができ当初目的を大きく越えた。また平均リード長も 12,837bp と当初目的の平均 10kb を上回った値が得られた。

(4) 成果公開のための整備

DDBJ からオリジナルデータを公開するための登録 ID を取得した。また総合的にアセンブリしたデータを公開するため、理研情報基盤センターが整備している理研メタデータベース上に公開用プラットフォームを構築した。本研究による成果と公開により、疾患モデル開発における責任遺伝子や原因変異同定の精度が飛躍的にあがる。さらに、ゲノム参照配列が基盤となる一般的な PCR 解析やゲノム編集の精度向上にも大きく寄与し、モデル動物としてのマウスリソースの価値が高まる。

成果の発信

1. "Detection of spontaneous mutations in mammalian genomes." **Y. Gondo** in "Biological & Medical Science based on Physics: Radiation and Physics, Physics on Medical Science, Modeling for Biological System" Kyoto, 2015/11/5, 国際会議
2. "Needs of fundamental revision of mouse genome reference sequences" **Y.Gondo** et al. in "29th International Mammalian Genome Conference (IMGC2015)" Yokohama, 2015/11/10, 国際会議
3. 「標準マウス系統 C57BL/6J における自然発生突然変異の解析法の確立」**権藤洋一**ほか、第 38 回日本分子生物学会/第 88 回日本生化学会合同大会、神戸市、2015/12/1, 国内会議
4. "Genetics, mutagenesis and genomics with standardized mouse inbred strains" **Y.Gondo** at School of Pharmacy and School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai, China, 2015/12/17, 海外招待講演
5. "Accumulation and detection of germline spontaneous mutations in C57BL/6JJcl inbred mouse strain" **Y.Gondo** et al. in "30th International Mammalian Genome Conference (IMGC2015)" Orland, USA, 2016/7/14, 国際会議