

## マウス亜種間コンソミック系統に基づくゲノム機能解析

●城石 俊彦 ◆小出 剛

情報システム研究機構国立遺伝学研究所系統生物研究センター

## &lt;研究の目的と進め方&gt;

ゲノム解読後の課題として、複雑な生命システムネットワークを構成する多数の遺伝子の機能をいかに効率よく抽出できるかが問われている。そのためのアプローチの一つとして、ゲノム多型(変異)と表現型の関連性を体系的に収集する基盤技術整備が必要である。本研究では、西ヨーロッパ産亜種マウス(*M.m.domesticus*)と日本産亜種マウス(*M.m.molossins*)由来の二つの系統間で染色体を1本ずつ置換したコンソミック(Consomic)系統(B6-Chr<sup>N<sup>MSM</sup></sup>)を用いて、マウスの個体レベルの高次表現型を制御する単一因子や多因子を体系的にゲノム上にマップし、それらの原因遺伝子を同定するための解析系を開発する。特に重要な表現型については、顕著な表現型を示すコンソミック系統とC57BL/6J系統間の交配実験に基づく詳細な連鎖解析を行い、原因遺伝子の同定・単離を行う。

## &lt;2008年度の研究の当初計画&gt;

## 1. コンソミック系統の表現型解析

昨年度に引き続き、コンソミック全系統を対象にした表現型解析を行い、表現型を規定する遺伝子(群)の染色体マッピングを推進する。これまで重点的に実施したエネルギー代謝関連形質と行動特性形質に関しては原因遺伝子の同定を視野に解析を一層推進する。継続して収集する表現型は、以下のとおりである。

- (1) 糖代謝関連表現型:さまざまな条件下での血糖値変動に関する表現型解析を行う。
- (2) 脂質代謝関連表現型:脂質代謝産物の体系的な測定を行う。
- (3) 行動関係表現型:行動特性として、自発活動性と不安関連行動形質について、体系的に解析する。また、疾患と関連した脳形態関連形質についても解析する。

## 2. 表現型原因遺伝子の同定

染色体受容系統のC57BL/6Jと顕著な表現型値を示す以下のコンソミック系統については、当該系統とC57BL/6J系統の交配に基づいた高精度連鎖解析とコンソミック系統から更に細かな領域のみを有するコンジュニック系統の作出を行い候補遺伝子領域の探索を行う。また、遺伝子多型解析、発現量比較や機能解析を通して原因遺伝子の同定を試みる。

- ・体重、脂肪蓄積、血中脂質パラメータ…… B6-Chr3<sup>MSM</sup> 系統
- ・加齢および高脂肪食に依存した肥満…… B6-Chr13T<sup>MSM</sup> 系統
- ・不安関連行動形質…… B6-Chr17<sup>MSM</sup> 系統
- ・自発活動性…… B6-Chr6C<sup>MSM</sup> 系統

## 3. MSM/Ms 系統の SNP 情報の解析

基盤ゲノム支援班と連携して構築したMSM/Ms系統のSNP情報データベースに対して新規機能の付与、データの拡充、他データベースとの連携を行う。特にMSM/Ms系統以外の野生マウス由来系統のゲノムデータの収集を行い、多様なマウス表現型に関する比較ゲノム情報を充実させる。

## 4. 表現型データベースの構築

表現型の記載方法やデータベースのフォーマットを検討し、オントロジーを考慮したデータ管理システムの構築を開始する。

## &lt;2008年度の成果&gt;

## 1. コンソミック系統の表現型解析

## (1) 基本形質と糖・脂質代謝関連表現型データの収集

コンソミック系統の遺伝的背景となっているC57BL/6J系

統と染色体供与系統であるMSM/Ms系統、並びに繁殖・維持が困難な系統を除いたコンソミック28系統に関して体系的な表現型解析を行い、基本形質や代謝関連表現型データを収集・解析した。以上の包括的な表現型収集により、量的形質遺伝子座として、多数のQTLを検出することができ、コンソミック系統を利用することで、多因子表現型を支配する遺伝子群について、個々の遺伝子座に分離して解析できることを国際誌に発表した。脂質代謝については、脂肪蓄積、血中の臨床生化学パラメータ(コレステロール、中性脂肪、各種酵素など)についてデータを収集し、エネルギー代謝関連形質の重要な脂肪蓄積について詳細な表現型解析を実施、C57BL/6J系統と比較し顕著な違いを示すコンソミック系統を見出した。

## (2) 行動学的パラメータ

コンソミック系統をスクリーニングし、自発活動性や不安様行動に関して顕著な効果を有する染色体を明らかにした。その結果は国際誌に論文として発表した。更に狭い染色体領域を有する多数のサブコンソミック系統を解析し、自発活動に関わる遺伝子座を6番染色体と3番染色体、不安関連行動に関わる遺伝子座を17番染色体上の狭い領域に特定した。これらは、更なる組換え体を作製し領域の絞込みを行うと同時に、候補遺伝子の発現解析などを既に進めている。脳脊髄液の圧力調節異常により生じる水頭症の原因遺伝子座をゲノムワイドに解析し、そのうちの1つを17番染色体上の領域に新たにマッピングした。この結果は国際誌に発表した。

## 2. 表現型原因遺伝子の同定

体脂肪蓄積などの表現型解析によって、MSM/Ms系統の3番染色体上に脂肪蓄積抑制遺伝子、13番染色体遠位に高脂肪食に依存した脂肪蓄積促進遺伝子、17番染色体領域に不安様行動の亢進に関連した遺伝子が存在することが明らかとなった。これらの表現型の原因となっている遺伝子の同定に向けて、両系統について当該コンソミック系統とC57BL/6J系統とを交配して作製したF2個体による連鎖解析を行った。平行して該当コンソミック系統を利用して問題の遺伝領域を含むコンジュニック系統を作製している。特にMSM/Ms系統の13番染色体遠位に存在する脂肪蓄積促進遺伝子に関してはその候補領域を2Mbpにまで狭めることに成功した。

## 3. MSM/Ms 系統の SNP 情報の収集とデータベースの更新

NIG Mouse Genome Databaseに公共のSNPデータを利用して解析したハプロタイプブロック情報などの新規データを追加した。

## 4. 表現型データベースの構築と公開

本研究の成果であるC57BL/6J系統の遺伝的背景にMSM/Ms系統の各染色体を導入した亜種間コンソミック系統についての表現型データベース[NIG Mouse Phenotype Database]を構築、公開した。データベース構築においては、各種表現型を記述するための言語については、米国JAX研究所が中心となり、主要な40種類のマウス系統の表現型を大規模に収集しデータベース化しているMouse Phenome Database (MPD) projectと共通のものを使用している。また、ノックアウトマウスを対象に体系的な表現型収集を行うEuropean Mouse Disease Clinic (EUMODIC) プロジェクト等、世界的に進行しているマウス表現型のデータベース等も参考にしている。本データベースは、本研究による表現型収集の

進捗と密に連携しており、将来的にはデータ入力から各種表現型の表示および遺伝解析がオンタイムで実施可能なデータベースを目指している。

#### <国内外での成果の位置づけ>

欧米では2種類の汎用実験用マウス近交系統であるA/JとC57BL/6Jを親系統に用いたコンソミック系統の他に、近年、汎用近交系の成立に寄与したと考えられる*M. m. musculus*亜種を染色体供与系統としたコンソミック系統も樹立された。先行して樹立された上記C57BL/6J-AJに加えてこれらの系統を用いた遺伝子探索や表現型の収集プロジェクトが欧米で進行している。体質や行動特性のような多因子形質の遺伝的基盤を解析するための実験用マウス系統は、世界的にもいくつか開発が進行中である。その中でもコンソミック系統を用いた解析は、確実性の高い手法として注目を浴びようになってきた。特に、本研究で確立し研究を進めている亜種間コンソミック系統は、野生由来系統であるMSM/Msを染色体供与系統として用いている点が特色である。このため、野生系統に特徴的な儉約型のエネルギー代謝系や他の系統が近交系統の育成の段階で失ってきた行動特性に関わる遺伝子の探索に有用と考えられる。さらに、MSM/Msについては、支援班によりWGSが進行し、両親系統間の比較ゲノム解析により膨大な数のSNP情報が利用可能となっている。このように、ゲノム配列情報が整備されている我々独自のバイオリソースに立脚して、ゲノム機能解析を行う点に、本研究の独自性と優位性がある。

#### <達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

MSM/Ms系統以外の野生マウス由来系統のSNP情報の収集に関して、その進捗が当初計画より遅れている。これについては、解析すべき野生マウス由来系統を選択するためのデータは前年度にすでに収集しているが、昨今の新世代の超並列型短鎖シーケンス法、あるいはSNPの高速・大量タイピング法の動向を踏まえ、コスト対効果を考慮した結果である。

行動関連表現型の責任遺伝子の探索に関しては、今年度の研究では、自発活動性や不安様行動に関わる遺伝子の同定には至っていない。これは、絞り込んだ領域内にはまだ複数の遺伝子が存在しており、原因遺伝子を特定することが難しいという問題がある。今後は、遺伝子発現解析や多型解析、更には機能的解析など様々な手法を用いて遺伝子同定に取り組む必要がある。

#### <今後の課題>

##### 1. コンソミック系統の表現型データの収集

重点表現型の責任遺伝子の探索：解析対象の表現型を支配するコンソミック系統とC57BL/6J系統の交配による高精度連鎖解析を行い、原因遺伝子候補領域の絞り込みを行う。

(1) エネルギー代謝関連表現型の責任遺伝子の探索：エネルギー代謝について「浪費型」を示すB6-Chr3<sup>MSM</sup>系統、「儉約型」を示すB6-Chr13<sup>MSM</sup>系統を対象に、F2連鎖解析を拡大し、原因遺伝子座領域の絞り込みを行う。並行して各系統の候補遺伝子座領域の同定を行うため、責任領域をさらに細分化したコンジュニック系統を作製する。新規に作製した系統についてエネルギー代謝関連表現型の収集を行い、連鎖解析による結果の妥当性を検証する。

(2) 行動関連表現型の責任遺伝子の探索：既に、17番染色体上に存在する不安様行動に関わる遺伝子座については、BAC DNAの導入によるレスキュー実験を開始している。しかし、技術的には確立されたものの、遺伝子導入マウス作製の効率の面でまだ充分ではなく、今後の改善が求められる。今後は、6番染色体および3番染色体上の自発活動関連遺伝子についても同様の手法で取り組む予定である。

##### 2. MSM/Ms系統のSNP情報と表現型データを統合するデータ

##### ベースの構築

平成20年度に構築、公開した表現型データベースに関して、更なる機能追加、動的解析機能の追加を行う。また、新規の表現型収集を行った際も適宜データの追加をおこなう。SNP情報および表現型データに関しては双方向で検索可能なデータベースを構築する。新たな国内外のデータベースに対して適宜リンクを張る。

#### <成果公表リスト>

##### 1) 論文/プロシーディング (査読付きのものに限る)

0806111141 (論文)

Takada, T., Mita, A., Maeno, A., Sakai, T., Shitara, H., Kikkawa, Y., Moriwaki, K., Yonekawa, H. and Shiroishi, T.: Mouse inter-subspecific consomic strains for genetic dissection of quantitative complex traits. *Genome Res.* 18: 500-508 (2008) .

0807030851 (論文)

Takahashi, A., Nishi, A., Ishii, A., Shiroishi, T., Koide, T.: Systematic analysis of emotionality in consomic mouse strains established from C57BL/6J and wild-derived MSM/Ms, *Genes, Brain and Behavior*, 7, 849-858 (2008) .

0806112322 (論文)

Takahashi, A., Shiroishi, T., and Koide, T.: Multigenic factors associated with a hydrocephalus-like phenotype found in inter-subspecific consomic mouse strains, *Mammalian Genome*, 29, 333-338 (2008)

0812241434 (論文)

Shigeta Y., Kasai S., Han W., Hata H., Nishi A., Takamatsu Y., Hagino Y., Yamamoto H., Koide T., Shiroishi T., Kasai K., Tsunashima K., Kato N., Ikeda K.: Association of morphine-induced antinociception with variations in the 5' flanking and 3' untranslated regions of the  $\mu$  opioid receptor gene in 10 inbred mouse strains. *Pharmacogenet. Genomics*, 18:927-936, (2008) .

0812241434 (論文)

##### 2) データベース/ソフトウェア

・NIG Mouse Genome Database: 基盤ゲノム支援班との連携により構築したC57BL/6J-MSM/Ms間の塩基配列比較およびSNP情報を収集したデータベース。汎用実験用マウス系統間のSNP情報も統合している。URL: <http://molossinus.lab.nig.ac.jp/msmdb/>

・NIG Mouse Phenotype Database: 本領域情報支援班の支援により構築したC57BL/6J、MSM/Msおよびこれらから樹立した亜種間コンソミック系統の各種表現型を収集したデータベース。URL: <http://molossinus.lab.nig.ac.jp/phenotype/index.html>

・Mouse Polymorphism Database: 国立遺伝学研究所・生物遺伝資源センターとの連携により構築したマウス多型データベース。URL:<http://shigen.lab.nig.ac.jp/mouse/polymorphism/about/about.jsp>

#### <職員間での共同研究等>

基盤ゲノム支援班のWGS sequencingに関する支援に加えて、基盤ゲノムの小原班員とはMSM/Ms系統を中心としたマウス系統間SNP情報のデータベース構築で共同研究を推進している。