シンポジウム記録 水産育種の現状とゲノム情報利用の将来展望

II-4. ゲノム情報の大量解析と水産育種への応用

荒木和男,¹ 青木純哉,¹ 甲斐 渉,¹ 尾崎照遵,¹吉田一範,² 津崎龍雄,² 坂本 崇,³藤(小林)加菜子,³ 岡本信明³¹水産総合研究センター増養殖研究所,²水産総合研究センター西海区水産研究所,³東京海洋大学海洋科学部

II-4. The application of large-scale analysis of genomic information for fish genetics and breeding sciences

KAZUO ARAKI,¹ JYUNYA AOKI,¹ WATARU KAI,¹AKIYUKI OZAKI,¹ KAZUNORI YOSHIDA,²TATSUO TSUZAKI,² TAKASHI SAKAMOTO,³KANAKO (KOBAYASHI) FUJI³ ANDNOBUAKI OKAMOTO³

¹National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency, Minami-ise, Mie 519-0423, ²Seikai National Fisheries Research Institute, Taira-machi, Nagasaki 851-2213, ³Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

最近の目覚ましい DNA シークエンサーの発達により、ゲノムのショットガンシークエンスによる大量解析は 10 年前に比べて短時間に低コストで行うことが可能になった。しかし、短い配列情報がたくさんあっても、目的の表現形質と遺伝子を結びつけることが出来なければ育種に応用することは出来ない。また、最近の次世代高速シークエンサーによって得られる塩基配列の精度が従来のキャピラリーシークエンサーに比べて低く、解読できる DNA 長が短い等の問題も抱えている。その中で、どのような情報を抽出し、育種のための遺伝子解析のプラットフォームを構築して行くかが重要となる。ショットガンシークエンスで得られた配列情報の中で育種に応用出来るものは多型を示すマイクロサテライト DNA 配列や 1 塩基多型 (SNP) であり、これらの配列は連鎖地図上にマッピングし、量的形質の連鎖解析に使用することが出来る。ここでは、ブリの研究を例に網羅的な大量解析情報から育種研究に利用できる遺伝子地図を作成す

るまでのことを紹介する。

我々は、天然ブリの交配で得られた 500 尾の仔魚と幼魚 100 尾の腎臓とエラの RNA をもとに完全長 cDNA ライブラリー及び 3' 濃縮ライブラリーを作成して次世代シークエンサーによる網羅的塩基配列の解析 (EST 解析) を行った。得られた配列情報をもとに約 6 万個の 1 塩基多型を持つ候補領域を同定し、その中から多型率 25% 以上の約 14,000 個の SNP を同定した。そこで、さらにハダシ抵抗性を解析するための家系の個体のゲノム DNA をもとに PCR 増幅を行い、キャピラリーシークエンサーで正確な塩基配列の決定を行うと共に、解析家系の中でも多型を示す SNP の同定と連鎖地図へのマッピングを行った。

連鎖地図では解析家系で多型を示す遺伝子しかマッピング出来ない。しかし、その家系で多型が無くても天然魚や他の家系では多型がある場合も多い。そこで、多型に関係なくマッピング出来る物理地図との統合を考えた。ラディエーションハイブリッド (RH) を用いた方法では、放射線照射で染色体の断片化を行った細胞と細胞分裂速度が速い他の生物種 (マウス等) の細胞と細胞融合することによって、目的とする種 (ブリやヒラメ等) の一部の染色体断片を持つ融合細胞 (RH パネル) を作製する。次に、マッピングしたい遺伝子が RH パネルで検出される頻度をもとに物理地図を作製することが出来る。我々は、得られた SNP を持つ遺伝子を、RH パネルを利用して物理地図上にマッピングした後に連鎖地図と統合を行うことによって連鎖地図上に SNP の情報をマッピングし、SNP と表現型との連鎖解析を可能にすることを目的に研究を進め、すでに基本物理地図を作製した。次に、安価に大量の SNP を使った大量の個体の連鎖解析が出来る手法として集積回路チップを使った手法に着目し、低コストで大量解析を可能にすべく研究を進めている。すべての相関解析用のプラットフォームができあがれば、天然ブリの遺伝子型の相関解析による育種も可能になることが期待される。ブリに関する研究は我々が生研センターのイノベーション創出基礎研究推進事業において行っている研究である。