

課題名 (タイトル) :

ゲノム配列情報に基づくバイオインフォマティクス解析

利用者氏名 : 市田 裕之

所属 : 仁科加速器研究センター 応用研究開発室 生物照射チーム

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

理研・仁科加速器研究センターRIBFにおいて供給される高エネルギー重イオンビームを利用した突然変異誘発法は、生物種を問わず適用可能であり、基礎研究ならびに農作物等を対象とした実用品種の作出に広く応用されている。重イオンビームは従来から利用されているエックス線・ガンマ線等のと低エネルギー放射線と比較して格段に大きな線エネルギー付与を有することから、飛跡に沿って局在した DNA 損傷を誘発すると考えられているが、その実態は不明である。本研究課題ではイネ突然変異体のエクソーム塩基配列データセットに基づいて、リファレンス配列へのマッピングおよび複数のアルゴリズムに基づく変異検出を実施し、重イオンビーム照射がモデル生物ゲノムに誘発する突然変異の種類（挿入、欠失、染色体再構成など）、変異誘発頻度（ゲノムあたり何カ所の変異が誘発されるか）、および変異領域の範囲（変異の大きさ）を明らかにすることを目的に、Hokusai GreatWave および RICC を用いたバイオインフォマティクス解析パイプラインを実装し、イネ変異体から取得したエクソームデータを用いて解析した。

2. 具体的な利用内容、計算方法

リードデータのリファレンス配列へのマッピング (BWA; Li et al., 2009) および GATK (McKenna et al., 2010), Pindel (Ye et al., 2009), BedTools (Quinlan et al., 2010) による変異検出を行なうパイプラインを実装し、バッチジョブ管理システムを利用して実行した。また、得られた raw results を自作プログラムによりスプレッドシート形式に整形し、変異解析を担当する所内外のグループに提供した。

3. 結果

本パイプラインを用いて抽出した変異候補領域の妥当性を検証するため、炭素およびネオンイオン照射に由来するイネ変異体（計 8 系統）のエクソーム配列を取得して変異解析を実施した。本パイプラインを用いて絞り込んだ 117 種類を変異候補から無作為に抽出した 87 領域について PCR およびサンガー法による塩基配列決定を行って変異の有無を検証したところ、85 領域において実際に変異が見出され、本パイプラインを用いた変異検出および絞り込みが有効に機能していることを実証した。

4. 今後の計画・展望

来年度も新規に取得する変異体のゲノム配列情報に基づく解析を実施するとともに、パフォーマンス向上に向けた各種改修を継続する予定である。また、シーケンス結果等の一次データの保管先として階層型ストレージを利用する。

平成 27 年度 利用研究成果リスト

**【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】**

H. Ichida, Y. Shirakawa, R. Morita, Y. Hayashi and T. Abe “Development of a high-performance bioinformatics pipeline for rice exome sequencing and its application to model rice mutants from carbon- and neon-ion irradiations”, RIKEN Accelerator Progress Report, Vol. 49, *in press*.

**【国際会議、学会などでの口頭発表】**

市田裕之, 阿部知子「超並列 PC クラスタを利用したイネエキソーム情報解析と全ゲノムを対象とした変異検出への応用」, SIP 新しい育種技術 2 系/3 系突然変異グループ合同ワークショップ, 2015 年 9 月 9 日

市田裕之, 白川侑希, 森田竜平, 林依子, 阿部知子「超並列 PC クラスタを利用したイネエキソーム情報解析パイプラインの開発および炭素・ネオンイオン照射由来変異体をモデルとした実証試験」, 理研シンポジウム「変異創成によるグリーンイノベーションの未来 - 花・食・エネルギー」, 2016 年 1 月 21 日