

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)	国立大学法人九州大学 生体防御医学研究所 教授 須山 幹太
補助事業課題名	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

1. 補助事業の目的

本課題は、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」が保有する 20 系統を対象に、ターゲットキャプチャ法を用いたゲノムリシーケンシングを行うことで、それぞれの系統の多型情報を系統横断的に記述することを目標とした。また、ゲノムリシーケンシングを行ったすべての系統について、得られた配列を公共データベースに登録し、公開を行った。以上を通して、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」のリソースとしての付加価値を高めることで、そのユーザーや研究者コミュニティの研究の推進に貢献することを目指した。

2. 補助事業の概要

対象とする 20 系統として、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 系統を選んだ。またターゲットとなるゲノム領域は、全エクソンならびに脊椎動物で高度に保存した配列である総計 150 Mb とした。このようにターゲット領域を設定することで、遺伝子コード領域だけでなく、遺伝子発現制御領域での変異も検出できるようにした。疾患モデルラット系統については、その系統の表現型に関連すると考えられる変異の探索を行った。得られた配列データはすでに公共データベースへ登録した。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た。

3. 補助事業の成果（平成 27 年度）

(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）。

（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。

（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、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).