特集記事 ワークショップ報告

植物育種のためのオミックス・データ解析入門

小林正明^{1,2)}・大柳 一^{1,2,3)}・矢野健太郎^{1,2)}・岩田洋佳^{2,4)}¹⁾ 明治大学農学部, 神奈川県川崎市, 〒 214-8571²⁾ JST・CREST, 埼玉県川口市, 〒 332-0012³⁾ 三菱スペース・ソフトウェア株式会社つくば事業部, 茨城県つくば市, 〒 305-0032⁴⁾ 東京大学大学院農学生命科学研究科, 東京都文京区, 〒 113-8657

Introduction to large-scale omics data analysis for plant breeding

Masaaki Kobayashi^{1,2)}, Hajime Ohyanagi^{1,2,3)}, Kentaro Yano^{1,2)} and Hiroyoshi Iwata^{2,4)}¹⁾ School of Agriculture, Meiji University, Kawasaki, Kanagawa 214-8571²⁾ JST/CREST, Kawaguchi, Saitama 332-0012³⁾ Tsukuba Division, Mitsubishi Space Software Co., Ltd., Tsukuba, Ibaraki 305-0032⁴⁾ Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113-8657

キーワード

データベース, インハウス BLAST, ゲノムワイドアソシエーション研究 (GWAS), ゲノミックセレクション

ワークショップの狙い

バイオインフォマティクスは、高度な理論計算だけではなく、文献検索やゲノム情報の取得、遺伝子系統樹作成など、多くの生物学分野の研究者や大学院生にとって身近な道具である。さらには、わずかなコマンドラインなどを修得するだけで、バイオインフォマティクスの利活用は急速に広がる。たとえば、時間を要する煩雑な計算機処理から解放されると同時に、自動化によって人為的なエラーを劇的に減らすことができる。その上、遺伝子機能予測や細胞内局在性予測、代謝パスウェイ予測など、コンピューター上で様々な予測解析が可能となることから、室内・圃場実験を実施する以前に実験計画を綿密に練ることができる。研究の幅や方向性が広がるとともに、研究目標をより効率的に達成できることは明らかである。

バイオインフォマティクスの導入とバイオインフォマティクスを修得した若手研究者の育成が最重要課題の1つであると以前から強く提言されている一方で、我が国ではバイオインフォマティクスを積極的に活用した研究事例が少ない。大規模なEST解析やマイクロアレイ実験、高速シーケンサー解析、質量分析を実施したものの、効果的な解析手法を適用できておらず、せっかくのデータを活用できていない場面もある。バイオインフォマティ

クス手法の導入・活用の遅れは、我が国の生命科学における国際的な研究競争力の低下を招く一因となっており、早期の是正が求められる。

バイオインフォマティクスを習得するための教育・研修基盤の整備だけではなく、ウェット、フィールド、ドライの研究者の意識改革も必要である。文書作成や表計算、インターネット・サーフィンをする際に、利用するソフトウェアの多くは、マニュアルを読むことなく、基本的な操作を直ちに実行できる。マニュアルを読まないために、問題が生じることもほとんどない。標準となっているソフトウェアの多くは、ユーザーが直感的にソフトウェアを操作できる程度までに、完成度が高められている。一方、専門性の高い情報を処理するバイオインフォマティクスのツールやデータベースでは、必ずしも、使用方法が直感的に分かるソフトウェアばかりではない。ソフトウェア開発者（バイオインフォマティクス研究者）が、ユーザー・フレンドリーなインターフェースの開発に長けていない場合もある。正しく動作させ、的確な結果を得るためには、ユーザーは、マニュアルなどを読むべきである。同時に、バイオインフォマティクス研究者は、第三者の意見を取り入れることによって、構築するデータベースやツールの完成度を高めるべきである。

植物バイオインフォマティクス研究を推進するための意見交換や交流の場を、より頻繁に設けることが強く求められる。これらは、ソフトウェアやツールを使う際の用法といった個別研究に関わる細かな質問などをする場としてよりも、導入事例などより汎用的な議論を活発

に行う場として機能することが重要である。たとえば、サーバーやワークステーションに Linux OS をインストールし、独自の環境に応じたセキュリティ設定やサービス設定を行い、さらに、バイオインフォマティクス関連ツールのインストール・動作テストを実施するまでの一連の作業には、多くの落とし穴がある。筆者らは、大会でのグループ研究集会や講習会・シンポジウムを通して、育種学分野におけるバイオインフォマティクス手法の活用と展望について多くの紹介を行ってきた。今後、これらの活動をさらに発展させるために、多くの若手研究者の積極的な参加や主催に期待したい。

本ワークショップにおいても、育種学分野の多くの研究者・大学院生にとって有益な内容を取り上げた。前半と後半の2部構成とし、適宜実習形式も取り込みつつ、前半では、小林・大柳・矢野による「話題提供1. 研究室でできるバイオインフォマティクスの導入から解析まで」を紹介し、後半では、岩田による「話題提供2. 量的形質変異をゲノム変異に結びつけるための統計解析」を解説した。以下、それらの概要を記載する。

話題提供1. 研究室でできるバイオインフォマティクスの導入から解析まで

データベースとは

データベースでは、登録されている1件の記録をレコードとよぶ(図1)。また、各レコードについて記載すべき項目(フィールド)が定義されている。たとえば、「住所録」というデータベースに対しては、登録されている1名ずつの情報が1つのレコードである。そして、レコードを記述するためのフィールドとして、氏名、年齢、住所、電話番号などが定義される。生命科学分野の文献情報データベースでは、著者、論文タイトル、キーワード、発表年、雑誌名、ページ番号などのフィールドが定義され、1つの論文が1つのレコードとなる。配列データベースでは、アクセッション番号、登録者名、生物種名、配列の種別(ゲノムDNA、cDNA、アミノ酸など)、サンプルの由来、配列情報などのフィールドをもつ。

データベースから目的の情報(レコード)を効率的に抽出するためには、各データベースのルールに従った検索手法を用いる。たとえば、複数単語からなるフレーズを用いて検索する場合、Googleでは“gene expression”のようにダブル・クォーテーションで囲うことで指定する。このダブル・クォーテーションが入力されていない場合、gene と expression は独立の検索キーワードとして認識されるため、極めて注意を要する。遺伝子配列データベースを用いた検索において、rice という検索キーワードを指定した場合、生物種イネ(*Oryza sativa*)だけではなく、イネいもち病菌(*Magnaporthe oryzae*)、配列の登録者(Rice氏)など、目的としないレコードも検索結果に含む場合がある。目的とするレコードをデータベース

図1. データベースとレコード、フィールドの模式図

からの確に抽出するには、フィールド指定が効果的である。たとえば、NCBIでは、生物種を表すフィールド[ORGN]を用い、“*Oryza sativa*”[ORGN]と指定することによって、生物種のフィールドに *Oryza sativa* と記載されているレコードに絞り込むことができる。NCBIのフィールド指定は、ヘルプ・メニューを使って調べることができる。DDBJ/ENA/GenBankの協調体制であるINSDC(国際塩基配列データベース, International Nucleotide Sequence Database Collaboration)においては、Advanced Search機能(検索オプション)が設けられており、各フィールドの検索キーワードを指定したレコード抽出ができる。

NCBIを用いた配列情報のダウンロード

INSDCを用いて配列を検索し、得られた配列情報をダウンロードすることによって、PCRプライマーの設計や相同性検索、遺伝子系統樹解析など様々な解析に利用できる。NCBIのWebサイトでは、検索キーワードのテキスト・ボックスの下にある“Send to”のリンクをクリックし、FASTA形式などで配列情報をダウンロードできる。ダウンロードしたファイルには、英字で始まる分かりやすい名前を付けることを勧める。検索キーワードや検索を実行した年月日をファイル名に含めることで、ファイル整理が極めて効率的になる。また、後で述べるインハウスBLASTを実行する場合、ファイル名に空白や記号、全角文字を含めないことが望ましい(半角のハイフンやアンダーバーは用いて構わない)。

インハウスBLASTの導入と実行

多くの研究者にとって、配列の相同性検索を実行する場合、Webサイトが提供するBLAST検索機能(Web-BLAST)を用いることが大半である。Web-BLASTを実行するための一般的な手順として、まず、Webサイトにおいて事前に用意されているBLAST配列データベースの中から検索に用いるデータベースを選択し、クエリー(問い合わせ)配列をテキスト・エリアにペーストすると

共に、適切なプログラム名 (blastn や blastp など) を指定する必要がある。また、必要に応じて、期待値 (E-value) や Filter などのオプションを設定する。多くの Web-BLAST では、通常の BLAST の計算結果だけではなく、配列のアライメント結果をグラフィカルに表示するなど、視覚的にも解釈しやすい。Web-BLAST では、検索実行に必要な計算機リソース (CPU やメモリーなど) をサーバーに依存するため、ユーザーは高い処理能力をもつ計算機を用意する必要がない。

Web-BLASTは簡便かつ効果的な一方で、デメリットもある。たとえば、ある遺伝子ファミリーのうち最も相同性の高い遺伝子を探索したい場合、その遺伝子ファミリーのBLAST配列データベースが提供されていなければ、検索そのものができない。また、膨大なクエリーを投入した場合、検索実行の進行程度が分からないため、結果が戻るまでブラウザを開いた状態で待つ必要がある。さらに、クエリー配列に知財権などが関与する場合には、クエリー配列情報をオンライン上で配信することにセキュリティ上の問題がある。

インハウス BLAST は、Web-BLAST と異なり、自らの計算機を BLAST サーバーとする。そのため、インハウス BLAST は、Web-BLAST と反対のメリットとデメリットをもつ。インハウス BLAST の大きなメリットとして、独自の BLAST 配列データベースを自在に構築できるため、遺伝子配列間の相同性の程度を迅速・簡便に評価できることが挙げられる。また、多数の検索を実行した場合、計算処理を監視できるため、計算終了までに必要な処理時間を予測できる。ネットワークを介さないため、機密情報の漏洩のリスクがない。一方で、大規模な計算

を実施するには、処理能力の高い計算機を用意する必要がある。また、サーバー管理のための知識とスキルを要すると共に、マンパワー・時間・労力が割かれる。結果は視覚化されないため、解釈が煩雑である。

インハウス BLAST の導入と実行は容易である。実行プログラムを NCBI より入手し、自分の計算機上で、BLAST データベースを構築し、BLAST 検索を実行する (図2)。Windows, Macintosh, Linux などの OS に対応した実行プログラムは、NCBI FTP サイトより入手できる。実行の際のコマンド入力は、Windows であればコマンドプロンプト、Macintosh であればターミナルなどを用いる。また、本稿で示すコマンド例では、実際には、すべて 1 行のコマンドである (途中で改行しない)。まず、formatdb コマンドを用い、FASTA 形式の配列情報ファイルを BLAST データベースに変換する。たとえば、塩基配列の FASTA ファイル (seq.fasta) を使って BLAST データベースを構築する際には、以下のコマンドを実行する。

```
formatdb -i seq.fasta -p F -o T
```

次に、クエリー配列と相同な配列を BLAST データベースから探索するには、`blastall` コマンドを用いる。たとえば、クエリー配列（塩基配列）が FASTA 形式ファイル `query.fasta` に保存されており、先述の FASTA 形式ファイル `seq.fasta` から作成した BLAST データベースに対して、`blastn` プログラムによって検索する場合、以下のコマンドを用いる。

```
blastall -p blastn -i query.fasta -d seq.fasta
```

この結果は計算機モニター上に出力される。以下のよう

図2. インハウス BLAST の概要図

に出力先オプションを追加することによって、結果は計算機モニターではなく、新規ファイル `result.out` に格納される。

```
blastall -p blastn -i query.fasta -d seq.fasta
-o result.out
```

ワークショップでは、インハウス BLAST 以外に、Perl プログラムの実行方法なども解説した。これらの基本的なバイオインフォマティクス手法の導入については、今後、Web サイトや解説・ノートなどで紹介できれば幸いである。

話題提供 2. 量的形質変異をゲノム変異に結びつけるための統計解析

近年、高速シーケンサ等を用いて、多数のサンプルについて多数の DNA 多型を調べることが可能となっている (Davey *et al.* 2011)。こうして得られるゲノム情報を育種に活用する手法として、表現型データとゲノムデータ間の関係から (1) 遺伝子を検出するゲノムワイドアソシエーション研究 (genome-wide association study: GWAS), (2) 遺伝的能力を予測するゲノミックセレクション (genomic selection: GS) などが挙げられる。ワークショップでは、イネで収集されたデータ (Zhao *et al.* 2010) を例として用い、これら 2 手法を実行するのに必要となる統計解析手法について解説を行った。解析には、主に統計パッケージ R (R Core Team 2013) を用いた。なお、ワークショップで用いた資料は、<http://papaya.ab.a.u-tokyo.ac.jp/groups/iwata> からダウンロードできる。

データの補完

高速シーケンサを用いたジェノタイピング法である RAD-seq (restriction site associated DNA sequence; Baird *et al.* 2008) や GBS (genotyping-by-sequencing; Elshire *et al.* 2011) を用いると、一般に、多数のデータが欠測する。また、DNA チップを用いてジェノタイピングしても、全マーカーについて、完全なデータが得られるわけではない。こうして欠測したデータの取り扱いには様々な方法が考えられるが、最近よく用いられているのは、欠測データを何らかの方法で補完し、補完されたデータを GWAS や GS に用いるという方法である。ワークショップでは、BEAGLE (Browning and Browning 2007) を用いた補完方法について解説した。

BEAGLE は Java で書かれており、Windows, Mac, Linux など、様々な OS で利用できる。BEAGLE を利用して、連鎖の相 (linkage phase) の推定や遺伝子型データの補完ができる。前者の機能は、遺伝子型データからハプロタイプを推定するために用いられる。たとえば、AaBbCc という遺伝子型をもつサンプルが、どのようなハプロタイプをもつか (A-B-C と a-b-c の組か、A-b-C と

a-B-c の組か、等) を推定できる。後者の機能は、欠測した遺伝子型データの補完のためだけでなく、高密度にジェノタイピングされたデータを参考に、低密度にジェノタイピングされたデータを補完するためにも利用できる。たとえば、代表的な品種・系統のみを高密度にジェノタイピングしておき、それ以外の品種・系統については低密度なジェノタイピングを行うことでコストと労力を抑え、高密度データについては補完によって求める (Jannink *et al.* 2009, Iwata and Jannink 2010)。ワークショップでは、欠測データを補完する目的で BEAGLE を用いた。BEAGLE の入力ファイルを作成するための R スクリプトや、出力ファイルをまとめるための R スクリプトについて紹介し、BEAGLE の実行の仕方について解説した。その詳細については、上述した Web 上の資料を参考にしてほしい。なお、BEAGLE を用いて補完を行うためには、マーカー遺伝子座の染色体上での並び順が分かっている必要がある。位置が不明なマーカーの欠測補完については、Rutkoski *et al.* (2013) が参考になるであろう。

マーカー遺伝子型データは、GWAS や GS に用いられる前に、数値データに変換される。二対立遺伝子のマーカーでは、一方のホモ接合体を 1、他方を -1、ヘテロ接合体を 0 とする方法がよく用いられる。たとえば、ある SNP マーカーにおいて、AA, AT, TT という遺伝子型が観察された場合、それぞれを、1, 0, -1 に変換する。なお、2つのホモ接合体のどちらかを 1 にするかは任意である。なお、ワークショップでは、純系のイネをデータ例として用いたため、ヘテロ接合体は無く、A, T, G, C として記述されたマーカー遺伝子型 (それぞれ、遺伝子型 AA, TT, GG, CC に対応する) を 1 と -1 に変換する R スクリプトを紹介した。

集団構造の解析

GWAS や GS モデルの構築において、材料として用いる品種・系統の遺伝的背景について情報を得ておくことが重要である。とくに GWAS では、後述するように、集団構造を無視すると誤った結果が導かれる可能性がある。遺伝的背景の情報として、育成場所や栽培地域、系譜に関する情報等も有用だが、マーカー遺伝子型データにも、品種・系統の遺伝的背景に関わる情報が含まれている。ワークショップでは、主成分分析や *k*-平均法などの多変量解析手法を用いて、品種・系統のもつ遺伝構造を推定する方法について紹介した。その詳細については、Web 上の資料を参考にしてほしい。

GWAS

遺伝子や DNA マーカーは染色体上に数珠つなぎに並んでいる。そのため、染色体上で互いに近傍にある遺伝子や DNA マーカーは親から子に共に伝えられやすい。これが連鎖とよばれる現象である。連鎖があることにより、多数の品種・系統からなる集団や育種集団において

も、互いに近傍にある遺伝子や DNA マーカーが非独立的状态にある場合がある。このような遺伝子座間の非独立的状态を連鎖不平衡 (linkage disequilibrium: LD) とよぶ。この LD の存在が, GWAS や, 後述する GS を可能にしている。

QTL のごく近傍にあるマーカーでは, QTL の遺伝子型とマーカー遺伝子型間の非独立性, すなわち LD が高くなり, 表現型とマーカー遺伝子型間に関連 (association) を生じる。GWAS は, ゲノムワイドマーカーについて表現型とマーカー遺伝子型間の関連の強さを解析し, それをもとに QTL の位置を推定する方法である。量的形質の GWAS では, 表現型とマーカー遺伝子型間の関連を検出するのに, 線形回帰モデルがよく用いられる。今, i 番目の個体の表現型値を y_i , i 番目の個体の j 番目のマーカースコア (数値化されたマーカー遺伝子型) を x_{ij} とすると, 表現型とマーカー遺伝子型を関連づける最も単純な回帰モデルは,

$$y_i = u + b_j x_{ij} + e_i$$

となる。表現型とマーカー遺伝子型間の関連を調べるには, このようなモデルをデータに当てはめ, 回帰係数 b_j の有意性を検定すればよい。しかし, このモデルを実データに当てはめると, 回帰係数が有意 ($b_j \neq 0$) なマーカーが多数検出される。これは, 品種・系統のもつ集団構造によって生じる見かけ上の関連, すなわち, 偽陽性 (false positive) である (Lander and Schork 1994)。このような偽陽性を抑えるには, 集団構造による影響を考慮したモデル

$$y_i = u + b_j x_{ij} + \sum_{k=1}^K v_k q_{ik} + e_i$$

を用いる。ここで, q_{ik} は i 番目の品種の遺伝的背景を表す指数で, 上述した主成分分析で計算される主成分得点や, Structure 解析 (Pritchard *et al.* 2000) で推定される集団への所属確率 (Q 値) が用いられる。このモデルを用いてもなお, 微視的な集団構造の影響により偽陽性が生じる場合が多い。このような偽陽性を抑えるには, 微視的な集団構造による影響も考慮したモデル

$$y_i = u + b_j x_{ij} + \sum_{k=1}^K v_k q_{ik} + \alpha_i + e_i$$

がよく用いられる (Yu *et al.* 2006)。ここで, α_i は, i 番目の品種のもつ微働遺伝子 (polygene) による相加的遺伝効果を表しており, 全品種・系統をまとめたベクトル $\alpha = (\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_i)^T$ が多変量正規分布 $MN(\mathbf{0}, \mathbf{K}\sigma_\alpha^2)$ に従うと仮定する。ここで, $\mathbf{K}$ は, 品種・系統間の遺伝的関係を表す行列であり, マーカー遺伝子型をもとに計算される (たとえば, Endelman and Jannink 2012)。なお, 上述した回帰モデルは, j 番目のゲノムワイドマーカーについて 1 つずつ関連を調べる方法である。したがって, M 個マーカーがあると, M 回の回帰分析を行うことになる。これに対し, ベイズ回帰等を用いて, 複数 QTL の効果を同時

に検出することで精度を向上させようとする方法も提案されている (たとえば, Kärkkäinen and Sillanpää 2012, Hoffman *et al.* 2013)。ワークショップでは, GWAS に用いられる様々な回帰モデルについて, 玄米長のデータの解析結果を示しながら, 具体的に説明した。解析のための R スクリプト等については, Web 上の資料を参考にしてほしい。

GS のための予測モデリング

ゲノムワイドに高密度に DNA マーカーを配置することにより, いずれかのマーカーがゲノム上に散在する QTL と LD が高い状態になると考えられる。これにより, マーカー遺伝子型から QTL の状態 (遺伝子型) をある程度把握できると期待される。GS では, ゲノムワイドマーカーと QTL 間の LD を利用することにより, 被選抜個体のマーカー遺伝子型をもとに, その個体の遺伝的能力 (遺伝子型値) を予測して選抜する。

GS の具体的な手順は以下の通りである。まず, 多数の品種・系統のセット, または, 選抜集団に含まれる個体や系統のセットを参照データ (トレーニングデータとよばれる) として用い, マーカー遺伝子型から遺伝子型値を予測するモデルを作成しておく。選抜を行う際には, 被選抜個体のマーカー遺伝子型に対して, 作成しておいた予測モデルを当てはめて, 遺伝子型値を予測する。そして, 予測された遺伝子型値をもとに優良個体を選抜する。

GWAS も GS の予測モデル構築も, マーカー遺伝子型と表現型間の関連をモデル化する手法であり, GWAS と GS で同様の統計モデルが用いられることも少なくない。しかし, GWAS と GS では, モデル化の目的が異なる。GWAS では, マーカー遺伝子型と表現型間の関連から, その内部システム, すなわち, 遺伝子の位置や効果を明らかにすることを目的としている。一方, GS では, マーカー遺伝子型と表現型間の関連を利用して, 前者から後者を予測することが目的である。したがって, GS ではモデルの優劣はもっぱら予測精度に依存し, 内部システムの理解の能否は問われない (ただし, このことは遺伝子の位置や機能に関する情報が GS の精度向上に貢献しないことを意味しないことに注意する)。したがって, GS の予測モデル構築では, 量的遺伝学の手法に留まらず, 機械学習法を含めた様々なモデル化手法が用いられている (たとえば, Heslot *et al.* 2012)。

GS では, ゲノムワイドマーカーをすべて用いて遺伝的能力を予測するモデルを構築し, 構築しておいたモデルをもとにマーカー遺伝子型に基づく選抜を行う。モデル構築の際, サンプル数に比べてパラメータ数が多いため, “large p , small n ” とよばれる問題が生じる。たとえば, 表現型値 y_i をマーカースコア x_{ij} に回帰するモデル

$$y_i = u + \sum_{j=1}^J v_j b_j x_{ij} + e_i$$

を構築するためには, 表現型とマーカー遺伝子型データ

から、回帰係数 u, b_j ($j=1, 2, \dots, J$) を推定しなければならない。GS では、用いるマーカー数 J が、品種・系統数 I を大幅に超えている場合が多いため、通常の重回帰分析では、回帰係数を推定できない。そこで、回帰係数に何らかの制約を課すことにより、少ない品種・系統のデータから、多数の回帰係数を推定する。たとえば、リッジ回帰では、回帰係数 b_j の 2 乗の和が大きくなることに對して制約を課す。また、lasso では、回帰係数 b_j の絶対値が大きくなることに對して制約を課す。具体的には、

$$E_{(k)} = \sum_{i=1}^I \left(y_i - u - \sum_{j=1}^J b_j x_{ij} \right)^2 + \lambda \sum_{j=1}^J |b_j|^k$$

を最小にする u, b_j を求める。 $k=1$ のときが lasso, $k=2$ のときがリッジ回帰に相当する。右辺第 1 項は、回帰における残差平方和、右辺第 2 項は、回帰係数に制約を課すためのペナルティ項である。 $E_{(k)}$ を最小にするということは、回帰モデルの当てはまりの良さ（右辺第 1 項）と、ペナルティの大きさ（右辺第 2 項）との間でうまくバランスがとれる回帰係数を求めることを意味する。当てはまりの良さとペナルティの大きさとの間のバランスを調整するパラメータ λ は、トレーニングデータから推定される場合や、交差検証（cross-validation）をもとに求められる場合がある。なお、リッジ回帰と lasso の中間をとるような手法として elastic net（「伸び縮みする網」の意）がある。そこでは、

$$E_{(k)} = \sum_{i=1}^I \left(y_i - u - \sum_{j=1}^J b_j x_{ij} \right)^2 + \lambda \left(\frac{1-\alpha}{2} \sum_{j=1}^J b_j^2 + \alpha \sum_{j=1}^J |b_j| \right)$$

を最小にする u, b_j を求める。この式から、elastic net は、 α を 0 に近づけるとリッジ回帰に近づき、 α を 1 に近づけると lasso に近づくことが分かる。回帰係数に対する制約の課し方の違いから、リッジ回帰はすべてのマーカーが何らかの効果をもっているような場合に適しており、lasso は一部のマーカーが大きな効果をもつ場合に適している。両者の間をとりもつ elastic net は、 α を動かすことにより、いずれの場合にも適用できるという特徴をもつ。

ところで、リッジ回帰は、品種 i と j のマーカースコアの内積を (i, j) -要素にもつ行列（以下、内積行列とよぶ）をもとに計算することもできる（Endelman 2011）。これは、内積行列をカーネル行列としたカーネル回帰として、リッジ回帰を実行することに相当する。カーネル行列を内積行列から他の行列（たとえば、Gaussian カーネル行列）に変えることにより、エピスタシス等の非相加的遺伝効果も考慮したカーネル回帰に発展させることもできる。ワークショップでは、上述した手法について、玄米長データを用いた解析結果を示しながら説明をした。解析のための R スクリプト等については、Web 上の資料を参考にしてほしい。

表現型計測の効率化の重要性

なお、GWAS や GS のモデル化のためには、表現型データが不可欠である。GWAS による関連遺伝子検出のためにも、GS による高精度選抜のためにも、多数の品種・系統について、計測精度の高い表現型データを収集することが非常に重要である。しかし、高速化・高効率化が進むゲノムデータ収集に対し、表現型データの収集は、その高速化・高効率化が遅れている。

表現型データの重要性から、さらには、大量計測が可能になったゲノムデータとの技術バランスをとるためにも、現在、表現型データ収集の高速化・高効率化のための様々な取り組みが進められている。ワークショップでは、一例として、バーコードを用いた効率化について簡単にふれ、バーコード印刷のための R スクリプトについて紹介した。同スクリプトを用いることで、たとえば、長さの情報を記述したバーコードを 1 cm 区切りで並べて印刷できる。これを物差しに貼付けることで、“バーコード物差し”を簡単に作成できる。“バーコード物差し”を用いることで、長さのデータを、バーコードリーダーを用いて簡単に計測・記録できるようになる。今後、様々な工夫で、表現型データ収集の効率化を進めていくことが重要である。

おわりに

今回のワークショップでは、実際に持ち込んだノート PC で操作しながら、インターネット上の情報を抽出する操作や BLAST の実行を行うなど、実施も含めて開催することができた。Windows と Macintosh の両方の使用法もスクリーンに映し出しながら解説すると共に、陥りやすい落とし穴などについても紹介し、極めて実践的な内容となった。このような充実したワークショップを開催する上で、大会本部の皆様には、電源用テーブルタップや無線 LAN アカウントの配布をしていただくなど、多くのご配慮をいただいた。また、ワークショップの開始に当たり、大会直前に御逝去された奈良先端科学技術大学院大学・教授・島本功先生への黙祷を捧げることができた。今後も育種や植物科学の発展に資するパイオニアフォーマティクス関連のワークショップやグループ研究集会などを開催する予定である。育種学会員および育種学領域全体の研究の新たな展開のサポートとなれば幸甚である。

引用文献

- Baird, N.A., P.D. Etter, T.S. Atwood, M.C. Currey, A.L. Shiver, Z.A. Lewis, E.U. Selker, W.A. Cresko and E.A. Johnson (2008) Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS One* 3: e3376.
- Browning, S.R. and B.L. Browning (2007) Rapid and accurate

- haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering. *Am. J. Hum. Genet.* 81: 1084–1097.
- Davey, J.W., P.A. Hohenlohe, P.D. Etter, J.Q. Boone, J.M. Catchen and M.L. Blaxter (2011) Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nat. Rev. Genet.* 12: 499–510.
- Elshire, R.J., J.C. Glaubitz, Q. Sun, J.A. Poland, K. Kawamoto, E.S. Buckler and S.E. Mitchell (2011) A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One* 6: e19379.
- Endelman, J.B. (2011) Ridge regression and other kernels for genomic selection with R package rrBLUP. *Plant Genome* 4: 250–255.
- Endelman, J.B. and J.L. Jannink (2012) Shrinkage estimation of the realized relationship matrix. *G3* 2: 1405–1413.
- Heslot, N., H.P. Yang, M.E. Sorrells and J.L. Jannink (2012) Genomic selection in plant breeding: a comparison of models. *Crop Sci.* 52: 146–160.
- Hoffman, G.E., B.A. Logsdon and J.G. Mezey (2013) PUMA: a unified framework for penalized multiple regression analysis of GWAS data. *PLoS Comput. Biol.* 9: e1003101.
- Iwata, H. and J.L. Jannink (2010) Marker genotype imputation in a low-marker-density panel with a high-marker-density reference panel: accuracy evaluation in barley breeding lines. *Crop Sci.* 50: 1269–1278.
- Jannink, J.L., H. Iwata, P.R. Bhat, S. Chao, P. Wenzl and G.J. Muehlbauer (2009) Marker imputation in barley association studies. *Plant Genome* 2: 11.
- Kärkkäinen, H.P. and M.J. Sillanpää (2012) Robustness of Bayesian multilocus association models to cryptic relatedness. *Ann. Hum. Genet.* 76: 510–523.
- Lander E.S. and N.J. Schork (1994) Genetic dissection of complex traits. *Science* 265: 2037–2048.
- Pritchard, J.K., M. Stephens and P. Donnelly (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
- Rutkoski, J.E., J. Poland, J.L. Jannink and M.E. Sorrells (2013) Imputation of unordered markers and the impact on genomic selection accuracy. *G3* 3: 427–439.
- Zhao, K., M. Wright, J. Kimball, G. Eizenga, A. McClung, M. Kovach, W. Tyagi, M.L. Ali, C.W. Tung, A. Reynolds *et al.* (2010) Genomic diversity and introgression in *O. sativa* reveal the impact of domestication and breeding on the rice genome. *PLoS One* 5: e10780.

当日 演題

話題提供

1. 研究室でできるバイオインフォマティクスの導入から解析まで

矢野健太郎^{1,2}・小林正明^{1,2}・大柳 一^{1,2,3} (1. 明治大学・農学部, 2. JST・CREST, 3. 三菱スペース・ソフトウェア)

2. 量的形質変異をゲノム変異に結びつけるための統計解析

岩田洋佳 (東大・院農学生命科学)