

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 張 虹

高等生物のゲノム解析において、全ゲノムショットガン法は有効な手段であるが、各種多型の存在が高精度ゲノムをアセンブルするための一つの障害要因になっている。本研究では、魚類における代表的なモデル生物であるドラフグにおいて、すでに存在しているゲノムドラフトシーケンスよりはるかに高精度のゲノムシーケンスを解読、構築するために、相同染色体がホモ接合しており多型の寄与を除外できる第一卵割阻止型の雌性発生個体をも作出し、ゲノムシーケンシングに資することを目的に研究をおこなったものである。

論文内容の概要は

(1) 第一卵割阻止型雌性発生ドラフグ作出条件の検討

UV 照射量や卵割阻止操作の有無などの検討を行い、十分に効率的 UV 照射量を見いだしたのと同時に、卵割阻止を行わない場合は、半数体症候群個体が生じるが、阻止することにより正常な個体が発生することを確認し、多数の第一卵割阻止型雌性発生個体を得ることに成功した。

(2) マイクロサテライトマーカーを用いたホモ接合性の評価

得られた第一卵割阻止型雌性発生個体がホモ接合しているかを検証するため、各染色体から 2、3 種類のマイクロサテライトマーカー (のべ 56 種類) を用いて雌性発生個体 16 匹の多型タイピングを行なった。その結果、全ての個体の全てのマーカーでホモ接合していることが確認できた。

(3) 全ゲノム SNP タイピングによるホモ接合性の評価

第一卵割阻止型雌性発生個体のホモ接合性をより包括的に検証するため、通常の二倍体の 1 個体、第一卵割阻止型雌性発生個体の 1 個体を対象に次世代シーケンサーによる解読を行ない、全ゲノム的に SNP のタイピングを行なった。配列が 1 塩基異なる部位が多型か、リピート間の差異かを判別するのは容易ではないが、SNP である確度の高いサイトに関して SNP の個数を比較した結果、二倍体では 5,621 個の SNP サイトが見いだされたのに対して、雌性発生個体では 0 個であった。このことから作出した個体が全ゲノム的にホモ接合していることが確かめられた。

(4) ゲノムアセンブルによる有効性の確認

(3) の二倍体個体、雌性発生個体について、解読した Raw reads の塩基数が同一になるようにデータ量をあわせてアセンブルした結果、雌性発生個体の N50 Contig 長は約 2kb であるのに対して、二倍体では 0.35kb と雌性発生個体の方が 5 倍以上の N50 Contig 長を得ることができた。このことから雌性発生個体を全ゲノムショットガン法で解読することの有効性が示された。

以上の結果により、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。