

# 琉球大学学術リポジトリ

## OISTでのゲノム解析:次世代シーケンス解析の紹介から産業応用例

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 宇佐美, 剛志, 小柳, 亮 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016701">http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016701</a>

## OISTでのゲノム解析:次世代シーケンス解析の紹介から産業応用例

宇佐美剛志, 小柳亮(沖縄科学技術大学院大学)

沖縄科学技術大学院大学(OIST)は、世界最高水準の科学技術に関する研究及び教育を実施することにより、沖縄の自立的発展と、世界の科学技術及び経済社会の向上に寄与することを目的として掲げ2011年11月に設立されました。

南カリフォルニアのサンディエゴ地域では、50年前の研究所や大学の設立が、その後の研究教育機関、民間の企業・研究所の大規模な集積・発展、さらには新規産業の創出をもたらしています。OISTは科学技術の国際的研究教育機関として中心的役割を担うのみならず、沖縄において、このような発展を可能とすることを目指しています。

ゲノム研究はこの目標を達成するための活動の一つですが、近年、この分野においては技術が急速に発達しており、次世代型と呼ばれる大量・高速解析が可能なシーケンサーが上市されています。この次世代シーケンサーによりゲノム解読の速度はそれ以前に比べ大幅に上がりました。

このような中で、OISTは国内の諸研究機関に先駆けて次世代シーケンサーを導入し、専門部署であるDNAシーケンシング課を含むテクノロジー・センターを設立するなど、世界有数の最先端ゲノム研究の拠点にするべく研究活動を進めてきました。現在では、Roche社454 FLX+が3台、Illumina社GAIIxが2台の合計5台の次世代シーケンサーが稼働しており、特徴が異なるこれら2機種を組み合わせることで高精度なゲノム解読を行っています。また、沖縄県が所有するLife Technologies社SOLiDとの相乗効果も期待されています。

OISTのDNAシーケンシング課とマリンゲノミクスユニットは、これらの次世代シーケンサーを初めとする高度な解析機器を利用して、国頭村で採捕したサンゴの一種、*Cybiodrilis*の全ゲノムを解読するなど、さまざまなゲノム解析を共同で行っています。また、沖縄県が主宰する「沖縄県知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」にも参加し、沖縄県の生物資源ポテンシャルを活かし県の発展に寄与するため、人工合成が困難な有用化合物を産生する放線菌など様々な生物種のゲノム解析に着手しています。

本発表では、次世代シーケンサーの特徴や解析方法、解析結果の応用例などを含めた最先端技術について紹介します。

## 放線菌ゲノムの解読とその応用

OIST における産業振興に向けたゲノム解析プロジェクトの成果の例として、沖縄県委託事業である「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」を紹介します。このプロジェクトにおいては、独立行政法人産業技術総合研究所の新家一男博士らの研究グループと共同で各種の放線菌のゲノムを解読しました。

放線菌は、結核治療薬のストレプトマイシンや抗がん剤のマイトマイシン、免疫抑制剤 FK506 (タクロリムス) など、数多くの抗生物質や工業的に重要な有用化合物を生合成するための遺伝子群を持っていることで知られており、今回の研究プロジェクトの中でも特に成果が期待される生物資源です。

このプロジェクトでは Roche 社の 454FLX によるホールゲノムショットガン法とペアードエンド法を用いて、最初に 2 株の放線菌のゲノムを解読しました。約 800 万塩基対にわたるゲノムのほぼ全配列の決定に成功し、有用天然化合物の生産に関わる全ての遺伝子が明らかになりました。これまで放線菌ゲノムの完全解読は、繰り返し配列が多く次世代シーケンサーでの解析が困難であると考えられてきただけに、これは大きな成果です。

次に、多数の放線菌株のゲノムを迅速かつ低コストで解読することを目的として、菌株ごとに異なる標識配列を導入したゲノムライブラリを作成して一度に多数のゲノム配列を決定する、マルチプレックス解析と呼ばれる手法を新たに導入しました。これにより、県内由来の 4 株を含む 12 株の放線菌ゲノム解読をほぼ終えています。

この研究では放線菌の精密なゲノム解読に成功するとともに、解読に要する時間とコストを大幅に削減する新しい技術を実用化し、大量の放線菌ゲノムの解読に道筋がつけました。これは、ゲノム創薬の加速化など、沖縄生物資源を活用した新しい産業の創出につながることも期待される画期的な研究成果といえます。

## アコヤガイゲノムの解読とその応用

OIST マリンゲノミクスユニットでは、進化学的に重要な位置にある各種の海産無脊椎動物のゲノム解読プロジェクトを進めています。このプロジェクトにおいて、軟体動物の代表として選ばれたのが真珠養殖の母貝であるアコヤガイ *Pinctada fucata* です。軟体動物は様々な生物が含まれる分類群ですが、中でも貝類は陸上から深海に至る幅広い環境に適応して進化を遂げた興味深い生物群であるとともに、水産業においても重要な生物です。アコヤガイは日本で 100 年以上にわたり養殖が行われており、長い歴史の中で選抜された、品質の高い真珠を産生する優秀な系統が知られています。

真珠養殖においては、少数の親を用いた人工交配による種苗生産や、国内産アコヤガイと中国産アコヤガイの交雑といった新たな技術が急速に普及しつつありますが、一方で遺伝的多様性及び純国産系統を維持するという観点から、遺伝マーカーを確立して親子や集団を判別することが重要な課題となっています。そこで私たちは、解読したドラフトゲノム配列を解析する際に、遺伝マーカーの候補となる配列の探索をあわせて行いました。ゲノム中の特定の領域に現れる繰り返し配列等をマーカーとして利用することで、真珠養殖における育種選抜や品質管理の効率化が期待できます。

解析にあたっては、まずフローサイトメトリによるゲノムサイズの測定を行い、アコヤガイのゲノムが約 1.15 Gb であることを明らかにしました。これはサンゴ(コクビミドリイシ)ゲノムのおよそ 3 倍に相当します。このゲノムについて、454FLX シーケンサーを用いたホールゲノムショットガン法による配列決定を行い、ゲノムサイズの 16 倍にあたる 18 Gb のデータを得ました。このデータに、454 ペアエンド法および illumina メイトペア法のデータを加えてゲノムアセンブルを行ったところ、約 1.02 Gb のドラフトゲノム配列が得られました。また、この配列を元にした予測から、アコヤガイのゲノムには 2 万 3000 あまりの遺伝子が存在することが示されました。

解読されたドラフトゲノム配列を検索した結果、アコヤガイゲノム中には約 10%の繰り返し配列が存在することがわかり、10,034 個の DNA マーカー候補が得られました。このうち、7,474 個はタンデムリピートとしてゲノム上の 1 座位にのみ存在します。また、アコヤガイの既知遺伝子近傍にも、マーカー候補となる配列が確認されました。これらの配列はアコヤガイの親子や集団の遺伝子型を判別するための手掛かりになります。

また、アコヤガイにおいてはハプロタイプ間での配列の差異が大きく、ゲノムの中に個体間で大きく変異する可能性のある領域と、保存性の高い領域が分かれて存在していることがわかりました。これらの領域に含まれる遺伝子を詳細に解析することで、さらに効率の良い育種が可能になることも期待されます。