

シーケンス技術チーム

Sequence Technology Team

チームリーダー 榎 佳之
SAKAKI, Yoshiyuki

当研究チームは、ゲノム科学の最も基本となるヒトゲノム塩基配列（シーケンス）を大規模、迅速かつ高精度に決定し、それをもとにゲノム上に書かれた生物の遺伝情報の設計原理や法則性を見いだす技術の開発を目標としている。これまで、平成12年5月には21番染色体の完全配列を決定、平成15年春には、11番、18番についても完全配列を決定した。本年度はシーケンス技術の効率化のため、遺伝子グループのシーケンスチームと統合し、全体のパワーアップを行った。またゲノムから遺伝子等の有用情報を抽出するため、マウスや霊長類の相同染色体との対比解析法を開発を進めている。またこれらを遂行するためのBACマッピングおよび遺伝子予測プログラムなどの情報処理システムも確立した。これらの実績をもとに、ゲノム科学総合センター（GSC）内外からの配列解析を実行した。

1. ゲノム地図作成技術開発（黒木，榎）

我々は、培養細胞の樹立や収集、染色体分離とゲノムライブラリー作成などのリソースの完備、ライブラリーの高速なPCRスクリーニングシステムの構築、細胞遺伝学的手法によるクローンのマッピングと高精度な物理地図作成技術を用いて、様々な生物種のゲノム構造解析を行ってきた。現在では、ヒトゲノム解析で培った知識と技術を用い、さらなる「ヒト」の理解を目指して、霊長類比較ゲノム解析研究を進めている。ヒトの最近縁種であるチンパンジーゲノムの解析では、Y染色体の10Mbの領域について高精度物理地図を完成させるとともに、その領域のヒト-チンパンジーにおけるゲノム構造変化を染色体レベルで検証した。また、独自に作成した染色体特異的ライブラリーを用いて、ゲノム構造上、多様で反復配列が豊富であることが知られている染色体サブテロメア領域について、ヒト-チンパンジー比較ゲノム解析を進めている。ヒト、チンパンジー以外に、ゴリラ、オランウータン、ニホンザルについても解析を行っており、種差と個体差の検出、種間における染色体構造変化の同定とその機序の解明を進めている。

一方、ゲノムネットワーク解析・比較ゲノム研究においては、プロモーター領域の比較解析を行うためのゲノムリソースとして、レムールBACライブラリーの3D化とスクリーニングを担当した。

2. ゲノム塩基配列解析技術開発（豊田）

(1) ヒトとチンパンジーの比較ゲノム解析

近縁種間での比較ゲノム解析では、各生物の固有形質に関する情報を見いだせる可能性があり、ヒトの場合霊長類との比較解析が有用である。そこでヒト固有の性質を明らかにするために、当グループを中心に国立遺伝学研究所、ドイツ、中国、韓国、台湾のチームによって、ヒトと最も近縁であるチンパンジー22番染色体（ヒト21番染色体に相当する）の構造解析を開始した。その結果、273BACクローンを使用して全長32,799,845塩基、全ゲノムの約1%にあたる高精度配列決定に成功した。塩基置換率は、ランダムサンプリングデータ（BACクローンの両末端配列データ）

での平均塩基置換率（1.23%）よりも少し高い1.44%であり、約68,000カ所において挿入/欠失部位が存在することが明らかとなった。また、遺伝子配列の比較解析では、231個のタンパク質をコードする遺伝子のうち、じつに83%にアミノ酸配列レベルでの違いが見いだされた。さらに系統特異的挿入/欠失部位の同定を行うために、外群（ゴリラとオランウータン）での挿入/欠失状況を調べた結果、欠失が生じる頻度に関しては同じ傾向を示したが、ヒトでは多くのAluYファミリーに属するレトロトランスポソンの挿入が認められた。ヒトとチンパンジーの種分化後に起きたAlu配列の挿入がどのような影響を与えているかについては、今後検討すべき課題である。また現在、韓国とともに配列決定したチンパンジーY染色体上の約10Mbについて詳細な比較・構造解析を行っている。

(2) 比較ゲノム地図の作成

様々な生物との比較ゲノム解析を通して、生物の共通性と多様性をより深く理解することを目的として、日本産野生マウス（MSM）、ニホンザル、ハエ（5種）、ナメクジウオ、メダカ、クジラなどのBACライブラリー作製し、決定した両末端配列を用いて比較ゲノム地図の作成を行っている。また、本プロジェクト遂行過程において、当研究チームではBACクローンの両末端配列を高速に決定するシステムを確立した。決定した塩基配列データは、DDBJ（日本DNAデータバンク、<http://www.ddbj.nig.ac.jp>）および我々のホームページ（<http://hgp.gsc.riken.jp/>）から公開している。

3. ゲノム情報比較解析技術開発（野口）

我々はゲノム配列データの産出からその構造情報・機能情報のアノテーションに至る一連の解析作業を効率化することを目指し、様々なコンピュータシステムを設計・開発・運用してきた。

比較ゲノムにもとづく遺伝子予測プログラムPHINALのさらなる精度向上と遺伝子発現特異性の予測を目的に、プロモーター領域の比較ゲノム解析を行った。プロモーターをCpGアイランドを持つもの（CGP）と持たないもの（NCGP）

に大別して解析を行ったところ、転写開始点からその上流 200 bp のコアプロモータ領域の保存度は NCGP の方が CGP に比べて有意に高いことが観察された。これは、ヒト-マウス、ヒト-イヌの何れの組み合わせで比較した場合にも観察されている。従来の知見や我々のマイクロアレイの解析では NCGP が組織特異的発現に重要であることが示唆されており、コアプロモータ領域の保存パターンの違いがこれを反映したものである可能性が考えられる。

We completed the human genome sequence in April 2003 as a member of the international consortium and played major roles in the analysis of chromosome 21, 11, and 18. Through these projects, we have also developed a high-throughput sequencing pipeline as well as a highly reliable gene prediction system and we predicted nearly 8000 new genes from the completed human genome sequence. In addition, we have recently completed the sequence of chimpanzee chromosome 22 to get insight into human evolution. The aims of this team are to utilize our technology and experiences in DNA sequencing for various genome analysis on the requests of many groups and teams in the GSC as well as those from outside of GSC. Indeed we have constructed comparative maps of the Japanese monkey, Medaka, a mouse of Japanese-origin, etc.

Research Subjects

1. Development of genome mapping technology
2. Development of genome sequencing technology
3. Development of comparative genomic technology

Staff

Laboratory Head

Dr. Yoshiyuki SAKAKI

Research Scientist

Dr. Atsushi TOYODA
Ms. Yoko KUROKI
Dr. Hideki NOGUCHI

Technical Staff

Mr. Tomoyuki AIZU
Ms. Rie ARAI
Ms. Emi ISOZAKI
Ms. Miho KIYOOKA
Ms. Keiko TAKAHASHI
Ms. Fumio EJIMA
Ms. Hinako ISHIZAKI
Ms. Noriko YAMAMOTO
Ms. Saori NAKAGAWA
Ms. Minami SHIMIZU
Ms. Yuko YAMAMOTO

Assistant

Ms. Mako YOSHIDA

Visiting Members

Ms. Nozomi HAKOZAKI (HITACHI Instrum. Serv. Co., Ltd.)
Ms. Kazue IMAI (HITACHI Instrum. Serv. Co., Ltd.)
Mr. Yosuke KAJI (HITACHI Instrum. Serv. Co., Ltd.)
Dr. Satoshi KOBAYASHI (Natl. Inst. Inf.)
Ms. Ayuko MOTOYAMA (Natl. Inst. Inf.)
Ms. Reina OKUMURA (HITACHI Instrum. Serv. Co., Ltd.)
Mr. Takashi TAHARA (HITACHI Instrum. Serv. Co., Ltd.)
Ms. Yumi TSUKAMOTO (Natl. Inst. Inf.)
Mr. Satoru YOSHIDA (Natl. Inst. Inf.)
Mr. Jun ZHU (HITACHI Instrum. Serv. Co., Ltd.)

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

- Shirohzu H., Yokomine T., Sato C., Kato R., Toyoda A., Purbowasito W., Suda C., Mukai T., Hattori M., Okumura K., Sakaki Y., and Sasaki H.: "A 210-kb segment of tandem repeats and retroelements located between imprinted subdomains of mouse distal chromosome 7", *DNA Res.* **11**, 325–334 (2004). *
- Kojima T., Kamei H., Aizu T., Arai Y., Takayama M., Nakazawa S., Ebihara Y., Inagaki H., Masui Y., Gondo Y., Sakaki Y., and Hirose N.: "Association analysis between longevity in the Japanese population and polymorphic variants of genes involved in insulin and insulin-like growth factor 1 signaling pathways", *Exp. Gerontol.* **39**, 1595–1598 (2004). *
- Kawakami A., Nojima Y., Toyoda A., Takahoko M., Sato M., Tanaka H., Wada H., Masai I., Terasaki H., Sakaki Y., Takeda H., and Okamoto H.: "The zebrafish-secreted matrix protein you/scube2 is implicated in long-range regulation of hedgehog signaling", *Curr. Biol.* **15**, 480–488 (2005). *
- Yokomine T., Shirohzu H., Purbowasito W., Toyoda A., Iwama H., Ikeo K., Hori T., Mizuno S., Tsudzuki M., Matsuda Y., Hattori M., Sakaki Y., and Sasaki H.: "Structural and functional analysis of a 0.5-Mb chicken region orthologous to the imprinted mammalian *Ascl2/Mash2-Igf2-H19* region", *Genome Res.* **15**, 154–165 (2005). *
- (総説)
豊田敦, 服部正平: "クローン化・配列決定できない配列", *Molecular Medicine Vol. 41 臨時増刊号: ヒトゲノム*, pp. 37–39 (2004).
- [単行本・Proc.]
(その他)
野口英樹, 豊田敦: "ほ乳動物", *ゲノミクス・プロテオミクス*

の新展開：生物情報の解析と応用，加藤郁之進ほか（編），エヌ・ティー・エス，東京，pp. 904-909 (2004).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Kuroki Y., Toyoda A., Taylor T., Noguchi H., Watanabe H., Lee Y., Kim D., Park H., Choi S., Yamada T., Morishita S., Ito T., Hattori M., Sakaki Y., and Fujiyama A.: “Comparative analysis of Human and Chimpanzee Y chromosomes”, 9th Int. Human Genome Meet. (HGM2004), Berlin, Germany, Apr. (2004).

Noguchi H., Tetsushi Y., and Sakaki Y.: “Phase-dependent identification of genes based on human-mouse genome comparison”, 9th Int. Human Genome Meet. (HGM2004), Berlin, Germany, Apr. (2004).

Demiya S., Schonbach C., Toyoda A., Nagashima T., Stahl U., Sakaki Y., Kuroki Y., and Fujiyama A.: “Screening of ancestral polymorphisms of immune response gene”, 9th Int. Human Genome Meet. (HGM2004), (HUGO), Berlin, Germany, Apr. (2004).

Kuroki Y., Toyoda A., Noguchi H., Taylor T., Watanabe H., Yamada T., Morishita S., Ito T., Lee Y., Kim D., Park H., Hattori M., Fujiyama A., and Sakaki Y.: “Comparative analysis of human and chimpanzee Y chromosomes”, Cold Spring Harbor Meet. on the Biology of Genomes, New York, USA, May (2004).

Noguchi H., Tetsushi Y., and Sakaki Y.: “Identification of functional regions based on cross-species genome comparison”, Cold Spring Harbor Meet. on the Biology of Genomes, New York, USA, May (2004).

Taylor T., Toyoda A., Kuroki Y., Itoh T., Totoki Y., Noguchi H., Yada T., Watanabe H., Fujiyama A., Hattori M., and Sakaki Y.: “The DNA sequence and analysis of human chromosome 11”, Cold Spring Harbor Meet. on the Biology of Genomes, (Cold Spring Harbor Laboratory), New York, USA, May (2004).

Kojima T., Kamei H., Aizu T., Arai Y., Takayama M., Nakazawa S., Ebihara Y., Inagaki H., Masui Y., Gondo Y., Sakaki Y., and Hirose N.: “Association analysis between longevity in the Japanese population and polymorphic variants of genes involved in insulin and insulin-like growth factor 1 signaling pathways”, 7th Int. Symp. on Neurobiology and Neuroendocrinology of Aging, (Southern Illinois University), Bregenz, Austria, July (2004).

Taylor T., Toyoda A., Kuroki Y., Itoh T., Totoki Y., Noguchi H., Yada T., Fujiyama A., Hattori M., and Sakaki Y.: “The DNA sequence and analysis of human chromosome”, Joint Cold Spring Harbor Laboratory/Wellcome Trust Conf. on Genome Informatics, Hinxton,

UK, Sept. (2004).

Kuroki Y., Toyoda A., Taylor T., Itoh T., Hattori M., Sakaki Y., and Fujiyama A.: “Isolation and analysis of primate telomeric regions”, American Soc. of Human Genetics 54th Ann. Meet. (ASHG 2004), Toronto, Canada, Oct. (2004).

Taylor T., Toyoda A., Kuroki Y., Itoh T., Totoki Y., Noguchi H., Yada T., Fujiyama A., Hattori M., Sakaki Y., and Human Chromosome 11 Sequencing Consortium: “The DNA sequence and analysis of human chromosome 11”, American Soc. of Human Genetics 54th Ann. Meet. (ASHG 2004), Toronto, USA, Oct. (2004).

Takamatsu K., Takahashi M., Murakami K., Maekawa K., Toyoda A., Taylor T., Fujiyama A., Hattori M., Takeda T., and Sakaki Y.: “Comparative analysis of primate-specific gene DSCR9”, 5th HUGO Pacific Meet. and 6th Asia-Pacific Conf. on Human Genetics, (Human Genetics Organization), Biopolis, Singapore, Nov. (2004).

Totoki Y., Noguchi H., Takeda T., Yada T., and Sakaki Y.: “Novel human genes predicted by combining gene-finders”, Cold Spring Harbor Laboratory 2004 Genomics Workshop on Identification of Functional Elements in Mammalian Genomes, Cold Spring Harbor, USA, Nov. (2004).

(国内会議)

阿部訓也，野口英樹，豊田敦，小島俊男，服部正平，榎佳之，森脇和郎，城石俊彦：“日本固有実験用マウス系統 MSM/Ms からの BAC ゲノムライブラリーの作製とその応用”，第 51 回日本実験動物学会総会，長崎，5 月 (2004).

川上厚志，野島康弘，田中英臣，豊田敦，石田（鷹架）美賀子，佐藤美紀，和田浩則，政井一郎，寺崎晴美，武田洋幸，岡本仁：“背側・腹側ミッドラインによる長距離シグナルの制御機構”，科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業（CREST）研究領域「生物の発生・分化・再生」第 3 回公開シンポジウム，東京，11 月 (2004).

高松邦彦，高橋瑞希，前川耕平，豊田敦，Taylor T.，藤山秋佐夫，服部正平，竹田忠行，榎佳之：“霊長類特異的遺伝子 DSCR9 の比較ゲノム解析”，第 27 回日本分子生物学会年会，神戸，12 月 (2004).

十時泰，小沢里津子，奥村玲奈，榎佳之，矢田哲士，竹田忠行：“複数の遺伝子発見プログラムを組み合わせて発見された新規ヒト遺伝子の実験的検証”，第 27 回日本分子生物学会年会，神戸，12 月 (2004).

黒木陽子：“Isolation and analysis of primate telomeric regions”，第 27 回日本分子生物学会年会，神戸，12 月 (2004).

川上厚志，野島康弘，豊田敦，石田（鷹架）美賀子，佐藤美紀，田中英臣，和田浩則，政井一郎，寺崎晴美，武田洋幸，岡本仁：“背側神経に発現する細胞表面タンパク Scube2 による長距離のヘッジホッグシグナル制御機構”，第 27 回日本分子生物学会年会，神戸，12 月 (2004).