

水産生物のゲノム解析を高精度化する単一染色体分 取技術の開発

メタデータ	言語: Japanese
	出版者: 水産総合研究センター
	公開日: 2024-07-17
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者:
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2009991

This work is licensed under a Creative Commons
Attribution 4.0 International License.



水産生物のゲノム解析を高精度化する単一染色体分取技術の開発

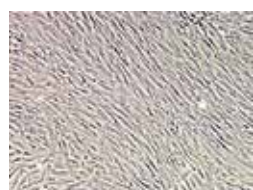
中央水産研究所 水産遺伝子解析センター

研究の背景・目的

1. 次世代シーケンサーの登場により、ゲノム解読は飛躍的に高速化しました。現在までに、20 種以上の魚介類でゲノムデータが報告されています。
2. しかし、ゲノムデータの整備は、未だに費用と時間のかかる作業です。また、魚介類のゲノムデータの多くは、染色体や遺伝連鎖地図との対応づけが不十分で、育種等の応用研究に利用しにくい状況にあります。
3. 我々は、より効率よく、より使いやすいゲノムデータを構築するため、過去に DNA 多型の影響を排除できる半数体を利用した効率的なゲノム解読方法を考案してきました。それでも、複数の染色体にまたがって存在する塩基配列の影響などにより、得られた塩基配列データを染色体の数にまでまとめることは非常に困難でした。そこで今回は、ウナギを対象に、特定の染色体（具体的には、最近の研究によってシラス変態開始時期との関連性が示唆された DNA マーカーを含む染色体）に的を絞ってゲノム解読する技術を魚類で初めて開発しました。

研究成果

1. 実験材料として、ウナギの培養細胞株（EE2）を新規に樹立しました。この細胞株は、線維芽細胞様の形態をしており、染色体分取型セルソーターに供するサンプルの調整が容易という利点がありました（図 1）。



新規培養細胞株(EE2)



セルソーター用サンプル(PI染色)

図 1. 新規培養細胞株(EE2)及び染色体浮遊サンプル

2. セルソーターを用いて、ウナギの染色体を分画する条件を決定しました。今回は、大型の染色体を多く含む分画から、染色体をランダムに 1 本ずつ分取しました。分取試験は 24 回（24 本）行いました。
3. ウナギの染色体は 1 本あたり 60fg (=60x10⁻¹⁵g) 程度の DNA 量しかありません。そこで、分取した染色体は、一旦、全ゲノム増幅処理によって DNA 量を増

やしてから、次世代シーケンサーで配列解読することにしました。得られた塩基配列データを既知の断片的なゲノム情報と照合した結果、分取した 24 本のうち、4 本の塩基配列データの中から、シラス変態開始時期との関連性が示唆される DNA マーカーが見つかりました。また、これら 4 本の塩基配列データには、他の染色体から混入したと思われる塩基配列は殆ど見つかりませんでした。このことから、特定の染色体の単一染色体分取とゲノム解読に成功したことが分かりました。

4. 分取した染色体の全ゲノム増幅産物をプローブとした染色体マッピングを行い（図 2）、染色体との対応関係を調べました。その結果、蛍光シグナルが 1 対の 5 番染色体の全域で強く検出されました。このことから、シラスの変態時期に関連している DNA マーカーは 5 番染色体に存在するということがわかりました。現在は、取得した塩基配列データから、5 番染色体のゲノムデータの整備や新規育種マーカーの開発を進めています。

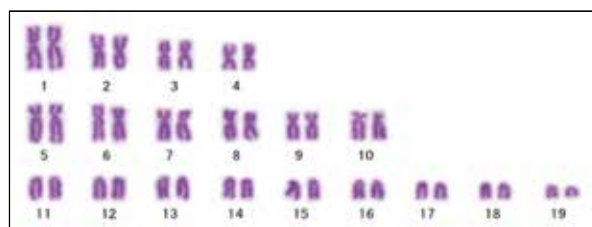
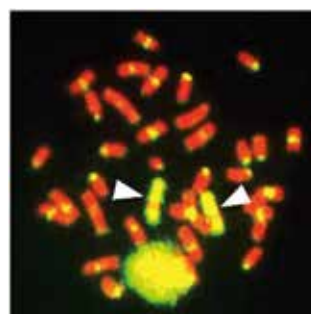


図 2. ウナギの染色体マッピング

上：ウナギの核型 (2n=38)
左：染色体マッピングの結果。矢印は、強い蛍光シグナルが観察された染色体で、上図の 5 番染色体に相当する。



波及効果

1. ゲノム関連情報が不十分な生物種であっても、特定の染色体の全領域を対象とした DNA マーカー開発や遺伝子探索が可能となります。
2. 個々の染色体の詳細な構造解析や人工染色体の開発などが進展します。